

Патологія



Том 15, № 3(44), вересень – грудень 2018 р.

Редакційна колегія

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

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

Редакційна рада

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

Pathologia

Volume 15 No. 3 September – December 2018

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

© Патологія, 2018

Editorial Board

Editor-in-Chief – V.O. Tumanskyi
Deputy Editor-in-Chief – A.V. Abramov
Executive secretary – S.I. Tertyshnyi
T.M. Boichuk (Chernivtsi, Ukraine)
O.V. Hancheva (Zaporizhzhia, Ukraine)
V.I. Cherniy (Kyiv, Ukraine)
S.H. Hychka (Kyiv, Ukraine)
Yu.M. Kolesnyk (Zaporizhzhia, Ukraine)
V.D. Markovskiy (Kharkiv, Ukraine)
N.S. Mykhailovska (Zaporizhzhia, Ukraine)
O.H. Reznikov (Kyiv, Ukraine)
A.M. Romanenko (Kyiv, Ukraine)
V.O. Shavrin (Zaporizhzhia, Ukraine)
H.A. Shyfrin (Zaporizhzhia, Ukraine)
I.S. Shponka (Dnipro, Ukraine)
H.H. Skibo (Kyiv, Ukraine)
T.D. Zadorozhna (Kyiv, Ukraine)
S.M. Zavorodnyi (Zaporizhzhia, Ukraine)
D.D. Zerbino (Lviv, Ukraine)

Scientific Editorial Board

Samir S. Amr (Dhahran, Saudi Arabia)
N.M. Anichkov (St. Petersburg, RF)
Ya.Ya. Bodnar (Ternopil, Ukraine)
Ch. Busch (Uppsala, Sweden)
P.I. Cherviak (Kyiv, Ukraine)
I.S. Davydenko (Chernivtsi, Ukraine)
O.O. Diadyk (Kyiv, Ukraine)
Sh. Fukushima (Kanagawa, Japan)
O.S. Havrysh (Kyiv, Ukraine)
A.I. Hozhenko (Odessa, Ukraine)
M. Jelen (Wroclaw, Poland)
F. Joubert (Paris, France)
L.V. Kakturskyi (Moscow, RF)
O.M. Kamyshnyi (Zaporizhzhia, Ukraine)
M.O. Klymenko (Mykolaiv, Ukraine)
G. Kontogeorgos (Athens, Greece)
H.O. Lezhenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
I.O. Mykhailiuk (Ivano-Frankivsk, Ukraine)
V.F. Myslytskyi (Chernivtsi, Ukraine)
B. Nathwani (Los Angeles, USA)
M.K. Nedzved (Minsk, Belarus)
M.A. Paltsev (Moscow, RF)
Yu.O. Pospishil (Lviv, Ukraine)
I.S. Reshetnikova (Kaliningrad, RF)
V.P. Silchenko (Kyiv, Ukraine)
I.V. Sorokina (Kharkiv, Ukraine)
V.P. Tereshchenko (Kyiv, Ukraine)

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

Науково-практичний
медичний журнал
Запорізького державного
медичного університету

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

Атестований

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

Журнал включений до
WEB OF SCIENCE™

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

Ліцензія Creative Commons



Рекомендовано до друку

Вченою радою ЗДМУ
протокол № 4 від 20.11.2018 р.
Підписано до друку
05.12.2018 р.

Редакція:

Начальник редакційно-
видавничого відділу
В.М. Миклашевський
Літературний редактор
О.С. Савеленко
Технічний редактор
Ю.В. Полупан

Адреса редакції і видавця:

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

Віддруковано

у друкарні ТОВ «Х-ПРЕСС»
69068, м. Запоріжжя,
вул. Кругова, 165/18,
тел. (061) 220-42-29.
Свідоцтво
про державну реєстрацію
АОО №198468 від 01.07.1999 р.
Формат 60x841/8.
© Папір крейдяний,
безкислотний,
Умов. друк. арк. 6.
Тираж 200 прим.
Зам. № 12/18.

Оригінальні дослідження

Резніков О. Г., Сачинська О. В., Полякова Л. І., Фалюш О. А., Янішевський О. В.

Стан репродуктивних органів молодих і старіючих самців щурів при тривалому введенні летрозолу та після його відміни

Колесник Ю. М., Ісаченко М. І., Мельнікова О. В., Грекова Т. А.

Характеристика показників системи оксиду азоту в міокарді лівого шлуночка в щурів лінії SHR

Шелест Б. О.

Клініко-анамнестичні параметри та їхня прогностична вагомість у терапії артеріальної гіпертензії з коморбідною патологією

Козлов С. В., Сулоєв К. М., Колдунов В. В., Козлова Ю. В., Мамедов Ш. М.

Патологічні зміни серця на тлі вживання психостимуляторів

Герасимова О. В., Процюк Т. Л., Процюк Л. О., Дударенко О. Б., Кулешов О. В.

Метаболічні порушення в міокарді в дітей при бронхіальній астмі

Барковський Д. Є.

Нейроімуноендокринні маркери прогнозування прееклампсії

Любомирська К. С.

Імуногенетичні чинники розвитку передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності в Запорізькій області

Степанченко К. А.

Аналіз варіабельності серцевого ритма у больных с первичной и повторной инвазией острицами до и после курса специфической терапии

Оніщенко Н. В., Рябоконе Ю. Ю., Рябоконе О. В.

Роль поліморфізму гена інтерлейкіну-10 (rs 1800872) в перебігу оперізувального герпесу в дорослих

Березенко В. С., Задорожна Т. Д., Михайлюк Х. З., Тарасюк Б. А., Коробко В. Ф., Келихевич С. М.

Морфологічні та ультразвукові особливості фіброзу печінки в дітей з аутоімунним гепатитом

Чорний В. М., Поліщук Н. М., Камишний О. М., Головаха М. Л.

Результати вивчення *in vitro* антибактеріальної активності модифікованого магнієвого сплаву щодо тест-штамів *E. coli* та *P. aeruginosa*

Кривенко В. І., Бородавко О. І.

Стан кісткового метаболізму в пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу

Степанов Ю. М., Сімонова О. В., Мосійчук Л. М., Петішко О. П.

Сучасні ендоскопічні критерії стратифікації хворих на атрофічний гастрит при розвитку передракових змін шлунка

Козьолкін О. А., Кузнєцов А. А., Новікова Л. В.

Прогнозування функціонального результату гострого періоду повторного мозкового ішемічного півкульового інсульту

Original research

268 Reznikov O. H., Sachynska O. V., Poliakova L. I., Faliush O. A., Yanishevskiy O. V.

The state of reproductive organs of young and aged male rats with the prolonged administration of letrozole and after its withdrawal

278 Kolesnyk Yu. M., Isachenko M. I., Melnikova O. V., Hrekovala T. A.

Characteristics of the nitric oxide system indicators in the left ventricle myocardium in SHR

284 Shelest B. O.

Clinical and anamnestic features and their prognostic value in assessment of treatment efficiency of arterial hypertension with comorbidity

290 Kozlov S. V., Suloiev K. M., Koldunov V. V., Kozlova Yu. V., Mamedov Sh. M.

Pathological changes in the heart under the use of psychostimulants

296 Herasymova O. V., Protsiuk T. L., Protsiuk L. O., Dudarenko O. B., Kuleshov O. V.

Metabolic myocardial disorders in children with bronchial asthma

302 Barkovskiy D. Ye.

Neuroimmunoendocrinal markers of prediction of preeclampsia

309 Liubomyrska K. S.

Immunogenetic factors for the development of premature rupture of membranes in preterm labour in Zaporizhzhia region

319 Stepanchenko K. A.

Analysis of heart rate variability in patients with primary and secondary invasion with pinworms before and after a course of specific therapy

325 Onishchenko N. V., Riabokon Yu. Yu., Riabokon O. V.

The role of interleukin-10 gene polymorphism (rs 1800872) in the course of herpes zoster in adults

330 Berenzenko V. S., Zadorozhna T. D., Mykhailiuk Kh. Z., Tarasiuk B. A., Korobko V. F., Kelykhevych S. M.

Morphological and ultrasound features of liver fibrosis in children with autoimmune hepatitis

337 Chorniy V. M., Polishchuck N. M., Kamyshnyi O. M., Holovakha M. L.

Results of the *in vitro* study of the antibacterial activity of modified magnesium alloy in experiments with *E.coli* and *P.aeruginosa* test-strains

341 Kryvenko V. I., Borodavko O. I.

The state of bone metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus

346 Stepanov Yu. M., Simonova O. V., Mosiichuk L. M., Petishko O. P.

Modern endoscopic criteria for stratification of patients with atrophic gastritis in the development of precancerous changes of the stomach

354 Koziolkina O. A., Kuznietsov A. A., Novikova L. V.

Prediction of the functional outcome of acute recurrent cerebral ischemic hemispheric stroke

Оригінальні дослідження

Абрамов А. В., Шаменко В. А., Колесник Ю. М.
Сравнительная характеристика реакции вазопрессинергических нейронов супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса при прерывистом действии гипоксической гипоксии

Тіщенко С. В.
Особенности экспрессии ангиотензину II в аркуатном ядре гипоталамуса экспериментальных шурів при різних за етіологією артеріальних гіпертензіях

Бучакчийская Н. М., Полковникова К. Ю.
Прогностическое значение сывороточного уровня копептина у пациентов с субарахноидальным кровоизлиянием

Кузнєцов А. А.
Діагностичне значення інтегральної оцінки ЕЕГ-патерну в пацієнтів у гострому періоді спонтанного супратенторіального внутрішньомозкового крововиливу

Войценко К. І.
Ранні морфологічні зміни колінного суглоба шурів після опіоїдного впливу

Огляди

Стефанчук Р. О., Янчук А. О., Стефанчук М. М., Стефанчук М. О., Блажівська Н. Є.
Право на евтаназію: за чи проти?

Щербиніна М. Б., Шевченко Т. М., Гладун В. М.
Сучасна діагностика гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби: реальні досягнення та перспективи

Клінічний випадок

Мостовой Ю. М., Демчук А. В., Константинович Т. В., Пентиук Н. О., Блажевська Л. В.
Клініко-морфологічні особливості перебігу синдрому Гудпасчера, що маніфестував респіраторними розладами

Original research

360 Abramov A. V., Shamenko V. O., Kolesnyk Yu. M.
Comparative characteristics of vasopressinergic neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei of hypothalamus response in the intermittent hypoxic hypoxia

367 Tishchenko S. V.
Features of angiotensin II expression in the arcuate nucleus of the hypothalamus of experimental rats with arterial hypertension of various etiology

372 Buchakchyiska N. M., Polkovnikova K. Yu.
Prognostic value of serum copeptin level in patients with subarachnoid haemorrhage

378 Kuznietsov A. A.
Diagnostic value of the integral assessment of electroencephalographic pattern in patients in the acute period of spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage

386 Voitsenko K. I.
Early morphological changes in the knee joint of rats after opioid exposure

Review

390 Stefanchuk R. O., Yanchuk A. O., Stefanchuk M. M., Stefanchuk M. O., Blazhivska N. Ye.
The right to euthanasia: for or against?

396 Scherbynina M. B., Shevchenko T. M., Hladun V. M.
Modern diagnostics of gastroesophageal reflux disease: actual progress and prospects

Case report

405 Mostovoy Yu. M., Demchuk A. V., Konstantynovych T. V., Pentiuk N. O., Blazhevska L. V.
Clinic morphological features of Goodpasture's syndrome manifested with respiratory disorders

Міжнародна індексація журналу / Indexing

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

Ulrich's Periodicals Directory (США)

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

The National Library of Medicine (США): http://locatorplus.gov/cgi-bin/Pwebrecon.cgi?v1=1&ti=1,1&SearchArg=Pathologia&Search_Code=JALL&SL=None&CNT=25&PID=gATyrKW75IFCFItxUc1ajaR9n&SEQ=20141105025042&SID=3

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

WORLDWIDE ELIBRARY(США): <http://www.sciary.com/journal-scientific-patology-article-77962>

getCITED (США): <http://www.getcited.org/pub/103524559>

BASE (Bielefeld Academic Search Engine) (ФРН): <http://www.base-search.net/Search/Results?lookfor=%D0%9F%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%8F&type=all&oaboost=1&ling=1&name=&thes=&refid=dcesde&newsearch=1>

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

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

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

Google Scholar (Академія): http://scholar.google.com.ua/scholar?q=%D0%B6%D1%83%D1%80%D0%BD%D0%B0%D0%BB+%D0%9F%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D1%96%D1%8F%2C+Pathologia&btnG=&hl=ru&as_sdt=1%2C5&as_ylo=2014&as_vis=1

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

Стан репродуктивних органів молодих і старіючих самців щурів при тривалому введенні летрозолу та після його відміни

О. Г. Резніков, О. В. Сачинська, Л. І. Полякова, О. А. Фалюш, О. В. Янішевський

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ

Ключові слова:
летрозол, чоловіча репродуктивна система, щури.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 268–277

DOI:
10.14739/2310-1237.2018.3.151647

E-mail:
reznikov39@gmail.com

Мета роботи – дослідження стану органів репродуктивної системи після тривалого введення інгібітора ароматази стероїдів летрозолу та його відміни в молодих самців щурів і на тлі вікової інволюції.

Матеріали та методи. Досліди виконали на щурах Вістар із початковим віком 5 міс. і 15 міс., яким протягом 3 міс. вводили перорально за допомогою шлункового металевго катетера летрозол через день у дозі 1 мг/кг м. т., та через 2 міс. після його скасування. Визначали рівні тестостерону та естрадіолу у плазмі крові імуноферментним методом, вміст сперматозоїдів у придатках сім'яників, масу гонад і додаткових статевих залоз, виконали морфологічне дослідження гонад і вентральної частки передміхурової залози. Результати досліджень порівнювали з показниками в контрольних тварин відповідного віку.

Результати. У старіючих самців під впливом летрозолу зростало співвідношення рівнів тестостерону й естрадіолу у плазмі крові. Вміст сперматозоїдів в епідидимісах збільшувався в середньому на 28 %. Гістологічне дослідження показало функціональну активацію клітин Лейдига, істотне зменшення інволютивних змін їхньої кількості та гістологічної будови. Частина клітин Лейдига мала ознаки функціонального виснаження. Летрозол збільшував відносну масу коагулюючої залози в середньому на 40 %, сім'яних пухирців на 31 % та вентральної частки передміхурової залози на 33 % порівняно з показниками в контрольних тварин. Через 2 міс. після припинення введення летрозолу не було різниці між показниками контрольних і дослідних тварин. У молодих щурів ефекти летрозолу майже не виявляли.

Висновки. Введення летрозолу збільшує співвідношення рівнів тестостерону та естрадіолу у плазмі крові, вміст сперматозоїдів в епідидимісах і масу андрогензалежних додаткових статевих залоз самців щурів із віковою інволюцією статевої системи. Це супроводжується уповільненням вікових змін гонад і передміхурової залози. Ознаки стимулювального впливу летрозолу на органи репродуктивної системи старіючих тварин зникали через 2 міс. після скасування застосування препарату.

Ключевые слова:
летрозол, мужская репродуктивная система, крысы.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 268–277

Состояние репродуктивных органов молодых и стареющих самцов крыс при длительном введении летрозола и после его отмены

А. Г. Резников, О. В. Сачинская, Л. И. Полякова, О. А. Фалюш, А. В. Янишевский

Цель работы – исследование состояния органов репродуктивной системы после длительного введения ингибитора ароматазы стероидов летрозола и его отмены у молодых самцов крыс и на фоне возрастной инволюции репродуктивных органов.

Материалы и методы. Опыты проведены на крысах Вистар с начальным возрастом 5 мес. и 15 мес., которым в течение 3 мес. вводили перорально с помощью желудочного металлического катетера летрозол через день в дозе 1 мг/кг м. т., и через 2 мес. после его отмены. Определяли уровни тестостерона и эстрадиола в плазме крови иммуноферментным методом, содержание сперматозоидов в придатках семенников, определяли массу и проводили морфологическое исследование гонад и добавочных половых желез – вентральной доли предстательной железы, коагулирующей железы и семенных пузырьков. Результаты исследований сравнивали с показателями у контрольных животных соответствующего возраста.

Результаты. У стареющих самцов под влиянием летрозола возрастало соотношение уровней тестостерона и эстрадиола в плазме крови. Содержание сперматозоидов в эпидидимисах увеличивалось на 28 %. Гистологическое исследование показало функциональную активацию клеток Лейдига, значительное уменьшение инволютивных изменений их количества и гистологического строения. Часть клеток Лейдига имела признаки функционального истощения. Летрозол увеличивал относительную массу коагулирующей железы в среднем на 40 %, семенных пузырьков на 31 % и вентральной части предстательной железы на 33 % по сравнению с показателями контрольных животных. Через 2 мес. после прекращения введения летрозола не установлена разница между показателями у контрольных и опытных животных. У молодых крыс эффекты летрозола почти не выявляли.

Выводы. Введение летрозола увеличивает соотношение уровней тестостерона и эстрадиола в плазме крови, содержание сперматозоидов в эпидидимисах и массу андрогензависимых добавочных половых желез самцов крыс с возрастной инволюцией половой системы. Это сопровождается замедлением возрастных изменений гонад и предстательной железы. Признаки стимулирующего влияния летрозола на органы репродуктивной системы стареющих животных исчезали через 2 мес. после отмены приема препарата.

Key words:
letrozole, male reproductive system, rats.

Pathologia
2018; 15 (3), 268–277

The state of reproductive organs of young and aged male rats with the prolonged administration of letrozole and after its withdrawal

O. H. Reznikov, O. V. Sachynska, L. I. Poliakova, O. A. Faliush, O. V. Yanishevskiy

Aim. Study of the reproductive organs after long-term administration of letrozole, the steroid aromatase inhibitor, followed by its withdrawal in young male rats and ones with age-related involution of reproductive organs.

Material and methods. The experiments were carried out on Wistar rats with an initial age of 5 months and 15 months, which were gavaged with letrozole every other day at a dose of 1 mg/kg bw for 3 months and then 2 months following its discontinuation. The blood plasma testosterone and estradiol levels were measured by immunoassays. The spermatozoa contents in epididymis were calculated. The testicles and accessory sexual glands were weighed, and morphology of gonads and ventral prostate was studied. The results of the study were compared with those of control animals of corresponding age.

Results. As the result of letrozole treatment, the ratio of testosterone and estradiol levels in blood plasma of aged rats increased. The spermatozoa content in epididymis rose up by on the average 28 %. The histological study revealed functional activation of Leydig cells, a significant retardation of involutive changes of their number and morphology. Some Leydig cells demonstrated the signs of functional exhaustion. Letrozole exerted an increase of relative weight of the coagulation gland by an average of 40 %, seminal vesicles by 31 %, and ventral prostate by 33 % compared with those of control animals. Two months after letrozole withdrawal, there were no signs of difference between letrozole-treated and control animals. In young rats, the effects of letrozole were almost not detectable.

Conclusions. Letrozole administration to male rats with age-related involution of the reproductive system increases testosterone/estradiol ratio in blood plasma, the spermatozoa contents in epididymises and the weights of androgen-dependent accessory sexual glands. This is accompanied by slowing down of age-related changes of the gonad morphology and prostate gland. Letrozole-induced reproductive effects are reversible.

Однією з провідних ознак старіння чоловічої репродуктивної системи є поступове зменшення продукції тестикулярних андрогенів, передусім тестостерону. Водночас зростає абсолютна або відносна до тестостерону концентрація естрогенів у крові. Ранній віковий дефіцит андрогенів у чоловіків (late-onset hypogonadism – LOH-синдром) спостерігають у 2–15 % випадків [1]. Ця патологія супроводжується сексуальними порушеннями, гіпофертильністю, психологічними, соматичними та нейровегетативними розладами. Її вважають фактором ризику розвитку метаболічного синдрому, серцево-судинних захворювань, цукрового діабету, ожиріння тощо [2–6] і навіть п'ятиразового збільшення смертності порівняно з евгонадними чоловіками [7].

До названих небажаних наслідків призводить і ожиріння, оскільки в жировій тканині відбувається конверсія андрогенних гормонів в естрогени. Синдром естрогенної доміанти спричиняє поглиблення андрогенного дефіциту, адже естрогени зменшують секрецію лютеїнізуючого гормону гіпофіза та рівень вільного тестостерону у крові завдяки підвищенню концентрації глобуліну, що зв'язує статеві гормони.

Замісна терапія препаратами тестостерону є основним методом лікування LOH-синдрому. Поряд із позитивним ефектом вона може мати неочікувані наслідки, як-от зростання естрогенної насиченості організму завдяки метаболічній трансформації екзогенного тестостерону на естрадіол. Такий результат спостерігали у здорових чоловіків із гіпогонадизмом без ожиріння [8,9].

Альтернативою може стати застосування фармакологічних засобів, які гальмують активність ароматази стероїдів, що відповідає за утворення естрогенів з андрогенів. Одним із таких засобів є летрозол, який широко використовують у лікуванні раку грудної залози. Він призводить до уповільнення перетворення ендогенного тестостерону на естрадіол-17 β , а андростендіону – на естрон, що зумовлює зменшення естрогенної насиченості організму. Висока антиароматазна активність летрозолу у складі лікарського засобу Летромара раніше продемонстрована в дослідженнях *in vivo* на самцях щурів та *in vitro* на гомогенатах яєчників [10,11].

Дослідження на здорових чоловіках показали, що інгібітори ароматази летрозол і фадрозол здатні

підвищувати концентрацію тестостерону і зменшувати вміст естрадіолу у крові [12]. Є поодинокі відомості щодо терапевтичної ефективності летрозолу в чоловіків із синдромом естрогенної доміанти та супутньою надлишковою масою жирової тканини, що також пов'язують із підвищенням рівня тестостерону в організмі [13,14]. Отже, застосування летрозолу та інших інгібіторів ароматази стероїдів при LOH-синдромі може бути доцільним [15]. Повідомляли про відновлення сперматогенезу в деяких пацієнтів з оліго- або азооспермією під впливом летрозолу та анастрозолу [16–19] і про суттєве зростання співвідношення рівня тестостерону до естрадіолу у крові чоловіків із гіпофертильністю, зокрема при LOH-синдромі, після застосування цих засобів [19–23].

Враховуючи ймовірну перспективу клінічного застосування летрозолу та відсутність офіційних показань до його застосування в чоловіків при синдромі естрогенної доміанти, ожирінні, гіпофертильності, LOH-синдромі, виникла необхідність експериментальних досліджень на самцях тварин щодо його впливу на органи репродуктивної системи. Відомості фахової літератури з цього питання вкрай обмежені та суперечливі [12,24–26]. Як показали попередні дослідження, введення летрозолу щурам-самцям протягом 2 тижнів стимулює передміхурову залозу та інші андрогензалежні додаткові статеві залози переважно у тварин, які старіють [27].

Мета роботи

Дослідження стану органів репродуктивної системи після тривалого введення летрозолу та його скасування в молодих самців і на тлі інволютивних змін у самців, які старіють.

Матеріали і методи дослідження

Експерименти розпочали на молодих самцях щурів лінії Вістар 5-місячного віку з початковою масою тіла 170–225 г і старіючих щурах 15-місячного віку з початковою масою тіла 220–320 г. За анатомо-фізіологічними характеристиками лабораторних білих щурів, 5-місячний вік вважають молодим, а 15-місяч-

ний – старіючим [28]. Виходячи з того, що у віковій періодизації лабораторних щурів 1 день життя шура дорівнює 52 дням (1,7 місяця) життя людини [29], 5-місячний вік шура відповідає 22 рокам людини, а 15-місячний – 64 рокам.

Тварин утримували у стандартних умовах віварію з вільним доступом до питної води та стандартного корму. Усі дослідження виконали з дотриманням біоетичних вимог і рекомендацій Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 ЕУ щодо експериментів на тваринах, Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують із науковими та іншими експериментальними цілями (Страсбург, 1986 р.) та рекомендацій І Національного конгресу з біоетики (Київ, 2001 р.).

Шляхом рандомізації тварин поділили на 4 групи по 20 тварин у кожній: 1 та 2 група – контрольні та піддослідні молоді тварини (середня маса тіла відповідно $195,25 \pm 3,13$ г і $197,25 \pm 3,37$ г); 3 та 4 група – контрольні та піддослідні тварини, які старіють, (середня маса тіла відповідно $273,15 \pm 5,03$ г і $266,25 \pm 6,24$ г). Піддослідним щурам протягом 3 міс. вводили 1 раз на 2 доби перорально за допомогою шлункового зонда інгібітор ароматази стероїдів летрозолу у формі суспензії в гелі Дорфмана (фізіологічний розчин, що містить 0,5 % натрієвої солі карбоксиметилцелюлози, 0,4 % твіну-80, 0,9 % бензилового спирту). Добова доза летрозолу становила 1 мг/кг маси тіла. Щури контрольної групи одержували гель Дорфмана в адекватному об'ємі. Половину тварин кожної з груп декапітували під легким ефірним наркозом через 24 год після останнього введення препарату, другу половину – через 2 міс. після його скасування, тобто враховуючи повний цикл сперматогенезу.

Вентральну частку передміхурової залози (ВП), коагулюючи залозу (КЗ, передня частка простати), сім'яні пухирці (СП), сім'яники та епідидимиси виділяли, зважували. Фрагменти вентральної простати та сім'яників фіксували в рідині Буена для наступного гістологічного дослідження. У дозованих змивах придатків сім'яників визначали концентрацію сперматозоїдів підрахунком у камері Горяєва.

У плазмі крові визначали вміст тестостерону та естрадіолу імуноферментним методом за допомогою наборів ELISA Testosterone та ELISA Estradiol (DRG, ФРН) та імуноферментного аналізатора Stat Fax (США).

Цифрові дані статистично опрацювали з використанням *t*-критерію Стьюдента. Різницю між досліджуваними показниками у групах досліду та контролю вважали статистично вірогідною при значенні $p \leq 0,05$.

Результати

Щури протягом експерименту набирали вагу й загалом не мали негативних реакцій на введення летрозолу. На час завершення введення летрозолу з різних причин, що не пов'язані з введенням препарату, з дослідження вибули 2 старіючі щури контрольної та 3 – з дослідної групи. Динаміка зміни маси тіла протягом експерименту була однаковою в піддослідних і контрольних тварин.

На час завершення введення летрозолу середня концентрація тестостерону та співвідношення тестостерон/естрадіол у плазмі крові контрольних тварин 18-місячного віку, які визначали у грудні, були більш ніж удвічі меншими, ніж у контрольних у 8-місячному віці. Така вікова різниця відсутня наприкінці лютого, через 2 міс. після відміни препарату. Вміст естрадіолу в контрольних тварин різного віку не відрізнявся (рис. 1, 2).

Застосування летрозолу не призводило до вірогідних змін рівня кожного з досліджених гормонів у плазмі крові як молодих, так і старіючих тварин через великий діапазон коливань. Співвідношення тестостерон/естрадіол у старіючих самців зросло в середньому на 69 %, але ця різниця не досягла рівня вірогідності.

Через 2 міс. після скасування летрозолу досліджені гормональні показники, включаючи співвідношення тестостерон/естрадіол, не відрізнялись від відповідних контрольних значень в обох вікових групах (рис. 1, 2).

Свідченням змін гормонального профілю, що викликані летрозолом, є вміст сперматозоїдів у придатках сім'яника й маса додаткових статевих залоз, яка є інтегральним показником андрогенної насиченості організму, а також морфологічні ознаки активації ендокриноцитів статевих залоз. У молодих тварин після введення летрозолу не спостерігали змін вмісту сперматозоїдів, натомість у старіючих він зростає із $34,3 \pm 2,4$ млн/мл до $44,0 \pm 2,1$ млн/мл середовища ($p < 0,05$) і не відрізнявся від контролю через 2 міс. після скасування препарату.

Гістологічне дослідження статевих залоз молодих самців, які отримували летрозол, порівняно з контролем (рис. 3а) показало окремі помірно збільшені островці інтерстиціальних клітин Лейдига з поодинокими активованими ендокриноцитами, що мали велике ядро й чітке ядрце (рис. 3б). У контролі активованих клітин не було, ймовірно, через сезонну депресію статевої активності (експеримент завершено у грудні). У контрольних старіючих тварин спостерігали характерні вікові зміни морфофункціонального стану гонад, а саме гіперплазію та гіпертрофію клітин Лейдига (рис. 3в) на тлі істотного зменшення продукції тестостерону. У піддослідних старіючих щурів клітини Лейдига за розмірами та кількістю їх в островцях наближались до таких у контрольних молодих тварин. Клітинний склад островців відрізнявся гетерогенністю: поряд з активованими клітинами, що мали нормохромні ядра і вакуолізовану по периферії цитоплазму великого об'єму, наявні дрібні клітини з пікнотичними ядрами та великі ендокриноцити зі зморщеними гіперхромними ядрами (рис. 3г). Останні, ймовірно, набули такої будови через функціональне перенапруження. Загалом стан ендокриноцитів корелює з результатами гормональних аналізів. Через 2 міс. після відміни летрозолу (наприкінці лютого) відбулася сезонна активація клітин Лейдига (рис. 3д, е), і різницю порівняно з відповідними контрольними групами не виявили.

Морфологічна будова сперматогенного шару сім'яних каналців у молодих і старіючих самців не відрізнялись від таких у контрольних тварин як безпосередньо після введення летрозолу, так і через 2 міс. після припинення.

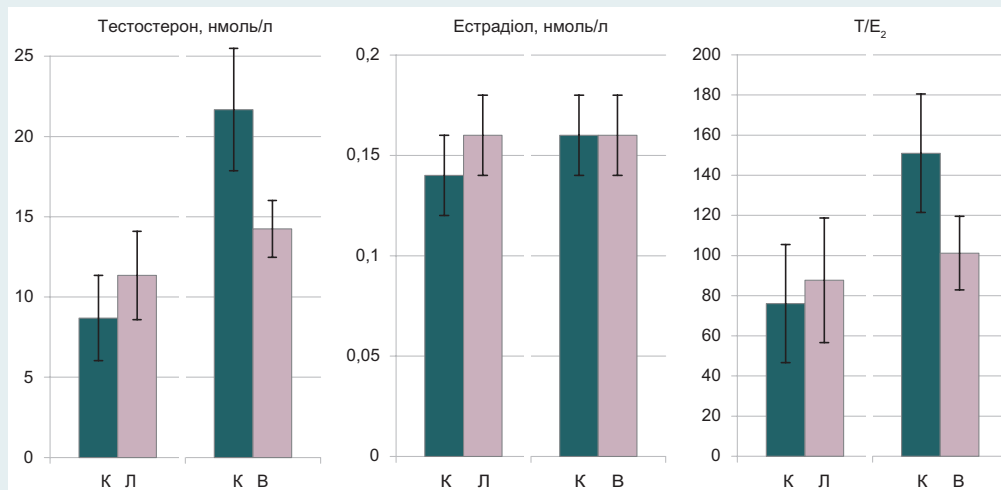


Рис. 1. Вміст статевих гормонів у плазмі крові молодих самців щурів після застосування летрозолу протягом 3 міс. і через 2 міс. після його скасування ($M \pm m$).

К: контроль; Л: летрозол; В: після відміни Л; Т: тестостерон; E_2 : естрадіол.

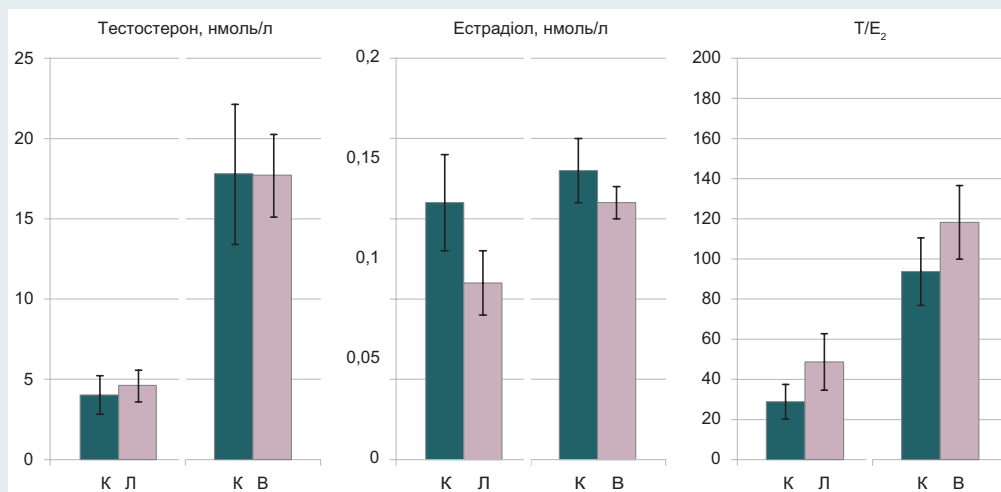


Рис. 2. Вміст статевих гормонів у плазмі крові самців щурів, які старіють, після застосування летрозолу протягом 3 міс. і через 2 міс. після його скасування ($M \pm m$).

К: контроль; Л: летрозол; В: після відміни Л; Т: тестостерон; E_2 : естрадіол.

Таблиця 1. Відносна маса органів репродуктивної системи (мг/100 г маси тіла) контрольних самців щурів різного віку та підслідних тварин, які отримували летрозол у дозі 1 мг/кг протягом 3 міс. ($M \pm m$)

Група тварин	n	Вентральна простата	Коагулююча залоза	Сім'яні пухирці	Епідидиміси	Сім'яники
Молоді щури (8 міс.)						
Контроль	10	100,1 ± 10,4 (48–161)	55,2 ± 4,8 (28–78)	89,0 ± 4,3 (72–114)	356,7 ± 11,2 (310–428)	1158,0 ± 44,8 (990–1404)
Летрозол	10	108,0 ± 27,8 (59–136) p > 0,05	62,3 ± 2,0 (51–71) p > 0,05	90,9 ± 2,5 (78–103) p > 0,05	341,9 ± 7,9 (308–395) p > 0,05	1108,6 ± 39,1 (943–1320) p > 0,05
Щури, які старіють (18 міс.)						
Контроль	8	74,8 ± 10,6 (26–114)	40,6 ± 4,3 (18–48)	68,6 ± 7,5 (43–102)	296,1 ± 20,1 (198–367)	1013,0 ± 52,6 (789–1254)
Летрозол	7	99,7 ± 9,2 (65–121) p > 0,05	56,5 ± 4,0 (40–67) p < 0,05	89,8 ± 3,7 (78–102) p < 0,05	332,3 ± 16,3 (286–407) p > 0,05	1114,3 ± 59,9 (947–1325) p > 0,05

n: кількість тварин у кожній групі; y (): діапазон індивідуальних коливань; p: вірогідність порівняно з контролем.

Таблиця 2. Відносна маса органів репродуктивної системи (мг/100 г маси тіла) в контрольних і підслідних самців щурів різного віку через 2 міс. після відміни летрозолу ($M \pm m$)

Група тварин	n	Вентральна простата	Коагулююча залоза	Сім'яні пухирці	Епідидиміси	Сім'яники
Молоді щури (10 міс.)						
Контроль	10	110,9 ± 6,2 (86–137)	67,3 ± 2,4 (58–80)	85,0 ± 2,3 (74–95)	309,0 ± 9,1 (293–342)	962,7 ± 21,9 (990–1094)
Летрозол	10	121,7 ± 12,2 (87–219) p > 0,05	67,0 ± 3,7 (48–79) p > 0,05	93,8 ± 3,8 (80–119) p > 0,05	295,8 ± 13,1 (197–336) p > 0,05	884,2 ± 53,2 (500–1075) p > 0,05
Старіючі щури (20 міс.)						
Контроль	8	117,6 ± 10,1 (75–178)	71,4 ± 5,6 (48–111)	81,8 ± 2,9 (67–93)	302,2 ± 7,7 (262–341)	929,8 ± 26,9 (787–1026)
Летрозол	7	130,0 ± 12,1 (87–207) p > 0,05	71,9 ± 4,8 (48–105) p > 0,05	96,6 ± 3,7 (81–117) p < 0,01	290,4 ± 9,2 (240–331) p > 0,05	951,7 ± 25,8 (803–1047) p > 0,05

n: кількість тварин у кожній групі; y (): діапазон індивідуальних коливань; p: вірогідність порівняно з контролем.

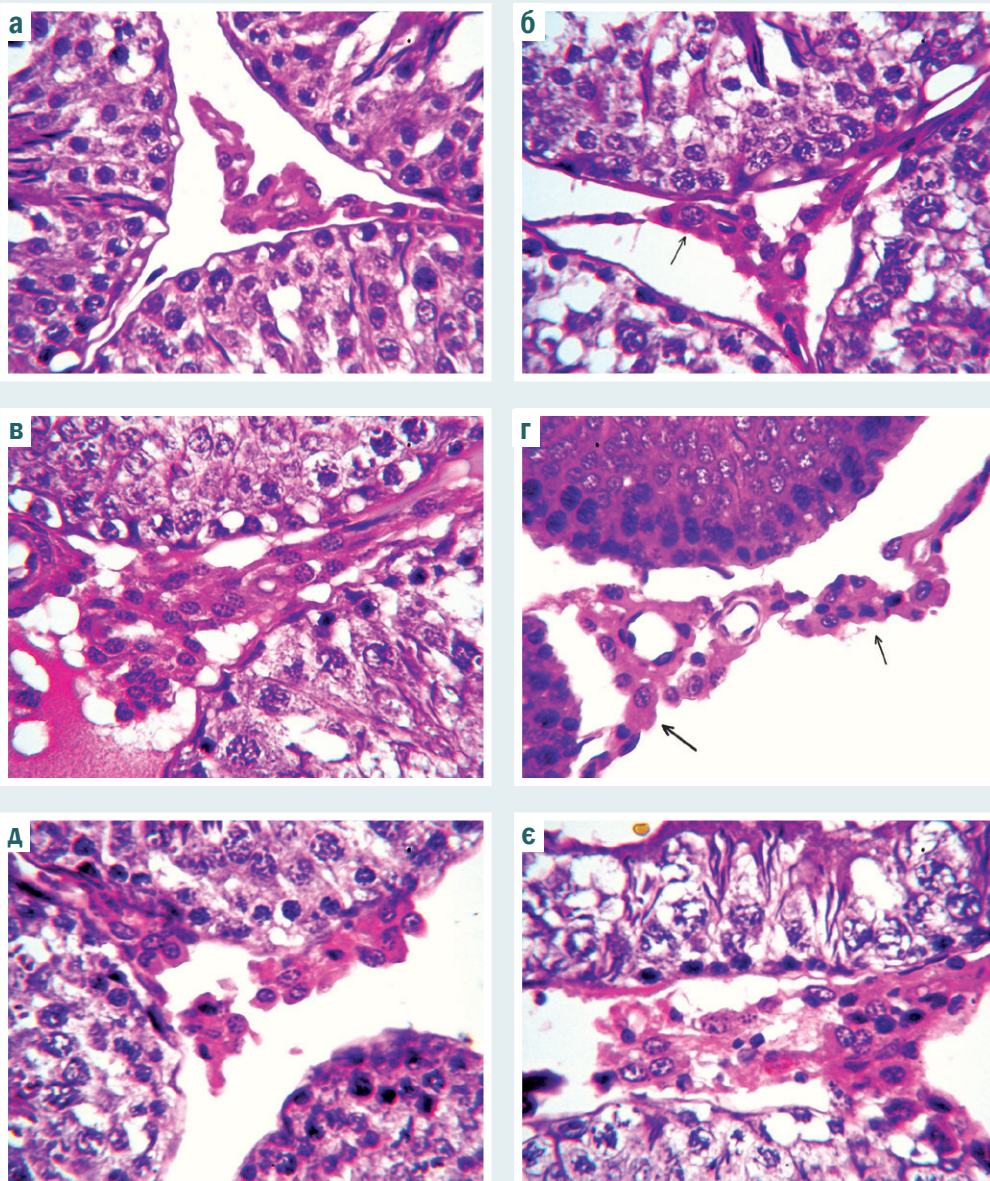


Рис. 3.
Мікроструктура сім'яників щурів:

а: контроль (молоді),
б: летрозол (молоді);
в: контроль (старіючі),
г: летрозол (старіючі),
д: молоді,
е: старіючі через 2 міс.
після скасування летрозолу.

Товста стрілка – активована клітина Лейдіга,
тонка стрілка – інволююча клітина Лейдіга.

Забарвлення гематоксиліном та еозиним. Зб.: об. × 40.

У контрольних тварин відносна маса КЗ, СП та епідидимісів була меншою у самців, які старіють, порівняно з молодими ($p < 0,05$), що свідчить про вікову інволюцію андрогензалежних органів, котра зумовлена віковим дефіцитом тестостерону. Під впливом летрозолу цей показник у старіючих тварин вірогідно зріс і досяг нормальних (контрольних) величин для молодих самців (табл. 1). Відносна маса КЗ у них зростала в середньому на 40 %, СП – на 31 % порівняно з показниками контрольних тварин відповідного віку. Збільшення маси ВП (на 33 %) наближалось до рівня вірогідності, а сумарна відносна маса вентральної та передньої часток простати достовірно збільшувалася з $115,41 \pm 14,46$ мг/100 г маси тіла до $156,10 \pm 11,78$ мг/100 г маси тіла, тобто на 36 % ($p < 0,05$).

На відміну від старіючих, у молодих самців після застосування летрозолу відносна маса органів, які вивчали, не змінювалася порівняно з контрольною групою тварин того самого віку.

Через 2 місяці після скасування препарату відбулося нівелювання різниці показників маси органів статевої системи між дослідом і контролем, крім СП (табл. 2). Отже, летрозол у застосованій дозі та при аналізованій тривалості введення не викликає незворотних змін маси більшості андрогензалежних органів статевої системи.

Гістологічне дослідження показало: в молодих щурів будова ВП відповідала віковій нормі (рис. 4а,б). ВП складалася з великих ацинусів, котрі тісно прилягають один до одного й розділені тонкими прошарками сполучної тканини. У центральній частині ВП переважна частина залоз вистелена кубічним епітелієм, який у кінцевих відділах суттєво вищий, циліндричний, утворював численні папілярні вирости та гребені в порожнину ацинуса. Епітелій мав ознаки високої секреторної активності. Ядра епітеліальних клітин кулясті, чітко оконтуровані, містили частіше одне, інколи 2 ядерця, невелику кількість гетеро-

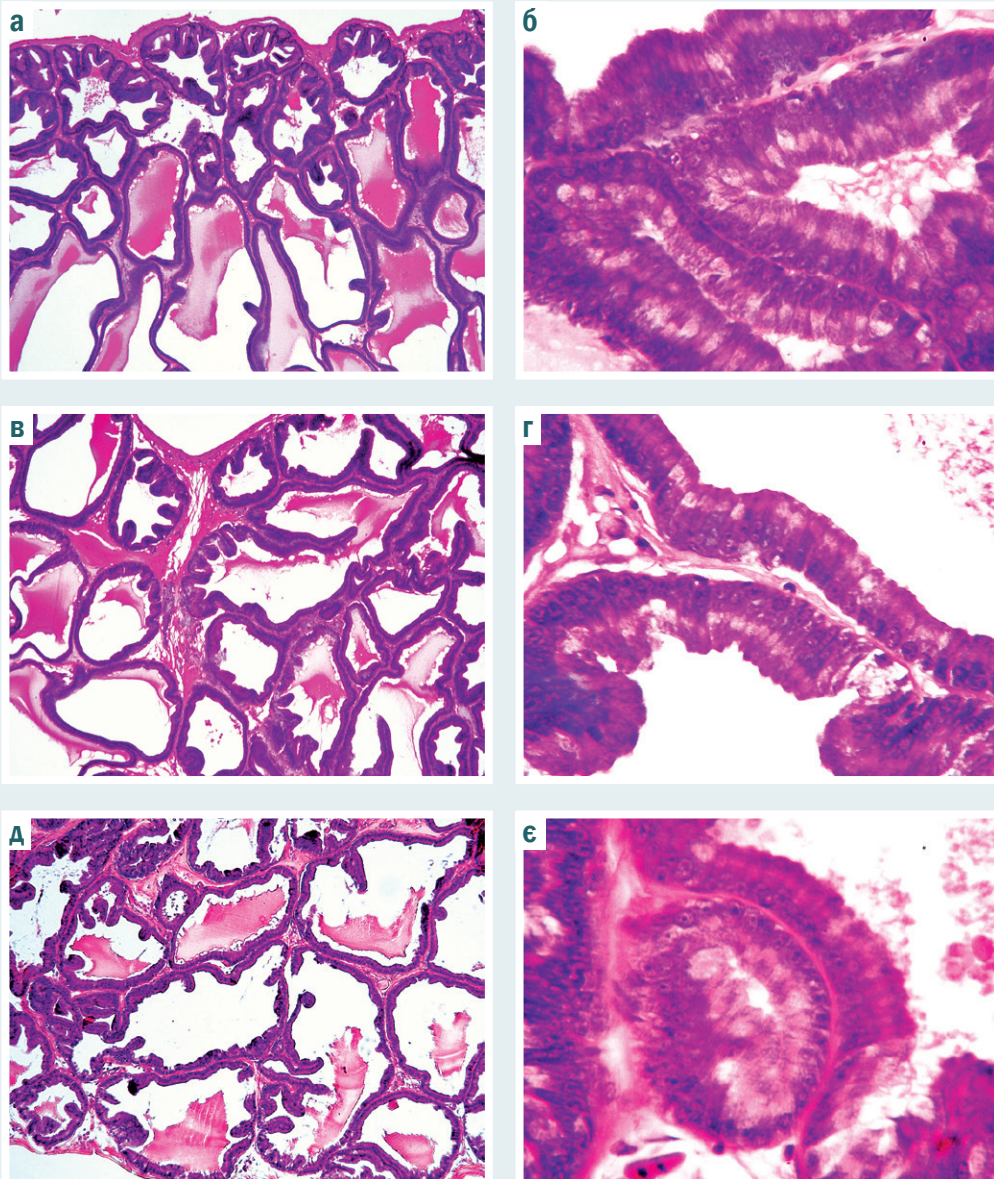


Рис. 4. Мікроструктура
вентральної частки
передміхурової залози
молодих щурів:

а, б: контроль;
в, г: летрозол (1 мг/кг через
день протягом 3 міс.);
д, е: через 2 міс. після скасу-
вання летрозолу.

Забарвлення гематоксиліном
та еозином.

Зб.: а, в, д – об. $\times 4$;
б, г, е – об. $\times 40$.

хроматину та розташовувались у базальній частині клітин. Навколо ядер і в апікальній частині клітин рясно забарвлювалась базофільна зернистість і чітко виділялась оксифільна зона Гольджі. У залозах виявляли дрібнозернистий секрет.

Після застосування летрозолу в дозі 1 мг/кг через день протягом 3 міс. у ВП молодих тварин було більше ацинусів, вистелених циліндричним епітелієм. Розміри їх також нерідко були більшими, ніж у контрольних тварин (рис. 4в). У ВП спостерігали 2 типи змін. З одного боку, у більшості секреторних клітин були ознаки посилення секреторної активності, про що свідчило посилення вакуолізації їхньої цитоплазми, розширення зони Гольджі, утворення опуклих верхівок клітин (рис. 4е). З іншого боку, виявляли ознаки виснаження та дегенерації: світлу цитоплазму, гіперхромні та зморщені ядра. Також в епітелії знаходили апоптотичні тільця. Такі зміни, ймовірно, є наслідком виснаження через гіперфункціонування.

У щурів, які старіють, гістологічна будова ВП також відповідала віковій нормі. На відміну від молодих, їхні залози мали менші розміри ацинусів, підвищено звивисту форму. У порожнині ацинусів часто виявляли «амілоїдні» тільця. Прошарки сполучної тканини значно ширші, ніж у молодих тварин. Переважна частина залоз вистелена плоским епітелієм, але в кінцевих відділах зберігалась частина циліндричних епітеліальних клітин (рис. 5а). Сполучна тканина містила чималу кількість клітин і волокон. Ядра епітеліальних клітин часто гіперхромні, нерідко преформовані, мали дрібні ядерця або не мали їх зовсім. Епітелій інколи мав вигляд двохарового, часто його цитоплазма була гіпохромною, у клітинах визначали ліпофусцин (рис. 5б). У всіх клітинах у цитоплазмі було дуже мало базофільних гранул, зона Гольджі зберігалась лише в окремих клітинах, що свідчить про дуже слабку секреторну активність цих клітин.

Після тримісячного введення летрозолу старіючим щурам розмір ацинусів збільшувався, зменшувалась

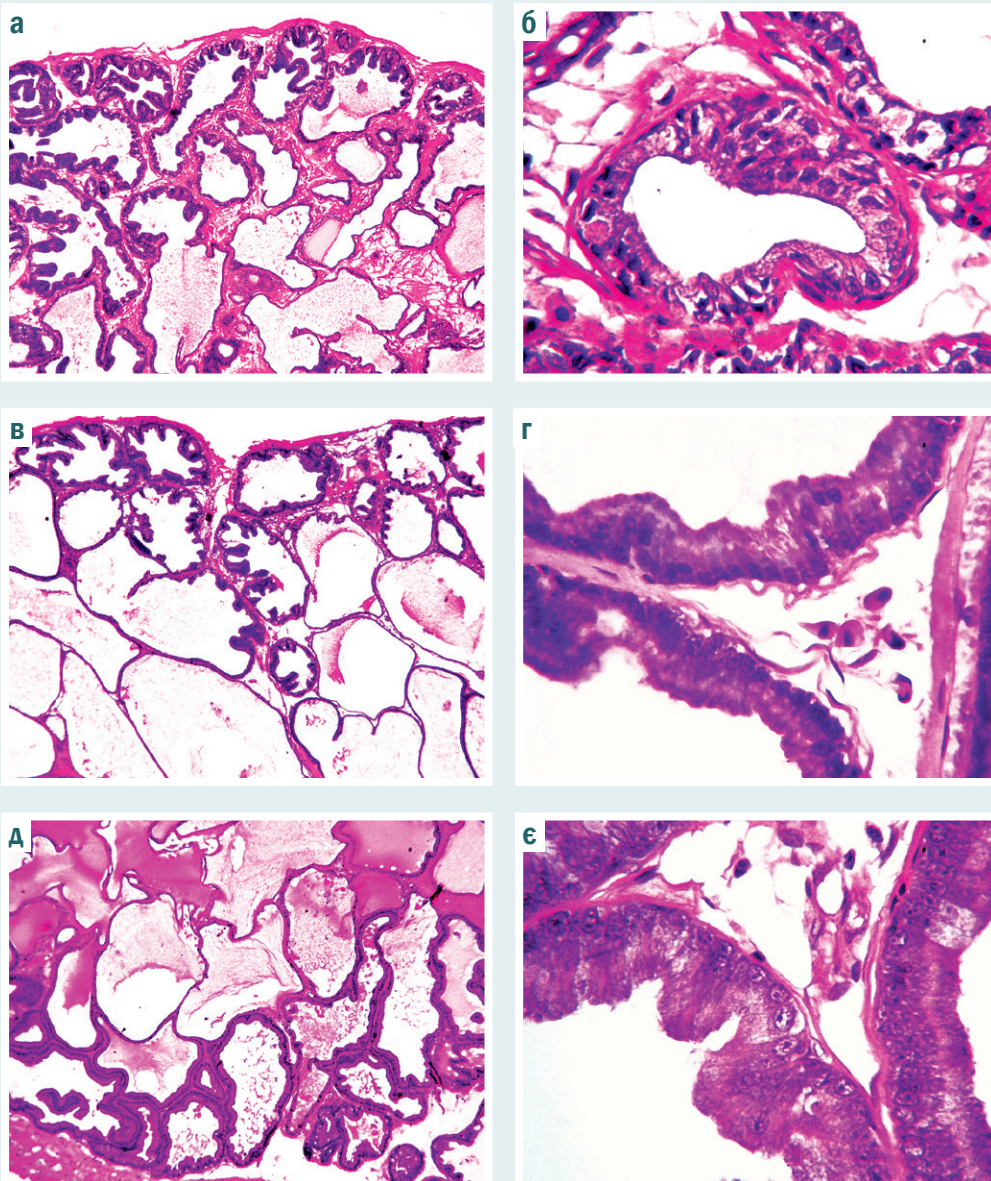


Рис. 5. Мікроструктура вентральної частки передміхурової залози старіючих щурів:

а, б (ліпофусцин в епітеліоцитах, гіперхромні преформовані ядра): контроль;
в, г (циліндричний епітелій нормальної будови): летрозол (1 мг/кг через день протягом 3 міс.);
д, е: через 2 міс. після скасування летрозолу.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.
Зб.: а, в, д – об. $\times 4$;
б, г, е – об. $\times 40$.

звивистість залоз. Зростала кількість секрету в них (рис. 5е). Міоїдні клітини були менш помітними, розтягнутими. Прощарки сполучної тканини тонкі, в основному вони склалися з аморфної речовини. У багатьох кінцевих відділах ВП з'являлись великі папілярні вирости високих циліндричних епітеліальних клітин нормальної будови з нормохромними кулястими ядрами, чіткими ядерцями, рясною базофільною зернистістю та чіткою зоною Гольджі (рис. 5е). Виявили мітози епітеліальних клітин. Загалом описана картина наближалася до такої в молодих самців і свідчила про часткове «омолодження» гістологічної будови залози й активацію секреторних процесів в епітелії при застосуванні летрозолу.

Через 2 міс. після припинення введення летрозолу ВП молодих щурів складалася з великих ацинусів відповідно до сезонної активації статевої системи (рис. 4д). Ацинуси були вистелені високим циліндричним епітелієм із багатьма папілярними виростами в

найбільш секреторно активних кінцевих відділах залоз (рис. 4е) та кубічним епітелієм у центральній зоні. Стан ВП майже не відрізнявся від відповідного контролю.

У тварин, які старіють, через 2 місяці після припинення введення летрозолу також спостерігали сезонну активацію стану ВП (рис. 5д,е) і відсутність різниці з відповідним контролем.

Обговорення

За фізіологічних умов інволютивні зміни репродуктивної системи є наслідками природного процесу старіння й одними з його найбільш чутливих індикаторів. Отримані в дослідженні результати щодо різниці концентрації тестостерону та співвідношення рівнів тестостерону та естрадіолу у плазмі крові молодих і старіючих контрольних щурів, які визначали у грудні, показують старіння репродуктивної системи. Варто відзначити, що ця різниця була відсутня через 2 міс.

після відміни летрозолу, наприкінці лютого, тобто напередодні весни, що ймовірно, пов'язано з сезонною активізацією статевих залоз. Це стосується і вікової різниці гістологічної будови сім'яників, ВП і маси додаткових статевих залоз, крім ВП.

У тварин обох вікових груп не виявили вірогідні зміни рівнів кожного з досліджених статевих гормонів у плазмі крові. Це не виключає зменшення продукції естрадіолу внаслідок гальмування периферичної конверсії тестостерону на естрадіол або синтезу естрогену сім'яниками щурів, як, наприклад, при інгібуванні ароматази анастрозолом [30]. Автори цієї роботи показали, що дводенне введення анастрозолу щурам вірогідно зменшує концентрацію естрадіолу в міжклітинній рідині гонад на тлі відсутності змін у периферичній крові. У нашій роботі показано, що зростання співвідношення тестостерону та естрадіолу у плазмі крові тварин, які старіють, під впливом летрозолу наближалось до межі вірогідності.

Отже, на відміну від чоловіків, гормональна система щурів-самців значно слабше реагує на блокаду ароматази. Наприклад, тільки після 19 тижнів застосування анастрозолу [30] або 15 тижнів введення іншого інгібітора (ворозолу), починаючи з 12-місячного віку [31] спостерігали підвищення рівня тестостерону у крові самців щурів.

Суттєвим аргументом щодо стимулювальної дії тримісячного застосування летрозолу на гонади й андрогензалежні репродуктивні органи є показники їхньої маси та гістологічної будови, передусім у самців, які старіють. Отже, тривале застосування летрозолу збільшує андрогенну насиченість організму старіючих самців щурів, що стимулює відповідні органи. Спричинені ним зміни репродуктивних органів мають зворотний характер.

Висновки

1. За умов перорального введення летрозолу протягом 3 місяців у дозі 1 мг/кг маси тіла 1 раз на 2 доби препарат не викликає побічних ефектів ані в молодих, ані у старіючих самців щурів. Зокрема, він не впливає на масу тіла, поведінку тварин, зовнішній вигляд, споживання їжі, води.

2. Введення летрозолу за наведеною схемою призводить до збільшення андрогенної насиченості організму самців щурів, які старіють, на тлі вікової інволюції органів репродуктивної системи.

3. За усіма дослідженими показниками, через 2 місяці після припинення приймання летрозолу відбувається нівелювання різниці порівняно з контрольними тваринами.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Резніков О. Г., д-р мед. наук, професор, академік НАМН України, чл.-кор. НАН України, зав. відділу ендокринології репродукції та адаптації, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.
Сачинська О. В., канд. біол. наук, провідний науковий співробітник, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

Полякова Л. І., старший науковий співробітник, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

Фалюш О. А., канд. біол. наук, науковий співробітник, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

Янішевський О. В., консультант, ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В. П. Комісаренка НАМН України», м. Київ.

Сведения об авторах:

Резников О. Г., д-р мед. наук, профессор, академик НАМН Украины, чл.-корр. НАН Украины, зав. отделом эндокринологии репродукции и адаптации, ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев.

Сачинская О. В., канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник, ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев.

Полякова Л. И., старший научный сотрудник, ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев.

Фалюш О. А., канд. биол. наук, научный сотрудник, ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев.

Янишевский А. В., консультант, ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В. П. Комиссаренко НАМН Украины», г. Киев.

Information about authors:

Reznikov O. H., MD, PhD, DSc, Professor, Acad. of NAMS of Ukraine, Correspond. Member of NAS of Ukraine, Head of the Department of Endocrinology of Reproduction and Adaptation, V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, NAMS of Ukraine, Kyiv.

Sachynska O.V., PhD in Biology, Leading Researcher, V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, NAMS of Ukraine, Kyiv.

Poliakova L.I., Senior Researcher, V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, NAMS of Ukraine, Kyiv.

Faliush O. A., PhD in Biology, Researcher, V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, NAMS of Ukraine, Kyiv.

Yanishevskiy O.V., Consultant, V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism, NAMS of Ukraine, Kyiv.

Надійшла до редакції / Received: 27.07.2018

Після доопрацювання / Revised: 28.10.2018

Прийнято до друку / Accepted: 02.11.2018

Список літератури

- [1] Rastrelli G. Pharmacological management of late-onset hypogonadism / G. Rastrelli, M. Maggi, G. Corona // *Expert Rev Clin Pharmacol.* – 2018. – Vol. 11. – Issue 4. – P. 439–458.
- [2] Лучицький Є.В. Сучасні погляди на віковий андрогенодефіцит у чоловіків / Є.В. Лучицький, В.С. Лучицький // *Ендокринологія.* – 2012. – №4. – С. 56–60.
- [3] Резников А.Г. Взгляд патолофизиолога-эндокринолога на проблему возрастного дефицита андрогенов у мужчин (LOH-синдром) / А.Г. Резников // *Міжнародний ендокринологічний журнал.* – 2014. – Т. 6. – №62. – С. 11–18.
- [4] Ahmed K. Male Sexual Dysfunction and Hypogonadism Guidelines for the Aging Male / K. Ahmed, K. Hatzimouratidis, A. Muneer // *Eur Urol Focus.* – 2017. – Vol. 3. – Issue 4–5. – P. 514–516.
- [5] Decaroli M.C. Aging and sex hormones in males / M.C. Decaroli, V. Rochira // *Virulence.* – 2017. – Vol. 8. – Issue 5. – P. 545–570.
- [6] Low Testosterone Levels and Metabolic Syndrome in Aging Male / R. Blaya, P. Blaya, L. Rhoden, E.L. Rhoden // *Curr Pharm Des.* – 2017. – Vol. 23. – Issue 30. – P. 4470–4474.
- [7] Late-onset hypogonadism and mortality in aging men / S.R. Pye, I.T. Huhtaniemi, J.D. Finn, et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – Vol. 99. – Issue 4. – P. 1357–1366.
- [8] Rhoden E.L. Risks of testosterone-replacement therapy and recommendations for monitoring / E.L. Rhoden, A. Morgentaler // *New England J. Med.* – 2004. – Vol. 350. – Issue 5. – P. 482–492.

- [9] Testosterone therapy in adult men with androgen deficiency syndromes: an endocrine society clinical practice guideline / S. Bhasin, G.R. Cunningham, F.J. Hayes, et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2006. – Vol. 91. – Issue 6. – P. 1995–2010.
- [10] Первый в Украине успешный опыт применения биоэвейвера для экспертной оценки лекарственного средства (Летромара) / А.И. Соловьев, А.Г. Резников, Л.В. Тарасенко, и др. // *Журнал АМН Украины.* – 2006. – Т. 12. – Issue 4. – С. 781–793.
- [11] Тарасенко Л.В. Патогенетична роль оваріальної ароматази стероїдів у розладах статевіої циклічності / Л.В. Тарасенко, О.Г. Резніков // *Фізіологічний журнал.* – 2007. – Т. 53. – №1. – С. 11–15.
- [12] Inhibition of estrogen biosynthesis and its consequences on gonadotrophin secretion in the male / A.S. Bhatnagar, P. Muller, L. Schenkel, et al. // *J Steroid Biochem Mol Biol.* – 1992. – Vol. 41. – P. 437–443.
- [13] Letrozole normalizes serum testosterone in severely obese men with hypogonadotropic hypogonadism / H. de Boer, L. Verschoor, J. Ruinemens-Koerts, et al. // *Diabetes, Obesity and Metabolism.* – 2005. – Vol. 7. – Issue 3. – P. 211–215.
- [14] Loves S. Letrozole once a week normalizes serum testosterone in obesity-related male hypogonadism / S. Loves, J. Ruinemens-Koerts, H. de Boer // *European J. Endocrinol.* – 2008. – Vol. 158. – Issue 5. – P. 741–747.
- [15] De Ronde W. Aromatase inhibitors in men: effects and therapeutic options / W. de Ronde, F.H. de Jong // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2011. – Vol. 9. – P. 93.
- [16] Successful use of aromatase inhibitor letrozole in NOA with an elevated FSH level: a case report / D. Zhao, L. Pan, F. Zhang, et al. // *Andrologia.* – 2014. – Vol. 46. – Issue 4. – P. 456–457.
- [17] Aromatase inhibitors in the treatment of oligozoospermic or azoospermic men: a systematic review of randomized controlled trials / M.A. Ribeiro, L.F. Gameiro, W.R. Scarano, et al. // *JBRA Assist Reprod.* – 2016. – Vol. 20. – Issue 2. – P. 82–88.
- [18] Letrozole Therapy for Obstructive Azoospermic Men before in vitro Fertilization (IVF) treatment with Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration / M. Bibancos, M. Cavagnoli, T.C. Bonetti, et al. // *JBRA Assist Reprod.* – 2015. – Vol. 19. – Issue 4. – P. 230–234.
- [19] Changes in hormonal profile and seminal parameters with use of aromatase inhibitors in management of infertile men with low testosterone to estradiol ratios / O. Gregoriou, P. Bakas, C. Grigoriadis, et al. // *Fertil Steril.* – 2012. – Vol. 98. – Issue 1. – P. 48–51.
- [20] Effects of aromatase inhibition in elderly men with low or borderline-low serum testosterone levels / B.Z. Leder, J.L. Rohrer, S.D. Rubin, et al. // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2004. – Vol. 89. – Issue 3. – P. 1174–1180.
- [21] Effects of aromatase inhibition in hypogonadal older men: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial / S.A. Burnett-Bowie, K.C. Roupelian, M.E. Dere, et al. // *Clinical Endocrinology.* – 2009. – Vol. 70. – Issue 3. – P. 116–123.
- [22] Schlegel P.N. Aromatase inhibitors for male infertility / P.N. Schlegel // *Fertil Steril.* – 2012. – Vol. 98. – Issue 6. – P. 13559–13562.
- [23] Tan R.B. Clinical Use of Aromatase Inhibitors in Adult Males / R.B. Tan, A.T. Guay, W.J. Hellstrom // *Sex Med Rev.* – 2014. – Vol. 2. – Issue 2. – P. 79–90.
- [24] Haynes B.P., Dowsett M., Miller W.R. et al. The pharmacology of letrozole // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* – 2003. – 87, № 1. – P. 35–45.
- [25] Assessment of a nonsteroidal aromatase inhibitor, letrozole, in juvenile rats / L. Pouliot, M. Schneider, M. De Cristofaro, et al. // *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* – 2013. – Vol. 98. – Issue 5. – P. 374–390.
- [26] Selim M.E. Evaluation of the possible protective role of quercetin on letrozole-induced testicular injury in male albino rats / M.E. Selim, N.A. Aleisa, M.H. Daghestani // *Ultrastruct Pathol.* – 2013. – Vol. 37. – Issue 3. – P. 204–217.
- [27] Вікові особливості реакції репродуктивної системи самців шурів на летрозол / О.Г. Резніков, Л.В. Чайковська, Л.І. Полякова та ін. // *Ендокринологія.* – 2015. – Т. 20. – № 1. – С. 425–430.
- [28] Западнюк И.П. Лабораторные животные / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария. – К., 1974. – С. 21–26.
- [29] Гелашвили О.А. Вариант периодизации биологически сходных стадий онтогенеза человека и крысы / О.А. Гелашвили // *Саратовский научно-медицинский журнал.* – 2008. – Т. 4. – №22. – С. 125–126.
- [30] Effect of chronic administration of an aromatase inhibitor to adult male rats on pituitary and testicular function and fertility / K.J. Turner, M. Morley, N. Atanassova, et al. // *J Endocrinol.* – 2000. – Vol. 164. – Issue 2. – P. 225–238.
- [31] Skeletal effects of estrogen deficiency as induced by an aromatase inhibitor in an aged male rat model / D. Vanderschueren, S. Boonen, A.G. Ederveen, et al. // *Bone.* – 2000. – Vol. 27. – Issue 5. – P. 611–617.
- [2] Luchtytsky, Ye. V., & Luchtytsky, V. Ye. (2012). Suchasni pohliady na vikovyi androhenodefitsyt u cholovikiv [Modern concept of age androgen-deficiency in males]. *Endokrynologia*, 4, 56–60. [in Ukrainian].
- [3] Reznikov, A. G. (2014). Vzgljad patofiziologa-e'ndokrinologa na problemu vozrastnogo deficita androgenov u muzhchin (LOH-sindrom) [The point of view of pathophysiological endocrinologist on the problem of age-related androgen deficiency in men (LOH-syndrome)]. *Mizhnarodnyi endokrynolohichnyi zhurnal*, 6(62), 11–18. [in Russian].
- [4] Ahmed, K., Hatzimouratidis, K., & Muneer, A. (2017). Male Sexual Dysfunction and Hypogonadism Guidelines for the Aging Male. *Eur Urol Focus*, 3(4-5), 514–516. doi: 10.1016/j.euf.2017.12.004.
- [5] Decaroli, M. C., & Rochira, V. (2017). Aging and sex hormones in males. *Virulence*, 8(5), 545–570. doi: [10.1080/21505594.2016.1259053].
- [6] Blaya, R., Blaya, P., Rhoden, L., & Rhoden, E. L. (2017). Low Testosterone Levels and Metabolic Syndrome in Aging Male. *Curr Pharm Des*, 23(30), 4470–4474. doi: 10.2174/1381612823666170503150955.
- [7] Pye, S. R., Huhtaniemi, I. T., Finn, J. D., Lee, D. M., O'Neill, T. W., Tajar, A., et al. (2014). Late-onset hypogonadism and mortality in aging men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 99(4), 1357–1366. doi: 10.1210/jc.2013-2052.
- [8] Rhoden, E. L., & Morgentaler, A. (2004). Risks of testosterone-replacement therapy and recommendations for monitoring. *New England J. Med.*, 350(5), 482–492. doi: 10.1056/NEJMr022251.
- [9] Bhasin, S., Cunningham, G. R., Hayes, F. J., Matsumoto, A. M., Snyder, P. J., Swerdloff, R. S., & Montori, V. M. (2006). Testosterone therapy in adult men with androgen deficiency syndromes: an endocrine society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 91(6), 1995–2010. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-2847>.
- [10] Solov'ev, A. I., Reznikov, A. G., Tarasenko, L. V., & Margitich, V. M. (2006). Pervyj v Ukraine uspeshnyj opyt primeneniya bioeveyvera dlya ekspertnoj ocenki lekarstvennogo sredstva (Letromara) [The first successful bioaiver application in Ukraine for the expert evaluation of a medicinal product (Letromara)]. *Zhurnal AMN Ukrainy*, 12(4), 781–793. [in Russian].
- [11] Tarasenko, L. V., & Reznikov, O. G. (2007). Patohenetychna rol ovarialnoi aromatazy steroidiv u rozladdakh stativoi tsyklichnosti [Pathogenetic role of ovarian steroid aromatase in disorders of sexual cycle]. *Fiziolohichnyi zhurnal*, 53(1), 11–15. [in Ukrainian].
- [12] Bhatnagar, A. S., Muller, P., Schenkel, L., Trunet, P. F., Beh, I., & Schieweck, K. (1992). Inhibition of estrogen biosynthesis and its consequences on gonadotrophin secretion in the male. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 41(3–8), 437–443. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(92\)90369-T](https://doi.org/10.1016/0960-0760(92)90369-T).
- [13] De Boer, H., Verschoor, L., Ruinemens-Koerts, J., & Jansen, M. (2005). Letrozole normalizes serum testosterone in severely obese men with hypogonadotropic hypogonadism. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 7(3), 211–215. doi: 10.1111/j.1463-1326.2004.00397.x
- [14] Loves, S., Ruinemens-Koerts, J., De Boer, H. (2008). Letrozole once a week normalizes serum testosterone in obesity-related male hypogonadism. *European J. Endocrinol.*, 158(5), 741–7. doi: 10.1530/EJE-07-0663.
- [15] De Ronde, W., & De Jong, F. H. (2011). Aromatase inhibitors in men: effects and therapeutic options. *Reprod Biol Endocrinol.*, 9, 93. doi: 10.1186/1477-7827-9-93.
- [16] Zhao, D., Pan, L., Zhang, F., Pan, F., Ma, J., Zhang, X., & Liu, Y. (2014). Successful use of aromatase inhibitor letrozole in NOA with an elevated FSH level: a case report. *Andrologia*, 46(4), 456–457. doi: 10.1111/and.12122.
- [17] Ribeiro, M.A., Gameiro, L. F., Scarano, W. R., Briton-Jones, C., Kapoor, A., Rosa, M. B., & El Dib, R. (2016). Aromatase inhibitors in the treatment of oligozoospermic or azoospermic men: a systematic review of randomized controlled trials. *JBRA Assist Reprod.*, 20(2), 82–88. doi: 10.5935/1518-0557.20160019.
- [18] Bibancos, M., Cavagnoli, M., Bonetti, T. C., Semaco, E., Motta, E. L., & Serafini, P. C. (2015). Letrozole Therapy for Obstructive Azoospermic Men before in vitro Fertilization (IVF) treatment with Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration. *JBRA Assist Reprod.*, 19(4), 230–234. doi: 10.5935/1518-0557.20150045.
- [19] Gregoriou, O., Bakas, P., Grigoriadis, C., Creatsa, M., Hassiakos, D., & Creatsas, G. (2012). Changes in hormonal profile and seminal parameters with use of aromatase inhibitors in management of infertile men with low testosterone to estradiol ratios. *Fertil Steril*, 98(1), 48–51. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.04.005.
- [20] Leder, B. Z., Rohrer, J. L., Rubin, S. D., Gallo, J., & Longcope, C. (2004). Effects of aromatase inhibition in elderly men with low or borderline-low serum testosterone levels. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(3), 1174–1180. doi: 10.1210/jc.2003-031467.
- [21] Burnett-Bowie, S. A., Roupelian, K. C., Dere, M. E., Lee, H., & Leder, B. Z. (2009). Effects of aromatase inhibition in hypogonadal older men: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clinical Endocrinology*, 70(1), 116–123. doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03327.x.
- [22] Schlegel, P. N. (2012). Aromatase inhibitors for male infertility. *Fertil Steril*, 98(6), 13559–13562. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.10.023.
- [23] Tan, R. B., Guay, A. T., & Hellstrom, W. J. (2014). Clinical Use of Aromatase Inhibitors in Adult Males. *Sex Med Rev*, 2(2), 79–90. doi: 10.1002/smj.23.

References

- [1] Rastrelli, G., Maggi, M., & Corona, G. (2018). Pharmacological management of late-onset hypogonadism. *Expert Rev Clin Pharmacol.*, 11(4), 439–458. doi: 10.1080/17512433.2018.1445969.

- [24] Haynes, B. P., Dowsett, M., Miller, W. R., Dixon, J. M., & Bhatnagar A. S. (2003). The pharmacology of letrozole. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 87(1), 35-45.
- [25] Pouliot, L., Schneider, M., DeCristofaro, M., Samadifam, R., Smith, S. Y., & Beckman, D. A. (2013). Assessment of a nonsteroidal aromatase inhibitor, letrozole, in juvenile rats. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 98(5), 374–390. doi: 10.1002/bdrb.21080.
- [26] Selim, M. E., Aleisa, N. A., & Daghestani, M. H. (2013). Evaluation of the possible protective role of quercetin on letrozole-induced testicular injury in male albino rats. *Ultrastruct Pathol*, 37(3), 204–217. doi: 10.3109/01913123.2013.772269.
- [27] Reznikov, O. G., Chaikovska, L. V., Polyakova, L. I., Sachynska, O. V., Yanishevsky, O. V. (2015). Vikovi osoblyvosti reaktsii reproduktyvnoi systemy samtsiv shhuriv na letrozol [Age-related peculiarities of the response of male rat reproductive system to letrozole]. *Endokrynolohia*, 20(1), 425–430. [in Ukrainian].
- [28] Zapadnyuk, I. P., Zapadnyuk, V. I., & Zakhariya, E. A. (1974) *Laboratornye zhyvotnye [Laboratory animals]*. Kyiv. [in Russian].
- [29] Gelashvily, O. A. (2008). Variant periodizatsii biologicheskii skhodnykh stadij ontogeneza cheloveka i krysy [Variant of periodization of biologically similar stages of human and rat's ontogenesis]. *Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal*, 4(22), 125–126. [in Russian].
- [30] Turner, K. J., Morley, M., Atanassova, N., Swanston, I. D., Sharpe, R. M. (2000). Effect of chronic administration of an aromatase inhibitor to adult male rats on pituitary and testicular function and fertility. *J Endocrinol.*, 162(2), 225–238.
- [31] Vanderschueren, D., Boonen, S., Ederveen, A. G., de Coster, R., Van Herck, E., Moermans, K., et al. (2000). Skeletal effects of estrogen deficiency as induced by an aromatase inhibitor in an aged male rat model. *Bone*, 27(5), 611–617.

Characteristics of the nitric oxide system indicators in the left ventricle myocardium in SHR

Yu. M. Kolesnyk, M. I. Isachenko, O. V. Melnikova, T. A. Hrekova

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Key words:

NOS isoforms, nitric oxide synthase, ventricular remodeling, left ventricle, heart, essential hypertension, rats, SHR.

Pathologia

2018; 15 (3), 278–283

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.3.151670

E-mail:

fedotova@zsmu.pp.ua

The aim was to determine the morpho-functional parameters of the left ventricular myocardium NO system in the rats with essential hypertension (SHR line).

Material and methods. We used a combination of modern highly informative methods, namely: research of NOS isoform profile (nNOS, iNOS eNOS) in the myocardial slices along with an assessment of their synthesis and expression of the corresponding mRNA; NO derived nitrites level determination directly in the myocardium homogenates and concentration of nitrotyrosine in blood plasma of rats.

The results of the performed studies have shown that high blood pressure in the SHR was accompanied by a significant increase in the concentrations of all three NOS isoforms in the myocardium and increased expression of their mRNA. Higher concentration of nitrites by 18.8 % was detected in the SHR group compared with the control animals. The concentration of nitrotyrosine in blood plasma of rats with essential hypertension was also increased by 25 %.

Conclusions. The predominance of IRM to constitutive isoforms of NOS with low IRM content to iNOS was noted in the myocardium of the control group rats while in SHR rats higher IRM values were marked for all NOS isoforms. The formation of hypertension is accompanied by high content of NO end metabolites and the development of systemic nitroso-oxidative stress with the increase of nitrotyrosine concentration.

Ключові слова:

ізоформи NOS, синтаза оксиду азоту, ремоделювання шлуночка серця, лівий шлуночок, серце, есенціальна артеріальна гіпертензія, щурів, SHR.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 3(44). – С. 278–283

Характеристика показників системи оксиду азоту в міокарді лівого шлуночка в щурів лінії SHR

Ю. М. Колесник, М. І. Ісаченко, О. В. Мельнікова, Т. А. Грекова

Мета роботи – визначення морфофункціональних показників системи NO міокарда лівого шлуночка в щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією (лінії SHR).

Матеріали та методи. Використали комплексний підхід із застосуванням сучасних і високоінформативних методів: дослідження у зрізах міокарда ізоформного профілю NOS (nNOS, iNOS eNOS) з оцінюванням їхнього синтезу за експресією відповідних мРНК; визначення рівня кінцевого метаболіту NO-нітритів безпосередньо в гомогенатах міокарда й концентрації нітротирозину у плазмі крові щурів.

Результати. Показано, що формування стійкого підвищення артеріального тиску в щурів лінії SHR супроводжувалося вірогідним збільшенням у зрізах міокарда концентрацій усіх ізоформ NOS і збільшенням показників експресії їх мРНК. У групі SHR встановлена вища концентрація нітритів (на 18,8 %) порівняно з показником контрольних тварин. Щодо концентрації нітротирозину у плазмі крові щурів, то у групі щурів з есенціальною артеріальною гіпертензією також встановили збільшення показника на 25 %.

Висновки. У щурів контрольної групи в міокарді виявили переважання IPM до конститутивних ізоформ NOS із низьким значенням вмісту IPM до iNOS, а в щурів SHR встановили вищий вміст IPM до всіх ізоформ NOS. Формування артеріальної гіпертензії супроводжується збільшенням вмістом кінцевих метаболітів NO та формуванням системного нітросо-оксидативного стресу з підвищенням концентрації нітротирозину.

Ключевые слова:

изоформы NOS, синтаза оксида азота, ремоделирование сердца желудочка, левый желудочек, сердце, эссенциальная артериальная гипертония, крысы, SHR.

Патология. – 2018. –

Т. 15, № 3(44). – С. 278–283

Характеристика показателей системы оксида азота в миокарде левого желудочка у крыс линии SHR

Ю. М. Колесник, М. И. Исаченко, О. В. Мельникова, Т. А. Грекова

Цель работы – определение морфофункциональных показателей системы NO миокарда левого желудочка у крыс с эссенциальной артериальной гипертонией (линии SHR).

Материалы и методы. Применили комплексный подход с использованием современных и высокоинформативных методов: исследование в срезах миокарда изоформного профиля NOS (nNOS, iNOS eNOS) с оценкой их синтеза и экспрессии соответствующих мРНК; определение уровня конечного метаболита NO-нитритов непосредственно в гомогенатах миокарда и концентрации нитротирозина в плазме крови крыс.

Результаты. Показано, что формирование стойкого повышения артериального давления у крыс линии SHR сопровождалось достоверным увеличением в срезах миокарда концентраций всех изоформ NOS и увеличением показателей экспрессии их мРНК. В группе SHR установлена более высокая концентрация нитритов (на 18,8 %) по сравнению с показателем контрольных животных. Что касается концентрации нитротирозина в плазме крови крыс, то в группе крыс с эссенциальной артериальной гипертонией установлено увеличение показателя на 25 %.

Выводы. У крыс контрольной группы в миокарде отмечено преобладание ИПМ к конститутивным изоформам NOS с низким значением содержания ИПМ к iNOS, а у крыс SHR установлено более высокое содержание ИПМ ко всем изоформам NOS. Формирование АГ сопровождается увеличенным содержанием конечных метаболитов NO и формированием системного нитрозо-оксидативного стресса с повышением концентрации нитротирозина.

Today it is well known that the development of arterial hypertension (AH) is accompanied by endothelial dysfunction [1]. Increased blood pressure in arterial hypertension begins due to hyperepinephrinemia which leads to angiospasm. The result is an increase in total peripheral vascular resistance, an increase in heart rate, stroke volume and cardiac output. In the case of prolonged maintenance of such angiospasm, irreversible morpho-functional changes in the vessel wall (its thickening, decrease of elasticity, dilation and increase in rigidity index) are formed. The nitric oxide system (NO) plays an essential role in this event. Endothelial dysfunction is formed both through lack of nitric oxide and reduction of its bioavailability as well as by its hyperproduction, as a result of oxidative stress [2]. The main source of NO is the nitric oxide synthase enzyme (NOS), represented by three isoforms: neuronal (nNOS), inducible (iNOS), and endothelial (eNOS). Depending on the type of activated isoform, its amount and activity the effect of NO – either vasodilation or vasoconstriction and cell damage will be realized [3]. Thus, the NOS isoforms can be considered as a key factor in NO effects regulation, acting as a protective or aggressive agent, which disturbs the function and damages the cardiovascular system [4].

The target organ, which is one of the first to response to hemodynamic overload during arterial hypertension, is the heart. At the same time, remodeling of the left ventricle develops at the preclinical stage, initially as a component of high blood pressure (BP) compensation and later after the exhaustion of physiological adaptive mechanisms, as an element of pathological myocardial remodeling (PMR) [5]. It has been established that the development of hypertrophy with the interstitial fibrosis and initiation of apoptosis in cardiomyocytes make the basis of PMR pathogenesis. Other components of PMR are those processes similar to endothelial dysfunction, which are termed as myocardial dysfunction [6]. Moreover, these processes mutually reinforce each other. Violations of cardiac muscle contraction, energy supply and innervation of cardiomyocytes occur as a result of the myocardial dysfunction development. These particular processes are influenced by the universal regulatory gasotransmitter NO, formation of which is controlled by NOS isoforms. However, the insufficient clarity of the nitric oxide system role in hypertension, the uncertainty in peculiarities of the NOS isoforms profile in the myocardium in different etiological forms of arterial hypertension, require an in-depth research and conduction an experimental study.

We encountered a large number of contradictory and conflicting data while planning the experiment and analyzing the data of other scientists. In our opinion, this is due to the fact that most of scientists focus their study on the one method of research (more often *in vitro*) or determine a limited number of parameters.

The aim

That is why, in order to achieve the intended goal to determine the morpho-functional parameters of the left ventricular myocardium NO system in the rats with essential hypertension (SHR line), an integrated approach was chosen. We used modern highly informative methods, namely: analysis of NOS isoform profile (nNOS, iNOS eNOS) in myocardial slices with their synthesis estimation by expression of the corresponding mRNA; determination of NO derived nitrites level directly in the myocardium homogenates. We also studied nitrotyrosine concentration in blood plasma of rats in order to prove the presence of oxidative stress.

Materials and methods

The experiment was conducted in 20 male rats 220–290 g weight, 6–10 months old which were divided into 2 experimental groups: the control group (10 intact normotensive male Wistar rats) and the experimental group – 10 male SHR (a model of essential hypertension).

The experimental part of the study was carried out exactly according to the National “Common Ethical Principles of Animal Experiments” (Ukraine, 2001), which are in accordance with the Directive 2010 / 63EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. The protocol of the study is agreed with the local ethics committee (from March 1, 2018). The experiment was conducted on the basis of the Training Medical Laboratory Center of the Zaporizhzhia State Medical University (certificate of registration No. 039/14 dated June 25, 2014, valid until June 24, 2019). All devices used for study are certificated and undergo annual metrological control (Laboratory of Experimental Pathophysiology, License 2CK2 YMK2 T6PB SG5N SJLS4).

Systolic and diastolic BP levels were measured in all the rats using a system of non-invasive arterial pressure measurement BP-2000 (Visitech Systems, USA). The first measurement of BP was carried out at the time of groups formation, and then on the 1st, 5th, 10th, 15th, 21st and 30th days of the experiment. After a series of blood pressure measurements (at least 7–10 registrations with intervals of 1.5–2 minutes), mean blood pressure (mBP) was obtained. It was calculated automatically in accordance with the manufacturer's instructions by the formula: $mBP = (2(diastolic\ pressure) + systolic\ pressure)/3$. Mean BP was 83.8 ± 0.96 mm Hg in the control group rats and 125.8 ± 1.12 mm Hg in SHR.

Animals were euthanized via rapid decapitation after thiopental anesthesia (45 mg/kg body weight, intraperitoneally).

The study objects in the experimental animals were blood plasma, in which the nitrotyrosine level was determined, and the left ventricle fragment, which was divided into two parts, one of which was homogenized using a

Silent Crusher S homogenizer (Heidolph, Germany), the second fragment of the heart after standard histological preparation was fixed in paraplast blocks and then serially sectioned into 5 μm -thick slices using a rotary microtome Microm-325 (MicromCorp, Germany).

Concentration of immunoreactive material to NOS isoforms was determined with immunofluorescence method in accordance with the protocol of immunohistochemical study and manufacturer's instructions [7].

To study nNOS and eNOS expression serial slices after procedure of deparaffinization and rehydration were incubated for 1 day at $T = +4^\circ\text{C}$ with primary polyclonal rabbit anti-nNOS and anti-eNOS antibodies, respectively, (1: 200; Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA). After rinsing with 0,1 M phosphate buffer ($\text{pH} = 7.2$) sections were incubated for 45 minutes in a humid chamber at $T = +37^\circ\text{C}$ with the secondary FITC-conjugated rabbit anti-mouse antibodies (1: 200; Santa Cruz Biotechnology, Inc.). To determine the iNOS expression, the slices of the myocardium were incubated with monoclonal FITC-conjugated mouse antibodies against iNOS (1: 200; Santa Cruz Biotechnology, Inc.).

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

The study of NOS mRNA isoforms expression in the left ventricular myocardium homogenates was carried out using a real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) in the Department of Molecular Genetic Researches of the Training Medical Laboratory of ZSMU. [8]. Total RNA was isolated from the myocardium tissue using Trizol RNA Prep 100 (Isogen, RF), according to the manufacturer's protocol. The RNA was resuspended in water, quantified and tested with the RT-PCR assay using the RT-PCR kit; RT (Synthol, RF). RT-PCR was performed in a final volume of 25 μl containing 10 μl of the 2,5X reaction mixture, 11 μl dd H₂O, 1 μl of primers (Table 1) of Random-6, 1 μl of reverse transcriptase and 2 μg of RNA. The reverse transcription was performed at 45°C for 45 minutes and then it was heated for 5 minutes at 92°C . For RT-PCR in real time with gene specific primers CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad Laboratories Inc., USA) were used in accordance with the manufacturer's recommendations and Maxima SYBR Green/ROX qPCR

Master Mix (2X) reagent kit (Thermo Fisher Scientific, Inc.). Master Mix included Maxima Hot Start Taq DNA polymerase and dNTPs in optimized PCR buffer. The samples were amplified in a volume of 25 μl of the reaction mixture at a concentration of 0,3 μM of forward and reverse primers, 12.5 μl Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X), template DNA ≤ 500 ng / reaction, nuclease-free water up to 25 μl . All primers were designed using the Primer-BLAST software (NIH, USA) and were synthesized by Metabion (Germany). Amplification was performed with the following settings: 10 min at 95°C for initiating denaturation followed by 50 cycles of denaturation at 95°C for 15 sec., primer annealing for 30 sec. at $58\text{--}63^\circ\text{C}$ and extension at 72°C for 30 sec.

Registration of the fluorescence intensity occurred automatically at the end of each cycle extension step in the SYBRGreen channel.

As the reference gene, the actin beta gene (Actb) gene was used to determine the relative value of changes in expression level of studied genes. A comparative Ct method ($\Delta\Delta\text{Ct}$ method) was used to express the relative level of gene expression. Statistical analysis of the PCR data was performed using the CFX Manager™ software (Bio-Rad, USA). Negative controls were included in the experiment: without the cDNA matrix adding to the PCR reaction, without the mRNA matrix adding to the cDNA synthesis, without the enzyme adding in the cDNA synthesis. All amplification reactions were performed on individual samples in three replicates.

The level of nitrites in homogenates of the left ventricular myocardium was determined by the biochemical Griess nitrite test on the Libra S 32 PC spectrophotometer [9]. The blood plasma nitrotyrosine concentration in rats was determined by immunoassay according to the instructions for the reagent set (Hycultbiotech, HK501 – Nitrotyrosine).

All statistical computations were performed in the Microsoft Excel 2016 table processor (Microsoft Corp., USA). For all parameters, the arithmetic mean (M), its dispersion and mean error (m) were calculated. To determine the reliability of differences between the results of research in the experimental and control groups of rats, the Student's coefficient (t) was calculated, after that the probability of the difference between the samples (p) and the confidence interval of the mean according to the Student distribution tables were determined. Valid values for $P_{st} < 0.05$ were considered statistically reliable [10].

Results

The results of conducted studies reveal that the persistent increase of BP in SHR was accompanied not only by a significant increase in the concentrations of all three NOS isoforms (nNOS, iNOS, eNOS) in the myocardial slices (Fig. 1-A), but also by an increase in their mRNA expression (Fig. 1-B).

Higher concentration of IRM to nNOS by 22.8 %, and 1.6 times increase of its mRNA were found in SHR in comparison with the control group. Concentration of IRM to eNOS in SHR was reliably increased by 6.8 % and in 2.3 times increase its mRNA in comparison with the intact rats. Reliability of the increased concentration

Table 1. Primers design

Gene	Primer	Tm, °C	Product size (bp)	Position
nNOS	F=GACGCAGATGAGGTTTTTCAGC	59.87	45	4477/4478
	R=GGGGGCAGGAGGATCCAG	61.17		
iNOS	F=GTTCTCTCAGGCTTGGGTCTT	59.6	49	143/144
	R=CCGTGGGGCTTGTAGTTGAC	60.95		
eNOS	F=CCCAGGAGAGATCCACCTCA	60.03	58	2899/2900
	R=CAGCACATCCTGGGTTCTGT	59.96		
actin, beta (Actb)	F=ACAACCTTCTTGCAGCTCCTC	60.54	64	72/73
	R=TCGTATCCATGCCGAAGTGG	60.76		

F: forward primer; R: reverse primer; Tm: melting temperature.

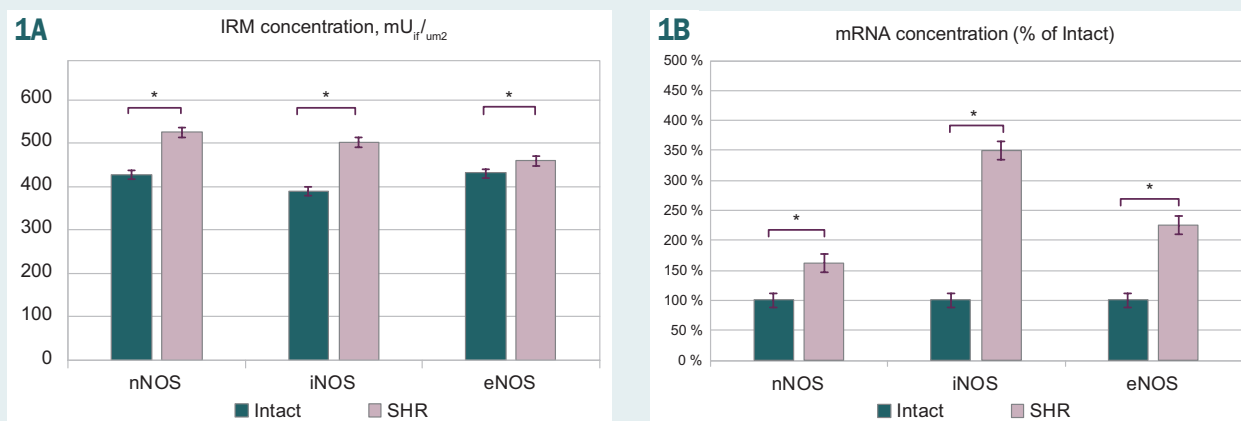


Fig. 1. Concentration of IRM (A) and mRNA expression (B) of NOS isoforms (nNOS, iNOS and eNOS) in the left ventricular myocardium of experimental rats. The data are presented as $M \pm m$.

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

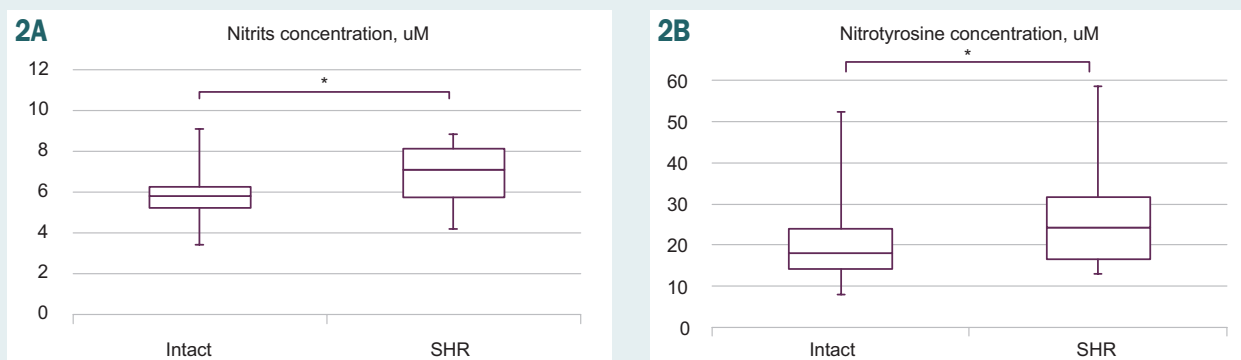


Fig. 2. Concentration of nitrites (A) in left ventricular myocardium homogenates and nitrotyrosine (B) in blood plasma of the experimental groups rats. The data are presented as median, the 1st and the 3rd quartiles, min and max.

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

of IRM to iNOS by 29.7 % was detected. iNOS mRNA concentration was 3.5 times more than in control animals.

Studies of NO end metabolites level were also done in order for assessing the state of the nitric oxide system. In the SHR group 18.8 % higher concentration of nitrites was detected in comparison with the control animals. Nitrotyrosine concentration in blood plasma in the SHR was also increased by 25 % (Fig. 2A-B).

Discussion

The fact, ascertained in the work, that the higher values concentration of IRM to nNOS and increase of its mRNA in the myocardium in the formed AH in SHR were found to be the expected result (Fig. 1A-B). This is due to the fact obtained by many researchers, nNOS in the cardiac muscle acts as the main endogenous source of myocardial NO [11], which provides a rapid, situational change in the level of NO in response to extracellular signals of mediators, hormones and biologically active substances [12], implements the control over parasympathetic and sympathetic regulation of cardiac rhythm, influences the myocardial contractility and relaxation [13]. Therefore, it is logical to assume that a higher concentration of nNOS in SHR is

necessary for activation of both urgent and long-term adaptation mechanisms of the heart to hemodynamic overloads. This mechanism of compensation is especially important at the initial stages of blood pressure increase.

Concerning the increased concentration of IRM to eNOS and increase of its mRNA in SHR myocardium compared to control, it should be noted that this isoform is associated with the local endothelial cytoprotective mechanisms realization and maintenance of vascular homeostasis. Persistent increase in BP is accompanied by the long-term compensatory mechanisms activation, namely left ventricular hypertrophy [14] with increased blood supply and new capillaries and nerves growth. In our opinion, a significant increase in eNOS mRNA expression in SHR is due to induction of gene expression through the transcription pathway [15] as one of the components of adaptation implementation. This gene is activated under conditions of moderate hypoxia in AH and is accompanied with an increase in the level of intracellular Ca^{2+} ions, an increase in the Ca^{2+} -dependent eNOS synthesis and activity. This results in a large amount of endothelial NO formation and leads to the improvement of blood supply. This particular mechanism serves as one of the essential components of the compensatory myocardium remodeling [16].

In contrast to constitutive NOS isoforms, the high concentration of iNOS, which is considered as a mediator of nitrosative and oxidative stress, worsens endothelial and myocardial dysfunction in AH due to a large amount of peroxynitrite formation [17]. In our study, there was a reliable increase in the concentration of IRM to iNOS (Fig. 1-A), which confirms its involvement in the formation of PMR and cell injury, the fact of which in SHR has been found in many studies [18]. An analysis of the RT-PCR results in the SHR group demonstrated a reliable increase in iNOS mRNA expression (Fig. 1-B). According to other researchers, high level of mRNA in the myocardium of rats with AH is associated not only with the activation of mRNA transcription in response to stimulation by pathological factors (active forms of oxygen, peroxynitrite, H₂O₂, cytokines, etc.), but also with the decrease of its breakdown that was also demonstrated [19]. Thus, it contributes to a vicious cycle – the higher is the level of unstable metabolites, the higher is the level of iNOS, which will produce further greater NO excess and results in the development of oxidative and nitrosative stress with myocardial dysfunction.

Studies of NO end metabolites level were also done. Nitrites are stable NO metabolites and are determined by the researchers as an equivalent marker of its formation. In the SHR group a higher concentration of nitrites was detected in comparison with the control animals. The obtained result can be considered as an evidence of the NOS increased activity in the myocardium of rats with essential hypertension. Nitrotyrosine concentration in blood plasma (NO-dependent marker of oxidative stress) in the group of rats with essential hypertension was also increased (Fig. 2A-B). This fact allows us to assert that oxidative and nitrosative stress occurs not locally in the myocardium, but has a systemic character [20].

Therefore, the conducted study allows to state that essential hypertension causes significant changes in the morpho-functional state of nitric oxide system. The important features of these changes are the peculiarities of NOS isoforms profile, the prevalence of iNOS and the presence of systemic nitroso-oxidative stress signs.

Conclusions

1. The predominance of IRM to constitutive NOS isoforms with low IRM content to iNOS has been noted in myocardium of the control group rats with normal BP.

2. The higher IRM content to all three NOS isoforms in SHR (the model of essential AH), compared to the control, is associated with the stimulation of synthetic processes due to their mRNA increased expression.

3. The higher indices of nNOS and iNOS concentration along with reduced IRM content to eNOS have been revealed in SHR myocardium.

4. Formation of hypertension is accompanied by an increased content of NO end metabolites (nitrites) and systemic nitroso-oxidative stress development with high nitrotyrosine concentration.

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

Information about authors:

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

ORCID ID: 0000-0002-1556-5085

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

ORCID ID: 0000-0002-3026-1012

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

ORCID ID: 0000-0002-6807-8440

Hrekova T. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathophysiology, Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0001-9946-3336

Відомості про авторів:

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор, ректор, Запорізький державний медичний університет, заслужений діяч науки і техніки України.

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

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

Грекова Т. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, профессор, ректор, Запорожский государственный медицинский университет, заслуженный деятель науки и техники Украины.

Исаченко М. И., очный аспирант каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

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

Грекова Т. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Надійшла до редакції / Received: 04.10.2018

Після доопрацювання / Revised: 25.10.2018

Прийнято до друку / Accepted: 08.11.2018

References

- Manukhina, E. B., & Malyshev, I. Yu. (2003). Rol' oksida azota v razviti i preduprezhdenii disfunkcii e'ndoteliya [The role of nitric oxide in the development and prevention of endothelial dysfunction]. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*, 2(2), 5–17. [in Russian].
- Ruetten, H., Dimmeler, S., Gehring, D., Ihling, C., & Zeiger, A. (2005). Concentric left ventricular remodeling in endothelial nitric oxide synthase knockout mice by chronic pressure overload. *Cardiovascular Research*, 66(3), 444–453. doi: 10.1016/j.cardiores.2005.01.021.
- Tsutsui, M., Shimokawa, H., Otsuji, Y., & Yanagihara, N. (2010). Pathophysiological relevance of NO signaling in the cardiovascular system: Novel insight from mice lacking all NO synthases. *Pharmacology & Therapeutics*, 128(3), 499–508. doi: 10.1016/j.pharmthera.2010.08.010.
- Shimokawa, H., & Tsutsui, M. (2010). Nitric oxide synthases in the pathogenesis of cardiovascular disease. *Pflügers Archiv – European Journal of Physiology*, 459(6), 959–967. doi: 10.1007/s00424-010-0796-2.
- Antonio, E., Serra, A., Santos, A., Vieira, S., Silva, J., Yoshizaki, A., et al. (2014). Are there gender differences in left ventricular remodeling after myocardial infarction in rats? *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular*, 30(1), 70–76. doi: 10.5935/1678-741.20140093.
- Camici, G., Savarese, G., Akhmedov, A., & Lüscher, T. (2015). Molecular mechanism of endothelial and vascular aging: implications for cardiovascular disease. *European Heart Journal*, 36(48), 3392–3403. doi: 10.1093/eurheartj/ehv587.
- Fedotova, M. I., Kovalov, M. M., Zhulinskyi, V. O., & Kadzharian Ye. V. (2017). Osoblyvosti ekspresii izoform sintazy oksydu azotu u miokardiivoho shlunochka schuriv pry arterialnii hipertenzii riznoho henezu.

- Aktualni problemy suchasnoi medytsyny [Features of expression of isoforms of nitric oxide synthase in myocardium of the left ventricle of rats with arterial hypertension of different genesis]. *Visnyk Ukrain'skoi medychnoi stomatolohichnoi akademii*, 17, 4(60), 91–95. [in Ukrainian].
- [8] Zherebiatiev, A., & Kamyshny, A. (2016) Expression Levels of Proinflammatory Cytokines and NLRP3 Inflammasome in an Experimental Model of Oxazolone-induced Colitis. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 15(1), 39–45.
- [9] Gorbunov, N. V. (1995) Opredelenie stabil'nykh metabolitov oksida azota po Grissu v biologicheskom materiale [Determination of stable nitric oxide metabolites by Griss in biological material]. *Byulleten' e'ksperimental'noj biologii i medicyny*, 7, 40–48. [in Russian].
- [10] Zajcev, V. M., Lifyandskij, V. G., & Marinkin, V. I. (2003) *Prikladnaya medicinskaya statistika [Applied Medical Statistics]*. [in Russian].
- [11] Shabeeh, H., Khan, S., Jiang, B., Brett, S., Melikian, N., Casadei, B., et al. (2017) Blood Pressure in Healthy Humans Is Regulated by Neuronal NO Synthase Novelty and Significance. *Hypertension*, 69(5), 970–976. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08792.
- [12] Jang, J., Chun, J., Godo, S., Wu, G., Shimokawa, H., Jin, C., et al. (2015) ROS and endothelial nitric oxide synthase (eNOS)-dependent trafficking of angiotensin II type 2 receptor begets neuronal NOS in cardiac myocytes. *Basic Research in Cardiology*, 110(3), 1–23. doi: 10.1007/s00395-015-0477-6.
- [13] Dokken, B., Gaballa, M., Hilwig, R., Berg, R., & Kern, K. (2015) Inhibition of Nitric Oxide Synthases, But Not Inducible Nitric Oxide Synthase, Selectively Worsens Left Ventricular Function After Successful Resuscitation From Cardiac Arrest in Swine. *Academic Emergency Medicine*, 22(2), 197–203. doi: 10.1111/acem.12575.
- [14] Yuyun, M., Ng, L., & Ng, G. (2018) Endothelial dysfunction, endothelial nitric oxide bioavailability, tetrahydrobiopterin, and 5-methyltetrahydrofolate in cardiovascular disease. Where are we with therapy? *Microvascular Research*, 119, 7–12. doi: 10.1016/j.mvr.2018.03.012.
- [15] Viaro, F., Nobre, F., & Roberto, P. (2000) Expression of nitric oxide synthases in the pathophysiology of cardiovascular diseases. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 74(4), 380–393. <http://dx.doi.org/10.1590/S0066-782X200000400009>.
- [16] Kravchenko, N. A., & Yarmysh, N. V. (2008) Regulyaciya e'kspressii e'ndotelial'noj NO-sintazy i disfunkciya sosudistogo e'ndoteliya pri serdechno-sosudistoj patologii [Regulation of expression of endothelial NO synthase and dysfunction of vascular endothelium in cardiovascular pathology]. *Citologiya i genetika*, 4, 69–79. [in Russian].
- [17] Champion, H. C., Georgakopoulos, D., Takimoto, E., Isoda, T., Wang, Y., & Kass, D. A. (2004) Modulation of in vivo cardiac function by myocyte-specific nitric oxide synthase-3. *Circulation Research*, 94(5), 657–663. doi: 10.1161/01.RES.0000119323.79644.20.
- [18] Buchwalow, I., Schulze, W., Karczewski, P., Kostic, M. M., Wallukat, G., Morwinski, R., et al. (2001) Inducible nitric oxide synthase in the myocardium. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 217(1–2), 73–82.
- [19] Drummond, G., Cai, H., Davis, M., Ramasamy, S., & Harrison, D. (2000) Transcriptional and Posttranscriptional Regulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression by Hydrogen Peroxide. *Circulation Research*, 86(3), 347–354. doi: 10.1161/01.RES.86.3.347.
- [20] Álvarez, M., Caldiz, C., Fantinelli, J., Garciaarena, C., Console, G., Chiappe de Cingolani, G., et al. (2008) Is Cardiac Hypertrophy in Spontaneously Hypertensive Rats the Cause or the Consequence of Oxidative Stress? *Hypertension Research*, 31(7), 1465–1476. doi: 10.1291/hyres.31.1465.

Клініко-анамнестичні параметри та їхня прогностична вагомість у терапії артеріальної гіпертензії з коморбідною патологією

Б. О. Шелест

Харківський національний медичний університет, Україна

Ключові слова:
артеріальна гіпертензія, ожиріння, телмісартан, прогноз, лікування.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 284–289

DOI:
10.14739/2310-1237.2018.3.151678

E-mail:
shlestb@ua.fm

Гіпотензивне лікування приводить до регресу гіпертрофії лівого шлуночка, знижує частоту серцево-судинних ускладнень і поліпшує показники виживання, і це відбувається незалежно від ступеня зниження артеріального тиску (АТ).

Мета роботи – визначення прогностичної значущості клініко-анамнестичних чинників щодо оцінювання ефективності терапії артеріальної гіпертензії (АГ) на тлі супутньої патології (ожиріння та цукрового діабету) з використанням інгібітора рецепторів ангіотензину II телмісартану.

Матеріали та методи. Протягом 3 місяців обстежили 135 хворих на АГ I–II стадії з ожирінням 1–2 ступеня (середній вік – $61,6 \pm 6,7$ року). Хронічна серцева недостатність була не більше ніж II стадія за NYHA. Оцінювання прогностичних властивостей досліджуваних чинників виконали за допомогою неоднорідної процедури Вальда–Генкіна, згідно з нею всі показники поділяли на градації з визначенням надалі прогностичного коефіцієнта (ПК) і загальної інформативності ознаки (I). Групи зіставні за статтю, віком обстежених, тяжкістю клінічного стану, супутньою патологією. Контрольна група – 20 практично здорових осіб аналогічного віку, статі без ознак захворювання.

Результати. Здійснили аналіз предикторної цінності клініко-анамнестичних параметрів щодо ефективності терапії артеріальної гіпертензії з ожирінням. Результати демонструють, що для визначення ефективності приймання телмісартану в лікуванні АГ з ожирінням можна використовувати деякі клініко-анамнестичні чинники цього захворювання. Найбільш інформативними критеріями ($I > 1,0$) є тривалість артеріальної гіпертензії, а також вік хворого та наявність супутньої патології, зокрема цукрового діабету 2 типу й ожиріння.

Висновки. На підставі даних про ступінь значущості клініко-анамнестичних факторів в оцінюванні ефективності терапії хворих із поєднаною патологією передбачається, що пацієнти зі стажем АГ понад 11 років із супутніми ожирінням і цукровим діабетом і віком понад 71 рік потребують особливої тактики під час вибору антигіпертензивної терапії. У зв'язку з цим такі пацієнти мають необхідність частішого коригування дози препарату.

Ключевые слова:
артериальная гипертензия, ожирение, телмисартан, прогноз, лечение.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 284–289

Клинико-анамнестические параметры и их прогностическая значимость в терапии артериальной гипертензии с коморбидной патологией

Б. А. Шелест

Гипотензивное лечение приводит к регрессу гипертрофии левого желудочка, снижает частоту сердечно-сосудистых осложнений и улучшает показатели выживаемости, и это происходит независимо от степени снижения артериального давления (АД).

Цель работы – определение прогностической значимости клинико-анамнестических факторов в оценке эффективности терапевтической коррекции артериальной гипертензии (АГ) на фоне сопутствующей патологии (ожирения и сахарного диабета) с использованием ингибитора рецепторов ангиотензина II телмисартана.

Материалы и методы. В течение 3 месяцев обследовали 135 больных АГ I–II стадии с ожирением 1–2 степени (средний возраст – $61,6 \pm 6,7$ года). Хроническая сердечная недостаточность была не выше II стадии по NYHA. Оценку прогностических свойств исследуемых факторов проводили с помощью неоднородной процедуры Вальда–Генкина, согласно которой все показатели делили на градации с последующим определением прогностического коэффициента (ПК) и общей информативности признака (I). Группы сопоставимы по полу, возрасту обследованных, тяжести клинического состояния, сопутствующей патологии. Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц аналогичного возраста и пола без признаков заболевания.

Результаты. Проведен анализ предикторной ценности клинико-анамнестических параметров в отношении эффективности терапии артериальной гипертензии с ожирением. Результаты показывают, что для определения эффективности приема телмисартана в лечении АГ с ожирением можно использовать некоторые клинико-анамнестические факторы этого заболевания. Наиболее информативными критериями ($I > 1,0$) являются продолжительность артериальной гипертензии, а также возраст больного и наличие сопутствующей патологии, в частности сахарного диабета 2 типа и ожирения.

Выводы. На основании данных о степени значимости клинико-анамнестических факторов в оценке эффективности терапии больных с сочетанной патологией предполагается, что пациенты со стажем АГ более 11 лет с сопутствующими ожирением и сахарным диабетом и в возрасте старше 71 года требуют особенной тактики в подборе антигипертензивной терапии. И, как следствие, такие пациенты нуждаются в более частой корректировке дозы препарата.

Clinical and anamnestic features and their prognostic value in assessment of treatment efficiency of arterial hypertension with comorbidity

B. O. Shelest

Antihypertensive treatment leads to regression of left ventricular hypertrophy, reduces the incidence of cardiovascular complications and improves survival rates, and this occurs regardless of the degree of lowering of blood pressure (BP).

The aim of the study was to determinate the prognostic significance of clinical and anamnestic factors in the evaluation of effectiveness of therapeutic correction of arterial hypertension (AH) associated with obesity and diabetes mellitus by angiotensin II receptors blocker, telmisartan.

Material and methods. 135 patients were examined, diagnosed with AH stage I–II associated with obesity of 1–2 degrees (mean age 61.6 ± 6.7 years). Duration of study was 3 month. Chronic heart failure was no worse than II functional class by NYHA. Evaluation of prognostic properties of the studied factors was carried out using sequential hypothesis by Wald–Genkin, according to which all the indices were ranged with the subsequent determination of the prognostic coefficient (PC) and the general informativeness of the index (I). The groups were matched by sex, age, severity of the clinical condition, concomitant pathology. The control group consisted of 20 practically healthy persons of similar age and sex without signs of disease.

Results. In the study, the predictive value of clinical and anamnestic parameters of the effectiveness of antihypertensive treatment was analyzed. The results show that some clinical and anamnesis factors of the disease can be used to determine the telmisartan effectiveness in the treatment of hypertension with obesity. The most informative criteria ($I > 1.0$) are the duration (more than 11 years) of arterial hypertension, as well as the age of the patient and the presence of concomitant pathology, in particular type 2 diabetes and obesity.

Conclusions. Based on the obtained data about the value of clinical and anamnestic factors' significance in assessing of the antihypertensive therapy in patients with co-morbid pathology, it is assumed that patients with hypertension duration of more than 11 years with concomitant obesity and type 2 diabetes and those older than 71 years require special tactics in the selection of antihypertensive therapy. And, most likely, such patients need more frequent adjustment of the doses of the drug.

Key words:
hypertension,
obesity, telmisartan,
prognosis,
treatment.

Pathologia
2018; 15 (3), 284–289

Артеріальна гіпертензія (АГ) є основним фактором ризику, який посилює прогресування атеросклерозу та збільшує ризик розвитку його ускладнень. Гіпертрофія міокарда лівого шлуночка (ГЛШ) – важливий чинник серцево-судинної захворюваності та смертності в пацієнтів з артеріальною гіпертензією. Поєднаний перебіг цукрового діабету й гіпертонії послідовно пророкують наявність і ступінь кальцифікації коронарних артерій у пацієнтів із симптомами захворювання [16]. Гіпотензивне лікування, що призводить до регресу ГЛШ, знижує частоту серцево-судинних ускладнень і поліпшує показники виживаності, і це відбувається незалежно від ступеня зниження артеріального тиску (АТ) [12].

За даними офіційної статистики МОЗ України, на 1 січня 2011 р. в Україні зареєстровано понад 12 млн хворих на АГ, що становить 32,2 % дорослого населення країни. Перебіг АГ і ризик виникнення ускладнень (ішемічної хвороби серця, мозкових інсультів, серцевої та ниркової недостатності) тісно пов'язані з наявністю чинників ризику (абдомінального ожиріння, дисліпідемії, мікроальбумінемії, гіперінсулінемії та інсулінорезистентності, цукрового діабету 2 типу) [5].

Протягом багатьох десятиліть не зменшується інтерес до вивчення жирової тканини як самостійного ендокринного органа. Відомо, що маса вісцеральної жирової тканини є точнішим діагностичним критерієм, який дає змогу оцінити ризик розвитку серцево-судинних захворювань, ніж маса підшкірного жиру [7].

Є кілька антропометричних показників, які опосередковано характеризують кількість жирової тканини та використовуються для оцінювання прогнозу розвитку серцево-судинних подій. Це індекс маси тіла (ІМТ), обвід талії (ОТ), співвідношення ОТ до обводу стегон (ОС) (ОТ/ОС), сагітальний абдомінальний діа-

метр, відношення ОТ до зросту й «body adiposity index (BAI)». Вважають, що BAI може бути використаний для визначення процента жирової тканини. Також жирову тканину вивчають за допомогою біоелектричного імпедансного аналізу й товщини шкірної складки, але такі методи не враховують поділ жирової тканини на вісцеральний і підшкірний жир.

Індекс маси тіла використовують для визначення ступеня ожиріння вже понад 200 років. Незважаючи на частіше використання у клінічній практиці саме цього показника, ІМТ не розрізняє підшкірний і вісцеральний компоненти жирової тканини. Саме тому у практиці лікаря стали частіше використовувати вимірювання ОТ як показника тільки для вісцеральної жирової тканини, ОС – для оцінювання периферичної жирової тканини [12].

Інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту (ІАПФ) і сартани стали незамінними в лікуванні серцево-судинних захворювань за останні 20 років через органопротекторні властивості та здатність знижувати смертність, продовжувати життя пацієнтів [18]. Однак результати досліджень (LIFE, VALUE SCOPE) засвідчили слабку ефективність блокувальних рецепторів ангіотензину II (БРА) щодо запобігання інфаркту міокарда, серцево-судинної смертності та стенокардії при одночасній високій здатності знижувати ризик розвитку інсульту, серцевої недостатності, діабету. Отже, відзначаємо контрверсійне ставлення до використання сартанів у широкій клінічній практиці [10].

Складність у лікуванні хворих із коморбідною патологією найчастіше зумовлена великою кількістю препаратів, що вживає пацієнт. Це призводить до низького комплаєнса і, як результат, відсутності поліпшення стану хворого. Оптимізація гіпотензивної терапії хворих з ожирінням передбачає індивідуальний підхід

до призначення гіпотензивних препаратів. Це можливо тільки тоді, коли клініцист на початку лікування здатен передбачити терапевтичний ефект лікарського засобу в конкретного хворого. Тому розв'язання питання про оптимальну терапію в цієї категорії хворих перебуває у площині розробки предикторів ефективності терапевтичних засобів.

Мета роботи

Визначення прогностичної значущості клініко-анамнестичних чинників щодо оцінювання ефективності терапії артеріальної гіпертензії на тлі супутньої патології (ожиріння та цукрового діабету) з використанням інгібітора рецепторів ангіотензину II телмісартану.

Матеріали і методи дослідження

Обстежили 135 хворих (35 чоловіків) на есенціальну АГ I–II стадії, 1–2 ступеня, високого та дуже високого ризику з ожирінням 1–2 ступеня, середній вік – $61,6 \pm 6,7$ року. Хронічну серцеву недостатність діагностували зі збереженою ФВ ЛШ, NYHA 0–II ФК. Хворі перебували під спостереженням протягом 3 місяців.

Для оцінювання прогностичної значущості клініко-анамнестичних чинників хворих (135), які отримували БРА телмісартан, поділили на 2 групи: а) з хорошим гіпотензивним ефектом (86) із досягненням цільових значень АТ, б) з задовільним ефектом (49), коли нормальних значень АТ не досягнуто. Потім за неоднорідною послідовністю процедури проаналізували частоту показників у групах на етапі до лікування з визначенням прогностичних коефіцієнтів і загальної інформативності.

Критерії залучення хворих у дослідження: наявність у них діагнозу есенціальна АГ згідно з клінічними рекомендаціями з артеріальної гіпертензії європейського товариства гіпертензії (ESH) та європейського товариства кардіологів (ESC) 2013 р. та ожиріння згідно з критеріями IDF, 2005, що підтвержені даними додаткових методів обстеження. Діагноз цукровий діабет 2 типу (ЦД 2т), середньої тяжкості, компенсований або субкомпенсований, глюкоза крові натще $6,1\text{--}6,5$ ммоль/л, HbA1c $7,1\text{--}7,5$ %, встановлений відповідно до критеріїв наказу МОЗ № 1118 від 21.12.2012 р. З дослідження виключили пацієнтів із супутніми інфекційними, онкологічними, імунними захворюваннями, хронічними захворюваннями у стадії загострення, з ревматичними захворюваннями, хворих із рівнем ФВ <50 %, анемією, нирковою недостатністю, епізодами гострої СН, гострим коронарним синдромом протягом попередніх 3 місяців, порушенням ритму та провідності, хронічними обструктивними захворюваннями легень, цукровим діабетом 1 типу, інсулінотерапією в пацієнтів із ЦД 2т, симптоматичною АГ, оклюзивними захворюваннями судин нижніх кінцівок.

Наявність і ступінь ожиріння оцінювали за індексом маси тіла (ІМТ), який розраховували за формулою: $\text{ІМТ (кг/м}^2\text{)} = \text{маса тіла (кг)} / \text{зріст}^2\text{ (м)}$, згідно з критеріями ВООЗ. Оптимальним вважали ІМТ у межах $18,5\text{--}24,9$ кг/м². Критерій надлишкової маси – $\text{ІМТ} = 25,0\text{--}29,9$ кг/м², ожиріння – понад $30,0$ кг/м².

Окрім маси тіла й зросту в розрахунок брали співвідношення обводу талії до обводу стегон (ОС), встановлювали тип розподілу жирової клітковини: вісцеральний тип визначали в жінок при $\text{ОТ/ОС} > 0,85$; у чоловіків – $\text{ОТ/ОС} > 1,0$.

Робота виконана відповідно до вимог Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації, статуту Української асоціації з біоетики та норм GCP (1992 р.), відповідно до вимог і норм ICH GCP (2002 р.), типових положень з питань етики МОЗ України № 66 від 13.02.2006 р. Усі пацієнти дали інформовану згоду на участь у дослідженні та були повністю обізнані про методи, обсяг дослідження.

Статистичне опрацювання даних здійснювали за допомогою програми MedCalc Version 18.5 for Windows (trial version).

У дослідженні використали неоднорідну послідовну процедуру Вальда–Генкіна. Цей метод аналізу та прогнозу придатний при нормальному та розподілі, що відрізняється від нормального. Усі досліджувані ознаки поділяли на градації, а потім за процедурою визначали прогностичні коефіцієнти (ПК) градацій і загальну інформативність (І) ознаки. Знак плюс (+) свідчить про позитивний вплив ознаки, а знак мінус (–) про негативний. Для показників із високою інформативністю $I \geq 1,0$; помірною – $1,0 > I \geq 0,50$; низькою – $0,50 > I \geq 0,25$, дуже низькою – $0,25 > I \geq 0,10$ [1].

Результати

У таблиці 1 наведені результати значущості клініко-анамнестичних чинників. Найвища інформативність ($I > 1,0$) виявлена щодо тривалості АГ ($I = 1,83$), віку хворого ($I = 1,54$), стосувалася наявності цукрового діабету ($I = 1,34$) та ІМТ ($I = 1,09$), а помірна інформативність притаманна таким параметрам, як стать хворого ($I = 0,61$) і стадія АГ ($I = 0,18$).

Значення ПК свідчать про сприятливий прогноз ефективності лікування: відносно нетривала артеріальна гіпертензія (менше ніж 10 років), молодший вік пацієнта (менше ніж 60 років), оптимальний рівень ІМТ і відсутність супутньої патології, зокрема цукрового діабету, низька стадія артеріальної гіпертензії (I стадія), серцевої недостатності (I ФК за NYHA) та чоловіча стать.

Гірший прогноз ефективності лікування визначають тривала артеріальна гіпертензія (понад 11 років), II стадія артеріальної гіпертензії, наявність супутньої патології, зокрема цукрового діабету 2 типу та ожиріння, вік хворого (понад 71 рік), жіноча стать.

Отже, зниження ефективності лікування з використанням ІРА телмісартану можна очікувати в пацієнтів із тривалою артеріальною гіпертензією, ознаками серцевої недостатності II ФК або вище, віком понад 71 рік, з наявністю супутньої патології, а саме цукрового діабету 2 типу та ожиріння.

Окрім клініко-анамнестичних чинників у хворих на артеріальну гіпертензію з ожирінням виявили прогностичну значущість, і це дає можливість сформувати прогностичний алгоритм з використанням наведених критеріїв.

Таблиця 1. Прогностичне значення клініко-анамнестичних чинників у хворих на АГ з ожирінням

Чинник	Градація чинника	Кількість хворих у групі з хорошим гіпотензивним ефектом (n = 86)		Кількість хворих у групі з задовільним гіпотензивним ефектом (n = 49)		ПК	I
Тривалість АГ	≤10	55	64,0 %	10	20,4 %	-4,966	1,83
	≥11	31	36,0 %	39	79,6 %	+3,446	
Вік хворого, років	<60 років	48	55,8 %	14	28,6 %	-2,903	1,54
	60–70 років	35	40,7 %	21	42,8 %	0,218	
	>71 року	3	3,5 %	14	28,6 %	+9,123	
Цукровий діабет 2 типу	Так	21	24,4 %	1	2,0 %	-10,864	1,34
	Ні	65	75,6 %	48	98,0 %	+1,127	
Індекс маси тіла	≤29,9	84	97,7 %	38	77,6 %	-1,000	1,09
	≥30,0	2	2,3 %	11	22,4 %	+9,885	
Стать хворого	Чоловіча	29	33,7 %	6	12,2 %	-4,413	0,61
	Жіноча	57	66,3 %	43	87,8 %	+1,220	
Стадія АГ	I	30	34,9 %	10	20,4 %	-2,332	0,18
	II	56	65,1 %	39	71,6 %	+0,413	

–: негативний вплив, +: позитивний терапевтичний ефект.

Обговорення

Аналізуючи дані щодо гіпертензії у хворих на цукровий діабет, S. Katayama et al. (2016) наголошують, що підвищений артеріальний тиск погіршує мікросудинний стан, наприклад, зумовлює прискорене прогресування нефропатії та ретинопатії, збільшення проявів атеросклерозу на ранніх стадіях і суттєво збільшує частоту серцево-судинних хвороб [12]. У нашому дослідженні початковий АТ не був значущим предиктором ефективності лікування, що, можливо, пояснюється невеликими стартовими значеннями АТ.

Дослідження Chun-Na Jin et al. (2014) показало, що діабет і сироватковий натрій – найбільш значущі прогностичні фактори ефективності медикаментозного впливу на артеріальний тиск, що збігається з отриманими протягом нашого дослідження даними щодо впливу діабету на ефект антигіпертензивного лікування, але слід відзначити наявність тяжчих станів із ХСН у названому дослідженні [9].

Дані дослідження D. N. Cortez et al. (2015) частково збігаються з отриманими нами результатами щодо прогностичної значущості стажу діабету [8]. Однак у дослідженні цих авторів не враховано наявність чи відсутність артеріальної гіпертензії, що відрізняло пацієнтів нашого дослідження, де були тільки хворі з комбінованою патологією. У роботі F. Malek (2013) показано, що наявність підвищеного тиску – це предиктор розвитку серцевої недостатності [14]. Також автор наголошує, що терапія має включати агент, котрий впливає на ренін-ангіотензин-альдостеронову систему, а також на необхідності брати до уваги тип серцевої дисфункції (діастолічний чи систолічний).

Підтримання належного рівня артеріального тиску й контролю глюкози набувають усе більшого значення для лікування АГ, що супроводжується цукровим діабетом [12].

В іншому дослідженні жіноча стать, етнічна приналежність, ІМТ понад $>25 \text{ кг/м}^2$, вищі САТ і ДАТ були асоційовані з менш ефективною відповіддю на лікування [17]. У нашому дослідженні стать і ІМТ мали схожі прогностичні характеристики.

У роботі О. Є. Томіної (2010) [6] важливими маркерами прогнозу ефективності лікування гіпертензії з

виразковою хворобою шлунка стали вік, потужність і співвідношення симпатовагального балансу, а у групі артеріальної гіпертензії – діастолічний АТ і співвідношення симпатовагального балансу. У дослідженні І. В. Солдатенко (2010), де вивчали прогнозування ефективності терапії хворих на АГ з остеоартрозом, зроблений висновок про значущість віку та симпатовагального індексу, ДАТ для пацієнтів із тільки АГ [4]. Важливо, що стать, як і в нашому дослідженні, відіграла суттєву прогностичну роль в обох названих дослідженнях [6,4]. Але ми брали до уваги тільки клінічні й анамнестичні маркери, не враховували дані додаткових методів дослідження.

Щодо включення ІМТ як прогностичного маркера є контрверсійні погляди. Фремінгемське дослідження вказує на високий ІМТ як незалежний фактор ризику розвитку серцевої недостатності, ішемічної хвороби серця, інсульту та загальної смертності від серцево-судинних захворювань [13]. Подібний результат, а саме те, що ризик виникнення серцевої недостатності в популяції з ожирінням вдвічі перевищує рівень порівняно з нормальним ІМТ, дають інші дослідження [19]. Однак є дані [11], що свідчать про вищу виживаність пацієнтів із надмірною вагою та ожирінням у хворих на серцеву недостатність порівняно з нормальним і низьким ІМТ. Інші дослідники [15] роблять висновок, що індекс маси тіла показує U-подібну асоціацію зі смертністю серед східних азіатів: підвищений ризик смерті від серцево-судинних захворювань спостерігають при нижчих і вищих діапазонах індексу маси тіла. Тобто, є розбіжності щодо оцінювання ІМТ як предиктора при серцево-судинних хворобах, наявний так званий «парадокс ожиріння» [15].

Важливо наголосити, що доволі складно оцінити прогностичні маркери ефективності лікування, оскільки в основному дослідження аналізують або загалом роль маркерів у прогнозі перебігу гіпертонічної хвороби, не беручи до уваги лікування [2], або прогноз ефективності через оцінювання комплаєнтності [3]. Здійснене дослідження – спроба оцінити значення клініко-анамнестичних маркерів у прогнозі лікування хворих на АГ з ожирінням і ЦД 2т, а не спроба встановити рівень комплаєнтності терапії чи надати загальний прогноз перебігу захворювання.

Висновки

1. Для визначення ефективності приймання телмісартану в лікуванні артеріальної гіпертензії з ожирінням і цукровим діабетом 2 типу можна використовувати наведені клініко-анамнестичні чинники цього захворювання.

2. На підставі отриманих даних про значущість клініко-анамнестичних факторів в оцінюванні ефективності терапії хворих із поєднаною патологією передбачається, що пацієнти зі стажем АГ понад 11 років із супутнім цукровим діабетом 2 типу та ожирінням і віком понад 71 рік потребують особливої тактики під час призначення антигіпертензивної терапії. Отже, такі пацієнти мають необхідність частішого коригування дози препарату.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні доцільності й можливості застосування цих критеріїв на всіх рівнях лікувально-профілактичної допомоги для стратифікації ефективності терапевтичної тактики.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про автора:

Шелест Б. О., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішніх і професійних хвороб, Харківський національний медичний університет, Україна.

Сведения об авторе:

Шелест Б.А., канд. мед. наук, доцент каф. внутренних и профессиональных болезней, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Information about author:

Shelest B. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Internal and Occupational Diseases, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 12.06.2018

Після доопрацювання / Revised: 23.07.2018

Прийнято до друку / Accepted: 03.09.2018

Список літератури

- [1] Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавание патологических процессов / Е.В. Гублер // — М.: Медицина, 1987. — 294 с.
- [2] Лифшиц Г.И. Прогностические маркеры клинического течения артериальной гипертонии и острого инфаркта миокарда / Г.И.Лифшиц // Научный альманах (Медицинские науки). — 2015. — № 11-4(13). — С.92-94. DOI: 10.17117/na.2015.11.04.092.
- [3] Мачильская О.В. Факторы, определяющие приверженность к лечению больных артериальной гипертонией (обзор литературы) / О.В. Мачильская // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. — 2016. — №3. — С.55-65. doi: 10.17116/kardio20169355-65.
- [4] Солдатенко І.В. Прогностично значимі критерії ефективності контролю коморбідної з остеоартрозом артеріальної гіпертензії / І.В.Солдатенко, Н.В.Лисенко // Вісник ХНУ ім. В.Н. Каразіна: Серія «Медицина». — 2010. — №918, вип.20. — С. 60-64.
- [5] Ташчук В.К. Патогенетичні особливості терапії гіпертонічної хвороби у пацієнтів із супутнім абдомінальним ожирінням та дефіцитом маси тіла. / В.К.Ташчук, В.І.Денисюк, Г.І.Хребтій // Буковинський медичний вісник. — 2014. — Т.18, № 2(70). — С. 105- 108.
- [6] Томіна О.Є. Прогнозування ефективності контролю артеріального тиску при артеріальній гіпертензії, що коморбідна з виразковою хворобою / О.Є.Томіна, О.Ю.Бичкова // Вісник ХНУ ім. В.Н. Каразіна: Серія «Медицина». — 2010. — №918, вип.20. — С. 77-82.
- [7] Шелест А.Н. Влияние ожирения на маркеры воспаления у больных артериальной гипертонией / А.Н.Шелест, Ю.А.Ковалёва, Б.А.Шелест // Georgian Medical News. — 2016. — Т. 255, №6. — С.81–85.

- [8] Cortez D.N. Complications and the time of diagnosis of diabetes mellitus in primary care / D.N.Cortez, I.A.Reis, D.A.S.Souza [et al.] // Acta Paulista de Enfermagem. — 2015. — Vol.28, N3. — P.250-255. <https://dx.doi.org/10.1590/1982-0194201500042>.
- [9] Chun-Na Jin. The Prevalence and Prognosis of Resistant Hypertension in Patients with Heart Failure / J. Chun-Na, L. Ming, S. Jing-Ping [et al.] // PLoS One. — 2014. — Vol. 9(12). — P. e114958. doi: 10.1371/journal.pone.0114958, PMID: PMC4260939, PMID: 25490405.
- [10] Fuchs F.D. Angiotensin receptor blockers for prevention of cardiovascular disease: where does the evidence stand? / F.D. Fuchs, J.J. di Nicolantonio. // Open Heart. — 2015. Vol. 2. — P.e000236. doi: 10.1136/openhrt-2014-000236.
- [11] Haass M., Kitzman D.W., Anand I.S., Miller A., Zile M.R., et al. (2011) Body mass index and adverse cardiovascular outcomes in heart failure patients with preserved ejection fraction: results from the Irbesartan in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction (I-PRESERVE) trial. / M. Haass, D.W. Kitzman, I.S. Anand, A. Miller, M.R. Zile M.R. et al. // *Circ Heart Fail.* — 2011. —Vol. 4. — P. 324–331.
- [12] Katayama S. Clinical features and therapeutic perspectives on hypertension in diabetics / S. Katayama, M. Hatano, M.Issiki // *Hypertension Research* -2018. — Vol. 41. — P.213–229. <https://doi.org/10.1038/s41440-017-0001-5>.
- [13] Kenchaiah S. Obesity and the risk of heart failure. / S. Kenchaiah, J.C. Evans, D. Levy, P.W. Wilson, E.J. Benjamin, M.G. Larson et al. // *N Engl J Med* — 2002. — Vol. 347. — P. 305–313. DOI: 10.1056/NEJMoa020245.
- [14] Malek F. Arterial hypertension and chronic heart failure / F.Malek // *Cor et Vasa.* -2013 (June). — Vol. 55, Issue 3. -P. e259-e263. <https://doi.org/10.1016/j.crvasa.2013.04.002>.
- [15] Nagarajan V. Obesity paradox in heart failure: a heavy matter / V. Nagarajan, L.Kohan, E.Hollande [et al.] // *ESC Heart Fail.* — 2016 Dec. — Vol.3(4). — P. 227–234. Published online 2016 Oct 31. doi: 10.1002/ehf2.12120 PMID: PMC5107969 PMID: 27867523.
- [16] Nicoll R. Diabetes and Hypertension Consistently Predict the Presence and Extent of Coronary Artery Calcification in Symptomatic Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis / R.Nicoll, Y.Z.P.Ibrahimi, G.Olivecrona, M.Henein // *Int J Mol Sci.* — 2016 Sep. — Vol.17(9). — P.1481. Published online 2016 Sep 6. doi: 10.3390/ijms17091481, PMID: PMC5037759, PMID: 27608015.
- [17] Paz M.A. Treatment efficacy of anti-hypertensive drugs in monotherapy or combination: ATOM systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials according to PRISMA statement / M.A.Paz, A.de-La-Sierra, M.Sáez [et al.]. // *Medicine (Baltimore).* — 2016. — Vol. 95(30). — P. e4071. Published online 2016 Jul 29. doi: 10.1097/MD.0000000000004071, PMID: PMC5265817.
- [18] Ruschitzka F. Angiotensin-converting enzyme inhibitors: first-line agents in cardiovascular protection? / F.Ruschitzka, S.Taddei // *Eur. Heart J.* — 2012. — Vol. 33. — P. 1996–1998.
- [19] Yang H. Pathophysiological effects of different risk factors for heart failure / H. Yang, Y. Wang, K. Negishi, M. Nolan, T.H. Marwick // *Open Heart.* — 2016. — Vol. 3. — P. e000339-2015-000339, doi: 10.1136/openhrt-2015-000339.

References

- [1] Gubler E.V. (1987). Vyчисlительные методы анализа и распознавание патологических процессов [Computational methods of analysis and recognition of pathological processes]. M.: *Meditsina*, 294 s [in Russian].
- [2] Lifshits G.I. (2015). Prognosticheskiye markery klinicheskogo techeniya arterialnoy gipertonii i ostrogo infarkta miokarda. [Prognostic markers of the clinical course of arterial hypertension and acute myocardial infarction]. *Nauchnyy almanakh (Meditsinskiye nauki)*, 11-4(13), 92-94. DOI: 10.17117/na.2015.11.04.092 [in Russian].
- [3] Machilskaya O.V. (2016). Faktory. opredelyayushchiye priverzhennost k lecheniyu bolnykh arterialnoy gipertenziiyey (obzor literatury). [Factors determining adherence to the treatment of patients with arterial hypertension (literature review)]. *Kardiologiya i serdechno-sosudistaya khirurgiya*, Vol.№3, 55-65. doi: 10.17116/kardio20169355-65. [in Russian].
- [4] Soldatenko I.V. (2010). Prohnostychno znachymy kryteriiy efektyvnosti kontroliyu komorbidnoy z osteoartrozom arterialnoy hipertenzii. [Prognostically significant criteria for the control of comorbidity with osteoarthrosis of arterial hypertension]. *Visnyk HNU im. V.N. Karazina: Seriya «Medycyna»*, 918, 20, 60-64 [in Ukrainian].
- [5] Tashchuk V.K., Denisjuk V.I., Khrebtiiy G.I. (2014). Patohenetichni osoblyvosti terapii hipertenzionnoi khvoroby u patsientiv iz suputnimy abdominalnym ozhyrinniam ta defitsytom masy tila [Pathogenetic features of therapy of hypertension in patients with concomitant abdominal obesity and body weight deficiency]. *Bukovynskiy medychnyi visnyk — Bukovynsky medical bulletin*, 18, 2 (70), 105- 108 [in Ukrainian].
- [6] Tomina O.Ye., Bichkova O.Yu. (2010) Prohnozuvannya efektyvnosti kontroliyu arterialnoho tysku pry arterialniy hipertenzii, sho komorbidna z vyrazkovoioy khvoroboiu Prediction of the effectiveness of control of arterial pressure in arterial hypertension that is comorbid with peptic ulcer. *Visnyk HNU im. V.N. Karazina: Seriya «Medycyna»*, 918, 20, 77-82 [in Ukrainian].

- [7] Shelest A.N., Kovaleva Yu.A., Shelest B.A. (2016). Vliyanie ozhireniya na markery vospaleniya u bol'nyh arterial'noj gipertenziej [Influence of obesity on markers of inflammation in patients with arterial hypertension]. *Georgian Medical News*, 255(6), 81-85 [in Russian].
- [8] Cortez D.N., Reis I.A., Souza D.A.S., Macedo M.M.L., Torres H.de C. (2015). Complications and the time of diagnosis of diabetes mellitus in primary care. *Acta Paulista de Enfermagem*, 28(3), 250-255. <https://dx.doi.org/10.1590/1982-0194201500042>.
- [9] Chun-Na J., Ming L., Jing-Ping S., Fang F., Yong-Na W., Cheuk-Man Yu, et al. (2014). The Prevalence and Prognosis of Resistant Hypertension in Patients with Heart Failure. *PLoS One*, 9(12), e114958. doi: 10.1371/journal.pone.0114958, PMCID: PMC4260939, PMID: 25490405.
- [10] Fuchs F.D., di Nicolantonio J.J. (2015). Angiotensin receptor blockers for prevention of cardiovascular disease: where does the evidence stand? *Open Heart*, 2, e000236. doi: 10.1136/openhrt-2014-000236.
- [11] Haass M., Kitzman D.W., Anand I.S., Miller A., Zile M.R., et al. (2011) Body mass index and adverse cardiovascular outcomes in heart failure patients with preserved ejection fraction: results from the Irbesartan in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction (I-PRESERVE) trial. *Circ Heart Fail*, 4, 324–331
- [12] Katayama S., Hatano M., Issiki M. (2018). Clinical features and therapeutic perspectives on hypertension in diabetics. *Hypertension Research*, 41, 213–229. <https://doi.org/10.1038/s41440-017-0001-5>.
- [13] Kenchaiah S., Evans J.C., Levy D., Wilson P.W., Benjamin E.J., Larson M.G., et al. (2002). Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med*, 347, 305–313. DOI: 10.1056/NEJMoa020245.
- [14] Malek F. (2013) Arterial hypertension and chronic heart failure. *Cor et Vasa*, 55(3), e259-e263. <https://doi.org/10.1016/j.crvasa.2013.04.002>.
- [15] Nagarajan, V., Kohan, I., Hollande, E., Keeley, E.C., Mazimba, S. (2016). Obesity paradox in heart failure: a heavy matter. *ESC Heart Fail*, 3(4), 227–234. Published online 2016 Oct 31. doi: 10.1002/ehf2.12120 PMCID: PMC5107969 PMID: 27867523.
- [16] Nicoll, R., Ibrahim, Y.Z.P., Olivecrona, G., Henein, M. (2016). Diabetes and Hypertension Consistently Predict the Presence and Extent of Coronary Artery Calcification in Symptomatic Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int. J. Mol. Sci*, 17(9), 1481. Published online 2016 Sep 6. doi: 10.3390/ijms17091481, PMCID: PMC5037759, PMID: 27608015.
- [17] Paz, M.A., de-La-Sierra, A., Sáez, M., Barceló, M.A., Rodríguez, J.J., Castro, S., et al. (2016). Treatment efficacy of anti-hypertensive drugs in monotherapy or combination: ATOM systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials according to PRISMA statement. *Medicine (Baltimore)*, 95(30), e4071. Published online 2016 Jul 29. doi: 10.1097/MD.0000000000004071, PMCID: PMC5265817.
- [18] Ruschitzka, F., Taddei, S. (2012). Angiotensin-converting enzyme inhibitors: first-line agents in cardiovascular protection? *Eur. Heart J.*, 33, 1996–1998.
- [19] Yang H., Wang Y., Negishi K., Nolan M., Marwick T.H. (2016). Pathophysiological effects of different risk factors for heart failure. *Open Heart*, 3, e000339-2015-000339. eCollection doi: 10.1136/openhrt-2015-000339.

Патологічні зміни серця на тлі вживання психостимуляторів

С. В. Козлов, К. М. Сулоєв, В. В. Колдунов, Ю. В. Козлова, Ш. М. Мамедов

¹ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро

Ключові слова:
амфетамін,
метамфетамін,
серце, судова
патологія, людина.

Патологія. – 2018. –
Т. 15, № 3(44). –
С. 290–295

DOI:
10.14739/2310-1237.
2018.3.151697

E-mail:
tanatholog@i.ua

Мета роботи – вивчення патоморфологічних змін у серці у випадках смерті на тлі вживання похідних фенілакліамінів.

Матеріали та методи. Матеріал – 58 судово-медичних досліджень померлих від отруєнь наркотичними речовинами в період 2015–2017 рр. у Дніпропетровській області. Усі померлі були чоловіками, середній вік – $28,8 \pm 6,7$ року. Контроль – 15 осіб віком 21–36 років, які померли внаслідок зовнішніх причин, що не пов'язані з дією наркотичних речовин; усі померлі – чоловіки віку $28,1 \pm 6,2$ року. В усіх випадках проаналізували аналіз обставин справи, результати аутопсії, дані судово-гістологічного, судово-токсикологічного та полум'яно-фотометричного досліджень.

Результати. Морфометричний аналіз сердець у групі померлих від похідних фенілакліамінів не виявив вірогідних змін лінійно-вагових характеристик порівняно з контрольною групою. Середні значення вмісту К і Na у зразках, що досліджували, становили $172,4 \pm 15,6$ мг% та $125,5 \pm 9,4$ мг%. К/Na співвідношення в досліджених шматочках міокарда – в межах від 0,94 до 1,85. У кожному дослідженому серці померлих внаслідок вживання амфетаміну та метамфетаміну виявлені вірогідні зміни К/Na рівноваги, і кількість відділів серця, де К/Na співвідношення становило менше ніж 2, коливалася від 1 до 6. У результаті аналізу мікроскопічних змін міокарда померлих, які вживали похідні фенілакліамінів (амфетамін, метамфетамін), встановили комплекс мікроскопічних ознак: внутрішньоклітинні зміни (вакуолізація) з боку кардіоміоцитів, дифузно-осередкові ділянки периваскулярного та інтерстиційного кардіосклерозу поряд з осередковим міоцитолізом і вогнищевою гіпертрофією кардіоміоцитів без ознак ураження інтрамуральних вінцевих судин.

Висновки. Протягом дослідження сердець померлих, які вживали похідні фенілакліамінів, виявили патологічні зміни на тканинному (комплекс характерних мікроскопічних ознак) і молекулярному (порушення калій-натрієвої рівноваги) рівнях, що свідчать про розвиток гострої серцевої дисфункції.

Ключевые слова:
амфетамин,
метамфетамин,
сердце, судебная
патология,
человек.

Патология. – 2018. –
Т. 15, № 3(44). –
С. 290–295

Патологические изменения сердца на фоне употребления психостимуляторов

С. В. Козлов, К. Н. Сулоев, В. В. Колдунов, Ю. В. Козлова, Ш. М. Мамедов

Цель работы – изучение патоморфологических изменений в сердце в случаях смерти на фоне употребления производных фенилаклиаминов.

Материалы и методы. Материал – 58 судебно-медицинских исследований умерших от отравлений наркотическими веществами в период 2015–2017 гг. в Днепропетровской области. Все умершие – мужчины, средний возраст – $28,8 \pm 6,7$ года. Контроль – сердца 15 человек в возрасте 21–36 лет, умерших вследствие внешних причин, не связанных с действием наркотических веществ; все умершие – мужчины в возрасте $28,1 \pm 6,2$ года. Во всех случаях проводили анализ обстоятельств дела, результатов вскрытий, данных судебно-гистологического, судебно-токсикологического и пламенно-фотометрического исследований.

Результаты. Морфометрический анализ сердец в группе умерших от токсического действия производных фенилаклиамина не показал достоверных изменений линейно-весовых параметров по сравнению с контрольной группой. Средние значения содержания К и Na в исследованных образцах составляли $172,4 \pm 15,6$ мг% и $125,5 \pm 9,4$ мг%. К/Na соотношение в исследованных образцах миокарда – в пределах от 0,94 до 1,85. В каждом исследованном сердце умерших в результате употребления амфетамина и метамфетамина отмечены достоверные изменения К/Na соотношения, и количество отделов сердца, где К/Na соотношение составляло менее 2, колебалось от 1 до 6. По данным анализа микроскопических изменений миокарда умерших, которые употребляли производные фенилаклиамина (амфетамин, метамфетамин), установлен комплекс микроскопических признаков: внутриклеточные изменения (вакуолизация) со стороны кардиомиоцитов, диффузно-очаговые участки периваскулярного и интерстициального кардиосклероза в сочетании с очаговыми миоцитолізом и гипертрофией кардиомиоцитов без признаков поражения венечных сосудов.

Выводы. При исследовании сердец умерших, употреблявших производные фенилаклиамина, обнаружены патологические изменения на тканевом (комплекс характерных микроскопических признаков) и молекулярном (нарушение калій-натрієвого равновесия) уровнях, свидетельствующие о развитии острой сердечной дисфункции.

Key words:
amphetamine,
methamphetamine,
heart, forensic
pathology, human.

Pathologia
2018; 15 (3), 290–295

Pathological changes in the heart under the use of psychostimulants

S. V. Kozlov, K. M. Suloiiev, V. V. Koldunov, Yu. V. Kozlova, Sh. M. Mamedov

The aim of the work is to study pathomorphological changes in the heart in cases of death under the use of phenylalkylamine derivatives.

Materials and methods. 58 forensic studies of people who died of poisoning with drugs during the period 2015–2017 in the Dnipropetrovsk region were done. All the deceased were men aged 28.8 ± 6.7 years. As a control, the hearts of 15 people aged 21–36 years who died due to external causes not related to the effects of narcotics were examined. All the deceased

were men aged 28.1 ± 6.2 years. In all cases, the analysis of the circumstances, results of autopsy, forensic-histological, forensic toxicological and flame photometric studies was carried out.

Results. Morphometric analysis revealed no significant changes in linear-weight characteristics of hearts in the deceased group compared to the control group. Mean K and Na levels in the samples corresponded to 172.4 ± 15.6 and 125.5 ± 9.4 mg % respectively. K/Na ratio of the myocardium ranged from 0.94 to 1.85. In each investigated heart of the deceased due to amphetamine and methamphetamine use, significant changes in K/Na balance were detected, and the number of heart divisions, where the K/Na ratio was less than 2, ranged from 1 to 6. From data of analysis of microscopic changes of myocardium of the deceased, who used the derivatives of phenylalkylamine (amphetamine, metamphetamine) during of life, the complex of microscopic signs was set as intracellular changes (vacuolisation) from the side of cardiomyocytes, diffuse focal areas of perivascular and interstitial cardiosclerosis, in combination with focal myocytolysis and hypertrophy of cardiomyocytes without the signs of injury of coronal vessels.

Conclusions. The study of the hearts of the deceased who used phenylalkylamine derivatives, characteristic pathological changes at the tissue (a complex of characteristic microscopic signs) and molecular (violation of potassium-sodium equilibrium) levels were detected, indicating the development of acute cardiac dysfunction.

Зловживання психостимуляторами – медико-соціальна проблема в усьому світі [1]. До відомих властивостей психостимуляторів, що сприяють їх поширенню, належать: підвищення фізичної витривалості, формування почуття емоційного благополуччя. Чимале підвищення рівня споживання метамфетаміну в США, Європі, Японії, Російській Федерації, Україні призводить до збільшення кількості смертельних випадків серед молодого та працездатного населення [1].

Фенілалкаміни – похідні фенілетиламіну, найбільш відомими є психотропні синтетичні аналоги алкалоїдів (амфетамін, метамфетамін). Основними шляхами введення цих психотропних препаратів в організм людини є пероральний, внутрішньовенний та інгаляційний. Після потрапляння в організм людини розвивається наркотичне сп'яніння, що проявляється як вегетативно-неврологічні порушення (тремор, підвищена пітливість, розширені зіниці, зниження апетиту, порушення сну), психічні зміни (агресивна поведінка, багаточасова та монотонна стереотипна поведінка, депресивні та тривогоподібні стани, галюцинації, загальне виснаження) та соматичні симптоми (підвищення артеріального тиску, порушення серцевого ритму, кардіоміопатія, серцева недостатність, інфаркт міокарда, гіпертермія) [2]. При хронічному вживанні похідних фенілалкамінів формується когнітивний і психомоторний дефіцит як результат розладу нейромедіаторних систем центральної нервової системи. У фаховій літературі збільшується кількість повідомлень про серцево-судинні ускладнення на тлі вживання амфетаміну. Доведений нейротоксичний ефект метамфетаміну залежить від дози прийнятого препарату, індивідуальних характеристик організму, стажу споживання тощо. Важливим аспектом під час медико-правового оцінювання смертельних випадків є вплив амфетаміну на поведінку людини, наприклад, в умовах дорожньо-транспортних пригод [6].

Група вчених виконала експериментальні дослідження щодо кардіотоксичності метамфетаміну [3]. Під час світлової мікроскопії сердець щурів, яким підшкірно вводили метамфетамін у дозі 1 мг/кг щоденно, на 14 добу експерименту виявили фокальні некрози та дистрофічні зміни кардіоміоцитів. На ультраструктурному рівні патологічні зміни в кардіоміоцитах проявлялися як втрата міофібрил і порушення структури крист мітохондрій.

Широке використання протягом лікування інтокси-

кацій штучної детоксикації (гемодіаліз, гемосорбція) нівелює результати судово-токсикологічної експертизи у випадках смерті таких пацієнтів. Відсутність токсичної речовини в біологічних рідинах і внутрішніх органах трупа концентрує увагу судово-медичного експерта на ретельному дослідженні макро- та мікроскопічних змін внутрішніх органів і виявленні характерних і специфічних ознак попередніх інтоксикацій.

Розробка медико-експертних критеріїв пост-мортальної діагностики наркотичних інтоксикацій і хронічного вживання наркотичних речовин за морфологічними змінами внутрішніх органів є актуальною проблемою судово-медичної експертизи.

Мета роботи

Вивчення патоморфологічних змін у серці у випадках смерті на тлі вживання похідних фенілалкамінів.

Матеріали і методи дослідження

Матеріал – 58 судово-медичних досліджень померлих від гострих отруєнь похідними фенілалкамінів на тлі хронічного зловживання в період 2015–2017 рр. у Дніпропетровській області. Орієнтовна давність вживання психостимуляторів за матеріалами слідчих даних – не менше ніж 1 рік. Усі померлі були чоловіками, середній вік – $28,8 \pm 6,7$ року. Контроль – серця 15 осіб віком 21–36 років, які померли внаслідок зовнішніх причин, що не пов'язані з дією наркотичних речовин; усі померлі – чоловіки віком $28,1 \pm 6,2$ року. В усіх випадках проаналізували обставини справи, результати аутопсії, дані судово-гістологічного, судово-токсикологічного та полум'яно-фотометричного досліджень.

Усі дослідження виконали на базі Дніпропетровського обласного бюро судово-медичної експертизи. Розтини померлих виконали в різні часові інтервали після настання смерті, після появи ранніх трупних явищ (трупні плями, охолодження, трупне закладання), але не пізніше ніж 24 години. Померлі до початку аутопсії та зразки міокарда, що вилучені під час аутопсії, до проведення фотометричного дослідження зберігалися в умовах холодильної камери судово-медичного моргу.

Токсикологічний аналіз. Відповідно до наказу № 6 МОЗ України від 17.01.1995 р. при підозрі на отруєння алкоколами, лікарськими речовинами на

судово-токсикологічне дослідження надсилали шлунок із вмістом, тонкий і товстий кишечник із вмістом, нирку, печінку, мозок, сечу, кров, селезінку; при підозрі на внутрішньом'язовий або підшкірний шлях введення цих речовин додатково вилучали ділянку шкіри або м'язів із місця уколу. З трупа вилучали кров в об'ємі не менше ніж 200 мл, весь об'єм сечі з сечового міхура, третину головного мозку, печінки, легені, жовчний міхур із вмістом, одну нирку, не менше ніж 200 г сальника, не менше ніж 1 метр тонкого й товстого кишечника з вмістом. Ізолювання речовин із біоматеріалу виконали відповідно до методичних рекомендацій. Паренхіматозні органи ретельно подрібнювали, заливали підкисленою насиченим розчином щавелевої кислоти водою. Отриману кислоту водяну витяжку підлужували 25 % розчином гідроксиду амонію та екстрагували хлороформом, упарювали. Отриманий екстракт досліджували методом тонкошарової хроматографії в тонких шарах сорбенту з використанням комплексу реагентів для виявлення фенілалкіламінів та їхньої внутрішньогрупової ідентифікації.

Полум'яно-фотометричне дослідження. Полум'яно-фотометричне дослідження шматочків серцевого м'яза виконувало згідно з рекомендаціями [4]. Для визначення K/Na співвідношення з кожного серця брали шматочки міокарда без оболонок і сполучної тканини передньої, задньої стінок лівого шлуночка, міжшлуночкової перетинки, верхівки серця, переднього та заднього соскоподібних м'язів лівого шлуночка, з них були виготовлені навіски вагою наважки в межах $180,0 \pm 1,0$ мг. Шматочки висушували в сушильній шафі при температурі 60°C до постійної ваги, потім розчиняли в мірних колбах в суміші сірчаної та азотної кислот (по 2 мл) на водяній бані. Після охолодження розчини доводили дистильованою водою до 100 мл і змішували. Фотометрування виконали на полум'яному фотометрі ПАЖ-2 у третьому діапазоні.

Судово-гістологічне дослідження. Для визначення диференційно-діагностичних критеріїв наслідків вживання амфетамінів та його похідних (метамфетаміну) здійснили якісне оцінювання патоморфологічних змін у серці.

Для виявлення патоморфологічних мікроскопічних змін у міокарді виконали світлооптичну мікроскопію [5]. Шматочки міокарда з різних ділянок серця (лівий і правий шлуночки), вилучені під час аутопсії померлих, фіксували в 10 % розчині формаліну протягом 24 годин. Фіксовані ділянки серця зневоднювали у спиртах висхідної концентрації, заливали в парафін. За допомогою мікротома готували зрізи завтовшки 5–8 мкм і монтували на предметне скло. Для виявлення тканинних компонентів зрізи, попередньо депарафінізовані у спиртах низхідної концентрації до води, поміщали у водний розчин стандартних барвників (гематоксилін та еозин).

Мікрофотографії гістологічних препаратів міокарда отримували шляхом мікрофотознімання за допомогою цифрової камери CANON Power Shot A640 (КНР) та мікроскопу Carl Zeiss Axioskop 40 (ФРН) із використанням адаптерної системи Soligor Adapter Tube for Canon A610/A620 і ліцензійного програмного забезпечення AxioVision AxioVs40V4.6.3.0.

Морфометричне дослідження серця. Серця, що вилучені під час аутопсії померлих від отруєнь наркотичними речовинами та контрольної групи, зважували, вимірювали та визначали довжину, ширину, товщину цілого органа, товщину стінок лівого та правого шлуночків.

Отримані кількісні цифрові дані (лінійно-вагові параметри серця, вміст мікроелементів K і Na в різних відділах серця) аналізували за допомогою комп'ютерної програми Statistica v6.1 (№ ліцензії AGAR909E415822FA StatSoft Inc., USA). У кожній групі розраховували середні значення (M) і похибку середньої арифметичної (m). Вірогідність відмінностей середніх значень оцінювали з використанням t-критерію Стюдента. Відмінності вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Результати

Аналіз випадків смертельних отруєнь наркотичними засобами та психостимуляторами в період 2015–2017 рр. показав: щороку загальна кількість отруєнь наркотичними речовинами поступово збільшується. Питома вага наркотичних отруєнь внаслідок вживання похідних фенілалкіламінів у загальній структурі смертності від отруєнь, за даними КЗ «Дніпропетровське обласне бюро СМЕ», у Дніпропетровській області у 2015 р. становила 2,88 %, в 2016 – 3,48 %, 2017 – 5,75 %.

Відомо, що судово-медичний діагноз встановлюється з урахуванням усієї сукупності даних, що отримані під час вивчення обставин смерті, судово-медичного дослідження трупа, судово-гістологічного та судово-токсикологічного дослідження біологічних рідин і внутрішніх органів трупа.

Аналіз обставин справи, супроводжувальних документів, протоколу огляду трупа на місці його виявлення свідчили про раптовий ненасильницький характер смерті. Під час зовнішнього та внутрішнього дослідження померлих у всіх випадках виявляли зливні синюшно-фіолетового кольору трупні плями, рідкий стан крові в порожнинах серця та судинах, венозне повнокров'я внутрішніх органів, крапкові темно-червоні субплевральні та субепікардіальні крововиливи. В окремих випадках фіксували в ділянці верхніх кінцівок наявність крапкових ран з ознаками зажиттєвості, які могли свідчити про парентеральний шлях введення наркотичних або лікарських речовин.

Після зовнішнього огляду серця та вимірювання досліджували стан субепікардіально розташованих вінцевих артерій. Як на поперечних, так і подовжніх розрізах звужень просвіту й уражень інтими вінцевих артерій в обох групах померлих не встановили. Морфометричний аналіз також не показав вірогідні відмінності ($p > 0,05$) між середніми величинами довжини ($9,7 \pm 0,3$ см), ширини ($8,7 \pm 0,2$ см), товщини ($5,30 \pm 0,05$ см) та ваги ($356,7 \pm 12,3$ г) сердець, товщини стінок лівого ($1,4 \pm 0,1$ см) та правого шлуночків ($0,40 \pm 0,03$ см) померлих від отруєнь наркотичними речовинами порівняно з контрольною групою.

Під час судово-гістологічного дослідження серця виявили, що наслідки хронічної токсичної дії речовин

із групи фенілалкіламінів (амфетамін і метамфетамін) проявлялися поширеними дифузними ділянками кардіосклерозу (рис. 1), патологічними дистрофічними змінами кардіоміоцитів (рис. 2). У кардіоміоцитах переважали внутрішньоклітинні зміни: ділянки про-світлення, ексцентрично розташовані вакуолі. Для мікроскопічної картини міокарда в цій групі померлих характерний осередковий міоцитоліз зі зникненням поперечної смугастості кардіоміоцитів і вогнищева гіпертрофія кардіоміоцитів.

Судово-медичні полум'яно-фотометричні дослідження серцевого м'яза з різних відділів (лівий шлуночок (передня стінка, задня стінка, передній і задній соскоподібні м'язи), верхівка серця, міжшлуночкова перетинка) в контрольній групі показали: концентрація К у досліджених відділах перевищувала 200 мг%, а вміст Na менший ніж 100 мг%, К/Na співвідношення – в межах від 2,82 до 3,63 (табл. 1).

Розрахунок концентрації К і Na в серцях померлих внаслідок вживання амфетаміну та його похідних (метамфетаміну) показав неоднорідність розподілу біоелементів у різних відділах серцевого м'яза. До уваги взяли тільки ті зразки, в яких концентрація К була нижче ніж 200 мг%, а вміст Na понад 100 мг%. Середні значення вмісту К і Na в досліджених зразках становили $172,4 \pm 15,6$ та $125,5 \pm 9,4$ мг%. К/Na співвідношення в досліджених шматочках міокарда – в межах від 0,94 до 1,85 (табл. 2).

У кожному дослідженому серці померлих внаслідок вживання амфетаміну та його похідних (метамфетаміну) виявили вірогідні зміни калій-натрієвої рівноваги ($p < 0,05$), і кількість відділів серця, де К/Na співвідношення становило менше ніж 2, коливалося від 1 до 6.

Обговорення

Ретроспективний кількісний аналіз випадків смертельних отруєнь протягом 3 років показав поступове зростання кількості смертей внаслідок вживання наркотичних речовин від 2,88 % (2015) до 5,75 % (2017). Такі самі тенденції визначають у розвинених країнах, зокрема в США, де передозування метамфетаміном

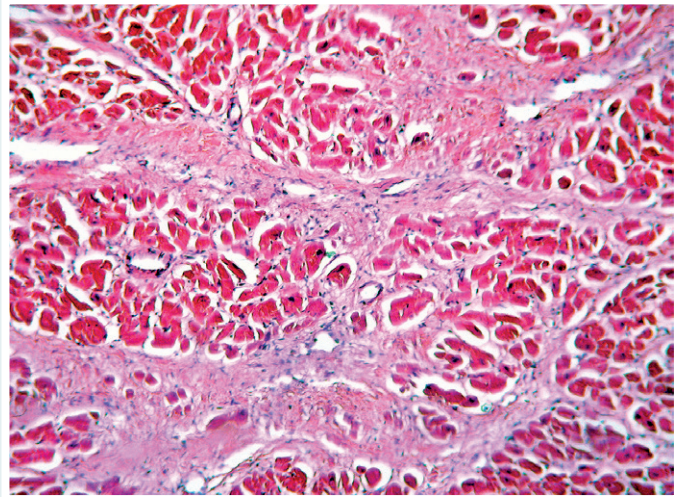


Рис. 1. Дифузні ділянки інтерстиціального та периваскулярного фіброзу міокарда при хронічній дії метамфетаміну в чоловіка віком 35 років. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. $\times 10$, об. $\times 20$.

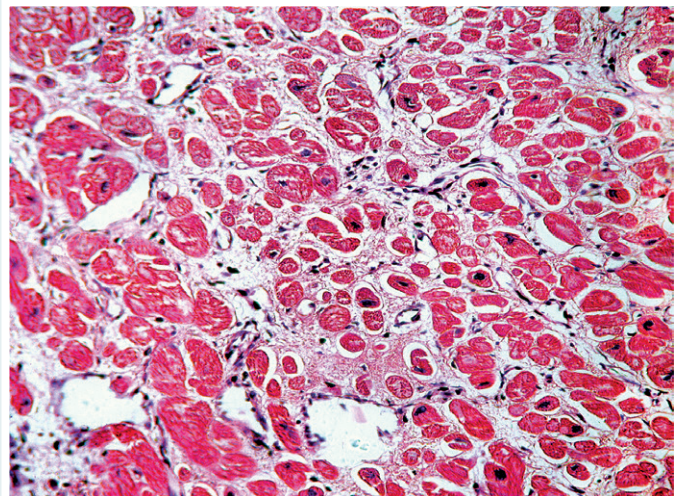


Рис. 2. Вогнищеві дистрофічні зміни кардіоміоцитів при хронічній токсичній дії речовин із групи фенілалкіламінів у чоловіка віком 37 років. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. $\times 10$, об. $\times 40$.

Таблиця 1. Калій-натрієве співвідношення в різних відділах серця в контрольній групі

Розрахункові параметри	Відділи серця					
	Верхівка серця, М \pm m	Передня стінка лівого шлуночка, М \pm m	Задня стінка лівого шлуночка, М \pm m	Передній соскоподібний м'яз лівого шлуночка, М \pm m	Задній соскоподібний м'яз лівого шлуночка, М \pm m	Міжшлуночкова перетинка, М \pm m
Вміст К, мг%	259,5 \pm 12,4	263,3 \pm 9,7	267,6 \pm 9,6	244,8 \pm 8,1	238,9 \pm 10,2	253,8 \pm 10,8
Вміст Na, мг%	79,9 \pm 4,0	77,1 \pm 3,2	75,5 \pm 3,5	88,2 \pm 3,0	85,9 \pm 4,2	82,9 \pm 3,4
К/Na	3,35 \pm 0,04	3,48 \pm 0,06	3,63 \pm 0,02	2,82 \pm 0,01	2,90 \pm 0,03	3,10 \pm 0,06

Таблиця 2. Калій-натрієве співвідношення в різних відділах серця померлих внаслідок вживання амфетаміну та його похідних (метамфетаміну)

Розрахункові параметри	Відділи серця					
	Верхівка серця, М \pm m	Передня стінка лівого шлуночка, М \pm m	Задня стінка лівого шлуночка, М \pm m	Передній соскоподібний м'яз лівого шлуночка, М \pm m	Задній соскоподібний м'яз лівого шлуночка, М \pm m	Міжшлуночкова перетинка, М \pm m
Вміст К, мг%	170,6 \pm 1,8*	148,2 \pm 4,6*	153,0 \pm 1,4*	191,4 \pm 0,7*	141,3 \pm 1,4*	160,5 \pm 2,9*
Вміст Na, мг%	123,9 \pm 1,8*	120,4 \pm 3,2*	112,8 \pm 3,1*	103,4 \pm 0,6*	145,3 \pm 2,4*	101,9 \pm 2,7*
К/Na	1,38 \pm 0,01*	1,24 \pm 0,05*	1,36 \pm 0,02*	1,85 \pm 0,01*	0,94 \pm 0,01*	1,37 \pm 0,02*

*: статистична вірогідність за t-критерієм Стьюдента при $p < 0,05$ порівняно з аналогічними параметрами контрольної групи (табл. 1).

входить у першу десятку причин смерті від передозування наркотичними речовинами, а за 2010–2014 рр. кількість метамфетамін-пов'язаних смертей збільшилася вдвічі [1].

У судово-медичній практиці одним зі складних і невіршених питань у випадку виявлення в біологічному матеріалі похідних фенілалкіламінів є визначення причинно-наслідкового зв'язку між наявністю токсичної речовини та причиною смерті. У фаховій літературі описані поодинокі випадки смертельних отруєнь після вживання амфетаміну, метамфетаміну. Більшість отруєнь у разі виявлення фенілакіламінів – це, як правило, комбінація кількох токсичних речовин, зокрема етанолу, решти лікарських препаратів. За результатами розтину, незважаючи на виявлення в кожному смертельному випадку речовини з групи фенілалкіламінів, обов'язково для об'єктивізації висновку щодо причини смерті визначали у внутрішніх органах, зокрема в серці, наслідки впливу токсичної речовини.

За даними судово-гістологічного дослідження серця померлих, які вживали похідні фенілалкіламінів, встановлено комплекс мікроскопічних ознак: внутрішньоклітинні зміни (вакуолізація) з боку кардіоміоцитів, дифузно-осередкові ділянки периваскулярного й інтерстиційного кардіосклерозу поряд з осередковим міоцитолізом і вогнищевою гіпертрофією кардіоміоцитів без ознак ураження інтрамуральних вінцевих судин. Усі смертельні випадки внаслідок вживання психотропних препаратів, а саме амфетаміну та його похідних (метамфетаміну), що виявляли у внутрішніх органах і біологічних рідинах померлих, у всіх дослідженнях супроводжувалися патоморфологічними змінами в серці, що підтверджує зміни при кардіоміопатіях, що асоційовані з вживанням метамфетаміну [7].

Регіональні відмінності порушень калій-натрієвої рівноваги в серцях померлих внаслідок вживання амфетаміну та його похідних (метамфетаміну), на наш погляд, могли бути пов'язані як з терміном вживання психостимуляторів, так і з індивідуальними особливостями кровопостачання та топографією адренергічних нервових волокон.

В аспекті патофізіології порушення калій-натрієвого балансу зумовлені порушеннями роботи Na-K-насосів внаслідок дефіциту АТФ в кардіоміоцитах. Калій-натрієвий дисбаланс призводить до втрати електричного мембранного потенціалу, що викликає набряк кардіоміоцитів та осмотичне розтягування клітинної мембрани та підвищення її проникності.

Найбільш вірогідним механізмом впливу амфетаміну та його похідних (метамфетаміну) на міокард є викид чималої кількості катехоламінів у судинне річище з наступним спазмом вінцевих судин, викликом регіональної ішемії, розвитком оксидативного стресу в кардіоміоцитах, дисфункцією мітохондрій, дефектом у гомеостазі мікроелементів, що в комплексі призводить до запуску апоптозу, надалі – розвитку некрозу кардіоміоцитів. Експериментально доведено, що втрата кардіоміоцитів при вживанні метамфетаміну зумовлена індукцією апоптозу через каспазо-залежний механізм. Метамфетамін стимулює вивільнення лізосомальних протеаз у цитозоль із пошкодженням надалі міофібрилярного апарату та формуванням систолічної дисфункції [8].

Підтвердженням кардіотоксичності амфетаміну та його похідних є патоморфологічні, біохімічні результати експериментальних досліджень на щурах [3]. Двотижневе введення сіднокарбу викликало в міокарді зміни у профілі кисень-залежних ферментів, патологічну вазодилатацію всіх ланок мікроциркуляторного русла, зміни ультраструктури кардіоміоцитів гіпоксичного характеру зі зменшенням енергетичного субстрату глікогену, відносного обсягу міофібрилярного апарату.

Механізм токсичного впливу метамфетаміну на серце людини наведено на прикладі клінічних і секційних спостережень: вазоспазм на рівні коронарного мікроциркуляторного річища призводить до ушкодження міокарда з розвитком вогнищевих ділянок інфаркту [7].

Отже, в патогенезі отруєнь похідними фенілалкіламінів значний спазм судин великого кола кровообігу призводить до різкого підвищення артеріального тиску. Підвищення гідростатичного тиску в капілярному річищі ініціює збільшення проникності стінок капілярів із розвитком набряків у внутрішніх органах [3].

Крім гістопатологічних змін серця, які є атрибутом токсичного впливу похідних фенілалкіламінів, під час макроскопічного оцінювання визначена кардіомегалія з вірогідним збільшенням ваги серця та великовогнищевими ділянками фіброзу міокарда [9]. Морфометричний аналіз сердець у групі померлих, які вживали похідні фенілалкіламінів (амфетамін, метамфетамін), не виявив вірогідні зміни лінійно-вагових характеристик (довжина, ширина, товщина, вага, товщина стінок лівого та правого шлуночків) порівняно з контрольною групою.

Відомо, що основним критерієм діагностики гострих і хронічних отруєнь внаслідок дії наркотичних речовин є позитивний результат судово-токсикологічного дослідження тканин і біологічних рідин трупа. Однак виникають ситуації, коли припущення про смерть від ускладнень внаслідок дії наркотичних речовин при доведених катамнестичних даних про вживання наркотичних речовин не підтверджується результатами судово-токсикологічного дослідження. У зв'язку з цим патологічні зміни у внутрішніх органах можуть бути використані як додаткові критерії судово-медичної діагностики наркотичної інтоксикації.

У діагностичному процесі низку ознак, які виявлені під час судово-медичного дослідження трупа, можна розглядати як відносні непрямі та використовувати в комплексі з даними судово-токсикологічного дослідження. До таких ознак при зовнішньому дослідженні належать синювато-фіолетового кольору рясні трупні плями, під час внутрішнього дослідження – рідкий стан крові, повнокров'я внутрішніх органів, крапкові темно-червоні субплевральні та субепікардіальні крововиливи, набряк головного мозку та легень, периваскулярні мікрогеморагії у внутрішніх органах (речовина головного мозку, міокард, печінка). Відсутність під час розтину прямих морфологічних ознак гострого токсичного впливу може призводити до помилок у діагностиці причини смерті.

Висновки

1. У результаті аналізу мікроскопічних змін міокарда померлих, які вживали похідні фенілалкіламінів (амфетамін, метамфетамін), встановлений комплекс мікроско-

лічних ознак: внутрішньоклітинні зміни (вакуолізація) з боку кардіоцитів, дифузно-осередкові ділянки периваскулярного та інтерстиційного кардіосклерозу поряд з осередковим міоцитолізмом і вогнищевою гіпертрофією кардіоцитів без ознак ураження вінцевих судин.

2. За результатами полум'яно-фотометричного дослідження серця у групі померлих, які вживали похідні фенілалкіламінів (амфетамін, метамфетамін), в усіх випадках виявлені вірогідні зміни калій-натрієвої рівноваги, K/Na співвідношення становило менше ніж 2.

3. Морфометричний аналіз сердець у групі померлих, які вживали похідні фенілалкіламінів (амфетамін, метамфетамін), не виявив вірогідних змін лінійно-вагових характеристик (довжина, ширина, товщина, вага, товщина стінок лівого та правого шлуночків) порівняно з контрольною групою.

Перспективи подальших досліджень. Планується розробити комплекс діагностичних заходів, враховуючи отримані результати й особливості патогенезу для ідентифікації патоморфологічних змін у серці у випадках смерті на тлі вживання похідних фенілакліламінів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Козлов С. В., д-р мед. наук, доцент, професор каф. патологічної анатомії та судової медицини, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

ORCID ID: 0000-0002-7619-4302

Сулоєв К. М., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії і судової медицини, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

ORCID ID: 0000-0002-6841-3632

Колдунов В. В., д-р мед. наук, професор, в. о. зав. каф. патологічної фізіології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Козлова Ю. В., канд. мед. наук, викладач каф. патологічної фізіології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Мамедов Ш. М., студент III курсу, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

ORCID ID: 0000-0003-1028-5372

Сведения об авторах:

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

Сулоев К. М., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.

Колдунов В. В., д-р мед. наук, профессор, и. о. зав. каф. патологической физиологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.

Козлова Ю. В., канд. мед. наук, преподаватель каф. патологической физиологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.

Мамедов Ш. М., студент III курса, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.

Information about authors:

Kozlov S. V., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro.

Suloiiev K. M., PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro.

Koldunov V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Acting Head of the Department of Pathological Physiology of the SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro.

Kozlova Yu. V., PhD, Lecturer of the Department of Pathological Physiology, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro.

Mamedov Sh. M., Student of the SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro.

Надійшла до редакції / Received: 22.05.2018

Після доопрацювання / Revised: 07.08.2018

Прийнято до друку / Accepted: 23.08.2018

Список літератури

- [1] Herbeck D.M. Mortality, causes of death and health status among methamphetamine users / D.M. Herbeck, M.L. Brecht, K. Lovinger // *Journal of addictive diseases*. – 2015. – №34. – Issue 1. – P. 88–100.
- [2] The effect of chronic methamphetamine exposure on the hippocampal and olfactory bulb neuroproteomes of rats / R. Zhu, T. Yang, F. Kobeissy, et al. // *PLoS ONE*. – 2016. – Т. 11. – Issue 4. – e0151034.
- [3] Кардиотоксические свойства сиднокарба / А.П. Дроздов, Е.Б. Харопонова, Ю.В. Силкина. – Днепро: Экономика, 2016. – 212 с.
- [4] Родинський О.Г. Зміни мікроелементного складу головного мозку в умовах експериментальної міокардіальної дисфункції / О.Г. Родинський, Ю.В. Козлова // *Патологія*. – 2014. – №3. – С. 39–41.
- [5] Соколова А.В. Морфологические изменения ткани миокарда при внезапной сердечной смерти от алкогольной кардиомиопатии / А.В. Соколова // *Судебно-медицинская экспертиза*. – 2016. – Т. 59. – №1. – С. 3–6.
- [6] Medico-legal aspect of amphetamine-related deaths / K. Kula, S. Rojek, M. Maciów-Głąb, et al. // *Archives of forensic medicine and criminology*. – 2014. – Т. 64. – Issue 2. – P. 76–101.
- [7] Methamphetamine-associated cardiomyopathy: patterns and predictors of recovery / A. Voskoboinik, J.F. Ihle, J.E. Bloom, D.M. Kaye // *Internal Medicine Journal*. – 2016. – Vol. 46. – P. 723–727.
- [8] MDMA induces cardiac contractile dysfunction through autophagy upregulation and lysosome destabilization in rats / K. Shintani-Ishida, K. Saka, K. Yamaguchi, et al. // *Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Basis of Disease*. – 2014. – Vol. 1842. – Issue 5. – P. 691–700.
- [9] Clinical and autopsy characteristics of fatal methamphetamine toxicity in Australia / S. Darke, J. Duffou, J. Lappin, S. Kaye // *Journal Forensic Sciences*. – 2017. – Vol. 63. – Issue 5.

References

- [1] Herbeck, D. M., Brecht, M. L., & Lovinger, K. (2015). Mortality, causes of death and health status among methamphetamine users. *Journal of addictive diseases*, 34(1), 88–100. doi: 10.1080/10550887.2014.975610.
- [2] Zhu, R., Yang, T., Kobeissy, F., Mouhieddine, T. H., Raad, M., Nokkari, A., et al. (2016). The effect of chronic methamphetamine exposure on the hippocampal and olfactory bulb neuroproteomes of rats. *PLoS ONE*, 11(4), e0151034. doi: 10.1371/journal.pone.0151034.
- [3] Dроздов, А. Л., Харопонова, Е. Б., & Силкина, Ю. В. (2016). *Кардиотоксические свойства сиднокарба [Cardiotoxic properties of syndocarp]*. Dnipro: Ekonomika. [in Russian].
- [4] Rodinskij, A. G., & Kozlova, Ju. V. (2014). Zminy mikroelementnoho skladu holovnoho mozku v umovakh eksperymentalnoi miokardialnoi dysfunktsii [Changes in trace element composition of the brain under conditions of experimental myocardial dysfunction]. *Pathologia*, 3, 39–41. [in Ukrainian]. doi: https://doi.org/10.14739/2310-1237.2014.3.36636.
- [5] Sokolova, O. V. (2016). Morfologicheskie izmeneniya tkani miokarda pri vnezapnoj serdechnoj smerti ot alkogol'noj kardiomiopatii [The morphological changes in the myocardial tissue after sudden cardiac death from alcoholic cardiomyopathy]. *Sudebno-medicinskaya e'kspertiza*, 59(1), 3–6. [in Russian]. doi: 10.17116/sudmed20165913-6.
- [6] Kula, K., Rojek, S., Maciów-Głąb, M., Kopacz, P., & Klys, M. (2014). Medico-legal aspect of amphetamine-related deaths. *Archives of forensic medicine and criminology*, 64(2), 76–101. doi: 10.5114/amsk.2014.47746.
- [7] Voskoboinik, A., Ihle, J. F., Bloom, J. E., & Kaye, D. M. (2016). Methamphetamine-associated cardiomyopathy: patterns and predictors of recovery. *Internal Medicine Journal*, 46(6), 723–727. doi: 10.1111/imj.13050.
- [8] Shintani-Ishida, K., Saka, K., Yamaguchi, K., Hayashida, M., Nagai, H., Takemura, G., & Yoshida, K. (2014). MDMA induces cardiac contractile dysfunction through autophagy upregulation and lysosome destabilization in rats. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1842(5), 691–700. doi: 10.1016/j.bbdis.2014.01.013.
- [9] Darke, S., Duffou, J., Lappin, J., & Kaye, S. (2017). Clinical and autopsy characteristics of fatal methamphetamine toxicity in Australia. *Journal Forensic Sciences*, 63(5). doi: 10.1111/1556-4029.13710.

Metabolic myocardial disorders in children with bronchial asthma

O. V. Herasymova, T. L. Protsiuk, L. O. Protsiuk, O. B. Dudarenko, O. V. Kuleshov

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine

Key words:

bronchial asthma, child, biomarkers, cardiovascular system.

Pathologia

2018; 15 (3), 296–301

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.3.151707

E-mail:

rossata@ukr.net

Objective. To study specific features of potassium metabolism and myocardial damage markers in the children with bronchial asthma, depending on the level of BA control.

Materials and methods. Comprehensive examination was carried out in 189 children with persistent BA aged 6–17 years: group 1 consisted of 124 with uncontrolled course of the disease, group 2 – 30 patients with partially controlled BA and 35 patients with controlled BA. The comparison group consisted of 30 patients with controlled asthma without changes from the cardiovascular system. The unified flame photometry method with fluid analyzer FFA-1 was used to determine the erythrocyte potassium level. Total creatine phosphokinase level was estimated by UV-test. Creatine phosphokinase-MB level was determined by M-subunit immunoinhibition. Total lactic dehydrogenase-1 level was calculated by modified colorimetric method using an assay kit for colorimetric determination of total LDH. Serum LDH1 level was estimated by UV-method with the kit for determination of isoenzyme LDH1 activity.

Results. In the children with UC BA serum K⁺ and erythrocyte K⁺ level was significantly lower compared to the children with PC BA, C BA, C BA with no changes in CVS and the control group. Total CPK and CPK-MB isoenzyme level in the children with UC BA, was significantly higher compared to those with PC BA, C BA, C BA without CVS changes and the control group. In the children with PC BA, total serum CPK level was also significantly higher compared to C BA (P = 0.007), C BA without CVS (P = 0.0002) changes and the control group (P = 0.001).

Conclusion. Thus, the study demonstrated significant decrease of potassium level in blood serum and erythrocytes, twofold increase of total creatine phosphokinase and lactic dehydrogenase-1 isoenzyme levels, threefold increase in creatine phosphokinase-MB isoenzyme level, and one and a half time increase of total lactic dehydrogenase in the children with uncontrolled course of bronchial asthma.

Ключові слова:

бронхіальна астма, діти, серцево-судинна система, біомаркери.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 3(44). – С. 296–301

Метаболічні порушення в міокарді в дітей при бронхіальній астмі

O. V. Герасимова, Т. Л. Процюк, Л. О. Процюк, О. Б. Дударенко, О. В. Кулешов

Мета роботи – дослідити особливості обміну калію та маркерів ушкодження міокарда в дітей, які хворі на бронхіальну астму (БА) з різним рівнем контролю.

Матеріали та методи. Обстежили 189 дітей віком від 6 до 17 років, які хворі на БА, що персистує. Перша група – 124 дитини з неконтрольованим перебігом (НК) хвороби, друга – 30 пацієнтів із частково контрольованою (ЧК) і 35 пацієнтів із контрольованою БА. Група порівняння – 30 дітей із контрольованим (К) перебігом БА без змін із боку серцево-судинної системи (ССС). Контрольна група – 95 практично здорових дітей. Для визначення калію в еритроцитах застосовували уніфікований метод фотометрії полум'я за допомогою аналізатора рідини ПАЖ-1. Для визначення загальної креатинфосфокінази (КФК) використовували кінетичний UV-тест. Для визначення креатинфосфокінази-МВ (КФК-МВ) застосовували метод імуноінгібування М-субодиниць із наступним визначенням UV-кінетичним методом. Для встановлення загальної лактатдегідрогенази (ЛДГ) застосовували модифікований колориметричний метод, використовуючи набір реактивів для колориметричного визначення загальної ЛДГ. Рівень лактатдегідрогенази-1 (ЛДГ₁) у сироватці крові встановили кінетичним УФ методом.

Результати. Протягом дослідження встановили, що в дітей із НК БА рівень К⁺ у сироватці та еритроцитах крові був вірогідно нижчим порівняно з дітьми з ЧК БА, К БА, К БА без змін у СССР і контрольної групи. У дітей із ЧК БА рівень К⁺ у сироватці крові був вірогідно знижений порівняно з дітьми із К БА, групою порівняння та контрольною групою. Рівень загальної КФК та ізоферменту КФК-МВ фракції в дітей із НК БА виявився вірогідно вищим порівняно з дітьми з ЧК БА, К БА, К БА без змін у СССР та контрольної групи. У дітей із ЧК БА рівень загальної КФК у сироватці крові також був вірогідно підвищений порівняно з К БА, К БА без змін у СССР і дітьми контрольної групи.

Висновки. Результати дослідження вказують на вірогідне зниження рівня калію в сироватці крові, еритроцитах і збільшення вдвічі рівня загальної креатинфосфокінази та ізоферменту лактатдегідрогенази-1, втричі – ізоферменту креатинфосфокінази-МВ фракції, в 1,5 раза – загальної лактатдегідрогенази в дітей із неконтрольованим перебігом бронхіальної астми.

Ключевые слова:

бронхиальная астма, дети, сердечно-сосудистая система, биомаркеры.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 3(44). – С. 296–301

Метаболические нарушения в миокарде у детей с бронхиальной астмой

Е. В. Герасимова, Т. Л. Процюк, Л. А. Процюк, О. Б. Дударенко, А. В. Кулешов

Цель работы – изучить особенности обмена калия и маркеров повреждения миокарда у детей, больных бронхиальной астмой (БА) с разным уровнем контроля.

Материалы и методы. Обследовали 189 детей в возрасте от 6 до 17 лет, больных персистирующей БА. Первую группу составили 124 ребенка с неконтролируемым (НК) течением болезни, вторую – 30 пациентов с частично контролируемой (ЧК) и 35 пациентов с контролируемой (К) БА. В группу сравнения вошли 30 детей с контролируемым течением БА

без изменений со стороны сердечно-сосудистой системы (ССС). Группа контроля – 95 практически здоровых детей. Для определения калия в эритроцитах применяли унифицированный метод фотометрии с помощью анализатора жидкости ПАЖ-1. Для определения общей креатинфосфокиназы (КФК) использовали кинетический UV-тест. Для определения креатинфосфокиназы -МВ (КФК-МВ) применяли метод иммуоингибирования М-субъединиц с последующим определением UV-кинетическим методом. Для определения общей лактатдегидрогеназы (ЛДГ) применяли модифицированный колориметрический метод с использованием набора реактивов для колориметрического определения общей ЛДГ. Уровень лактатдегидрогеназы-1 (ЛДГ₁) в сыворотке крови устанавливали кинетическим УФ методом.

Результаты. В ходе исследования установлено, что у детей с НК БА уровень К⁺ в сыворотке и эритроцитах крови достоверно ниже по сравнению с детьми с ЧК БА, К БА, К БА без изменений в ССС и контрольной группой. У детей с ЧК БА уровень К⁺ в сыворотке крови достоверно снижен по сравнению с детьми с К БА, группой сравнения и контрольной группой. Уровень общей КФК и изофермента КФК-МВ фракции, у детей с НК БА оказался достоверно выше по сравнению с детьми с ЧК БА, К БА, К БА без изменений в ССС и контрольной группе. У детей с ЧК БА уровень общей КФК в сыворотке крови также был достоверно повышен по сравнению с К БА, К БА без изменений в ССС и детьми контрольной группы.

Выводы. Результаты исследования указывают на достоверное снижение уровня калия в сыворотке крови, эритроцитах и увеличение вдвое уровня общей КФК и изофермента ЛДГ₁, втрое – изофермента КФК-МВ фракции, в 1,5 раза – общей лактатдегидрогеназы у детей с неконтролируемым течением бронхиальной астмы.

Bronchial asthma (BA), a chronic recurring disease, remains an urgent medical, social, economic problem of modern society and public health service [1]. This is determined by a number of factors including steady increased morbidity, early onset of the disease, late diagnostics, necessity in a long-term basic therapy and constant control of disease symptoms [2].

Severe choking fits, emphysema of the lungs, chronic hypoxia and hypoxemia, developing in BA, marked neurovegetative imbalance, steady rise of pulmonary artery pressure are accompanied by considerable disturbances of metabolic processes in the myocardium [3]. Deficiency of ATP in myocardium during hypoxia and hypoxemia results in various myocardial dysfunctions on the systemic, cellular, subcellular and molecular levels. These changes lead to inability of myocardial cells to maintain proper metabolism for their life activity and functioning [4]. For this reason, early diagnostics of myocardial metabolic disturbances are of great significance.

The earliest manifestation of significant metabolic and morphologic changes in the myocardium in moderate and severe BA is an increase of enzymes of creatine phosphokinase fraction (CPK-MB) and lactic dehydrogenase-1 (LDH1) in blood [5]. Levels of those enzymes are increased by 10-46 % in 50 % of children with moderate BA, while 30–52 % increase of CPK-MB and LDH1 levels is noted in 70% of children with severe BA [5]. An increased level of cardio-specific enzymes is observed two-three weeks before ECG shows the signs of repolarization and depolarization disturbances. This can serve as diagnostic and prognostic criteria of BA severity, as well as the evidence of the efficiency of drug therapy of underlying disease and cardiovascular disorders [6].

Dealing with the problem “bronchial asthma and the heart”, the role of micro-element potassium (K⁺) should be emphasized. Potassium is known to promote intensive water excretion – it facilitates the functioning of cardiovascular system (CVS) in case of its insufficiency, participates in formation of electric pulses in the heart, and myocardial contractility. Normal K⁺ level prevents arrhythmias, improves oxygen supply of brain cells, decreases blood pressure, prevents fatigue, increases physical endurance. There are BA cases, when serum K⁺ level

is considerably decreased, primarily due to the inhaled beta-2 agonists. Their frequent use leads to penetration of potassium into the cells and, subsequently, to its decreased level in the blood by 0.5–1.0 mEq/l. A number of studies demonstrated beta-2 agonists, short-acting in particular, to cause decreased serum potassium level [7,8]. It should be considered, that glucocorticoids can increase the urine excretion of potassium as well. Thus, unsystematic intake of beta-2 agonists, unreasonable increase of glucocorticoid doses can trigger negative effects related to the disturbances of potassium metabolism.

Objective

To study specific features of potassium metabolism and myocardial damage markers in the children with bronchial asthma, depending on the level of BA control.

Materials and methods

Comprehensive examination was carried out in 189 children with persistent BA aged 6–17 years, treated at the in-patient pulmonology department of Vinnytsia Regional Clinical Hospital, and 95 apparently healthy children of the control group. The comparison group consisted of 30 patients with controlled asthma (BA) without changes from the cardiovascular system (CVS). The diagnosis was made according to the criteria presented in the “Protocol of diagnosis and treatment of bronchial asthma in children”, approved by the Order of the Ministry of Health of Ukraine of October 8, 2013. The children were divided into groups according to BA control level, determined by asthma control test (ACT-test). Group 1 consisted of 124 patients (65.61 %) with uncontrolled course of the disease (UC BA), group 2 – 30 patients (15.87 %) with partially controlled BA (PC BA) and 35 patients (18.52 %) with controlled BA (C BA).

Inclusion criteria were the following: previously verified BA not less than for two years; age between 6 and 17 years inclusive; period of BA exacerbation; increase of FEV1 >12 % after salbutamol inhalation according to spirometry data and/or PEFr variability of >20 % after peakflowmetry; presence of day symptoms not less than 2 episodes a week; those who had received basic therapy

in SMART regime; ability of patients and their parents to realize the information in ACT-test and questionnaires on quality of life of children; ability to use inhaler and peak flow meter properly; informed consent of parents to cooperate with the investigator in the study.

Exclusion criteria were the following: FEV1 <60 % of normal; intake of drugs not indicated in clinical protocol of BA treatment in children; continuous basic therapy with systemic glucocorticosteroids (GS) and antileukotrienes for a month or more before the enrollment; hypersensitivity and/or contraindications to components of the drugs included in treatment regimen.

The unified flame photometry method with fluid analyzer FFA-1 (Ukraine) was used to determine the erythrocyte potassium level. Total creatine phosphokinase (CPK) level was estimated by UV-test (NAC-activation) with CPK determination kit, and control serums SERODOS, produced by the firm "Human", Germany. According to this method, the norm of creatine phosphokinase in serum was: in girls 6–12 years old – 154 U/l, 12–17 years – 123 U/l; in boys 6–12 years – 247 U/l, 12–17 years – 270 U/l.

Creatine phosphokinase-MB (CPK-MB) level was determined by M-subunit immunoinhibition and UV-kinetic method with the kit for CPK-MB determination, and control serums with human CPK-MB (the firm "Human", Germany). According to this method, the norm of creatine phosphokinase-MB in blood serum was: 24 U/l.

Total lactic dehydrogenase-1 (LDH1) level was calculated by modified colorimetric method using an assay kit for colorimetric determination of total LDH, and control serums SERODOS (the firm "Human", Germany). "Humalyzer 2000" device, produced by the firm "Human" (Germany), was used to determine CPK, CPK-MB and LDH levels. The norm of total LDH in blood serum was: in children 2–10 years – not more than 290 U/l, over 12 years – not more than 250 U/l.

Serum LDH1 level was estimated by UV-method with the kit for determination of isoenzyme LDH1 activity, produced by the firm "Filicit-Diagnostics" (Ukraine), with photoelectric photometer CPK-3-01 (Zagorsk Factory of Optical Mechanics, RF). According to this method, the LDH1 norm in serum was 72–182 U/l.

Statistical data processing was done with Statistical package for Windows v. 8.0 (№AXXR910A374605FA) using parametric and nonparametric methods. The normal distribution was evaluated according to Shapiro–Wilk test. Digital information of all clinical investigations was processed by variance statistical method calculating the mean value (M) and its error (m). The significance of difference between two means was calculated by Student's t-test (t), between two relative values – by Fisher angular transformation method (f). For all specific data, the median (Me), lower and upper quartiles [LQ 25–UQ 75] were established. Two unrelated groups were compared by Mann-Whitney U-test. Two related samples were compared by Wilcoxon T-test. All P values of less than 0.05 were considered to indicate statistical significance. Correlation analysis with calculation of Spearman rank correlation (r) was used to establish the relationship between the studied indices.

Results

In the children with UC BA serum K⁺ level was found to be 3.2 [3.0–4.0] mmol/l, being significantly lower compared to the children with PC BA – 3.7 [3.2–4.2] mmol/l (P < 0.01), C BA – 4.2 [3.8–4.5] mmol/l (P < 0.001), C BA with no changes in CVS – 4.3 [3.8–4.7] mmol/l (P < 0.001), and the control group – 4.4 [3.9–4.8] mmol/l (P < 0.001). Besides, in the children with PC BA serum K⁺ level was also significantly decreased compared to those with C BA, the group of comparison and the control group (P < 0.01) (Fig. 1).

The analysis of erythrocyte K⁺ level demonstrated it to be 68.0 [60.0–80.0] mmol/l in the children with UC BA, being significantly lower compared to the children with PC BA – 80.0 [62.0–84.0] mmol/l, (P < 0.001), C BA – 82.0 [78.0–92.0] mmol/l (P < 0.001), C BA with no changes in CVS – 83.3 [79.0–92.0] mmol/l (P < 0.001), and the control group – 84.3 [80.0–93.0] mmol/l, (P < 0.001). No significant difference in erythrocyte K⁺ level was found in the children with PC BA, C BA, C BA with no changes in CVS and the control group (P > 0.05).

The analysis of the ratio of K⁺ level in blood serum to that in erythrocytes showed that 32.3 ± 4.2 % of children with UC BA and 13.3 ± 6.2 % of those with PC BA (P < 0.05) had hypokalemia. Hypokalihiemia was found in 18.5 ± 3.5 % of the children with UC BA and in 10.0 ± 5.5 % of those with PC BA (P > 0.05). Simultaneous decrease of K⁺ level in blood serum and erythrocytes was observed in 17.7 ± 3.4 % of children with UC BA and in 6.7 ± 4.6 % of those with PC BA (P > 0.05). Conversely, hypokalemia, hypokalihiemia and simultaneous decrease of K⁺ level in blood serum and erythrocytes were not revealed in the children with C BA, the group of comparison and the control group.

As the decreased K⁺ level in blood serum and erythrocytes was found to be more evident in the children with UC BA, we set the goal to establish the most likely causes of its decrease in that category of children.

Positive moderate correlation relationship was found between the frequency of short-acting beta-2 agonist intake and hypokalemia in the children with UC BA (r = 0.45, P < 0.001). In those children positive moderate correlation relationship between the duration of the disease and erythrocyte K⁺ level was found as well (r = 0.40, P < 0.001).

In the children with UC BA and simultaneous decrease of K⁺ level in blood serum and erythrocytes the following correlation relationships were found: positive moderate correlation relationship between K⁺ value and the frequency of short-acting beta-2 agonist intake (r = 0.42, P < 0.001), as well as positive moderate correlation relationship between the duration of the disease and simultaneous decrease of K⁺ level in blood serum and erythrocytes (r = 0.49, P < 0.001). In those category of children negative moderate correlation relationship between the compliance to basic therapy and simultaneous hypokalemia and hypokalihiemia was found as well (r = -0.40, P < 0.05).

Among the children with UC BA and hypokalemia, 42.7 ± 4.4 % had T wave amplitude decrease, 7.3 ± 2.2 % – ST segment depression, and 20.2 ± 3.6 % – simultaneous T wave amplitude decrease and ST segment depression. Among those with hypokalihiemia and uncontrolled BA course, 47.6 ± 4.5 % had prolonged QT

interval, $16.9 \pm 3.4\%$ – ST segment depression, and $34.7 \pm 4.3\%$ – simultaneous T wave amplitude decrease and ST segment depression. In the group of children with UC BA and simultaneous decrease of K^+ level in blood serum and erythrocytes, $77.4 \pm 3.7\%$ had combined ECG changes: prolonged QT interval, T wave amplitude decrease and ST segment depression. Prolonged QT interval was found in $22.5 \pm 3.7\%$ of children.

The children with UC BA, hypokaliemia, and combined hypokalemia and hypokaliemia had prolonged QT interval more often, indicating an increased risk of fatal arrhythmias and sudden death syndrome.

The results of study of myocardial damage markers, depending on various levels of BA control. Total CPK level was $295.1 [290.1-302.2]$ U/I in the children with UC BA, being significantly higher compared to those with PC BA – $225.0 [180.0-289.3]$ U/I ($P < 0.01$), C BA – $155.1 [143.1-175.0]$ U/I ($P < 0.001$), C BA without CVS changes – $153.3 [140.2-173.0]$ U/I ($P < 0.001$) and the control group – $152 [140.2-172.0]$ U/I ($P < 0.001$). In the children with PC BA, total serum CPK level was also significantly higher compared to C BA ($P < 0.01$), C BA without CVS ($P < 0.01$) changes and the control group ($P < 0.01$). There was no significant difference between that index in the children with C BA, C BA without CVS changes and the control group ($P > 0.05$) (Fig. 2).

Having analyzed CPK-MB isoenzyme level in all studied groups, a similar tendency was found: its significant increase in the children with UC BA – $61.2 [46.0-69.5]$ U/I compared to the children with PC BA – $37.5 [25.0-52.2]$ U/I ($P < 0.01$), C BA – $22.5 [19.2-26.8]$ U/I ($P < 0.001$), C BA without CVS changes – $20.0 [18.4-24.4]$ U/I ($P < 0.001$) and the control group – $19.6 [16.2-22.3]$ U/I ($P < 0.001$). CPK-MB level in the children with PC BA was also significantly increased compared to those with C BA, C BA without CVS changes and the control group ($P < 0.01$) (Fig. 2).

Total serum LDH level was found to be significantly increased in the children with UC BA – $406.2 [260.2-496.2]$ U/I compared to those with PC BA – $270.2 [246.0-316.2]$ U/I ($P < 0.01$), C BA – $262.3 [242.1-306.2]$ U/I ($P < 0.001$), C BA without CVS changes – $261.1 [241.1-302.3]$ U/I ($P < 0.001$) and the control group – $260.0 [240.2-293.0]$

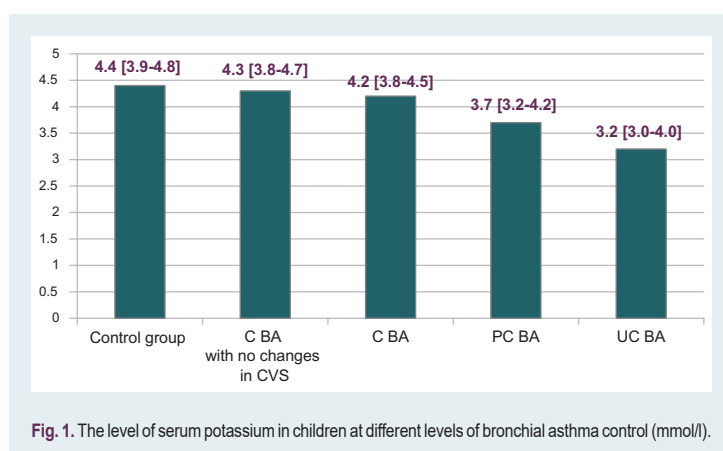


Fig. 1. The level of serum potassium in children at different levels of bronchial asthma control (mmol/l).

U/I ($P < 0.001$). No other difference in that index within the comparison groups was found ($P > 0.05$). Having calculated isoenzyme LDH level as percentage of total serum LDH in the children with BA depending on the level of its control, it was found to be increased twofold in the children with UC BA compared to those of the control group and C BA ($P < 0.001$), and by 1.8 times compared to those with PC BA ($P < 0.05$) (Fig. 2).

Discussion

When uncontrolled, asthma can limit the daily activities and is sometimes fatal. Acute severe asthma represents progressive airway narrowing to the extent where the patient is distressed at rest and may have signs of cardiac stress. Bronchial asthma independently increases the risk of developing cardiovascular disease [8]. There are limited data on electrolyte disturbances in acute asthma. The present study was designed to investigate specific features of potassium metabolism and myocardial damage markers in the children with bronchial asthma, depending on the level of BA control. We know that, potassium is the second most abundant cation in the body and electrolyte levels directly influence excitability of airway smooth muscles (ASM) by influencing the state of ion exchangers and Na^+/K^+ pump. Possible hypotheses

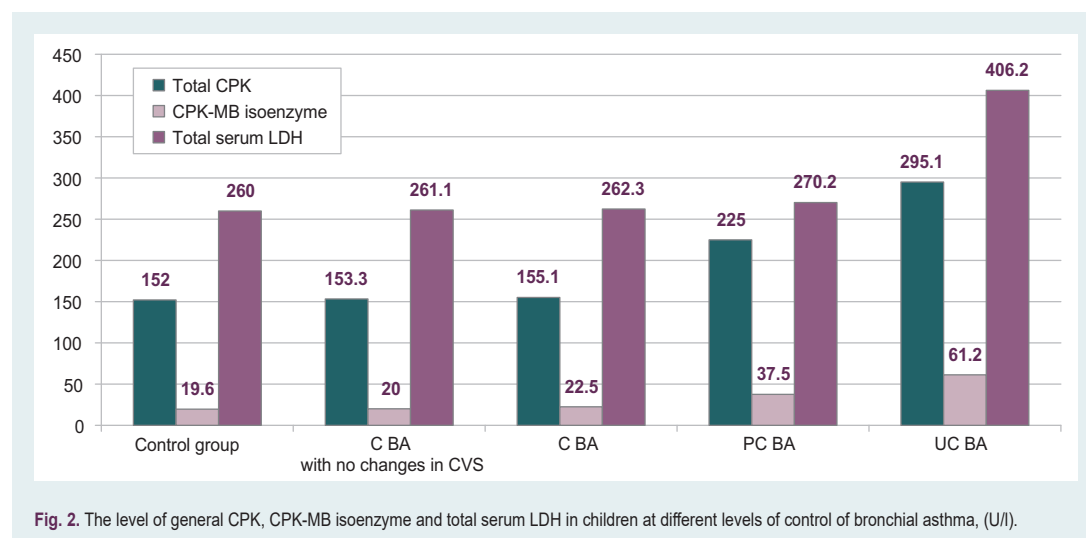


Fig. 2. The level of general CPK, CPK-MB isoenzyme and total serum LDH in children at different levels of control of bronchial asthma, (U/I).

that may lead to airway reactivity include a direct effect of electrolytes on bronchial smooth muscle contractility as well as potential enhancement of the release of mast cell-derived inflammatory mediators, possibly through airway osmolarity changes [9].

On the other hand, we noticed that more patients with acute asthma exacerbation had hypokalemia and there was a significant decrease in potassium level. In our study, proportions were for potassium, in the children with UC BA serum K^+ level was found to be 3.2 [3.0–4.0] mmol/l, being significantly lower compared to the children with PC BA – 3.7 [3.2–4.2] mmol/l ($P < 0.01$), C BA – 4.2 [3.8–4.5] mmol/l ($P < 0.001$), this is in agreement with the study by P. Ravikumar et al., who also noticed that the lowest proportions for potassium serum levels were 3.30 ± 0.01 mmol/l [8].

Treatment of acute asthma consists of repeated doses of nebulized β_2 -agonists, systemic steroids and aminophylline in unresponsive cases. The administration of salbutamol during the emergency treatment of acute severe asthma was shown to be associated with a significant decrease in serum magnesium, potassium and phosphate levels [12].

Results similar to our results were obtained by S. N. Karmali et al. [13], who concluded that a single dose of β_2 -agonist increased the heart rate by 9.12 beats/min and reduced the potassium concentration by 0.36 mmol/L, compared to placebo. For trials lasting from 3 days to 1 year, β_2 -agonist treatment significantly increased the risk for a cardiovascular event (relative risk [RR], 2.54; 95 % CI, 1.59 to 4.05) compared to placebo. The RR for sinus tachycardia alone was 3.06 and for all other events it was 1.66.

Present study is consistent with study done by A. M. Hala et al. [10] that the therapeutic drugs administered for the management of asthma were found to have an effect on the serum potassium levels. Hypokalemia were more prevalent among asthmatics that received β_2 -agonist in either monotherapy or combined with steroid and or theophylline, whereas A. Lorensia et al. [11] found that there is no significant difference in sodium ($P > 0.866$) and potassium ($P > 0.470$) level in blood as a response to the asthma exacerbations treatment by intravenous aminophylline compared to nebulized salbutamol. Although there was no significant difference in the incidence of electrolyte disturbances in both drugs, but close monitoring is still needed to prevent any side effects incident.

The study by V. Arunachalam et al. [9] revealed the decrease in serum potassium level is high in children who received more than three doses of salbutamol.

Recently, the results of N. Shaikh et al. [14] study indicated that serum electrolytes like magnesium, potassium and phosphate decreased significantly in patients with acute severe asthma who were on treatment with nebulized salbutamol. The mechanism and clinical significance of these findings are unclear and they require further studies.

Salbutamol is an adrenergic agonist which principle effect is stimulation of β_2 -receptors with resultant bronchodilation. Compared with oral or parenteral routes of administration, inhalation of salbutamol has reportedly been associated with fewer systemic side-effects for equivalent bronchodilator effect [15].

Nevertheless, there is evidence of systemic absorption of the inhaled drug, which may result in clinical significance. As inhaled β_2 -agonists have systemic cardiovascular effects, and elevations in arterial stiffness and sympathetic nerve activity are associated with increased cardiovascular morbidity/mortality [16].

Our study found that the children with UC BA, hypokalemia, and combined hypokalemia and hypokaliemia had prolonged QT interval more often, indicating an increased risk of fatal arrhythmias and sudden death syndrome that this is in agreement with the study by H. Edgell et al. [15], who also noticed that the hypokalemia, hypomagnesemia, and hypocalcemia are well-known causes of cardiac arrhythmia. In another study, it was found that sodium, potassium and magnesium concentrations of asthmatic patients showed no significant differences in the means when compared with the control group, but elevated levels of sodium were associated with poor ventilatory function. High levels of potassium were associated with better pulmonary ventilation [17].

The influence of pathogenic factors in bronchial asthma leads to violations of metabolic processes in the myocardium. The earliest manifestations of significant metabolic and morphological changes in the myocardium in BA are the increase in the content of myocardial damage markers in the blood [18].

According to the study by F. Healy et al. [19] an increase in the level of cardiospecific enzymes is observed for 2–3 weeks previously observed on ECG signs of violation of repolarization and depolarization, which can serve as a diagnostic and prognostic criterion of severity of asthma, as well as adequacy of medical therapy as the main disease and detected violations of the cardiovascular system.

In the study, V. Umalakshmi and K. Bhargavi [20] established a significant increase of creatine kinase ($P < 0.01$), lactate dehydrogenase ($P < 0.01$) and lipid profile ($P < 0.01$) in exacerbation of asthma when compared to controls. No statistical significance was observed in stable asthma when compared to controls. Creatine kinase and lactate dehydrogenase levels increased significantly and lipid profile showed a decrease in exacerbating asthma when compared to stable asthma patients. To correlate these levels and predict the risk of severity of asthma and help the clinician in diagnosis and implementation of appropriate treatment and prevent the risk of fatal asthma.

What coincides with the data obtained by us? In our study it is established that in children with uncontrolled asthma decrease of the level of potassium in the blood serum and in red blood cells, increase of the level of total creatine phosphokinase and isoenzymes of LDH-1 by two times, isoenzyme creatine phosphokinase-MB fraction by three times and increase of the total lactate dehydrogenase by 1.5 times were marked more significantly.

Conclusion

Thus, the study demonstrated significant decrease of potassium level in blood serum and erythrocytes, increase of total creatine phosphokinase and lactic dehydrogenase-1 isoenzyme levels, increase in creatine phosphokinase-MB

isoenzyme level, and one and a half time increase of total lactic dehydrogenase in the children with uncontrolled course of bronchial asthma. The major reasons of decreased potassium level in blood serum and erythrocytes are misuse of short-acting beta-2 agonists, prolonged course of the disease, and noncompliance of basic therapy.

Directions for future research. The results of the study have led to the conclusion that the children with uncontrolled bronchial asthma require correction of metabolic disturbances of myocardium. Because of that, further investigations should involve the assessment of basic therapy efficiency in combination with cardioprotective drugs.

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

Information about authors:

Herasymova O. V., MD, PhD, Assistant of the Department of Pediatrics № 1, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

Protsiuk T. L., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Pediatrics № 1, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

Protsiuk L. O., MD, PhD, Assistant of the Department of Hygiene and Ecology, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

Dudarenko O.B., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Hygiene and Ecology, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

Kuleshov O. V., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Propedeutics of Pediatric Diseases with Patient Care, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

Відомості про авторів:

Герасимова О. В., канд. мед. наук, асистент каф. педіатрії № 1, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Процюк Т. Л., д-р мед. наук, доцент каф. педіатрії № 1, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Процюк Л. О., канд. мед. наук, асистент каф. загальної гігієни та екології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Дударенко О. Б., канд. мед. наук, доцент каф. загальної гігієни та екології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Кулешов О. В., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики дитячих захворювань та догляду за хворими дітьми, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Сведения об авторах:

Герасимова Е. В., канд. мед. наук, ассистент каф. педиатрии № 1, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Процюк Т. Л., д-р мед. наук, доцент каф. педиатрии № 1, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Процюк Л. А., канд. мед. наук, ассистент каф. общей гигиены и экологии, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Дударенко О. Б., канд. мед. наук, доцент каф. общей гигиены и экологии, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Кулешов О. В., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики детских болезней и ухода за больными детьми, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Надійшла до редакції / Received: 02.07.2018

Після доопрацювання / Revised: 27.09.2018

Прийнято до друку / Accepted: 03.10.2018

References

- [1] Schatz, M., & Rosenwasser, L. J. (2014) The allergic asthma phenotype. *Allergy Clin Immunol Pract.*, 2(6), 645–8. doi: 10.1016/j.jaip.2014.09.004.
- [2] Farzan, S. (2013) The asthma phenotype in the obese: distinct or otherwise? *J Allergy (Cairo)*, 2013. doi: 10.1155/2013/602908.
- [3] Rowan, S. C, Keane, M. P., Gaine S., & McLoughlin P. (2016) Hypoxic pulmonary hypertension in chronic lung diseases: novel vasoconstrictor pathways. *Lancet Respir Med.*, 4(3), 225–36. doi: 10.1016/S2213-2600(15)00517-2.
- [4] Paulin, R., & Michelakis, E. D. (2014) The metabolic theory of pulmonary arterial hypertension. *Circ Res.*, 115(1), 148–164. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.301130.
- [5] Umalkshmi, V. & Bhargavi, K. (2015). Serum creatine kinase, lactate dehydrogenase and lipid profile in patients with asthma. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 10(3), 53–56. doi: 10.9790/3008-10335356.
- [6] Faruqi, R., Wilmot, C., Wright, A. H., & Morice, A. H. (2012) Serum LDH in chronic cough: a potential marker of airway inflammation. *The Clinical Respiratory Journal*, 6(2), 81–87. doi: 10.1111/j.1752-699X.2011.00250.x.
- [7] Sahan, M., Yilmaz, M., Gokel, Y., Erden, E. S., & Karakus, A. (2013) Nebulized salbutamol for asthma: effects on serum potassium and phosphate levels at the 60 min. *Rev. Port Pneumol*, 19(5), 200–203. doi: 10.1016/j.rppneu.2012.12.003.
- [8] Ravikumar, P., Priyadarshini Bai, G., & Suryanarayana, H. V. (2013) Study of electro-lyte disturbances in acute asthma. *Int J Biol Med Res.*, 4(3), 3479–3482.
- [9] Arunachalam, V., Venkatasubramanian, R., Heber, A., & Padmanabhan, R. (2016). Effect of salbutamol nebulization in serum potassium level in pediatric acute bronchial asthma. *International journal of scientific research*, 5(9), 198–204.
- [10] Mohammad, H. A., Abdulftah, M. T., Abdulazez, A. O., Mahmoud, A. M., & Rasha, M. A. (2014). Study of electrolyte disturbances in patients with chronic stable asthma and with asthma attacks. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*, 63(3), 529–534. doi: https://doi.org/10.1016/j.ejcdt.2014.03.010.
- [11] Lorensia, A., Ikawati, Z., Andayani, T., Maranatha, D., & Wahjudi, M. (2016) Comparison of Electrolyte Disturbance of Using Intravenous Aminophylline Versus Nebulization Salbutamol for Exacerbation Asthma in Surabaya, Indonesia. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 8(4), 221–228.
- [12] Andrzejewski, P., & Carroll, W. (2016) Salbutamol in paediatrics: pharmacology, prescribing and controversies. *Arch Dis Child Educ Pract Ed.*, 101(4), 194–7. doi: 10.1136/archdischild-2014-307285.
- [13] Karmali, S. N., Sciusco, A., May, S. M., & Ackland, L. G. (2017) Heart rate variability in critical care medicine: a systematic review. *Intensive Care Med Exp.*, 5(1), 33. doi: 10.1186/s40635-017-0146-1.
- [14] Shaikh, N., Reddy, Br., Gokani, R., & Patel, Bh. (2015). Prevalence of electrolyte disturbances in acute exacerbation of bronchial asthma. *EJPMR.*, 2(5), 562–568.
- [15] Rachaiah, J., & Rachaiah, N. (2013) Unusual cause of hypokalemia and paralysis in an elderly patient with Bronchial Asthma. *International Journal of Medical Science and Public Health.*, 2(4), 1114–1116. doi: 10.5455/ijmsph.2013.030720132.
- [16] Edgell, H., Moore, L. E., Chung, C, Byers, B. W., & Stickland M. K. (2016). Short-term cardiovascular and autonomic effects of inhaled salbutamol. *Respir Physiol Neurobiol.*, 231, 14–20. doi: 10.1016/j.resp.2016.05.014.
- [17] Lutfi, M. F. (2013) Electrolytes levels in asthmatic patients. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 3(19), 1–4.
- [18] Oliveira, N. S., Silva, V. R., Castelo, J. S., Elias-Neto, J., Pereira, F. E., & Carvalho, W. B.. (2008) Serum level of cardiac troponin I in pediatric patients with sepsis or septic shock. *Pediatr. Crit. Care Med.*, 9(4), 414–417. doi: 10.1097/PCC.0b013e31817e2b33.
- [19] Healy, F., Hanna, B. D., & Zinman, R. (2010) Clinical practice. The impact of lung disease on the heart and cardiac disease on the lungs. *Eur. J. Pediatr.*, 169(1), 1–6. doi: 10.1007/s00431-009-1027-8.
- [20] Umalkshmi, V., & Bhargavi, K. (2015) Serum creatine kinase, lactate dehydrogenase and lipid profile in patients with asthma. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 10(3), 53–56. doi: 10.9790/3008-10335356.

Нейроімуноендокринні маркери прогнозування преєклампсії

Д. Є. Барковський

Запорізький державний медичний університет, Україна

Ключові слова:

вагітність, преєклампсія, гомеостаз, нейроендокринна система, інсуліно-резистентність, імунна система, цитокіни.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 302–308

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.3.151718

E-mail: dmitro.barkovsky@gmail.com

Мета роботи – встановити особливості нейроендокринної регуляції гомеостазу та імунної системи жінки в 1 триместрі вагітності, що ускладнена преєклампсією, та визначити прогностичні критерії цього акушерського ускладнення.

Матеріали та методи. Здійснили динамічне спостереження за перебігом вагітності, пологів і післяпологового періоду у 294 першовагітних від ранніх термінів гестації (7–8 тижнів). Із них відібрали 46 жінок, вагітність яких ускладнилася преєклампсією та які сформували клінічні групи: 1 – 32 вагітні з преєклампсією легкого ступеня; 2 – 14 вагітних із преєклампсією важкого ступеня. Контрольна група – 48 соматично здорових вагітних із фізіологічним перебігом вагітності. У сироватці крові вагітних клінічних груп у 1 (10–14 тижнів), 2 (23–26 тижнів) та 3 (32–35 тижнів) триместрах методом ІФА визначили концентрацію адренкортикотропного гормону, β-ендорфіну, кортизолу, інсуліну, плацентарного лактогену, хоріонічного гонадотропіну, α-фетопротеїну; імунофлуоресцентним методом із використанням моноклональних антитіл встановили концентрації лімфоцитів і маркерів їхньої активації (CD3, CD4, CD8, CD14, CD16, CD19, CD25, CD71, CD95, HLA DR).

Результати. У жінок із преєклампсією легкого ступеня нейроендокринна регуляція гомеостазу набуває розладів від 1 триместру вагітності (первинна плацентарна недостатність, пригнічення стрес-реалізуючої функції гіпоталамо-гіпофізарної системи, розвиток інсулінорезистентності), що свідчить про дизадаптацію організму жінки до вагітності. У 1 триместрі стан фетоплацентарного комплексу у вагітних із преєклампсією, незалежно від ступеня її тяжкості, характеризується дисбалансом продукції гормонів, що свідчить про розвиток первинної плацентарної недостатності.

Висновки. У жінок із преєклампсією легкого ступеня вже у 1 триместрі вагітності відбувається дисбаланс імунної системи, а саме відносно збільшення загальної кількості Т-лімфоцитів при одночасному зниженні їхньої функціональної активності, особливо Т-хелперів 2 типу, що супроводжується зменшенням продукції протизапальних цитокінів. У жінок із преєклампсією важкого ступеня вже в 1 триместрі вагітності знижені кількісні показники неспецифічного і клітинного імунітету (CD3, CD4, CD8, CD16, HLA-DR) при одночасному підвищенні величини імунорегуляторного індексу (CD4/CD8) та функціональної активності Т-хелперів 1 типу на тлі пригнічення активності Т-хелперів 2 типу.

Ключевые слова:

беременность, преєклампсія, гомеостаз, нейроендокринная система, инсулино-резистентность, иммунная система, цитокины.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 302–308

Нейроиммуноэндокринные маркеры прогнозирования преэклампсии

Д. Е. Барковский

Цель работы – установить особенности нейроэндокринной регуляции гомеостазу и иммунной системы женщины в 1 триместре беременности, осложненной преэклампсией, и установить прогностические критерии возникновения данного акушерского осложнения.

Материалы и методы. Проведено динамическое наблюдение за течением беременности, родов и послеродового периода у 294 первобеременных с ранних сроков гестации (7–8 недель). Из них отобраны 46 женщин, у которых беременность осложнилась преэклампсией и которые сформировали клинические группы: 1 – 32 беременных с преэклампсией легкой степени; 2 – 14 беременных с преэклампсией тяжелой степени. Контрольная группа – 48 соматически здоровых беременных с физиологическим течением беременности. В сыворотке крови беременных клинических групп наблюдения в 1 (10–14 недель), 2 (23–26 недель) и 3 (32–35 недель) триместрах методом ИФА установлена концентрация адренкортикотропного гормона, β-эндорфина, кортизола, инсулина, плацентарного лактогена, хорионического гонадотропина, α-фетопротеина; иммунофлуоресцентным методом с использованием моноклональных антител определена концентрация лимфоцитов и маркеров их активации (CD3, CD4, CD8, CD14, CD16, CD19, CD25, CD71, CD95, HLA DR).

Результаты. У женщин с преэклампсией легкой степени нейроэндокринная регуляция гомеостазу нарушается с 1 триместра беременности, что проявляется формированием первичной плацентарной недостаточности, угнетением стресс-реализующей функции гипоталамо-гипофизарной системы, развитием инсулинорезистентности и свидетельствует о дизадаптации организма женщины к беременности. В 1 триместре состояние фетоплацентарного комплекса у беременных с преэклампсией, независимо от степени ее тяжести, характеризуется дисбалансом продукции гормонов, что указывает на развитие первичной плацентарной недостаточности.

Выводы. У женщин с преэклампсией легкой степени уже в 1 триместре беременности развивается дисбаланс иммунной системы в виде относительного увеличения общего количества Т-лимфоцитов при одновременном снижении их функциональной активности, особенно Т-хелперов 2 типа, что сопровождается уменьшением продукции противовоспалительных цитокинов. У женщин с преэклампсией тяжелой степени уже в 1 триместре беременности снижены количественные показатели неспецифического и клеточного иммунитета (CD3, CD4, CD8, CD16, HLA-DR) при одновременном повышении величины иммунорегуляторного индекса (CD4/CD8) и функциональной активности Т-хелперов 1 типа на фоне угнетения активности Т-хелперов 2 типа.

Neuroimmunoendocrinal markers of prediction of preeclampsia

D. Ye. Barkovskyi

Objective: to establish the features of neuroendocrine regulation of homeostasis and the immune system of a woman in the 1st trimester of pregnancy complicated by preeclampsia, and to establish prognostic criteria for the occurrence of this obstetric complication.

Materials and methods. A dynamic observation of the course of pregnancy, childbirth and the postpartum period was carried out in women pregnant for the first time from the early stages of gestation (7–8 weeks); of these, 46 women were selected for whom the pregnancy was complicated by preeclampsia and who formed the following clinical groups: the 1st group – 32 pregnant women with mild preeclampsia; the 2nd group – 14 pregnant women with severe preeclampsia. The control group – 48 somatically healthy pregnant women with the physiological course of pregnancy. In the serum of pregnant clinical observation groups in the 1st (10–14 weeks), in the 2nd (23–26 weeks) and in the 3rd trimesters (32–35 weeks), the concentration of adrenocorticotropic hormone, β -endorphin was determined by ELISA, cortisol, insulin, placental lactogen, human chorionic gonadotropin, α -fetoprotein; the concentration of lymphocytes and markers of their activation (CD3, CD4, CD8, CD14, CD16, CD19, CD25, CD71, CD95, HLA DR) was determined by the immunofluorescence method using monoclonal antibodies.

Results. For the women with the preeclampsia of the 1st degree the neuroendocrinal regulation of homeostasis is broken in the 1st trimester of pregnancy with creation of primary placental insufficiency, oppression of the stress-realizing function of the hypothalamo-pituitary system, development of insulin resistance, that as a whole testifies about dysadaptation of an organism of the women in the 1st trimester of pregnancy. In the 1st trimester the state of the fetoplacental complex for the pregnant women with preeclampsia, regardless of the degree of severity, is characterized by the dysbalance of hormones production, which testifies to development of primary placental insufficiency.

Conclusions. For the women with preeclampsia of mild degree dysbalance of the immune system develops already in the 1st trimester of pregnancy as relative augmentation of total of T-lymphocytes with simultaneous decrease of their functional activity, particularly T-helpers of the 2nd type, which is accompanied by the decrease of anti-inflammatory cytokines production. For the women with preeclampsia of serious degree the quantitative parameters of non-specific and cellular immunity (CD3, CD4, CD8, CD16, HLA-DR) are reduced already in 1st trimester of pregnancy with simultaneous rising of the value of immunoregulatory index (CD4/CD8) and functional activity of T-helpers of the 1st type on the background of the activity oppression of the 2nd type T-helpers.

Key words:

pregnancy, pre-eclampsia, homeostasis, neuroendocrine system, insulin resistance, immune system, cytokines.

Pathologia

2018; 15 (3), 302–308

Преєклампсія – небезпечне ускладнення вагітності, що становить загрозу здоров'ю та життю матері й дитини [1–6]. Досягнення медицини XX сторіччя з'ясували основні ланки патогенезу гестозу 2 половини вагітності, на підставі яких розроблено численні методи профілактики та лікування цієї акушерської патології [7–12]. Поряд з цим частота гестозу 2 половини вагітності, зокрема преєклампсії, не має тенденції до зменшення та посідає провідне місце серед причин материнської та перинатальної смертності [1,3,5]. Це є підґрунтям для розроблення прогностичних маркерів пізнього гестозу, що базуються на пошуку внутрішньо- і міжсистемних кореляцій адаптивних функцій організму вагітної замість визначення окремого специфічного маркера акушерської патології [13–16].

Саме тому науковий пошук необхідно спрямовувати на визначення індивідуальних прогностичних маркерів на основі доклінічної діагностики (у 1 триместрі вагітності) функціональних змін нейроендокринної та імунної систем вагітної [17–21].

Системні зміни імунітету в бік імуносупресії або зниження імунологічної реактивності, котрі притаманні фізіологічній вагітності вже з 1 триместру гестації, відсутні при виникненні преєклампсії, затримці внутрішньочеревного розвитку плода та антенатальній загибелі, передчасному відшаруванні нормально розташованої плаценти [22]. При преєклампсії відбуваються зміни складу лейкоцитів периферичної крові, які можна порівняти із запальними змінами при сепсисі [23]. Коливання концентрації CD25 і CD8 лімфоцитів у периферичній крові вагітних із преєклампсією можуть свідчити про Т-клітинноопосередковані імунологічні реакції у патогенезі гіпертензивних

порушень при вагітності [24]. Вивчаючи субпопуляції лімфоцитів протягом вагітності, не виявили специфічні зміни концентрації активованих Т-лімфоцитів порівняно з фізіологічним перебігом вагітності. Розбіжності досліджень вмісту субпопуляцій лімфоцитів, імовірно, зумовлені різним терміном гестації у вагітних із преєклампсією, а також можливою відсутністю суттєвих змін на доклінічному етапі розвитку тяжких форм пізнього гестозу. Поряд з цим динамічнішою та ранньою є зміна продукції медіаторів міжклітинної регуляції лімфоцитів – цитокінів, а баланс між прозапальними та протизапальними цитокінами відіграє вирішальну роль у процесах інвазії трофобласта та розвитку вагітності [25,26].

Мета роботи

Встановити особливості нейроендокринної регуляції гомеостазу та імунної системи жінки в 1 триместрі вагітності, що ускладнена преєклампсією, та визначити прогностичні критерії цього акушерського ускладнення.

Матеріали і методи дослідження

Здійснили динамічне спостереження за перебігом вагітності, пологів і післяпологового періоду у 294 першовагітних від ранніх строків гестації (7–8 тижнів). Додаткові критерії: згода пацієнтки на консультативне спостереження і обстеження в умовах акушерської клініки, відсутність ознак TORCH-інфекції та екстрагенітальних захворювань у стадії суб/декомпенсації, рандомізація за віком і соціальним станом.

Клінічне обстеження та лікування вагітних відповідало положенням чинних наказів МОЗ України з обстеження вагітних в умовах жіночої консультації та акушерського стаціонара, а також алгоритмам та обсягу терапії акушерських ускладнень.

Аналіз стану нейроендокринної системи вагітної дав змогу виявити характерні зміни гомеостазу вже у 1 триместрі, коли ще відсутні клінічні ознаки пізнього гестозу, а отже обґрунтувати їхнє значення в прогнозуванні тяжкої форми пізнього гестозу – прееклампсії.

Для досягнення мети за результатами спостереження перебігу вагітності та пологів 294 вагітних відібрали жінок, вагітність яких ускладнилася прееклампсією та які сформували клінічні групи: 1 – 32 вагітні з прееклампсією легкого ступеня; 2 – 14 вагітних із прееклампсією важкого ступеня. Контрольна група – 48 соматично здорових вагітних із фізіологічним перебігом вагітності.

Вагітним виконали загальноприйняте акушерське клінічне та параклінічне обстеження для функціонального оцінювання стану фетоплацентарного комплексу (ФПК): ультразвукове дослідження (у 1 триместрі, у 18–19, 23–26 та 33–35 тижнів) з доплерографією, кардіотокографією з тестами функціональної діагностики (біомонітор «BMT-9141», ФРН), визначили біофізичний профіль плода.

Імуноферментним методом з використанням фотометра «Digi Scan-400» (Австрія) в сироватці крові вагітних клінічних груп у 1 (10–14 тижнів), 2 (23–26 тижнів) та 3 триместрах (32–35 тижнів) визначили концентрацію нейромедіаторів і гормонів: адренкортикотропного гормона (ACTH, «DSL», США), β-ендорфіну («Peninsula Laboratories, Inc.», США), кортизолу («DRG», США), інсуліну («ORG», США), плацентарного лактогену (hPL, «DRG», США), хоріонічного гонадотропіну (hCG, «Eucardio», США), α-фетопротейну (AFP, «Eucardio», США).

Одночасно в названі строки вагітності виконали імунологічне обстеження жінок клінічних груп, як-от визначення спонтанного та стимульованого НСТ-тесту фагоцитів крові, що виділені з цільної крові шляхом адгезії до предметного скла мікроскопа, котре вкрито активуючим агентом; встановлення концентрації імуноглобулінів у сироватці крові (IgA, IgM, IgG) методом імунодифузії (за Manchini); після виділення лімфоцитів із периферичної крові у градієнті фікол-верографіну, в люмінесцентному мікроскопі «ЛЮМАМ РП 011» імунофлуоресцентним методом із використанням моноклональних антитіл встановили концентрації лімфоцитів і маркерів їхньої активації (CD3, CD4, CD8, CD14, CD16, CD19, CD25, CD71, CD95, HLA DR) («Сорбент», Москва, РФ).

Статистичний аналіз виконали, використовуючи програму Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J), з оцінюванням вірогідності відмінностей середніх для незв'язаних вибірок – за критеріями Стьюдента (t); вірогідність відмінностей якісних показників – за критерієм Хі-квадрат Пірсона (χ^2), у тому числі з поправкою Йетса (Yates corrected), точним критерієм Фішера. Для визначення порогових значень нейроімуноендокринних маркерів застосували ROC-аналіз.

Результати

Термін діагностики прееклампсії легкого ступеня становив $29,5 \pm 1,05$ тижня, прееклампсії важкого ступеня – $30,6 \pm 1,6$ тижня. Тривалість перебігу прееклампсії в 1 групі – $10,40 \pm 1,03$ тижня, а в 2 – $6,70 \pm 1,32$ тижня ($p < 0,05$), що пояснюється тяжкістю прееклампсії та необхідністю дострокових пологів.

Аналіз гормональної функції ФПК у жінок із прееклампсією легкого ступеня визначив порушення його ендокринної функції в 1 триместрі, а саме зниження рівня hPL і AFP при підвищеній концентрації hCG (табл. 1). Отже, у вагітних із прееклампсією легкого ступеня відбувається розвиток первинної плацентарної недостатності, яка супроводжується дисбалансом ендокринної функції ФПК протягом усього періоду гестації.

У 1 триместрі вагітності в жінок із прееклампсією легкого ступеня виявили зниження продукції АСТН гіпофізом при одночасному підвищенні рівня інсуліну та величини співвідношення «інсулін/кортизол» (табл. 1). Отже, в жінок із прееклампсією легкого ступеня нейроендокринна регуляція гомеостазу набуває розладів від 1 триместру вагітності (первинна плацентарна недостатність, пригнічення стрес-реалізуючої функції гіпоталамо-гіпофізарної системи, розвиток інсулінорезистентності), що загалом свідчить про дизадаптацію організму жінки до вагітності.

У вагітних із прееклампсією важкого ступеня в 1 триместрі виявили зниження рівня AFP, що також свідчить про формування первинної плацентарної недостатності. Концентрація інших показників нейроендокринної регуляції гомеостазу не відрізнялась від контрольної групи (табл. 1).

Вивчили прогностичне значення концентрації гормонів ФПК і гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи, а також рівня інсуліну в ризику розвитку прееклампсії.

Залежно від зміни концентрації АСТН виявили різний ризик розвитку прееклампсії легкого ступеня. Концентрація АСТН у 1 триместрі гестації менше ніж $4,74$ пг/мл – ризик розвитку цього ускладнення вагітності становить $50,0\%$, а при рівні АСТН понад $7,35$ пг/мл встановлено мінімальний ризик розвитку прееклампсії легкого ступеня. Отже, прогностично сприятливою є концентрація АСТН у сироватці крові вагітної у 1 триместрі понад $7,35$ пг/мл, що свідчить про адекватну реакцію гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи на вагітність, яка розвивається: з одного боку, як головної стрес-адаптувальної системи; з іншого, – як системи гормонального контролю механізмів імуносупресії при фізіологічній вагітності.

У 1 триместрі вагітності стан імунної системи в жінок із прееклампсією легкого ступеня характеризується (табл. 2) підвищеною величиною спонтанного та стимульованого НСТ-тесту, підвищенням співвідношення CD3/CD19 при одночасному зниженні кількості CD25 лімфоцитів. У вагітних 1 групи спостерігали пригнічення функціональної активності Т-хелперів 2 типу (Th2), а саме зменшення концентрації IL-4.

Характерною особливістю імунного статусу в 1 триместрі вагітності в жінок із прееклампсією важкого ступеня є зниження кількісних показників неспецифіч-

Таблиця 1. Концентрація гормонів у сироватці крові вагітних клінічних груп у 1 триместрі вагітності

Показники, одиниці вимірювання	Фізіологічний перебіг вагітності	Преєклампсія легкого ступеня	Преєклампсія важкого ступеня
hPL, мг/л	1,74 ± 0,16	1,02 ± 0,10 [#]	1,42 ± 0,22
hCG, мМЕ/мл	507,0 ± 13,8	655,4 ± 9,0 [†]	538,5 ± 18,6
AFP, нг/мл	21,8 ± 1,8	13,3 ± 2,1 [#]	13,2 ± 0,5 [†]
інсулін, мкМЕ/мл	45,34 ± 2,81	63,42 ± 3,09 [†]	37,27 ± 7,83
кортизол, нг/мл	246,4 ± 6,3	254,1 ± 15,1	226,8 ± 11,0
АСТН, пг/мл	6,51 ± 0,15	5,42 ± 0,2 [†]	7,31 ± 0,47
b-ендорфін, нг/мл	0,14 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,18 ± 0,02
«інсулін/кортизол»	1,91 ± 0,13	2,80 ± 0,25 [#]	1,57 ± 0,26

*: $p < 0,05$, #: $p < 0,01$, †: $p < 0,001$ порівняно з контрольною групою.

Таблиця 2. Показники імунного статусу у 1 триместрі гестації у вагітних із преєклампсією

Показники, одиниці вимірювання	Фізіологічний перебіг вагітності	Преєклампсія легкого ступеня	Преєклампсія важкого ступеня
Лейкоцити, *Г/л	8,14 ± 0,31	8,40 ± 0,28	6,61 ± 0,71
Еозинофіли, *Г/л	0,16 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,08 ± 0,03*
Нейтрофіли, *Г/л	5,79 ± 0,20	5,98 ± 0,21	4,93 ± 0,58
IgM, г/л	1,51 ± 0,09	1,62 ± 0,13	1,17 ± 0,15
IgG, г/л	9,57 ± 0,31	9,63 ± 0,41	10,80 ± 0,60
IgA, г/л	1,65 ± 0,10	1,70 ± 0,14	1,25 ± 0,17
Спонтанний НСТ-тест, %	18,26 ± 1,58	23,67 ± 1,68*	19,71 ± 2,66
Стимульований НСТ-тест, %	35,00 ± 1,33	39,87 ± 1,81 [†]	35,14 ± 2,78
CD3, *Г/л	0,85 ± 0,07	0,92 ± 0,08	0,54 ± 0,04 [†]
CD4, *Г/л	0,61 ± 0,06	0,64 ± 0,07	0,42 ± 0,04 [†]
CD8, *Г/л	0,47 ± 0,05	0,49 ± 0,06	0,27 ± 0,03 [†]
CD19, *Г/л	0,26 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,19 ± 0,03
CD16, *Г/л	0,18 ± 0,02	0,19 ± 0,01	0,13 ± 0,01 [†]
CD14, *Г/л	0,19 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,15 ± 0,03
CD25, *Г/л	0,16 ± 0,02	0,12 ± 0,01 [†]	0,18 ± 0,04
CD71, *Г/л	0,14 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,12 ± 0,02
CD95, *Г/л	0,16 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,16 ± 0,04
HLA-DR, *Г/л	0,24 ± 0,03	0,17 ± 0,02	0,15 ± 0,02 [†]
CD4/CD8	1,35 ± 0,05	1,33 ± 0,03	1,59 ± 0,1 [†]
CD3/CD19	3,66 ± 0,24	4,52 ± 0,33 [†]	3,87 ± 0,67
CD25/CD95	1,11 ± 0,08	1,22 ± 0,12	1,24 ± 0,12
HLA-DR/CD95	1,69 ± 0,15	2,24 ± 0,33	1,57 ± 0,21
IL-1b, пг/мл	7,79 ± 0,45	6,20 ± 0,35 [†]	4,89 ± 0,53 [†]
IL-2, пг/мл	14,20 ± 0,64	19,96 ± 2,93	20,32 ± 1,50 [#]
IL-4, пг/мл	0,80 ± 0,12	0,30 ± 0,01 [†]	0,73 ± 0,11
IL-10, пг/мл	7,50 ± 0,53	6,50 ± 0,65	3,88 ± 0,34 [†]
IFNg, пг/мл	10,96 ± 0,98	12,13 ± 1,27	10,97 ± 2,18
TNFa, пг/мл	9,23 ± 0,73	7,96 ± 1,09	6,42 ± 0,29 [#]

*: $p < 0,05$, #: $p < 0,01$, †: $p < 0,001$.

ного та клітинного імунітету (еозинопенія, лімфопенія при зниженні концентрації низки субпопуляцій лімфоцитів (CD3, CD4, CD8, CD16, HLA-DR) та одночасне збільшення величини імунорегуляторного індексу (CD4/CD8) (табл. 2). Необхідно відзначити, що більша частина цих змін відбувається і у вагітних із преєклампсією легкого ступеня, але тільки у 3 триместрі гестації, що свідчить про тяжкість змін імунологічної реактивності в 1 триместрі в жінок із преєклампсією важкого ступеня.

Цитокиновий профіль у 1 триместрі у вагітних із преєклампсією важкого ступеня характеризується посиленням активності Т-хелперів 1 типу (Th1) з підвищенням рівня IL-2 і пригніченням функціональної активності Th2 (зниження концентрації IL-10). Поряд з цим у цього контингенту вагітних зменшена концентрація TNF α і IL-1b, що свідчить про зниження

макрофагальної та клітинної активності. Отже, в 1 триместрі вагітності в жінок із преєклампсією важкого ступеня підвищена функціональна активність Th1 на тлі пригнічення активності Th2.

Порівняли показники імунного статусу вагітних при різних ступенях тяжкості преєклампсії (табл. 2). Обрані тільки вірогідні відмінності, що мають однозначне трактування і є специфічними для прогнозування акушерської патології та оцінювання ступеня її тяжкості.

За результатами дослідження (табл. 2) встановлено прогностичну значущість величини концентрації CD3 і CD8 лімфоцитів у крові вагітних у 1 триместрі гестації щодо ризику розвитку преєклампсії важкого ступеня. Константували порогові значення концентрації CD3 (0,89 Г/л) і CD8 (0,59 Г/л), перевищення котрих супроводжується мінімальним ризиком виникнення преєклампсії важкого ступеня. Отже, зміни систем-

ного імунітету, як-от кількісне збільшення CD8 понад 0,59 Г/л і загальної популяції Т-лімфоцитів (CD3) понад 0,89 Г/л у 1 триместрі гестації є протективними та супроводжуються низьким ризиком прееклампсії важкого ступеня шляхом формування оптимальних імунорегуляторних зв'язків у системі «мати – плацента – плід».

Обговорення

Отже, протягом 1 триместру у вагітних із прееклампсією легкого ступеня виявили підвищений рівень hCG, що збігається зі спостереженнями інших дослідників та їхньою думкою щодо прогностичного значення підвищеного рівня hCG для ризику виникнення прееклампсії [27,28].

Відомості фахової літератури щодо прогностичного значення рівня hCG у визначенні ризику розвитку прееклампсії [27–29] підтверджено нашими даними. Встановлено, що в 1 триместрі вагітності, починаючи з концентрації hCG 250,0 мМЕ/мл і більше, спостерігали поступове підвищення ризику виникнення прееклампсії легкого ступеня, який досягає максимальної величини при рівні hCG понад 550,0 мМЕ/мл.

Роль AFP у формуванні імунологічної толерантності, патогенезі акушерських ускладнень, спадкової та вродженої патології аналізують дослідники з різних країн [30,31]. Ми вивчили можливість прогнозування ризику виникнення прееклампсії важкого ступеня залежно від концентрації AFP у 1 триместрі гестації. Особливістю цього аналізу є вивчення змін концентрації AFP у ранні терміни гестації: у період органогенезу (у тому числі печінки плода), плацентарної та плацентогенезу. Констатували 3 порогові величини концентрації AFP: 9,82 нг/мл, 15,38 нг/мл, 19,79 нг/мл. При величині AFP у сироватці крові вагітної у 1 триместрі менше ніж 9,82 нг/мл ризик прееклампсії важкого ступеня підвищується у 2,5 раза і є максимальним. Збільшення вмісту AFP до 15,38 нг/мл знижує ризик прееклампсії важкого ступеня на 30 %, а при рівні AFP понад 19,79 нг/мл відбувається зниження ризику прееклампсії важкого ступеня вдвічі. Отже, концентрація AFP у 1 триместрі гестації понад 19,79 нг/мл асоційована з мінімальним ризиком розвитку прееклампсії важкого ступеня і є прогностично значущою пороговою величиною. Наведений аналіз підтверджує протективний вплив AFP, що критично залежить від рівня його концентрації, на механізми імунологічної толерантності та реактивності щодо антигенів наполовину аlogenного плода.

Під час аналізу результатів дослідження імунного статусу вагітних визначили 2 типи зв'язку концентрації цитокінів, субпопуляцій лімфоцитів і маркерів їхньої активації у крові вагітних із частотою розвитку прееклампсії: пороговий і кореляційний.

За наявності порогового типу зв'язку ризик розвитку акушерських ускладнень кардинально змінюється при досягненні відповідного рівня концентрації біологічно активної речовини у крові вагітної. У цьому випадку прогнозування акушерської патології базується на вимірюванні концентрації біологічно активної речовини у крові вагітної та порівнянні її з пороговою

величиною, котра асоційована з різким підвищенням ризику розвитку патології вагітності. Констатація цього факту є підставою для здійснення лікувально-профілактичних заходів акушерської патології, що прогнозується.

Зміни системного імунітету вже у 1 триместрі фізіологічної вагітності супроводжуються змінами кількісного складу CD4 і CD8 лімфоцитів, що у підсумку призводить до зменшення величини імунорегуляторного індексу (CD4/CD8) порівняно з невагітними [24].

Функціональні зв'язки між Th2 і Th1 із підвищенням активності Th2 при фізіологічному перебігу вагітності є одними з головних у формуванні імунологічної толерантності до аlogenного плода та змін імунологічної реактивності у вигляді імуносупресії, а активація Th1 супроводжується збільшенням продукції прозапальних цитокінів із порушенням надалі імуноендокринних взаємозв'язків у системі «мати – плацента – плід» як на системному, так і на місцевому рівнях, можливо, ауто- та паракринним шляхом [24–26].

Підтверджено протективну роль цитокінів (IL-4, IL-10), що продукують Th2, і визначено практичне значення їхньої порогової концентрації в 1 триместрі вагітності для прогнозування ризику розвитку прееклампсії. Залежність ступеня ризику виникнення прееклампсії легкого ступеня від концентрації IL-4 в 1 триместрі вагітності вказує, що концентрація IL-4 0,7 пг/мл є пороговою величиною. Наявність у крові вагітної в 1 триместрі такої концентрації і більше призводить до зниження ризику розвитку прееклампсії легкого ступеня у 3,8 раза.

У прогнозуванні прееклампсії важкого ступеня можуть бути використані зміни концентрації IL-10, котрі мають 2 порогові величини: 5,1 пг/мл і 8,2 пг/мл. Величина концентрації IL-10 менше ніж 5,1 пг/мл асоційована з максимальним ризиком розвитку названого ускладнення вагітності. При рівні IL-10 у межах 5,1–8,2 пг/мл передбачається середній ступінь ризику розвитку прееклампсії важкого ступеня, а при його величині понад 8,2 пг/мл констатували мінімальну вірогідність виникнення тяжкої форми прееклампсії.

Висновки

1. У жінок із прееклампсією легкого ступеня нейроендокринна регуляція гомеостазу набуває розладів з 1 триместру вагітності (первинна плацентарна недостатність, пригнічення стрес-реалізуючої функції гіпоталамо-гіпофізарної системи у вигляді зниженої секреції АСТН при одночасно підвищеному рівні інсуліну), що свідчить про дизадаптацію організму жінки до вагітності.

2. У 1 триместрі стан фетоплацентарного комплексу у вагітних із прееклампсією, незалежно від ступеня її тяжкості, характеризується дисбалансом продукції гормонів, що свідчить про розвиток первинної плацентарної недостатності.

3. Прогностично сприятливою є концентрація АСТН у сироватці крові вагітної в 1 триместрі понад 7,35 пг/мл, за наявності якої ризик розвитку прееклампсії легкого ступеня мінімальний.

4. При концентрації hCG 250,0 мМЕ/мл та більше підвищується ризик виникнення преєклампсії легкого ступеня; при рівні hCG понад 550,0 мМЕ/мл ризик виникнення преєклампсії легкого ступеня максимальний.

5. При концентрації AFP у сироватці крові вагітної в 1 триместрі понад 19,79 нг/мл ризик розвитку преєклампсії важкого ступеня мінімальний.

6. У жінок із преєклампсією легкого ступеня вже в 1 триместрі вагітності відбувається дисбаланс імунної системи (відсутність вірогідних змін загальної кількості Т-лімфоцитів при одночасному зниженні їхньої функціональної активності, особливо Т-хелперів 2 типу, що супроводжується зменшенням продукції протизапальних цитокінів).

7. У жінок із преєклампсією важкого ступеня вже в 1 триместрі вагітності знижені кількісні показники неспецифічного і клітинного імунітету (CD3, CD4, CD8, CD16, HLA-DR) при одночасному підвищенні величини імунорегуляторного індексу (CD4/CD8) та функціональної активності Т-хелперів 1 типу на тлі пригнічення активності Т-хелперів 2 типу.

8. Порушення механізмів активації Т-хелперів 2 типу в 1 триместрі гестації, а саме зменшення концентрації IL-4 (менше ніж 0,7 пг/мл) і IL-10 (менше ніж 8,2 пг/мл) визначає ризик розвитку преєклампсії та ступінь її тяжкості.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні та узагальненні комбінованого впливу генетичних і нейроімуноендокринних чинників на розвиток преєклампсії, розробці алгоритму її прогнозування на основі методів математичного моделювання та доказової медицини.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про автора:

Барковський Д. Є., д-р мед. наук, доцент, професор каф. акушерства, гінекології та репродуктивної медицини ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторе:

Барковский Д. Е., д-р мед. наук, доцент, профессор каф. акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about author:

Barkovsky D. Ye., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Professor of the Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine of FPE, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 28.08.2018

Після доопрацювання / Revised: 19.09.2018

Прийнято до друку / Accepted: 03.10.2018

Список літератури

- Ahmad A.S. Hypertensive disorders in pregnancy and fetal death at different gestational lengths: A population study of 2 121 371 pregnancies / A.S. Ahmad, S.O. Samuelsen // *BJOG*. – 2012. – Vol. 119. – Issue 12. – P. 1521–1528.
- Lindheimer M.D. Hypertension in pregnancy / M.D. Lindheimer, S.J. Taler, F.G. Cunningham // *J. Am. Soc. Hypertens.* – 2010. – Vol. 4. – Issue 2. – P. 68–78.
- Global causes of maternal death: A who systematic analysis. *Lancet Glob / L. Say, D. Chou, A. Gemmill, et al.* // *Health*. – 2014. – Vol. 2. – Issue 6. – e323–e333.
- Antihypertensive drug therapy for hypertensive disorders in pregnancy / M. Folic, N. Folic, M. Varjadic, et al. // *Acta Med. Median.* – 2008. – Vol. 47. – P. 65–72.
- Kuklina E.V. Hypertensive disorders and severe obstetric morbidity in the united states / E.V. Kuklina, C. Ayala, W.M. Callaghan // *Obstet. Gynecol.* – 2009. – Vol. 113. – Issue 6. – P. 1299–1306.
- Long term effects of gestational hypertension and pre-eclampsia on kidney function: Record linkage study / D. Ayansina, C. Black, S.J. Hall, et al. // *Pregnancy Hypertens.* – 2016. – Vol. 6. – Issue 4. – P. 344–349.
- Gathiram P. Pre-eclampsia: Its pathogenesis and pathophysiology. *Cardiovasc / P. Gathiram, J. Moodley // J. Afr.* – 2016. – Vol. 27. – Issue 2. – P. 71–78.
- Malik R. Hypertension in pregnancy / R. Malik, V. Kumar // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2017. – Vol. 956. – P. 375–393.
- Goulopoulou S. Maternal vascular physiology in preeclampsia / S. Goulopoulou // *Hypertension*. – 2017. – Vol. 70. – Issue 6. – P. 1066–1073.
- Boeldt D.S. Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia / D.S. Boeldt, I.M. Bird // *J. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 232. – Issue 1. – P. R27–R44.
- Mechanisms of the effect of magnesium salts in preeclampsia / D.I. Chiarello, R. Marin, F. Proverbio, et al. // *Placenta*. – 2018. – Vol. 69. – P. 134.
- Pre-eclampsia part 1: Current understanding of its pathophysiology / T. Chaiworapongsa, P. Chaemsaitong, L. Yeo, R. Romero // *Nat. Rev. Nephrol.* – 2014. – Vol. 10. – Issue 8. – P. 466–480.
- Moussa H.N. Management of hypertensive disorders in pregnancy / H.N. Moussa, S.E. Arian, B.M. Sibai // *Womens Health*. – 2014. – Vol. 10. – Issue 4. – P. 385–404.
- Dhariwal N.K. Update in the management of patients with preeclampsia / N.K. Dhariwal, G.C. Lynde // *Anesthesiol. Clin.* – 2017. – Vol. 35. – Issue 1. – P. 95–106.
- The role of inflammation in the pathology of preeclampsia / A.C. Harmon, D.C. Cornelius, L.M. Amaral, et al. // *Clin. Sci.* – 2016. – Vol. 130. – Issue 6. – P. 409–419.
- Antiplatelet therapy before or after 16 weeks' gestation for preventing preeclampsia: An individual participant data meta-analysis / S. Meher, L. Duley, K. Hunter, L. Askie // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2017. – Vol. 216. – Issue 2. – P. 121–128.e2.
- Psychoneuroimmunology / ed. R. Ader. – Oxford, 2006. – Section I: Neural and Endocrine Effects on Immunity. – P. 39–251.
- Christian L.M. Physiological reactivity to psychological stress in human pregnancy: Current knowledge and future directions / L.M. Christian // *Progress in Neurobiology*. – 2012. – Vol. 99. – Issue 2. – P. 106–116.
- Christian L.M. Psychoneuroimmunology in pregnancy: Immune pathways linking stress with maternal health, adverse birth outcomes, and fetal development / L.M. Christian // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. – 2012. – Vol. 36. – Issue 1. – P. 350–361.
- Depressive symptoms predict exaggerated inflammatory response to *in vivo* immune challenge during human pregnancy / L.M. Christian, A. Franco, J.D. Iams, et al. // *Brain, Behavior, and Immunity*. – 2010. – Vol. 24. – Issue 1. – P. 49–53.
- Moffett A. Uterine NK cells: active regulators at the maternal-fetal interface / A. Moffett, F. Colucci // *J Clin Invest.* – 2014. – Vol. 124. – Issue 5. – P. 1872–1879.
- Immunology of Pregnancy. *Chem Immunol Allergy / L. Matthiesen, G. Berg, J. Emerud, et al.* // Basel, Karger. – 2005. – Vol. 89. – P. 49–61.
- Leukocyte microparticles in peripheral blood incase of healthy pregnancy and preeclampsia / V.A. Mikhaylova, O.M. Ovchinnikova, M.S. Zainulina, et al. // *Bull Exp BiolMed.* – 2014. – Vol. 157. – P. 721.
- Nguyen T.A. Maternal-Fetal rejection reactions are unconstrained in preeclamptic women / T.A. Nguyen, D.A. Kahn, A.I. Loewendorf // *PLoS ONE*. – 2017. – Vol. 12. – Issue 11. – e0188250.
- Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array / A. Szarka, J. Jr. Rigo, L. Lázár, et al. // *BMC Immunol.* – 2010. – Vol. 11. – P. 59.
- C-reactive protein and fibrinogen levels as determinants of recurrent preeclampsia: a prospective cohort study / B.B. van Rijn, J.H. Veerbeek, L.C. Scholtens, et al. // *J Hypertens.* – 2014. – Vol. 32. – Issue 2. – P. 408–414.
- Roiz-Hernandez J. Human chorionic gonadotropin levels between 16 and 21 weeks of pregnancy and prediction of pre-eclampsia / J. Roiz-Hernandez, J. Cabello-Martinez, M. Fernandez Mejia // *Int J Gynaecol Obstet.* – 2006. – Vol. 92. – Issue 2. – P. 101–105.
- Elevated serum β -hCG and dyslipidemia in second trimester as predictors of subsequent Pregnancy Induced Hypertension / M.P. Mallick, S. Ray, R. Medhi, S. Bisai // *Bangladesh Med Res Council Bull.* – 2015. – Vol. 40. – Issue 3. – P. 97–101.

- [29] The association between serum beta human chorionic gonadotropin and preeclampsia / Z. Begum, I. Are, S. Tanira, K.A. Keya // *J Dhaka Med Coll.* – 2015. – Vol. 23. – Issue 1. – P. 89–93.
- [30] Study on Elevated Maternal Serum Alpha-Fetoprotein in Second Trimester as a screening test for predicting adverse pregnancy outcome / A.K. Bhattacharjee, G. Deka, F. Begum, M. Bayan // *The New Indian J OBGYN.* – 2016. – Vol. 3. – Issue 1. – P. 20–3.
- [31] Başbuğ D. Is unexplained elevated maternal serum alpha-fetoprotein still important predictor for adverse pregnancy outcome? / D. Başbuğ, A. Başbuğ, C. Gülerman // *Ginekologia Polska.* – 2017. – Vol. 88. – Issue 6. – P. 325–30.
- References**
- [1] Ahmad, A., & Samuelsen, S. (2012). Hypertensive disorders in pregnancy and fetal death at different gestational lengths: a population study of 2 121 371 pregnancies. *BJOG: An International Journal Of Obstetrics & Gynaecology*, 119(12), 1521–1528. doi: 10.1111/j.1471-0528.2012.03460.x.
- [2] Lindheimer, M., Taler, S., & Cunningham, F. (2010). Hypertension in pregnancy. *Journal Of The American Society Of Hypertension*, 4(2), 68–78. doi: 10.1016/j.jash.2010.03.002.
- [3] Say, L., Chou, D., Gemmill, A., Tunçalp, Ö., Moller, A., Daniels, J. et al. (2014). Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *The Lancet Global Health*, 2(6), e323–e333. doi: 10.1016/s2214-109x(14)70227-x.
- [4] Folic, M., Folic, N., Varjacic, M., Jakovljevic, M., & Jankovic, S. (2008). Antihypertensive drug therapy for hypertensive disorders in pregnancy. *Acta Medica Medianae*, 47, 65–72.
- [5] Kuklina, E., Ayala, C., & Callaghan, W. (2009). Hypertensive Disorders and Severe Obstetric Morbidity in the United States. *Obstetrics & Gynecology*, 113(6), 1299–1306. doi: 10.1097/aog.0b013e3181a45b25.
- [6] Ayanisina, D., Black, C., Hall, S., Marks, A., Millar, C., Prescott, G. et al. (2016). Long term effects of gestational hypertension and pre-eclampsia on kidney function: Record linkage study. *Pregnancy Hypertension: An International Journal Of Women's Cardiovascular Health*, 6(4), 344–349. doi: 10.1016/j.preghy.2016.08.231.
- [7] Gathiram, P., & Moodley, J. (2016). Pre-eclampsia: its pathogenesis and pathophysiology. *Cardiovascular Journal Of Africa*, 27(2), 71–78. doi: 10.5830/cvja-2016-009.
- [8] Malik, R., & Kumar, V. (2017). Hypertension in Pregnancy. *Advances In Experimental Medicine And Biology*, 956, 375–393. doi: 10.1007/5584_2016_150.
- [9] Gouloupoulou, S. (2017). Maternal Vascular Physiology in Preeclampsia. *Hypertension*, 70(6), 1066–1073. doi: 10.1161/hypertensionaha.117.08821.
- [10] Boeldt, D., & Bird, I. (2017). Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia. *Journal Of Endocrinology*, 232(1), R27–R44. doi: 10.1530/joe-16-0340.
- [11] Chiarello, D., Marin, R., Proverbio, F., Coronado, P., Toledo, F., Salsoso, R., et al. (2018). Mechanisms of the effect of magnesium salts in preeclampsia. *Placenta*, 69, 134–139. doi: 10.1016/j.placenta.2018.04.011.
- [12] Chaiworapongsa, T., Chaemsaitong, P., Yeo, L., & Romero, R. (2014). Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology. *Nature Reviews Nephrology*, 10(8), 466–480. doi: 10.1038/nrneph.2014.102.
- [13] Moussa, H., Arian, S., & Sibai, B. (2014). Management of Hypertensive Disorders in Pregnancy. *Women's Health*, 10(4), 385–404. doi: 10.2217/whe.14.32.
- [14] Dhariwal, N., & Lynde, G. (2017). Update in the Management of Patients with Preeclampsia. *Anesthesiology Clinics*, 35(1), 95–106. doi: 10.1016/j.anclin.2016.09.009.
- [15] Harmon, A., Cornelius, D., Amaral, L., Faulkner, J., Cunningham, M., Wallace, K., & LaMarca, B. (2016). The role of inflammation in the pathology of preeclampsia. *Clinical Science*, 130(6), 409–419. doi: 10.1042/cs20150702.
- [16] Meher, S., Duley, L., Hunter, K., & Askie, L. (2017). Antiplatelet therapy before or after 16 weeks' gestation for preventing preeclampsia: an individual participant data meta-analysis. *American Journal Of Obstetrics And Gynecology*, 216(2), 121–128.e2. doi: 10.1016/j.ajog.2016.10.016.
- [17] Ader, R. (ed) (2006). *Psychoneuroimmunology*. Oxford: Elsevier Academic. I, 39–251.
- [18] Christian, L. (2012). Physiological reactivity to psychological stress in human pregnancy: Current knowledge and future directions. *Progress In Neurobiology*, 99(2), 106–116. doi: 10.1016/j.pneurobio.2012.07.003.
- [19] Christian, L. (2012). Psychoneuroimmunology in pregnancy: Immune pathways linking stress with maternal health, adverse birth outcomes, and fetal development. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(1), 350–361. doi: 10.1016/j.neubiorev.2011.07.005.
- [20] Christian, L., Franco, A., Iams, J., Sheridan, J., & Glaser, R. (2010). Depressive symptoms predict exaggerated inflammatory responses to an in vivo immune challenge among pregnant women. *Brain, Behavior, And Immunity*, 24(1), 49–53. doi: 10.1016/j.bbi.2009.05.055.
- [21] Moffett, A., & Colucci, F. (2014). Uterine NK cells: active regulators at the maternal-fetal interface. *Journal Of Clinical Investigation*, 124(5), 1872–1879. doi: 10.1172/jci68107.
- [22] Matthiesen, L., Berg, G., Emerudh, J., Ekerfelt, C., Jonsson, Y., & Sharma, S. (2005). Immunology of Preeclampsia. *Chemical Immunology And Allergy*, 89, 49–61. doi: 10.1159/000087912.
- [23] Mikhailova, V., Ovchinnikova, O., Zainulina, M., Sokolov, D., & Sel'kov, S. (2014). Detection of Microparticles of Leukocytic Origin in the Peripheral Blood in Normal Pregnancy and Preeclampsia. *Bulletin Of Experimental Biology And Medicine*, 157(6), 751–756. doi: 10.1007/s10517-014-2659-x.
- [24] Nguyen, T., Kahn, D., & Loewendorf, A. (2017). Maternal-Fetal rejection reactions are unconstrained in preeclamptic women. *PLOS ONE*, 12(11), e0188250. doi: 10.1371/journal.pone.0188250.
- [25] Szarka, A., Rigo, J., Lazar, L., Beko, G., & Molvarec, A. (2010). Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. *BMC Immunology*, 11, 59. doi: 10.1186/1471-2172-11-59.
- [26] van Rijn, B., Veerbeek, J., Scholtens, L., Uiterweer, E., Koster, M., Peeters, L., et al. (2014). C-reactive protein and fibrinogen levels as determinants of recurrent preeclampsia. *Journal Of Hypertension*, 32(2), 408–414. doi: 10.1097/hjh.000000000000027.
- [27] Roiz-Hernández, J., Cabello-Martínez, J., & Fernández-Mejía, M. (2005). Human chorionic gonadotropin levels between 16 and 21 weeks of pregnancy and prediction of pre-eclampsia. *International Journal Of Gynecology & Obstetrics*, 92(2), 101–105. doi: 10.1016/j.ijgo.2005.10.002.
- [28] Mallick, M., Ray, S., Medhi, R., & Bisai, S. (2015). Elevated serum β hCG and dyslipidemia in second trimester as predictors of subsequent Pregnancy Induced Hypertension. *Bangladesh Medical Research Council Bulletin*, 40(3), 97. doi: 10.3329/bmrc.v40i3.25230.
- [29] Begum, Z., Ara, I., Tanira, S., & Keya, K. (2015). The association between serum betahuman Chorionic gonadotropin and Preeclampsia. *Journal Of Dhaka Medical College*, 23(1), 89–93. doi: 10.3329/jdmc.v23i1.22701.
- [30] Bhattacharjee, A., Deka, G., Begum, F., & Bayan, M. (2016). Elevated maternal serum alpha fetoprotein (MSAFP) level in second trimester as a screening test for predicting adverse pregnancy outcome. *The New Indian Journal Of OBGYN*, 3(1), 20–3. doi: 10.21276/obgyn.2016.3.1.4.
- [31] Başbuğ, D., Başbuğ, A., & Gülerman, C. (2017). Is unexplained elevated maternal serum alpha-fetoprotein still important predictor for adverse pregnancy outcome? *Ginekologia Polska*, 88(6), 325–330. doi: 10.5603/gp.a2017.0061.

Імуногенетичні чинники розвитку передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності в Запорізькій області

К. С. Любомирська

Запорізький державний медичний університет, Україна

Мета роботи – дослідити однонуклеотидний поліморфізм генів прозапальних цитокінів *IL1β* (rs 1143627) і *TNFα* (rs 1800629) і визначити рівень мРНК генів *IL1β* та *IL17A* на місцевому рівні при передчасному розриві плодових оболонок (ПРПО) в терміні гестації 26–34 тижні в популяції Запорізького регіону.

Матеріали та методи. Дослідили маркери генів цитокінів у 50 жінок із ПРПО в терміні гестації 26–34 тижні та 50 вагітних із фізіологічним перебігом вагітності та терміновими пологами без ускладнень. Генотипування за допомогою TaqMap проб виконали на ампліфікаторі CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США). Для визначення рівня мРНК генів прозапальних цитокінів *IL1β* (NM_000576.2) та *IL17A* (NM_002190.2) використовували метод ПЛР зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ЗТ-ПЛР-РЧ) і набір реактивів Luminaris HiGreen Fluorescein qPCR MasterMix (Thermo Scientific, США).

Результати. Не вдалось виявити статистично значущі відмінності за кожним генотипом поліморфізму rs1143627 (GG, GA та AA) гена *IL1β* між основною групою дослідження та групою контролю ($\chi^2 = 0,18$, OR (GG) = 1,13; 95 % CI: 0,65–1,98; OR (GA) = 1,54; 95 % CI: 0,68–3,49; OR (AA) = 0,89; 95 % CI: 0,50–1,55 відповідно, $p > 0,05$). Між основною та групою контролю за всіма алелями поліморфізму rs1800629 (AA, GG та AG) гена *TNFα* спостерігали тенденцію, що не набула статистичної значущості – $\chi^2 = 0,44$, OR (AA) = 0,8; 95 % CI: 0,42–1,54; OR (GG) = 1,25; 95 % CI: 0,65–2,39; та OR (AG) = 0,67; 95 % CI: 0,28–1,62 відповідно, $p > 0,05$. Діапазон усіх значень відносної нормалізованої експресії мРНК гена *IL1β* у плаценті становив 1,43–227,93 (mean – 25,08), у плодових оболонках – 1,23–139,24 (mean – 23,83). Розмах значень відносної нормалізованої експресії мРНК гена *IL-17A* був меншим, ніж *IL1β* та у плаценті становив 1,15–62,76 (mean – 5,69), у плодових оболонках – 1,63–130,67 (mean – 19,31).

Висновки. У популяції Запорізького регіону відсутня вірогідна клінічна асоціація між генами *IL1β* (rs1143627) та *TNFα* (rs1800629) і високим ризиком розвитку передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності. Метод ЗТ-ПЛР-РЧ дав змогу виявити імуноопосередковані ланки розвитку ПРПО в плаценті та плодових оболонках у терміні гестації 26–34 тижні, а саме значне зростання транскрипційної активності генів прозапальних цитокінів *IL1β* та *IL17A*.

Ключові слова:

передчасні пологи, передчасний розрив плодових оболонок, однонуклеотидний поліморфізм генів, транскрипційна активність генів.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 309–318

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.3.151725

E-mail: lubomirskaa@gmail.com

Иммуногенетические факторы развития преждевременного разрыва плодных оболочек при недоношенной беременности в Запорожской области

Е. С. Любомирская

Цель работы – исследовать однонуклеотидный полиморфизм генов провоспалительных цитокинов *IL1β* (rs1143627) и *TNFα* (rs 1800629) и определить уровень мРНК генов *IL1β* и *IL17A* на местном уровне при преждевременном разрыве плодных оболочек (ПРПО) в сроке гестации 26–34 недели в популяции Запорожского региона.

Материалы и методы. Исследовали маркеры генов цитокинов у 50 женщин с ПРПО в сроке гестации 26–34 недели и 50 беременных с физиологическим течением беременности и срочными родами без осложнений. Генотипирование с помощью TaqMap проб проводили на амплификаторе CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc», США). Для определения мРНК генов провоспалительных цитокинов *IL1β* (NM_000576.2) и *IL17A* (NM_002190.2) использовали метод ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) и набор реактивов Luminaris HiGreen Fluorescein qPCR MasterMix (Thermo Scientific, США).

Результаты. Не удалось установить статистически значимые различия по каждому генотипу полиморфизма rs1143627 (GG, GA и AA) гена *IL1β* между основной группой исследования и группой контроля ($\chi^2 = 0,18$, OR (GG) = 1,13; 95 % CI: 0,65–1,98; OR (GA) = 1,54; 95 % CI: 0,68–3,49; и OR (AA) = 0,89; 95 % CI: 0,50–1,55 соответственно, $p > 0,05$). Между основной и группой контроля по всем аллелям полиморфизма rs1800629 (AA, GG и AG) гена *TNFα* наблюдали тенденцию, которая не достигла статистической значимости – $\chi^2 = 0,44$, OR (AA) = 0,8; 95 % CI: 0,42–1,54; OR (GG) = 1,25; 95 % CI: 0,65–2,39; OR (AG) = 0,67; 95 % CI: 0,28–1,62 соответственно, $p < 0,05$. Диапазон всех полученных значений относительной нормализованной экспрессии мРНК гена *IL1β* в плаценте составил 1,43–227,93 (mean – 25,08), в плодных оболочках – 1,23–139,24 (mean – 23,83). Размах значений относительной экспрессии мРНК гена *IL-17A* в плаценте составлял 1,15–62,76 (mean – 5,69), в плодных оболочках – 1,63–130,67 (mean – 19,31).

Выводы. В популяции Запорожского региона отсутствует достоверная клиническая ассоциация между генами *IL1β* (rs1143627) и *TNFα* (rs1800629) и высоким риском развития преждевременного разрыва плодных оболочек при недоношенной беременности. Метод ОТ-ПЦР-РВ позволил установить иммуноопосредованные звенья развития ПРПО на местном уровне в сроке гестации 26–34 недели в виде значительного роста транскрипционной активности генов провоспалительных цитокинов *IL1β* и *IL17A*.

Ключевые слова:

преждевременные роды, преждевременный разрыв плодных оболочек, транскрипционная активность генов.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 309–318

Key words:

preterm labor,
preterm premature
rupture of fetal
membranes,
single nucleotide
polymorphism,
trans-activation
genetic.

Pathologia

2018; 15 (3), 309–318

Immunogenetic factors for the development of premature rupture of membranes in preterm labour in Zaporizhzhia region

K. S. Liubomyrska

Aim. To study single nucleotide polymorphism of proinflammatory cytokine genes IL1 β (rs1143627) and TNF α (rs1800629) and determine mRNA level of IL1 β IL17A genes at the local level in PROM during 26–34 weeks of pregnancy in the population of Zaporizhzhia region.

Materials and methods. Cytokine gene markers were studied in 50 women with PROM in gestational age of 26–34 weeks and 50 pregnant women with physiological pregnancy and term labor without complications. Genotyping with TaqMan samples was performed on CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems amplifier (Bio-Rad Laboratories, Inc, USA). For determination of mRNA level of proinflammatory cytokine genes IL1 β (NM_000576.2) and IL17A (NM_002190.2) PCR in real time and the Luminaris HiGreen Fluorescein qPCR MasterMix reagent kit (ThermoScientific, USA) were used.

Results. We were unable to identify statistically significant differences for each of the rs1143627 polymorphism genotypes (GG, GA and AA) of the IL1 β gene between the main study group and the control group ($\chi^2 = 0.18$, OR (GG) = 1.13; 95 % CI: 0.65–1.98; OR (GA) = 1.54; 95 % CI: 0.68–3.49; and OR (AA) = 0.89; 95 % CI: 0.50–1.55, respectively, $P > 0.05$). Between the main and control groups, including all alleles of the rs1800629 polymorphism (AA, GG and AG) of the TNF α gene there was a tendency that didn't become of statistical significance – $\chi^2 = 0.44$, OR (AA) = 0.8; 95 % CI: 0.42–1.54; OR (GG) = 1.25; 95 % CI: 0.65–2.39; and OR (AG) = 0.67; 95 % CI: 0.28–1.62, respectively, $P < 0.05$. The range of all obtained values of the relative normalized expression of IL1 β gene mRNA in placenta was 1.43–227.93 (mean – 25.08), in fetal membranes – 1.23–139.24 (mean – 23.83). The range of relative normalized expression of mRNA of the IL-17A gene in placenta was 1.15–62.76 (mean – 5.69), in fetal membranes – 1.63–130.67 (mean – 19.31).

Conclusions. In the population of Zaporizhzhia region, there is no reliable clinical association between the IL1 β (rs1143627) and TNF α (rs1800629) genes and a high risk of developing premature rupture of the membranes in preterm pregnancy. PCR in real time allowed to identify the immune-mediated level of the development of PROM at the local level in the gestation period of 26-34 weeks as great increased genes transcriptional activity of pro-inflammatory cytokines IL1 β and IL17A.

Незважаючи на те, що багато наукових колективів в Україні та за її межами працюють над розв'язанням проблеми передчасних пологів, частота їх реєстрації в різних регіонах країни коливається в межах від 3 % до 12 %. У структурі невиношування вагітності (НВ) передчасні пологи (ПП) посідають особливе місце, оскільки є однією з основних причин перинатальної смертності та захворюваності новонароджених (75 % випадків припадає на передчасно народжених дітей).

Останніми роками для розробки генетичної платформи персоналізованої медицини велику увагу приділяють асоціативному пошуку поліморфних маркерів генів цитокінів із комплексними фенотипами захворювань різної етіології [1]. Здійснюють наукові дослідження, що присвячені вивченню імунного статусу, генетичних мутацій у вагітних із передчасним розривом плодових оболонок (ПРПО) як фактора ініціації ПП [3].

Загальними біологічними шляхами, які відіграють важливу роль у патогенезі передчасних пологів, є інфекції та запалення, активація гіпоталамо-гіпофізарної функції у матері та плода, децидуальні дефекти та патологічне перерозтягнення матки. Передчасні пологи мають багатофакторне походження, та часто декілька систем в організмі взаємодіють і збільшують ризик їх розвитку. За оцінками інших дослідників, тільки 50 % передчасних пологів можна пояснити конкретним фактором, а решта залишаються ідіопатичними.

Найпрогресивіші медичні видання світу з високим impact-factor мають лавиноподібний потік публікацій, що присвячені цій проблемі [4,5]. Але більшість досліджень є суперечливими, і це демонструє важливість стандартизованих методів і репродуктивних технологій, а також потребує точного оцінювання отриманих результатів. Крім того, чимала частина виявлених у фаховій літературі невідповідностей може бути пов'язана з відмінностями в генетичному фоні, впливом

довкілля, а також параметрів, які різняться в окремих популяціях, як-от культурологічні, соціально-економічні та середовищні чинники, що визначаються стилем життя загалом і стилем харчування зокрема [5].

Секвенування генома людини та відкриття явища однонуклеотидного поліморфізму (single nucleotide polymorphism – SNP) генів стало зорею вивчення впливу генетичного коду на кількісні зміни експресії та наступне біологічне функціонування білків. Більшість SNP генів цитокінів знаходяться в регуляторних ділянках гена та безпосередньо впливають на їхню транскрипційну активність і концентрацію цитокіну у крові. Ці генетичні варіації впливають на індивідуальні особливості імунної відповіді при ПП і ПРПО [2,6].

Відомості про поліморфізм сигнальних молекул при ПРПО при недоношеній вагітності нечисленні, тому наукова робота в цьому напрямі може забезпечити ресурси для аналізу поліморфних маркерів в асоціативних дослідженнях, поглибити уявлення про імунну ланку патогенезу ПРПО та ПП, розробити генетичну платформу персоналізованої медицини та нові ефективні методи прогнозування таких ускладнень вагітності.

Мета роботи

Дослідити однонуклеотидний поліморфізм генів прозапальних цитокінів IL1 β (rs1143627) та TNF α (rs1800629) і визначити рівень мРНК генів IL1 β і IL17A на місцевому рівні при ПРПО в терміні гестації 26–34 тижні в популяції Запорізького регіону.

Матеріали і методи дослідження

Проаналізували перебіг вагітності, пологів і перинатальних наслідків, дослідили маркери генів цитокінів

у 50 жінок із ПРПО в терміні гестації 26–34 тижні та 50 вагітних із фізіологічним перебігом вагітності та терміновими пологоми без ускладнень, розроджених на базі Запорізького обласного перинатального центру у 2015–2017 рр.

Для генотипування використали зразки тотальної ДНК людини, яку виділяли з цільної крові згідно з інструкцією виробника за допомогою комплексу реагентів «ДНК-експрес-кровь-плюс» («Литех», РФ). Генотипування за допомогою TaqMan проб виконали на ампліфікаторі CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США). Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) для TaqMan генотипування виконали за інструкцією Applied Biosystems, США.

Для аналізу транскрипційної активності генів прозапальних цитокинів IL1 β (NM_000576.2) та IL17A (NM_002190.2) використовували також метод ПЛР зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу (ЗТ-ПЛР-РЧ) і набір реактивів Luminaris HiGreen Fluorescein qPCR MasterMix (Thermo Scientific, США). Об'єкт дослідження – плацента та плодові оболонки, фіксовані в нейтральному формаліні. Тотальну РНК виділяли з використанням набору «NucleoZOL» (Macherey-Nagel, ФРН). Для цього попередньо відмиті від формаліну шматочки плаценти та плодових оболонок гомогенізували (100 мг тканини/1 мл «NucleoZOL»). Усі реакції ампліфікації виконували на індивідуальних зразках у 3 повторях. Визначення мРНК досліджуваних генів виконали з розрахунком відносної нормалізованої кількості кДНК досліджуваних генів, коли дані контрольної групи брали як «1», а результати досліджуваної групи визначали відносно показників контрольної. Нормалізацію відносної кількості кДНК виконали за методом $\Delta\Delta C_t$ із референс-геном гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогенази (GAPDH). Дослідження здійснили на базі відділу молекулярно-генетичних досліджень Навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету.

Статистичне опрацювання даних виконали за допомогою пакета програм Statistica 13.0. (StatSoft Software № JPZ8041382130ARCN10-J) за загальноприйнятою методикою. Якісні показники порівнювали за допомогою критерію χ^2 з поправкою Йейтса та точного критерію Фішера (F). Для оцінювання внеску поліморфізму генів у вірогідність розвитку ПРПО при недоношеній вагітності розраховували відношення шансів (ВШ – odds ratio – OR) із визначенням 95 % довірчого інтервалу (ДІ – CI). Дані, що отримали, наведені як кількість спостережень (n), середнє арифметичне величини (mean), стандартна помилка середньої ($\pm m$), відносні величини (абс. %), рівень статистичної значущості (p). Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$. Нормальність розподілу кількісних ознак оцінювали за допомогою критеріїв Шапіро–Уїлка та Колмогорова–Смірнова. Статистичні характеристики між групами порівнювали з використанням непараметричного критерію Mann–Whitney U test.

Результати

За результатами генотипування поліморфізму rs1143627 гену IL1 β у вагітних основної групи дослі-

дження гомозиготи GG виявили в 12 (24 %) випадках основної групи дослідження, гетерозиготи GA – у 21 (42 %), гомозиготи AA – у 17 (34 %) випадках відповідно. Досліджуючи поліморфізм rs1143627 гену IL1 β у вагітних контрольної групи, гомозиготи GG визначили у 13 (26 %) випадках, гетерозиготи GA – у 16 (32 %), гомозиготи AA у 21 (42 %) випадках (рис. 1, 2).

Розподіл алелів поліморфізму rs1800629 гену TNF α у вагітних основної групи дослідження: гомозиготи AA визначені у 5 (10 %) випадках, гетерозиготи AG – у 12 (24 %), гомозиготи GG у 33 (66 %) випадках. Під час дослідження поліморфізму rs1800629 гену TNF α у вагітних контрольної групи гомозиготи GG визначили у 29 (58 %) випадках, гетерозиготи AG – у 16 (32 %), гомозиготи AA – у 5 (10 %) випадках (рис. 1, 2).

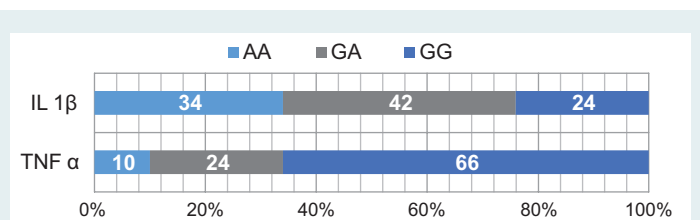


Рис. 1. Розподіл генотипів при передчасному розриві плодових оболонок при недоношеній вагітності (%).

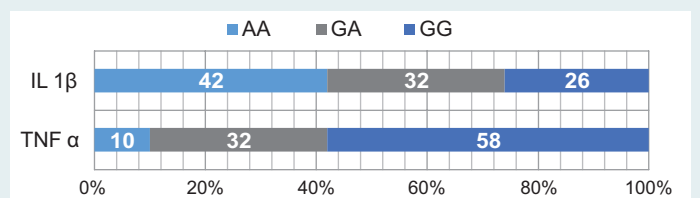


Рис. 2. Розподіл генотипів імунорегуляторних генів у групі контролю (%).

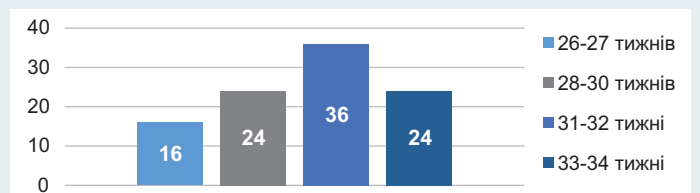


Рис. 3. Поділ вагітних (%) залежно від терміну маніфестації ПРПО.

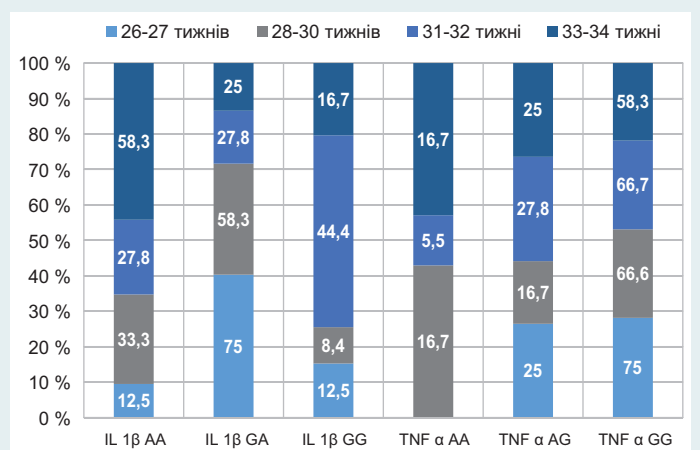


Рис. 4. Розподіл генотипів (%) залежно від терміну маніфестації ПРПО.

Таблиця 1. Асоціація поліморфізму генів цитокінів із ПРПО та передчасними пологоми в запорізькій популяції

SNPs	Апель / Генотип	Public location	OR	95 % CI	χ^2	p
<i>IL1β</i> rs1143627	Allele G	112836810	1,13	0,65–1,98	0,18	0,67
	Genotype GA		1,54	0,68–3,49		
	Allele A		0,89	0,51–1,55		
<i>TNFα</i> rs1800629	Allele A	31575254	0,8	0,42–1,54	0,44	0,51
	Genotype AG		0,67	0,28–1,62		
	Allele G		1,25	0,65–2,39		

Критерій включення в основну групу дослідження – передчасний розрив плодових оболонок у 26–34 тижні гестації з ініціацією надалі передчасних пологів. Поділ вагітних залежно від терміну маніфестації ПРПО наведений на рис. 3, з якого видно, що найбільшим (36 %) був відсоток вагітних у терміні 31–32 тижні гестації.

Аналізуючи дані репертуару генотипів досліджуваних прозапальних цитокінів *IL1 β* (rs1143627) та *TNF α* (rs1800629) залежно від терміну виникнення ПРПО,

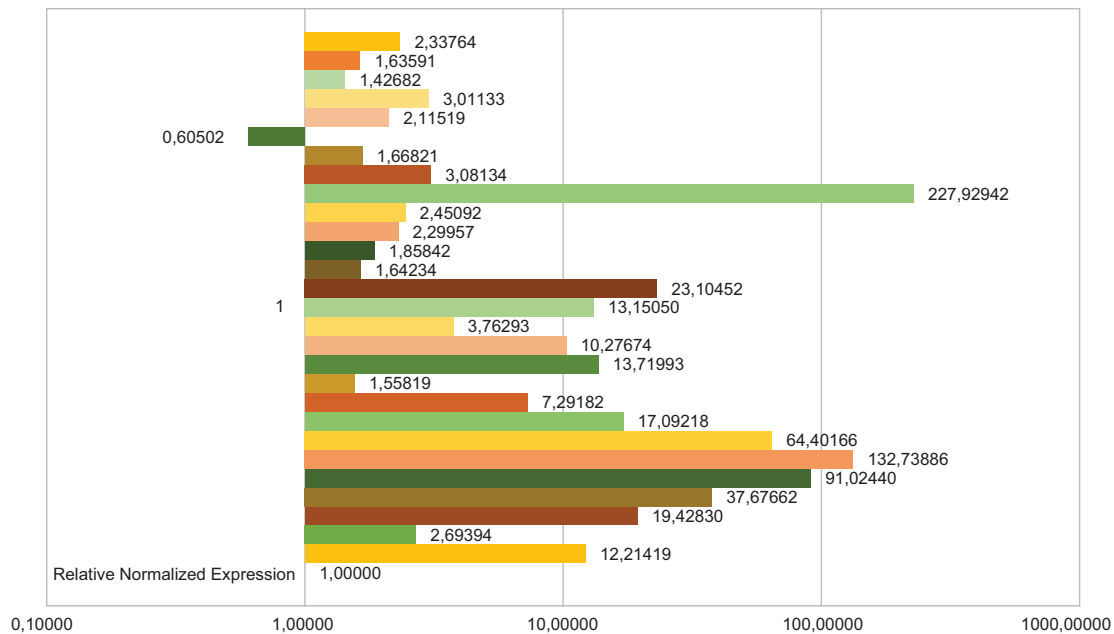


Рис. 5. Відносна нормалізована експресія mRNA прозапального цитокіну *IL1 β* у плаценті у вагітних із передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності (fold-change, нормалізація за методом $\Delta\Delta Ct$ з референс-геном *GAPDH*).

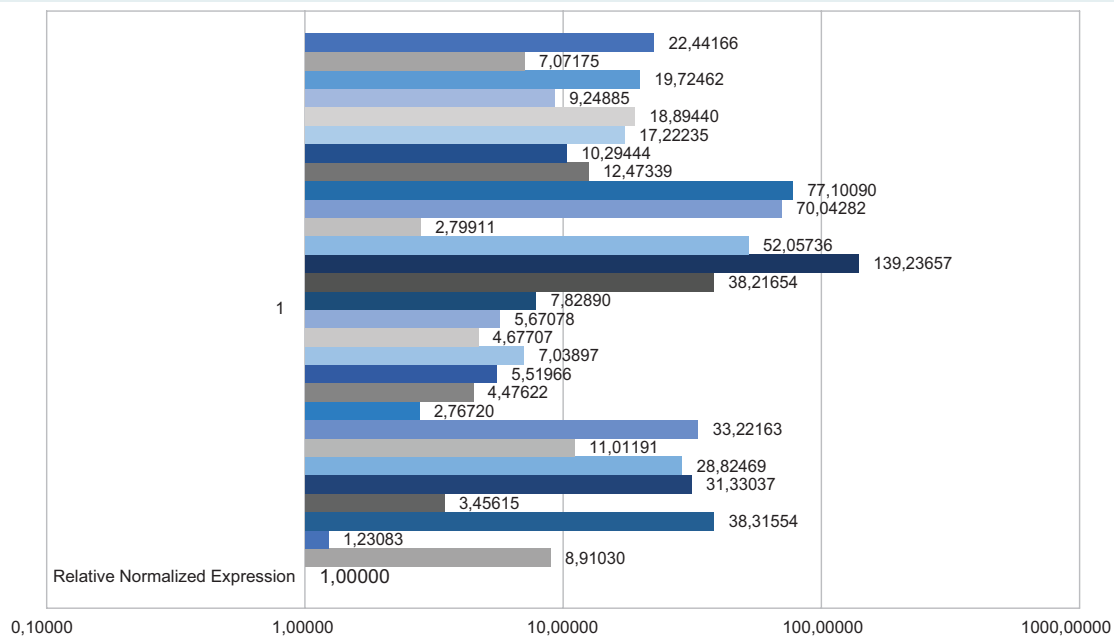


Рис. 6. Відносна нормалізована експресія mRNA прозапального цитокіну *IL1 β* у плодових оболонках у вагітних із передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності (fold-change, нормалізація за методом $\Delta\Delta Ct$ з референс-геном *GAPDH*).

виявлено: у 26–27 тижнів гестації у вагітних із ПРПО несприятливими генотипами, що лідирують, – по 75 % – були GA IL1 β і GG гена TNF α (рис. 4). У терміні маніфестації ПРПО 28–30 тижні репертуар несприятливих генотипів, які лідирують, був тим самим – GA IL1 β (58,3 %) та GG гена TNF α (66,6 %). Генотипи GG IL1 β (rs1143627) і GG TNF α (rs1800629) були несприятливими у вагітних в 31–32 тижні – 44,4 % та 66,7 % відповідно. В 33–34 тижні вагітності генотипами, що лідирують, – по 58,3 % – були гомозиготи AA IL1 β та GG TNF α .

Не вдалося виявити статистично значущі відмінності за кожним генотипом поліморфізму rs1143627 (GG, GA та AA) гена IL1 β між основною групою дослідження та групою контролю ($\chi^2 = 0,18$, OR (GG) = 1,13; 95 % CI: 0,65–1,98; OR (GA) = 1,54; 95 % CI: 0,68–3,49; OR (AA) = 0,89; 95 % CI: 0,50–1,55 відповідно, $p > 0,05$).

Між основною та групою контролю за всіма алелями поліморфізму rs1800629 (AA, GG та AG) гена TNF α спостерігали тенденцію, що не набула статистичної значущості – $\chi^2 = 0,44$, OR(AA) = 0,8; 95 % CI:

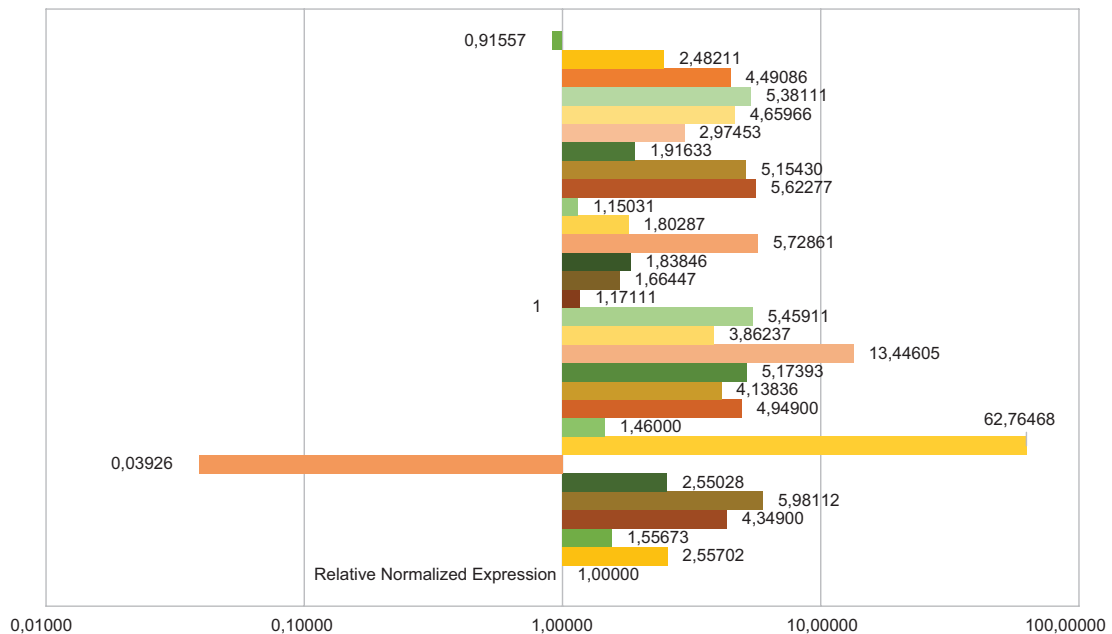


Рис. 7. Відносна нормалізована експресія mRNA прозапального цитокіну IL 17A в плаценті у вагітних із передчасним розривом плодкових оболонок при недоношеній вагітності (fold-change, нормалізація за методом $\Delta\Delta Ct$ з референс-геном GAPDH).

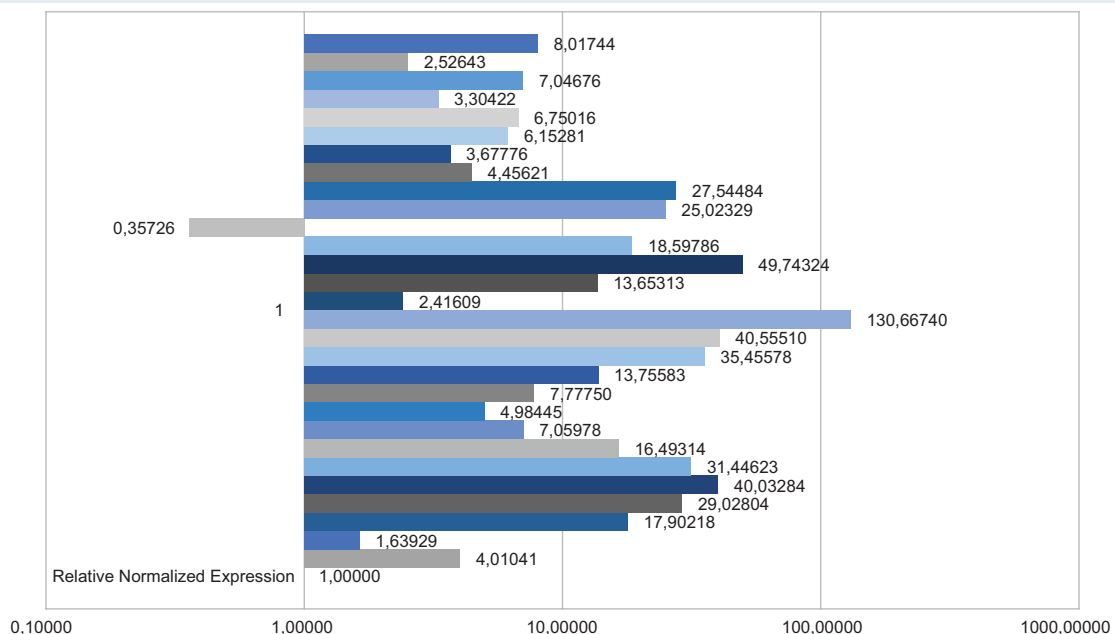


Рис. 8. Відносна нормалізована експресія mRNA прозапального цитокіну IL 17A в плодкових оболонках у вагітних із передчасним розривом плодкових оболонок при недоношеній вагітності (fold-change, нормалізація за методом $\Delta\Delta Ct$ із референс-геном GAPDH).

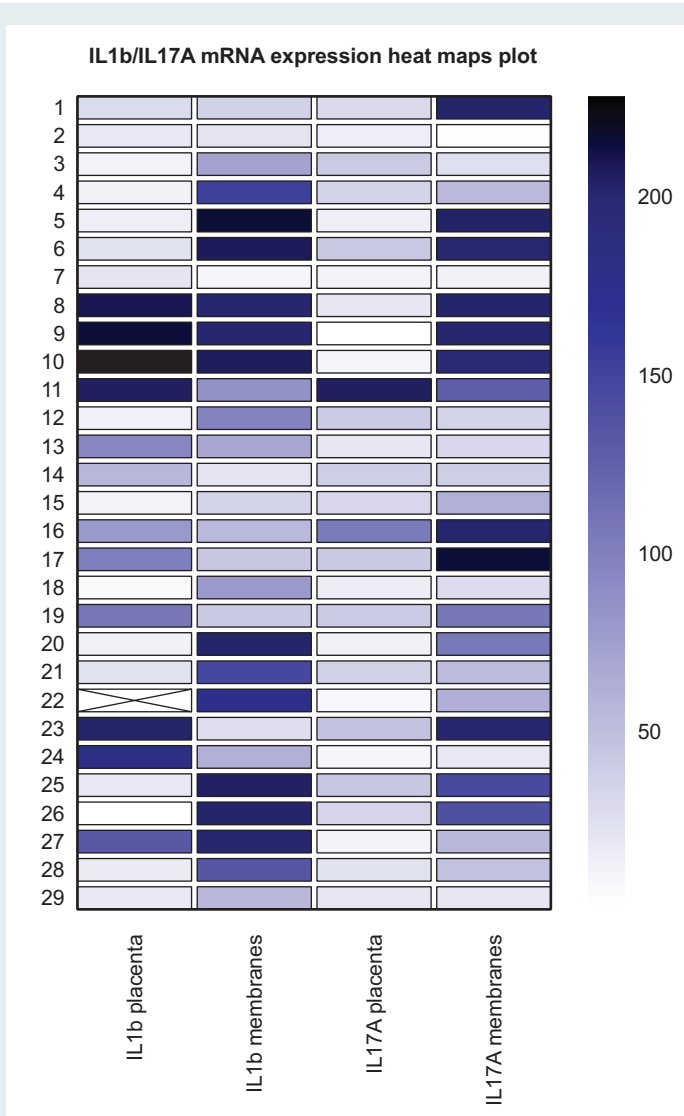


Рис. 9. Транскрипційна активність генів прозапальних цитокінів IL1β і IL17A у плаценті та плодових оболонках вагітних із передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності (heat map plots, використано пакет статистичного аналізу GraphPad Prism v7).

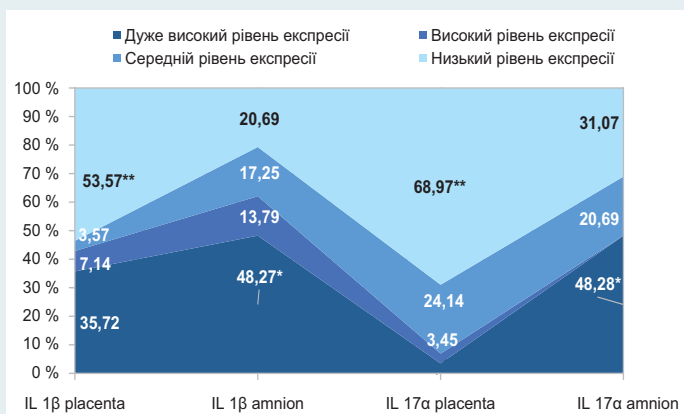


Рис. 10. Особливості експресії м-РНК прозапальних цитокінів у клітинах плаценти та плодових оболонках (% вагітних).

*: статистично значущі відмінності $p < 0,05$ (Mann–Whitney U test) порівняно з дуже низьким рівнем експресії; **: статистично значущі відмінності $p < 0,05$ (Mann–Whitney U test) порівняно з дуже високим рівнем експресії.

0,42–1,54; OR (GG) = 1,25; 95 % CI: 0,65–2,39; OR (AG) = 0,67; 95 % CI: 0,28–1,62 відповідно, $p > 0,05$. Результати мультиплікативної моделі усадкивання наведені в таблиці 1.

Для виділення ключових імуноопосередкованих ланок розвитку ПРПО при недоношеній вагітності наступний етап дослідження – визначення відносного рівня мРНК прозапальних цитокінів IL1β та IL17A на місцевому рівні окремо у плаценті та плодових оболонках. Особливості транскрипційної активності гена системного прозапального цитокіну IL1β у плаценті та плодових оболонках наведені на рис. 5, 6.

Відзначимо, що активність імунних клітин у біологічному матеріалі здорових вагітних нормалізована за методом ΔΔCt із референс-геном GAPDH і взята за 1. Про напруженість і гіперактивність прозапальної імунної відповіді на місцевому рівні при ПРПО при недоношеній вагітності свідчить дуже високий рівень мРНК гена IL1β порівняно з групою контролю.

Резюмуючи отримані дані про активність IL1β, відносна нормалізована кількість мРНК цього гена у плаценті у вагітних із ПРПО щодо контролю в середньому (mean) становила 25,08, у плодових оболонках – 23,83, що свідчить про суттєву індукцію його транскрипційної активності.

Подібну тенденцію високої експресії спостерігали по-іншому, Th17-залежному, цитокіну IL17A. На рис. 7 і 8 наведено, у скільки разів порівняно з групою здорових вагітних була більшою активність дослідженого гена прозапальної ланки імунної відповіді у плодових оболонках і меншою мірою у плаценті. Кількість мРНК гена IL17A у плаценті вагітних із ПРПО щодо контролю в середньому (mean) дорівнювала 5,69, у плодових оболонках – 19,31.

Абсолютний рівень експресії мРНК генів імунної відповіді був різним, що зумовило необхідність визначення середньостатистичного транскрипційного профілю за кількістю мРНК у біологічному матеріалі. Усі гени можна умовно поділені на 4 групи: з дуже високим рівнем експресії, високим, середнім і низьким рівнем. Обговорюючи наведені на рис. 9 і 10 відсотки вагітних із певним рівнем активності названих генів, відзначимо: частка вагітних із дуже високим рівнем експресії (48,27 %, $p < 0,05$) прозапальних цитокінів IL1β та IL17A була саме у плодових оболонках. Це показує патогенез запальних і деструктивних реакцій у плодових оболонках у жінок із ПРПО при недоношеній вагітності. У таблиці 2 наведено середньостатистичний рівень транскрипції цитокінів IL1β та IL17A на місцевому рівні залежно від гестаційного терміну виникнення ПРПО.

Обговорення

Передчасні пологи як глобальна проблема потребує глобальних рішень. Останні дослідження генома розкривають інформацію для розуміння причин передчасних пологів. Для того, щоб повністю оцінити та зрозуміти патогенез розвитку ПРПО та передчасних пологів, важливі дослідження з використанням методів секвенування високої пропускну здатності та секвенування цілого генома. Тому завдання полягає у вияв-

Таблиця 2. Транскрипційний профіль генів прозапальної імунної відповіді у клітинах плаценти та плодових оболонках залежно від терміну виникнення передчасного розриву плодових оболонок (Mean (L-H))

Цитокин/ локалізація	26–27 тижнів n = 4	28–30 тижнів n = 8	31–32 тижні n = 10	33–34 тижні n = 7
IL1 β плацента	2,32 (1,43–3,76)	65,67 (1,67–227,93)	7,05 (0,61–13,72)	14,86 (2,12–37,68)
IL1 β плодові оболонки	9,11 (2,80–19,72)*	46,41 (1,23–139,24)*	12,42 (2,77–38,22)	22,74 (3,46–52,06)*
IL17A плацента	3,88 (1,80–5,38)	10,08 (0,04–62,77)	4,49 (0,92–13,45)	3,45 (1,17–5,98)
IL17A плодові оболонки	12,82 (0,36–40,56)*	24,55 (1,64–49,74)*	22,87 (3,68–130,67)*	11,95 (2,42–29,03)*

*: статистично значущі відмінності $p < 0,05$ (Mann–Whitney U test) порівняно з рівнем експресії досліджуваного цитокину у плаценті.

ленні жінок із високим ступенем ризику для надання персоналізованої медичної допомоги та зменшення відсотка передчасних пологів, і, як наслідок, зниження перинатальної захворюваності та смертності.

У зв'язку з наведеним виникла необхідність вивчення мутацій генів IL1 β (rs1143627) і TNF α (rs1800629) у популяції Запорізького регіону для визначення їхньої ролі в патогенезі ПРПО і передчасних пологів для виявлення закономірностей і механізмів формування ПРПО, визначення груп високого ризику, ранньої діагностики, прогнозування та профілактики. В Україні не здійснювали вивчення такої комбінації генів у цій патології на початку цього дослідження.

TNF α належить до системних прозапальних цитокинів, є центральним регулятором імунної відповіді, відіграє ключову роль у запуску запальних реакцій завдяки таким властивостям, як активація лейкоцитів, індукування продукції інших прозапальних цитокинів – інтерлейкіну 1 β . IL1 β впливає на судинний опір, активує ендотелій, сприяє адгезії лейкоцитів до ендотелію шляхом збільшення експресії рецепторів адгезії на ендотеліальних клітинах судин. Відзначають, що матері, в яких у навколоплідних водах була збільшена концентрація TNF α , надалі частіше мали дітей із психічними розладами.

Беручи до уваги, що гіпоксія активує синтез TNF α клітинами амніону, хоріона децидуальної та плодовими тканинами, що призводить до порушень системи гемостазу, дисфункції ендотелію клітин плаценти, зміни матково-плацентарного кровообігу, посилення проникності плаценти, а отже до внутрішньоутробного страждання плода. Високий рівень TNF α може бути пусковим фактором запальних деструктивних реакцій у плаценті, що спричиняють ішемію її ділянок. Крім того, підвищення рівня прозапальних цитокинів у середовищі, що оточує ембріон, може мати суттєвий вплив на мозок, що розвивається, призводить до порушення проникності гематоенцефалічного бар'єра й появи неврологічної симптоматики в ранньому періоді новонародженості.

IL1 β є центральним медіатором локальних і системних запальних реакцій. Зв'язування IL1 β із рецепторами в материнському організмі є необхідним для імплантації, стимулює проліферацію клітин, що утворюють плацентарний бар'єр, вибірково активує процеси синтезу й секреції стероїдних гормонів, рівень яких впливає на перебіг вагітності. З іншого боку, для IL1 β характерна здатність стимулювати продукцію простагландинів, тим самим запускати механізми передчасного відторгнення плоду.

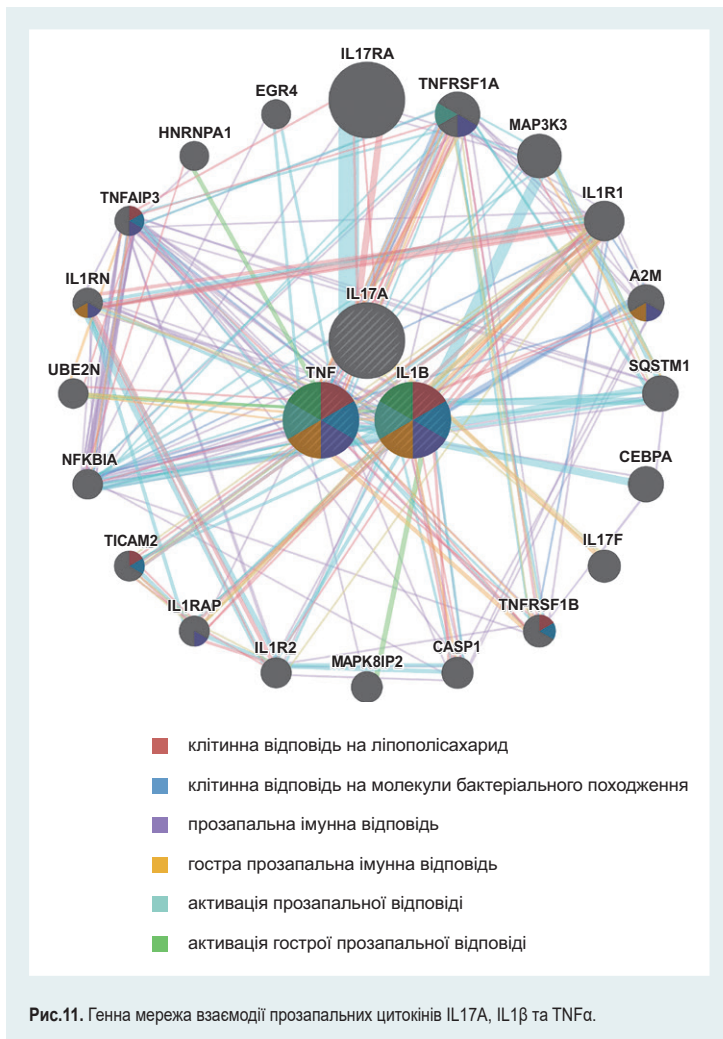
Sata F. et al. (Японія) довели зв'язок поліморфізму прозапальних цитокинів IL1 β та IL1 α з передчасними пологами [8]. Пізніше в дослідженні, що виконане Н. М. Jones, С. Holzman, на великій репрезентативній вибірці жінок США (n = 3019 за 6 років спостереження) поліморфізм гена IL1 β контрверсійно представлений як неасоційований із передчасними пологами [9]. На меншій вибірці жінок Данії підвищений ризик ПП та SNP IL1 β і TNF α продемонстрували М. V. Hollegaard, J. Grove [11]. Всупереч дослідженню М. V. Hollegaard ми не визначили асоціацію поліморфізму IL1 β (rs1143627) з виникненням ПРПО при недоношеній вагітності на популяції Запорізького регіону.

Moura E. et al. показали, що поліморфізми TNF α , інтерферону γ та IL6 асоційовані з передчасними пологами [7]. Bitner A., Devi S. G. у своїх дослідженнях на популяції жінок Польщі та Індії відповідно не виявили асоціації TNF α з передчасними пологами, ініційованими ПРПО [10,12]. Ми також оцінили внесок TNF α (rs1800629) у генетичну схильність вагітних до передчасних пологів. Довести зв'язок TNF α (rs1800629) із високим ступенем ризику ПРПО при недоношеній вагітності в Запорізькій області не вдалося.

Відкритий ресурс GeneMania (<https://genemania.org/>) дає змогу будувати генні мережі, які допомагають визначити, як гени-кандидати взаємодіють з іншими генами. Як видно з рис. 11, до складу генної мережі, що контролює активацію прозапальної імунної відповіді, входять досліджувані гени, які впливають на відповідь клітин на ліпополісахарид та інші молекули бактеріального походження, активацію запальної ланки імунітету (IL17A, NFKB1A, SQSTM1). Кожна генна мережа взаємодії має відповідне посилання на публікації наукометричних журналів світу. Найтісніші функціональні зв'язки спостерігали між генами TNF α , IL1 β , NFKB1A та IL1R1.

Підсумовуючи дані досліджуваного репертуару генів SNP, що включені в дослідження, не отримали статистичної значущості за маркерами IL1 β (rs1143627) і TNF α (rs1800629) як асоційованих із високим ризиком ПРПО і передчасних пологів у 26–34 тижні гестації. Тому наступна дослідницька точка дослідження – транскрипційний профіль прозапальних цитокинів IL1 β та IL17A у плаценті та плодових оболонках при ПРПО при недоношеній вагітності.

Загальним недоліком багатьох досліджень є те, що вони визначають кількісний бік змін (підвищення або зниження вмісту тих чи інших біологічно активних речовин, кількості рецепторів, рівня гормонів), але не



вивчають біологічне значення цих показників. Аналіз будь-якого процесу в аспекті дизрегуляційної патології потребує розуміння біологічної значущості змін, що виявляють, – вони є патогенетичними чи саногенетичними. Дослідження стану експресії генів мають певні переваги для ретроспективного оцінювання характеру перебігу патогенетичних і саногенетичних процесів, а також для прогнозування розвитку новонародженого.

За результатами нашого дослідження, у тканині плаценти та плодових оболонок жінок із ПРПО та передчасними пологами у 26–34 тижні гестації відзначено виражене підвищення інтенсивності експресії IL1β та IL-17A. Діапазон отриманих значень відносної нормалізованої експресії мРНК гена IL1β у плаценті становив 1,43–227,93 (mean – 25,08), плодових оболонок – 1,23–139,24 (mean – 23,83). Значення, пограничні з даними контрольної групи (<1,00–1,15), реєстрували в одному зразку тканини плаценти, що становило 3,45 %. Коливання діапазонів значень, що нижчі від середнього (1,42–23,1), які показували помірно виражене зростання порівняно з групою загалом, спостерігали у 23 зразках тканини плаценти – 82,14 % спостережень. Значення рівня експресії вищі, ніж середнє (37,68–227,93), котрі демонстрували найбільші відхилення від контролю, спостерігали в

17,86 % досліджуваних зразків тканини плаценти. У тканині плодових оболонок найбільші відхилення від контролю виявили у 32,14 % зразків (експресія вище, ніж середнє 28,82–139,24). Отже, збільшення відносної нормалізованої експресії (крім пограничних значень) IL1β виявлені у 96,43 % випадків усієї вибірки з переважанням суттєвих відхилень ($p < 0,001$).

Аналізуючи експресію гена IL1β залежно від терміну маніфестації ПРПО, встановили: її мінімальні значення 2,32 (1,42–3,76) спостерігали у плаценті в терміні гестації 26–27 тижнів, максимальне значення – 65,67 (1,86–227,93) у 28–30 тижнів також у плацентарній тканині. У плодових оболонках визначили в 46,41 раза вищу порівняно з групою контролю експресію м-РНК IL1β у 28–30 тижнів вагітності та 22,74 раза у 33–34 тижні відповідно. Така широка амплітуда коливань свідчить, що у вагітних із ПРПО при недоношеній вагітності рівень запальних процесів у тканині варіює в широких межах.

IL-17 продукують як Т-хелпери 17 типу, так і група вроджених ILC3 (3 innate lymphoid cells), обидві популяції яких експресують RORγT (RAR-related orphan receptor gamma), транскрипційний профіль якого буде висвітлено в майбутньому дослідженні. IL-17 активно залучає нейтрофіли у тканину й індукує запалення.

Розмах отриманих значень відносної нормалізованої експресії мРНК гена IL-17A був меншим, ніж IL1β та у плаценті становив 1,15–62,76 (mean – 5,69), плодових оболонках – 1,63–130,67 (mean – 19,31). Значення, пограничні з даними контрольної групи, (<1,00–1,15) зареєстрували у 3 зразках тканини плаценти та в одному зразку плодових оболонок – 6,89 %. Коливання діапазонів значень, які вищі, ніж середнє і показували дуже виражене зростання порівняно з групою загалом, спостерігали в 9 зразках плодових оболонок, що становило 31,03 % спостережень. У тканині плаценти найбільші відхилення від контролю виявили у 13,79 % зразків (експресія вище, ніж середнє 5,73–62,76).

Механізми прозапальної медіації через активацію IL-1β та IL-17A можуть бути причиною розвитку ПРПО у 26–34 тижні гестації; їх розглядають як можливі індуктори прогресування захворювання. Під час аналізу експресії гена IL17A визначили певні особливості, як-от суттєве зростання показника у плодових оболонках порівняно з плацентарною тканиною. У 28–30 тижнів виникнення ПРПО рівень експресії IL17A у плодових оболонках був у 24,55 раза більший, ніж у практично здорових жінок із фізіологічним перебігом вагітності та пологів, у 31–32 тижні – 22,87 раза відповідно.

Результати відносної нормалізованої експресії генів IL-1β та IL-17A виявилися доволі неочікуваними. Очевидно, що така висока їхня активація пов'язана з наявністю потенційних лігандів (мікробних патернів), здатних його активувати. Серед відомих об'єктів із такою здатністю та наявністю в репродуктивних шляхах (як-от ендометрії) жінки можна виділити ряд умовно патогенних та облігатних мікроорганізмів, які містять антигенні конфігурації (ліпопротеїди, пептидоглікан, гліколіпіди, зимозан грибів), що здатні активувати рецептори вродженого імунітету і, як наслідок, рецептори адаптивної імунної відповіді. Однак умовно патогенні

збудники не підлягають обов'язковій медикаментозній елімінації. Не виключено, що власне цей факт за допомогою до кінця не з'ясованих механізмів і підтримує розвиток ПРПО при недоношеній вагітності.

Висновки

1. У популяції Запорізького регіону відсутня вірогідна клінічна асоціація між генами IL1 β (rs1143627) та TNF α (rs1800629) і високим ризиком розвитку передчасного розриву плодових оболонок при недоношеній вагітності.

2. Метод ЗТ-ПЛР-РЧ дав змогу виявити імуноопосередковані ланки розвитку ПРПО на місцевому рівні в терміні гестації 26–34 тижні, а саме транскрипційну індукцію генів прозапальних цитокінів IL1 β та IL17A.

3. Високий транскрипційний профіль прозапальних цитокінів у плодових оболонках ініціював ранній початок пологової діяльності та передчасних пологів, а низький і середній рівень активності названих генів як у плаценті, так і плодових оболонках сприяв пролонгуванню вагітності, вчасній профілактиці синдрому дихальних розладів новонародженого та призначенню превентивної антибактеріальної терапії.

Перспективи подальших досліджень. Плануємо продовжити вивчення імунологічної складової розвитку ПРПО й передчасних пологів, зокрема визначити експресію вроджених та адаптивних компонентів імунітету: кількості матричної РНК TLR2, TLR4, а також транскрипційних факторів, що регулюють диференціювання лімфоцитів у напрямі Th1-, Th17- та Treg у децидуальній плацентарній тканині та плодових оболонках.

Інший напрям досліджень – порівняльне оцінювання залежності між запальними змінами у плаценті та плодових оболонках, тривалим безводним періодом і даними віддаленого катамнезу дітей, які народжені в терміні гестації 26–34 тижні від матерів із ПРПО. Це істотно покращить розуміння ПРПО й передчасних пологів, сприятиме формулюванню обсягу патогенетичних превентивних заходів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Любомирська К. С., PhD аспірант каф. акушерства та гінекології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Любомирская Е. С., PhD аспірант каф. акушерства та гінекології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Information about authors:

Liubomyrska K. S., PhD-student of the Department of Obstetrics and Gynecology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 29.10.2018

Після доопрацювання / Revised: 07.11.2018

Прийнято до друку / Accepted: 13.11.2018

Список літератури

- [1] Ancestry informative markers and selected single nucleotide polymorphisms in immunoregulatory genes on preterm labor and preterm premature rupture of membranes: a case control study / B.R. Ramos, N.D. Mendes, A.A. Tanikawa, et al. // *BMC Pregnancy Childbirth*. – 2016. – Vol. 16. – P. 30.
- [2] Antimicrobial properties of amniotic and chorionic membranes: a comparative study of two human fetal sacs / M. Zare-Bidaki, S. Sadrinia, S. Erfani, et al. // *J Reprod Infertil*. – 2017. – Vol. 18. – Issue 2. – P. 218–224.
- [3] Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): etiology, diagnosis, classification, international recommendations of treatment options and outcome / M. Tchirikov, N. Schlalbritz-Loutsevitch, J. Maher, et al. // *J. Perinat. Med.* – 2017. – Vol. 46. – Issue 5. – P. 465–488.
- [4] Intraamniotic inflammation in women with preterm prelabour rupture of membranes / I. Musilova, R. Kutová, L. Pliskova, et al. // *Plos One*. – 2015. – Vol. 10. – Issue 7. – P. 1–18.
- [5] Spontaneous preterm birth and single nucleotide gene polymorphisms: a recent update / A.I. Sneikh, E. Ahmad, M.S. Jamal, et al. // *BMC Genomics*. – 2016. – Vol. 17. – Suppl 9. – P. 759.
- [6] Onset of human preterm and term birth is related to unique inflammatory transcriptome profiles at the maternal fetal interface / R. Bukowski, Y. Sadovsky, H. Goodarzi, et al. // *Peer J*. – 2017. – Vol. 5. – e3685.
- [7] Inflammatory cytokine gene polymorphisms and spontaneous preterm birth / E. Moura, R. Mattar, E. de Souza, et al. // *J. Reprod Immunol*. – 2009. – Vol. 80. – P. 115–121.
- [8] Proinflammatory cytokine polymorphisms and the risk of preterm birth and low birthweight in Japanese population / F. Sata, S. Toya, H. Yamada, et al. // *Mol Hum Reprod*. – 2009. – Vol. 15. – Issue 2. – P. 121–130.
- [9] Interplay of cytokine polymorphisms and bacterial vaginosis in the etiology of preterm delivery / H.M. Jones, C. Holzman, K.H. Friderici, et al. // *J Reprod Immunol*. – 2010. – Vol. 87. – P. 82–89.
- [10] Bitner A. IL1 β , IL6 promoter, TNF α -promoter and IL-1RA gene polymorphisms and the risk of preterm delivery due to preterm premature rupture of membranes in a population of Polish women / A. Bitner, J. Kalinka // *Arch Med Sci*. – 2010. – Vol. 6. – Issue 4. – P. 552–557.
- [11] Polymorphisms in the tumor necrosis factor alpha and interleukin 1-beta promoters with possible gene regulatory functions increases the risk of preterm birth / M.V. Hollegaard, G. Grove, P. Thorsen, et al. // *Acta Obstet Gynecol Scand*. – 2008. – Vol. 87. – Issue 12. – P. 1285–1290.
- [12] Analysis of relation between tumor necrosis factor alpha gene (G308A polymorphism) with preterm labor / L. Jafarzaden, A. Danesh, M. Sadeghi, et al. // *Int J Prev Med*. – 2013. – Vol. 4. – Issue 8. – P. 896–901.

References

- [1] Ramos, B. R., Mendes, N. D., Tanikawa, A. A., Amador, M. A., dos Santos, N. P., dos Santos, S. E., et al. (2016). Ancestry informative markers and selected single nucleotide polymorphisms in immunoregulatory genes on preterm labor and preterm premature rupture of membranes: a case control study. *BMC Pregnancy Childbirth*, 16, 30. doi: 10.1186/s12884-016-0823-1.
- [2] Zare-Bidaki, M., Sadrinia, S., Erfani, S., Afkar, E., & Ghanbarzade, N. (2017). Antimicrobial properties of amniotic and chorionic membranes: a comparative study of two human fetal sacs. *J Reprod Infertil*, 18(2), 218–224.
- [3] Schlalbritz-Loutsevitch, N., Maher, J., Buchmann, J., Naberezhnev, Y., Winarno, A. S., & Seliger, G. (2017). Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): etiology, diagnosis, classification, international recommendations of treatment options and outcome. *J. Perinat. Med.*, 46(5), 465–488. doi: 10.1515/jpm-2017-0027.
- [4] Musilova, I., Kutová, R., Pliskova, L., Stepan, M., Menon, R., Jacobsson, B., & Kacerovsky, M. (2015). Intraamniotic inflammation in women with preterm prelabour rupture of membranes. *Plos One*, 10(7): e0133929. doi: [10.1371/journal.pone.0133929].
- [5] Sheikh, I. A., Ahmad, E., Jamal, M. S., Rehan, M., Assidi, M., Tayubi, I. A., et al. (2016). Spontaneous preterm birth and single nucleotide gene polymorphisms: a recent update. *BMC Genomics*, 17(Suppl 9), 759. doi: 10.1186/s12864-016-3089-0.
- [6] Bukowski, R., Sadovsky, Y., Goodarzi, H., Zhang, H., Biggio, J. R., Varner, M., et al. (2017). Onset of human preterm and term birth is related to unique inflammatory transcriptome profiles at the maternal fetal interface. *Peer J*, 5, e3685. doi: 10.7717/peerj.3685.
- [7] Moura, E., Mattar, R., de Souza, E., Torloni, M. R., Goncalves-Primo, A., & Daher, S. (2009). Inflammatory cytokine gene polymorphisms and spontaneous preterm birth. *J. Reprod Immunol*, 80(1–2), 115–21. doi: 10.1016/j.jri.2008.11.007.

- [8] Sata, F., Toya, S., Yamada, H., Suzuki, K., Saijo, Y., Yamazaki, A., et al. (2009). Proinflammatory cytokine polymorphisms and the risk of preterm birth and low birthweight in Japanese population. *Mol Hum Reprod.*, 15(2), 121–30. doi: 10.1093/molehr/gan078.
- [9] Jones, H. M., Holzman, C., Friderici, K. H., Jernigan, K., Chung, H., Wirth, J., & Fisher, R. (2010). Interplay of cytokine polymorphisms and bacterial vaginosis in the etiology of preterm delivery. *J Reprod Immunol.*, 87(1–2), 82–9. doi: 10.1016/j.jri.2010.06.158.
- [10] Bitner, A., & Kalinka, J. (2010). IL1 β , IL6 promoter, TNF α -promoter and IL-1RA gene polymorphisms and the risk of preterm delivery due to preterm premature rupture of membranes in a population of Polish women. *Arch Med Sci.*, 6(4), 552–7. doi: 10.5114/aoms.2010.14467.
- [11] Hollegaard, M. V., Grove, G., Thorsen, P., Wang, X., Mandrup, S., Christiansen, M., et al (2008). Polymorphisms in the tumor necrosis factor alpha and interleukin 1-beta promoters with possible gene regulatory functions increases the risk of preterm birth. *Acta Obstet Gynecol Scand.*, 87(12), 1285–90. doi: 10.1080/00016340802468340.
- [12] Jafarzaden, L., Danesh, A., Sadeghi, M., Heybati, F., & Hashemzaden, M. (2013). Analysis of relation between tumor necrosis factor alpha gene (G308A polymorphism) with preterm labor. *Int J Prev Med.*, 4(8), 896–901.

Анализ вариабельности сердечного ритма у больных с первичной и повторной инвазией острицами до и после курса специфической терапии

К. А. Степанченко

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

Цель работы – изучить состояние вегетативной нервной системы и адаптационно-компенсаторных механизмов у взрослых больных энтеробиозом с разной длительностью инвазии острицами до и после проведения курса антигельминтной терапии с помощью метода вариабельности сердечного ритма.

Материалы и методы. Обследовали 60 взрослых мужчин (возрастом 19–24 года) с энтеробиозом (основная группа), которых в ходе исследования поделили на 2 группы больных с разной длительностью энтеробиозной инвазии. В 1 группу вошли 35 курсантов с первичной энтеробиозной инвазией. Вторую группу с повторной инвазией острицами (реинвазией) составили 25 человек. В качестве контроля обследовано 30 практически здоровых лиц. Курс специфической терапии проводили мебендазолом. Для оценки состояния вегетативного гомеостаза использовали метод математического анализа сердечного ритма по результатам вариабельности сердечного ритма.

Результаты. По данным вариабельности сердечного ритма, для больных с первичной энтеробиозной инвазией характерны высокие показатели абсолютных и относительных значений высокочастотной HF-компоненты вариабельности сердечного ритма ($2314,9 \pm 314,7$ мс² и $55,6 \pm 3,1$ %), а для пациентов с повторной инвазией острицами – высокие показатели абсолютных и относительных значений очень низкочастотной VLF-компоненты вариабельности сердечного ритма ($1918,4 \pm 205,9$ мс² и $49,7 \pm 2,9$ %). После курса антигельминтной терапии у больных с первичной энтеробиозной инвазией отмечена нормализация показателей вариабельности сердечного ритма до уровня группы контроля, а у больных с повторной инвазией острицами сохранялись высокие показатели абсолютных и относительных значений очень низкочастотной VLF-компоненты вариабельности сердечного ритма.

Выводы. У больных с первичной инвазией острицами отмечено преобладание парасимпатической регуляции в модуляции ритма сердца по показателям вариабельности сердечного ритма. При повторной энтеробиозной инвазии отмечены явления избыточной централизации управлением сердечным ритмом за счет нарушения взаимодействия надсегментарного и сегментарного отделов вегетативной нервной системы по показателям вариабельности сердечного ритма, сохраняющиеся после курса антигельминтной терапии.

Ключевые слова:
энтеробиоз,
взрослые,
ритм сердца.

Патология. – 2018. –
Т. 15, № 3(44). –
С. 319–324

DOI:
10.14739/2310-1237.
2018.3.151804

E-mail:
kosty0516@gmail.com

Аналіз варіабельності серцевого ритму у хворих із первинною та повторною інвазією гостриками до та після курсу специфічної терапії

К. А. Степанченко

Мета роботи – вивчити стан вегетативної нервової системи й адаптаційно-компенсаторних механізмів у дорослих хворих на ентеробіоз із різною тривалістю інвазії гостриками до та після курсу антигельмінтної терапії за допомогою методу варіабельності серцевого ритму.

Матеріали та методи. Обстежили 60 дорослих чоловіків (віком 19–24 роки) з ентеробіозом (основна група), яких протягом дослідження поділили на дві групи хворих із різною тривалістю ентеробіозної інвазії. В 1 групу ввійшли 35 курсантів із первинною ентеробіозною інвазією. Друга група з повторною інвазією гостриками (реінвазією) – 25 осіб. Як контроль обстежили 30 практично здорових осіб. Курс специфічної терапії проводили мебендазолом. Для оцінювання стану вегетативного гомеостазу використовували метод математичного аналізу серцевого ритму за результатами варіабельності серцевого ритму.

Результати. За даними варіабельності серцевого ритму, для хворих із первинною ентеробіозною інвазією характерні високі показники абсолютних і відносних значень високочастотної HF-компоненти варіабельності серцевого ритму ($2314,9 \pm 314,7$ мс² і $55,6 \pm 3,1$ %), а для пацієнтів із повторною інвазією гостриками – високі показники абсолютних і відносних значень дуже низькочастотної VLF-компоненти варіабельності серцевого ритму ($1918,4 \pm 205,9$ мс² і $49,7 \pm 2,9$ %). Після курсу антигельмінтної терапії у хворих із первинною ентеробіозною інвазією спостерігали нормалізацію показників варіабельності серцевого ритму до рівня групи контролю, а у хворих із повторною інвазією гостриками зберігалися високі показники абсолютних і відносних значень дуже низькочастотної VLF-компоненти варіабельності серцевого ритму.

Висновки. У хворих із первинною інвазією гостриками переважає парасимпатична регуляція в модуляції ритму серця за показниками варіабельності серцевого ритму. При повторній ентеробіозній інвазії відзначають явища надлишкової централізації управлінням серцевим ритмом унаслідок порушення взаємодії надсегментарного та сегментарного відділів вегетативної нервової системи за показниками варіабельності серцевого ритму, які зберігаються після курсу антигельмінтної терапії.

Ключові слова:
ентеробіоз,
дорослі,
ритм серця.

Патологія. – 2018. –
Т. 15, № 3(44). –
С. 319–324

Key words:
enterobiasis,
adults, heart rate.

Pathologia
2018; 15 (3), 319–324

Analysis of heart rate variability in patients with primary and secondary invasion with pinworms before and after a course of specific therapy

K. A. Stepanchenko

Objective: to study the state of the autonomic nervous system and adaptation-compensatory mechanisms in adult patients with enterobiasis with different duration of pinworm invasion before and after the course of anthelmintic therapy with the help of the heart rate variability method.

Materials and methods. We examined 60 military cadets (men aged 19–24 years) with enterobiasis (the main group), among whom two groups of patients with different duration of enterobiasis invasion were formed. The 1st group included 35 military cadets with a primary enterobiasis invasion. The 2nd group with re-invasion – 25 military cadets, control group – 30 practically healthy military cadets. The course of specific therapy was carried out with mebendazole. To assess the state of autonomic nervous system, the method of mathematical analysis of the heart rate was used based on the results of heart rate variability.

Results. Patients with primary enterobiotic invasion had heart rate variability data characterized by high absolute and relative values of high-frequency HF-component of heart rate variability ($2314.9 \pm 314.7 \text{ ms}^2$ and $55.6 \pm 3.1 \%$), and patients with re-invasion – high absolute and relative values of the very low-frequency VLF component of heart rate variability ($1918.4 \pm 205.9 \text{ ms}^2$ and $49.7 \pm 2.9 \%$). We observed normalization of heart rate variability indicators up to the control group level in patients with primary enterobiasis invasion after the course of anthelmintic therapy. Whereas, high absolute and relative values of very low-frequency VLF-component of heart rate variability indicators in patients with re-invasion were preserved.

Conclusions. Patients with primary pinworm infestation have predominant parasympathetic regulation in cardiac rhythm modulation. Patients with re-invasion have excessive centralization of cardiac rhythm control due to a disruption in the interaction between suprasegmental and segmental parts of the central autonomic nervous system, which persists after the course of anthelmintic therapy.

Серьезной проблемой для медицинской науки и практического здравоохранения являются гельминтозы человека, на долю которых приходится более 99 % всех паразитозов. По современным оценкам ВОЗ, гельминтозами страдает более 90 % населения земного шара. В настоящее время одним из наиболее распространенных гельминтозов человека как в нашей стране, так и за рубежом является энтеробиоз [1–5].

Если рассматривать наличие глистной инвазии с позиции хронического стресса, то, несомненно, этот вопрос включает представление о связи стресса с изменениями в различных системах организма, в частности, в вегетативной нервной системе (ВНС), эндокринных органах, иммунной системе и способности противодействовать этим изменениям [6–11].

Для оценки состояния вегетативного гомеостаза, адаптационных реакций целостного организма широко используется метод математического анализа сердечного ритма (СР) по результатам вариабельности сердечного ритма (ВСР). В его основе – оценка сегментарно-периферической вегетативной регуляции синусового ритма сердца и ее соотношения с гуморально-метаболической средой с помощью автоматизированного временного и спектрального анализа волновой структуры синусового ритма сердца, которая моделируется разночастотными колебаниями межсистолических интервалов. Характерная особенность метода – неспецифичность по отношению к нозологическим формам патологии и высокая чувствительность к разнообразным внутренним и внешним воздействиям [12–15], однако данные специализированной литературы об изменениях ВСР у пациентов с гельминтной инвазией в доступных нам источниках не обнаружены.

Цель работы

Изучить состояние вегетативной нервной системы и адаптационно-компенсаторных механизмов у взрос-

лых больных энтеробиозом с разной длительностью инвазии острицами до и после проведения курса антигельминтной терапии с помощью метода ВСР.

Материалы и методы исследования

Обследованы 60 взрослых мужчин (возрастом 19–24 года) с энтеробиозом – основная группа, которую в ходе исследования поделили на 2 группы больных с разной длительностью энтеробиозной инвазии. В 1 группу вошли 35 курсантов с первичной энтеробиозной инвазией. Вторую группу с повторной инвазией острицами (реинвазией) составили 25 человек. В качестве контроля обследовали 30 практически здоровых лиц. Обследованные мужчины – курсанты Харьковского института военных-воздушных сил в возрасте от 19 до 24 лет. Обследование проведено на базе кафедры паразитологии и тропических болезней Харьковской медицинской академии последипломного образования. Все обследованные дали письменное согласие на участие в исследовании.

Диагноз энтеробиоз выставляли в случае хотя бы одного положительного результата при трехкратном обследовании методом липкой ленты (метод Грехема). Для исключения наличия других гельминтозов определяли наличие яиц гельминтов в фекалиях методом обогащения по Фюллеборну.

Курс специфической терапии проводили мебендазолом в разовой дозе 200 мг (2 таб. по 100 мг) после еды: первый прием (день 0), повторный прием (день 14), последний прием (день 28). Курсовая доза – 600 мг. После проведения специфической терапии у всех больных получены отрицательные результаты анализа на яйца остриц.

Для оценки состояния вегетативного гомеостаза использовали метод математического анализа сердечного ритма по результатам ВСР с использованием сертифицированной компьютерной диагностической

системы «CardioLab 2000». Для спектрального анализа ВСР регистрировали ЭКГ во втором стандартном отведении на протяжении 7 мин в положении лежа при свободном дыхании. Анализировали промежуточный интервал продолжительностью 5 минут. Разложение ритмограммы в спектр проводили с использованием быстрого преобразования Фурье.

Статистическая обработка данных проведена общепринятыми методами с вычислением процентов, средних значений и их ошибок с использованием компьютерных программ Statgraphics Plus for Windows 2.1. Для сравнения достоверности различий использовали критерий U Вилкоксона–Манна–Уитни, T (парный критерий Вилкоксона), метод углового преобразования Фишера.

Результаты

Результаты изучения вегетативной сферы у пациентов с энтеробиозом показали существенные нарушения: в исходном вегетативном тоне преобладала парасимпатикотония, вегетативная реактивность характеризовалась доминированием недостаточной и извращенной реактивности, достоверно чаще по сравнению с группой контроля отмечали недостаточное вегетативное обеспечение деятельности ($p < 0,05$), что свидетельствует в целом о снижении адаптационно-приспособительных возможностей вегетативной нервной системы у данного контингента больных.

У пациентов с первичной энтеробиозной инвазией по сравнению с группой контроля превалировала парасимпатикотония, недостаточная вегетативная реактивность и избыточное вегетативное обеспечение деятельности ($p < 0,05$). Недостаточная и извращенная вегетативная реактивность, недостаточное вегетативное обеспечение деятельности характерны для больных с повторной инвазией острицами ($p < 0,05$).

У курсантов основной группы отмечены более высокие значения абсолютных и относительных показателей спектральной мощности в диапазоне высокочастотных (HF) колебаний, отражающих модулирующее влияние парасимпатического отдела нервной системы на ритм сердца, как при сравнении с группой контроля ($1723,4 \pm 118,4 \text{ мс}^2$ и $1401,2 \pm 114,6 \text{ мс}^2$; $40,9 \pm 1,7 \%$ и $36,5 \pm 1,5 \%$ соответственно, $p < 0,05$), так и внутри группы. Эта разница более заметна при анализе показателя LF\HF, характеризующего баланс отделов ВНС. При сравнении значения LF\HF в основной ($0,84 \pm 0,10$) и контрольной ($1,10 \pm 0,08$) группах установлено достоверное увеличение парасимпатических влияний в первой группе.

Отмечено также достоверное увеличение абсолютных и относительных значений спектральной мощности очень низкочастотных (VLF) колебаний в основной группе по сравнению с контрольной ($1245,9 \pm 111,2 \text{ мс}^2$ и $950,4 \pm 104,5 \text{ мс}^2$; $31,7 \pm 1,2 \%$ и $28,5 \pm 1,1 \%$ соответственно, $p < 0,05$). Это может указывать на повышение роли надсегментарных структур в регуляции СР у больных энтеробиозом.

При сравнении основной и контрольной группы установлено снижение абсолютных и относительных показателей низкочастотных (LF) колебаний

($902,5 \pm 112,9 \text{ мс}^2$ и $1350,9 \pm 126,2 \text{ мс}^2$; $25,6 \pm 1,7 \%$ и $33,7 \pm 1,9 \%$ соответственно, $p < 0,05$). Общая структура спектральной мощности в основной группе имела вид $LF < VLF < HF$, в контрольной – $VLF < LF < HF$.

Таким образом, результаты спектрального анализа ВСР показали у больных энтеробиозом признаки преобладания парасимпатической регуляции в модуляции ритма сердца и избыточной централизации его управлением.

Результаты спектрального анализа и структура спектральной мощности ВСР у пациентов с первичной и повторной инвазией острицами в динамике лечения представлены в *таблицах 1, 2*.

У больных с первичной энтеробиозной инвазией значения абсолютной мощности HF-компоненты достоверно выше по сравнению с группой контроля, ниже значения абсолютной мощности LF-компоненты, показателя LF\HF, выше доля HF-компоненты за счет снижения доли VLF и LF компонент в структуре спектральной мощности ВСР.

У больных с повторной инвазией острицами установлены достоверно более высокие по сравнению с группой контроля значения абсолютной мощности VLF-компоненты, более низкие значения абсолютной мощности LF- и HF-компоненты, большую долю VLF-компоненты за счет снижения доли HF и LF-компонент в структуре спектральной мощности ВСР.

У больных 1 группы по сравнению с пациентами 2 группы были достоверно выше значения абсолютной мощности HF-компоненты, ниже значения показателя LF\HF, выше доля HF-компоненты в структуре спектральной мощности ВСР, что указывало на преобладание парасимпатической регуляции в модуляции ритма сердца.

При повторной энтеробиозной инвазии по сравнению с первичной инвазией острицами зафиксированы более высокие значения абсолютной мощности и доли VLF-компоненты в структуре спектральной мощности ВСР, что свидетельствовало об избыточной централизации управлением сердечным ритмом.

После курса антигельминтной терапии у пациентов отмечено статистически значимое снижение ряда субъективных симптомов заболевания: уменьшилась частота и интенсивность головных болей независимо от их характера, в меньшей степени стали беспокоить похолодание, онемение и изменение окраски кистей, стоп, дистальный гипергидроз, патологическая утомляемость, нарушения сна, внимания, памяти, уменьшилась эмоциональная лабильность, улучшился аппетит и моторика ЖКТ, перестал беспокоить периаанальный зуд ($p < 0,05$).

Особенно заметна положительная динамика у больных с первичной инвазией острицами. Во 2 группе пациентов также отмечены благоприятные изменения, однако частота жалоб вегетативного и астенического характера оставалась достаточно высокой ($p > 0,05$).

В обеих группах больных энтеробиозом после лечения отмечено улучшение вегетативного гомеостаза. У пациентов с первичной инвазией острицами под действием специфической терапии произошло выравнивание показателей объективной вегетативной симптоматики с группой контроля ($p > 0,05$), однако в

Таблиця 1. Результати спектрального аналізу ВСР у больных с первичной и повторной инвазией острицами до и после лечения (M ± m)

Показатели	Первичная инвазия (n = 35)		Повторная инвазия (n = 25)		Контрольная группа (n = 30)
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	
TP, мс ²	3958,7 ± 698,3	3910,7 ± 339,9	3683,6 ± 614,9	3853,1 ± 468,9	3785,5 ± 297,3
VLF, мс ²	776,7 ± 117,4 ^{§§§}	956,6 ± 104,3	1918,4 ± 205,9 ^{***}	1398,1 ± 157,1*	950,4 ± 104,5
LF, мс ²	950,0 ± 161,2*	1284,7 ± 183,7	790,9 ± 114,4 ^{**}	1205,1 ± 217,9	1350,9 ± 126,2
HF, мс ²	2314,9 ± 314,7 ^{§§§**}	1584,0 ± 175,3 [¶]	831,2 ± 172,1 ^{**}	1391,0 ± 202,1 [¶]	1401,2 ± 114,6
LFHF	0,44 ± 0,08 ^{§§§**}	0,93 ± 0,18 [¶]	1,34 ± 0,30	1,14 ± 0,15	1,10 ± 0,08

Достоверность различий по критерию U Вилкоксона–Манна–Уитни: *: p < 0,05; **: p < 0,01; ***: p < 0,001 в сравнении с контрольной группой; §: p < 0,05; §§: p < 0,01; §§§: p < 0,001 при сопоставлении показателей больных с первичной и повторной инвазией до лечения; по критерию T (парному критерию Вилкоксона): †: p < 0,05; ††: p < 0,01; †††: p < 0,001 в сравнении с аналогичными показателями до лечения.

Таблиця 2. Структура спектральной мощности ВСР у больных с первичной и повторной инвазией острицами до и после лечения (%)

Показатели	Первичная инвазия (n = 35)		Повторная инвазия (n = 25)		Контрольная группа (n = 30)
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	
VLF, %	21,1 ± 2,2 ^{§§§**}	28,7 ± 1,7 ^{¶¶}	49,7 ± 2,9 ^{***}	34,7 ± 2,7 ^{¶¶¶*}	28,5 ± 1,1
LF, %	21,9 ± 1,6 ^{***}	29,6 ± 1,5 ^{¶¶¶}	25,6 ± 2,4*	28,8 ± 2,1	33,7 ± 1,9
HF, %	55,6 ± 3,1 ^{§§§***}	39,3 ± 1,9 ^{¶¶¶}	24,2 ± 2,5 ^{***}	34,7 ± 2,8 ^{¶¶}	36,5 ± 1,5

Достоверность различий по критерию U Вилкоксона–Манна–Уитни: *: p < 0,05; **: p < 0,01; ***: p < 0,001 в сравнении с контрольной группой; §: p < 0,05; §§: p < 0,01; §§§: p < 0,001 при сопоставлении показателей больных с первичной и повторной инвазией до лечения; по критерию T (парному критерию Вилкоксона): †: p < 0,05; ††: p < 0,01; †††: p < 0,001 в сравнении с аналогичными показателями до лечения.

группе больных с повторной энтеробиозной инвазией оставался высоким процент недостаточной вегетативной реактивности и недостаточного вегетативного обеспечения деятельности (p < 0,05).

В 1 группе больных энтеробиозом отмечена нормализация анализируемых показателей ВСР. Достоверно снизилась абсолютная мощность HF-компоненты, увеличился показатель LFHF, произошло увеличение доли VLF- и LF-компонент и снижение доли HF-компоненты в структуре спектральной мощности ВСР. То есть установилось сбалансированное состояние регуляторных систем ВНС (нивелировались различия с контрольной группой).

Во 2 группе пациентов с энтеробиозом установлено достоверное увеличение абсолютной мощности и доли HF-компоненты в структуре спектральной мощности ВСР, но лишь имели тенденцию к снижению абсолютные и относительные показатели VLF-компоненты, сохранились их статистически значимые различия с контрольной группой. Полученные результаты указывали, что, несмотря на положительные изменения, у больных с повторной энтеробиозной инвазией сохранялось преобладание надсегментарных структур в регуляции сердечного ритма.

Обсуждение

В проведенном исследовании основные субъективные симптомы у пациентов с энтеробиозом носили астенический и вегетативный характер. К ним относились головная боль, потливость и похолодание и/или онемение ладоней и стоп, уртикарии, неустойчивость настроения, раздражительность, общая слабость, быстрая утомляемость, снижение работоспособности, концентрации внимания, памяти, нарушение сна, бруксизм, отмечено также снижение аппетита, перианальный зуд. При повторной энтеробиозной инвазии отмечены более выраженные жалобы как вегетативного, так и астенического характера по сравнению с

пациентами с первичной инвазией острицами. Следует подчеркнуть, что нерезко выраженные подобные изменения зачастую не вызывают у больных особой тревоги, что приводит к хронизации патологического процесса и упускается время для эффективной помощи. В доступных источниках специализированной литературы есть указания на нарушения ВНС при гельминтозах. Они проявлялись в виде отклонений от нормы сосудистых реакций кожи, иннервации потовых и слюнных желез, нарушений зрачковых реакций, расстройств мочеиспускания, изменений адаптации пульса при клино- и ортостатических пробах [16,17]. В малой части публикаций есть упоминания о расстройствах ВНС при энтеробиозе в виде изменений дермографизма, повышенного слюноотделения, ночного недержания мочи [18–20]. Однако описаний детальных исследований в этой области не нашли.

Проведенный анализ вариабельности сердечного ритма по данным ВСР у больных с повторной энтеробиозной инвазией показал высокие показатели абсолютных и относительных значений VLF-компоненты ВСР, что говорит об избыточной централизации управлением сердечным ритмом. Это указывает на напряжение адаптационно-компенсаторных механизмов и нарушение взаимодействия надсегментарного и сегментарного отделов ВНС.

Часто реакция ВНС носит разнонаправленный характер при различных условиях эксперимента как у людей, так и в опытах на животных при других нематодозах, в частности аскаридозе. Талызин Ф. Ф. [21] пытается объяснить это с точки зрения гипотезы А. А. Колтыпина, выделившего три линии патогенеза, общие для всех инфекционных заболеваний. Так, отмеченное в опытах повышение АД и увеличение частоты дыхания при перфузии экстрактом из аскарид отрезка кишечника, расширение зрачка при орошении желудка собаки экстрактом из аскарид, повышение АД при введении экстрактов из аскарид в сонную артерию, богатую симпаторецепторами, – по его мне-

нию, не что иное, как симпатикус-реакция организма, возникающая рефлекторно в ответ на антигенное воздействие. Пониженное артериальное давление и брадикардия у больных аскаридозом, падение АД и брадикардия при парентеральном введении аскаридозных экстрактов и продуктов жизнедеятельности аскарид, такие клинические проявления аскаридоза, как слюнотечение, анизокория, уртикарные сыпи, эозинофилия, астматические бронхиты, функциональные сердечные шумы – это проявление вагус-фазы, возникающей в результате биохимических нарушений в холинэргической нервной системе под влиянием антигенов из аскарид.

Большинство авторов придерживаются мнения, что патогенное воздействие остриц на организм человека связано, прежде всего, с механическим влиянием паразита на кишечную стенку, токсико-аллергическим воздействием и характером питания остриц. До настоящего времени в специализированной литературе нет достаточно убедительных данных о выделении острицами специфических вредных секретов. По данным Флюри (1925), экстракты из остриц содержат муравьиную кислоту и летучие жирные кислоты [16,17,19,21,22].

Изменение показателей ВСР, отражающих нарушения вегетативного гомеостаза и адаптационных возможностей организма, у пациентов с энтеробиозной инвазией, по нашему мнению, может быть связано с избыточной афферентной раздражительностью центральных отделов ВНС, вызванной кишечными гельминтами.

Вероятно, первичная инвазия острицами приводит к активации как сегментарных, так и надсегментарных аппаратов вегетативной нервной системы. Это проявляется парасимпатикотоническими реакциями и избыточным вегетативным обеспечением деятельности, что, по-видимому, является реакцией раздражения на внедрение в организм человека вредного агента и, вероятно, носит защитный характер. Однако последующие повторные инвазии острицами приводят к истощению защитной роли парасимпатической нервной системы и повышению тонуса симпатической нервной системы. Это проявляется нарастанием частоты встречаемости симпатикотонии в группе с повторной энтеробиозной инвазией и извращенной вегетативной реактивности. Преобладание недостаточности вегетативного обеспечения деятельности в этой группе пациентов отражает истощение адаптивной роли вегетативных аппаратов ЦНС. Это приводит к плохой переносимости эмоциональных, интеллектуальных, физических нагрузок, метеотропных факторов, продуцирующих развитие ряда неврологических и психофизиологических нарушений в виде астенической и вегетативной симптоматики.

Выводы

1. У больных с первичной инвазией острицами отмечено преобладание парасимпатической регуляции в модуляции ритма сердца по показателям ВСР.

2. При повторной энтеробиозной инвазии отмечены явления избыточной централизации управлением СР за счет нарушения взаимодействия надсегментар-

ного и сегментарного отделов ВНС по показателям ВСР.

3. Установлена зависимость между длительностью энтеробиозной инвазии и динамикой показателей ВСР после проведения курса специфической терапии. У больных с первичной инвазией острицами отмечена нормализация электрофизиологических показателей, а у больных с повторной энтеробиозной инвазией сохраняются высокие показатели абсолютных и относительных значений VLF-компоненты ВСР.

Перспективы дальнейших исследований связаны с изучением у больных с повторной энтеробиозной инвазией эффективности комплексного лечения, заключающегося в назначении наряду с антигельминтной терапией препаратов вегетотропного ряда. Своевременно проведенная в амбулаторных условиях успешная дифференцированная коррекция заболевания позволит снизить вероятность развернутых клинических форм патологии.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Сведения об авторе:

Степанченко К. А., доцент каф. неврологии и детской неврологии, Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина.

Відомості про автора:

Степанченко К. А., доцент каф. неврології та дитячої неврології, Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна.

Information about author:

Stepanchenko K. A., Associate Professor of the Department of Neurology and Child Neurology, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 16.08.18

Після доопрацювання / Revised: 24.10.18

Прийнято до друку / Accepted: 05.11.18

Список литературы

- Prevalence of *Enterobius vermicularis* among preschool children in 2003 and 2013 in Xinxiang city, Henan province, Central China / S. Wang, Z. Yao, Y. Hou, et al. // *Parasite*. – 2016. – Vol. 23. – P. 30.
- Human Parasitic Diseases in Bulgaria in Between 2013–2014 / I. Rainova, R. Harizanov, I. Kaftandjie, et al. // *Balkan Med J.* – 2018. – Vol. 35. – Issue 1. – P. 61–67.
- Sklyarova V.O. Epidemiological features of parasitary invasis in women of reproductive age with disorders of reproductive health / V.O. Sklyarova // *Wiad Lek.* – 2018. – Vol. 71. – Issue 3. – P. 674–677.
- A preliminary epidemiological study of pinworm infection in Thaklong Municipal Early Childhood Development Center and Rangsit Babies' Home, Pathum Thani, Thailand / A. Taylor, P. Saichua, P. Rhongbuttri, et al. // *BMC Res Notes*. – 2018. – Vol. 11. – Issue 1. – P. 603.
- Intestinal Parasite Infections among Inhabitants in Yanbian Prefecture, Jilin Province, China / M.R. Lee, H.E. Shin, B.S. Chung, et al. // *Korean J Parasitol.* – 2017. – Vol. 55. – Issue 5. – P. 579–582.
- Acute abdomen: An uncommon presentation of a common intestinal nematode / G. Rizvi, V. Rawat, H. Pandey, M. Kumar // *Tropical Parasitology*. – 2015. – Vol. 5. – Issue 2. – P. 123–126.
- Altun E. Parasitic infestation in appendicitis. A retrospective analysis of 660 patients and brief literature review / E. Altun, V. Avci, M. Azatçam // *Saudi Medical Journal*. – 2017. – Vol. 38. – Issue 3. – P. 314–318.
- Choudhury S. *Enterobius vermicularis* infestation of urinary tract leading to recurrent urinary tract infection / S. Choudhury, B. Kumar, D.K. Pal // *Tropical Parasitology*. – 2017. – Vol. 7. – Issue 2. – P. 119–121.
- Enterobius vermicularis* and allergic conditions in Norwegian children / H. Bøås, G. Tapia, T. Rasmussen, K.S. Rønningen // *Epidemiol Infect.* – 2014. – Vol. 142. – Issue 10. – P. 2114–2120.

- [10] Gynecological and obstetrical aspects of *Enterobius vermicularis* infection / B. Dezsényi, L. Sárközi, L. Kaiser, et al. // *Acta Microbiol Immunol Hung.* – 2018. – Vol. 19. – P. 1–7.
- [11] Immune responses in children infected with the pinworm *Enterobius vermicularis* in central Greece / G.G. Patsantara, E.T. Piperaki, C. Tzoumaka-Bakoula, et al. // *J Helminthol.* – 2016. – Vol. 90. – Issue 3. – P. 337–341.
- [12] The Association Between Endurance Training and Heart Rate Variability: The Confounding Role of Heart Rate / D. Herzig, B. Asatryan, N. Brugger, et al. // *Front Physiol.* – 2018. – Vol. 19. – P. 756.
- [13] Shaffer F. An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms / F. Shaffer, J.P. Ginsberg // *Frontiers in Public Health.* – 2017. – Vol. 5. – P. 250–258.
- [14] Carod-Artal F.J. Infectious diseases causing autonomic dysfunction / F.J. Carod-Artal // *Clin Auton Res.* – 2018. – Vol. 28. – Issue 1. – P. 67–81.
- [15] On heart rate variability and autonomic activity in homeostasis and in systemic inflammation / J.D. Scheff, B. Griffel, S.A. Corbett, et al. // *Math Biosci.* – 2014. – Vol. 252. – P. 36–44.
- [16] Астафьев Б.А. Клиника, диагностика, лечение и патогенез энтеробиоза и гименолепидоза : методические рекомендации / Б.А. Астафьев. – М., 1981. – 24 с.
- [17] Возианова Ж.И. Инфекційні і паразитарні хвороби : в 3 т. / Ж.И. Возианова. – К : Здоров'я, 2000. – Т. 1. – С. 754–758.
- [18] Савченко Л.П. Некоторые данные о состоянии нервной системы при энтеробиозе у детей / Л.П. Савченко // *Медицинская паразитология и паразитарные болезни.* – 1962. – №5. – С. 557–559.
- [19] Корнянский Г.П. Паразитарные заболевания центральной нервной системы / Г.П. Корнянский, Н.Я. Васин, П.В. Эпштейн. – М. : Медицина, 1968. – 219 с.
- [20] Devera R. *Enterobius vermicularis* and enuresis / R. Devera // *Enferm. Infect. Microbiol. Clin.* – 2001. – Vol. 19. – Issue 8. – P. 411–412.
- [21] Тальзин Ф.Ф. К патогенезу поражения нервной системы при аскаридозе / Ф.Ф. Тальзин, М.В. Далин // *Медицинская паразитология и паразитарные болезни.* – 1962. – №5. – С. 551–556.
- [22] Гинецинская Т.А. Частная паразитология – паразитические черви, Моллюски и Членистоногие : учеб. пособ. для биолог. спец. вузов / Т.А. Гинецинская, А.А. Добровольский. – М. : Высш. школа, 1978. – С. 79–127.
- [12] Herzig, D., Asatryan, B., Brugger, N., Eser, P., & Wilhelm, M. (2018). Endurance Training and Heart Rate Variability: The Confounding Role of Heart Rate. *Front Physiol.*, 19, 756. doi: 10.3389/fphys.2018.00756.
- [13] Shaffer, F., & Ginsberg, J. P. (2017). An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms. *Frontiers in Public Health*, 5, 258. doi: [10.3389/fpubh.2017.00258].
- [14] Carod-Artal, F. J. (2018). Infectious diseases causing autonomic dysfunction. *Clin Auton Res.*, 28(1), 67–81. doi: 10.1007/s10286-017-0452-4.
- [15] Scheff, J. D., Griffel, B., Corbett, S. A., Calvano, S. E., & Androulakis, I. P. (2014). On heart rate variability and autonomic activity in homeostasis and in systemic inflammation. *Math Biosci.*, 252, 36–44. doi: 10.1016/j.mbs.2014.03.010.
- [16] Астафьев, Б. А. (1981) *Клиника, диагностика, лечение и патогенез энтеробиоза и гименолепидоза [Clinic, diagnosis, treatment and pathogenesis of enterobiosis and hymenolepiasis]*. Moscow. [in Russian].
- [17] Возианова, Ж. И. (2000) *Инфекційні і паразитарні хвороби. [Infectious and parasitic diseases]*. Kyiv: Zdorovia. [in Ukrainian].
- [18] Савченко, Л. П. (1962) *Некоторые данные о состоянии нервной системы при энтеробиозе у детей [Some data on the state of the nervous system in children with enterobiasis]*. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*, 5, 557–559. [in Russian].
- [19] Кормьянский, Г. П., Васин, Н. Я., & Епштейн, П. В. (1968) *Паразитарные заболевания центральной нервной системы [Parasitic diseases of the central nervous system]*. Moscow: Medicina. [in Russian].
- [20] Devera, R. (2001) *Enterobius vermicularis* and enuresis. *Enferm. Infect. Microbiol. Clin.*, 19(8), 411–412.
- [21] Тальзин, Ф. Ф., & Далин, М. В. (1962) *К патогенезу поражения нервной системы при аскаридозе [To the pathogenesis of damage to the nervous system in ascariasis]*. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*, 5, 551–556. [in Russian].
- [22] Гинецинская, Т. А., & Добровольский, А. А. (1978) *Частная паразитология – паразитические черви, Моллюски и Членистоногие [Private parasitology – parasitic worms, Mollusks and Arthropods]*. Moscow: Vysshaya shkola. [in Russian].

References

- [1] Wang, S., Yao, Z., Hou, Y., Wang, D., Zhang, H., Ma, J., et al. (2016). Prevalence of *Enterobius vermicularis* among preschool children in 2003 and 2013 in Xinxiang city, Henan province, Central China. *Parasite*, 23, 30. doi: 10.1051/parasite/2016030.
- [2] Rainova, I., Harizanov, R., Kaftandjiev, I., Tsvetkova, N., Mikov, O., & Kaneva, E. (2018). Human Parasitic Diseases in Bulgaria in Between 2013–2014. *Balkan Med J.*, 35(1), 61–67. doi: 10.4274/balkanmedj.2017.0167.
- [3] Sklyarova, V. O. (2018). Epidemiological features of parasitary invasis in women of reproductive age with disorders of reproductive health. *Wid Lek.*, 71(3), 674–677.
- [4] Taylor, A., Saichua, P., Rhongbutsri, P., Tiengtip, R., Kitvatanachai, S., & Taylor, W. R. J. (2018). A preliminary epidemiological study of pinworm infection in Thaklong Municipal Early Childhood Development Center and Rangsit Babies' Home, Pathum Thani, Thailand. *BMC Res Notes.*, 11(1), 603. doi: 10.1186/s13104-018-3708.
- [5] Lee, M. R., Shin, H. E., Chung, B. S., Lee, S. E., Ju, J. W., Xu, L., et al. (2017). Intestinal Parasite Infections among Inhabitants in Yanbian Prefecture, Jilin Province, China. *Korean J Parasitol.*, 55(5), 579–582. doi: 10.3347/kjp.2017.55.5.579.
- [6] Rizvi, G., Rawat, V., Pandey, H. S., & Kumar, M. (2015). Acute abdomen: An uncommon presentation of a common intestinal nematode. *Tropical Parasitology*, 5(2), 123–126. doi: 10.4103/2229-5070.162526.
- [7] Altun, E., Avci, V., & Azatçam, M. (2017). Parasitic infestation in appendicitis. A retrospective analysis of 660 patients and brief literature review. *Saudi Medical Journal*, 38(3), 314–318. doi: 10.15537/smj.2017.3.18061.
- [8] Choudhury, S., Kumar, B., & Pal, D. K. (2017). *Enterobius vermicularis* infestation of urinary tract leading to recurrent urinary tract infection. *Tropical Parasitology*, 7(2), 119–121. doi: 10.4103/tp.22_17.
- [9] Bøås, H., Tapia, G., Rasmussen, T., & Rønningen, K. S. (2014). *Enterobius vermicularis* and allergic conditions in Norwegian children. *Epidemiol Infect.*, 142(10), 2114–2120. doi: 10.1017/S0950268813003154.
- [10] Dezsényi, B., Sárközi, L., Kaiser, L., Tárkányi, K., Nikolova, R., Belics, Z. (2018). Gynecological and obstetrical aspects of *Enterobius vermicularis* infection. *Acta Microbiol Immunol Hung.*, 19, 1–7. doi: 10.1556/030.65.2018.020.
- [11] Patsantara, G. G., Piperaki, E. T., Tzoumaka-Bakoula, C., & Kanariou, M. G. (2016). Immune responses in children infected with the pinworm *Enterobius vermicularis* in central Greece. *J Helminthol*, 90(3), 337–341. doi: 10.1017/S0022149X15000334.

The role of interleukin-10 gene polymorphism (rs 1800872) in the course of herpes zoster in adults

N. V. Onishchenko, Yu. Yu. Riabokon, O. V. Riabokon

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Aim. The aim of the work was to determine the role of polymorphism of the interleukin-10 gene (rs 1800872) in the course of herpes zoster in adults.

Materials and methods. 50 adult patients with herpes zoster were included into the study. The clinical course of the disease and development of the certain nature of complications were analyzed depending on the genetic polymorphism of the interleukin-10 gene. Statistical data processing was performed with using the formed patient database in the program STATISTICA for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J).

Results. It was established that genotype TT of the IL-10 gene (rs 1800872) was recorded in 30 (60.0 %) patients with herpes zoster versus 14 (35.0 %) healthy people from the control group ($P = 0.02$), which confirmed the significance of the gene polymorphism IL-10 in reactivation of the varicella zoster virus and the manifestation of shingles. Analysis of the polymorphism of the IL-10 gene depending on the clinical form and the severity of shingle showed that genotype TT was significantly more frequently recorded in patients with severe course disease (86.7 % vs. 48.6 %, $P = 0.01$), however, did not influenced on the formation of certain clinical forms of the disease ($P > 0.05$). In patients with herpes zoster polymorphism of the IL-10 gene (rs 1800872) influenced the severity of the course of the disease, namely, the TT genotype was associated with a severe course of the disease ($P = 0.01$) and the development of neurological complications ($P = 0.03$), which were represented by meningitis (6), Ramsey-Hunt syndrome (3) and the subsequent formation of postherpetic neuralgia (3), as well as of ophthalmic nature ($P = 0.0001$), which were represented by herpetic blepharconjunctivitis (16), keratouveitis (3), iridocyclitis (1), subconjunctival hemorrhages (1). Unlike the TT genotype, genotype TG of the IL-10 gene (rs 1800872) was associated with the development of complications with the addition of secondary bacterial microflora ($\chi^2 = 4.5$, $P = 0.03$), the incidence of which did not depend on the severity of herpes zoster ($P > 0.05$).

Conclusions. In patients with herpes zoster, the TT-genotype of the IL-10 gene (rs 1800872) was associated with reactivation of the varicella zoster virus and development of a severe disease course, with formation of neurological ($\chi^2 = 4.75$, $P = 0.03$) and ophthalmic ($\chi^2 = 14.75$, $P = 0.0001$) complications. The TG genotype of the IL-10 gene (rs 1800872) is associated with the development of complications associated with the addition of secondary bacterial microflora ($\chi^2 = 4.5$, $P = 0.03$).

Key words:

herpes zoster, interleukin-10, gene polymorphism.

Pathologia

2018; 15 (3), 325–329

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.3.151810

E-mail:

helicobacter1403@gmail.com

Роль поліморфізму гена інтерлейкіну-10 (rs 1800872) в перебігу оперізувального герпесу в дорослих

Н. В. Оніщенко, Ю. Ю. Рябоконт, О. В. Рябоконт

Мета роботи – визначити роль поліморфізму гена інтерлейкіну-10 (rs 1800872) в перебігу оперізувального герпесу в дорослих.

Матеріали та методи. У дослідження залучили 50 дорослих хворих на оперізувальний герпес. Проаналізували клінічний перебіг захворювання та розвиток певного характеру ускладнень залежно від наявності поліморфізму гена інтерлейкіну-10. Статистичне опрацювання даних здійснили з використанням сформованої бази даних пацієнтів у програмі Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J).

Результати. Встановили, що генотип TT гена ІЛ-10 (rs 1800872) зареєстрували у 30 (60,0 %) хворих на оперізувальний герпес проти 14 (35,0 %) здорових осіб контрольної групи ($p = 0,02$), що підтверджувало значення поліморфізму гена ІЛ-10 у реактивації Varicella Zoster Virus і маніфестації оперізувального герпесу. Аналіз поліморфізму гена ІЛ-10 (rs 1800872) залежно від клінічної форми та ступеня тяжкості оперізувального герпесу показав, що TT генотип вірогідно частіше реєстрували у хворих із тяжким перебігом захворювання (86,7 % проти 48,6 %, $p = 0,01$), проте не впливав на формування певних клінічних форм захворювання ($p > 0,05$). У хворих на оперізувальний герпес поліморфізм гена ІЛ-10 (rs 1800872) впливав на тяжкість перебігу захворювання: генотип TT асоціювався з тяжким перебігом захворювання ($p = 0,01$) і розвитком ускладнень неврологічного характеру ($p = 0,03$), що були представлені менінгітом (6), синдромом Рамсея-Ханта (3) та наступним формуванням постгерпетичної невралгії (3), а також офтальмологічного характеру ($p = 0,0001$), які були представлені герпетичним блефарокон'юнктивітом (16), кератовеїтом (3), іридоциклітом (1), субкон'юнктивальним крововиливом (1). На відміну від генотипу TT, генотип TG гена ІЛ-10 (rs 1800872) мав асоціацію з розвитком ускладнень, що пов'язані з приєднанням вторинної бактеріальної мікрофлори ($\chi^2 = 4,5$, $p = 0,03$), частота розвитку яких не залежала від тяжкості перебігу оперізувального герпесу ($p > 0,05$).

Висновки. У хворих на оперізувальний герпес генотип TT гена ІЛ-10 (rs 1800872) асоціюється з реактивацією Varicella Zoster Virus і розвитком тяжкого перебігу захворювання з формуванням ускладнень неврологічного ($\chi^2 = 4,75$, $p = 0,03$) та офтальмологічного ($\chi^2 = 14,75$, $p = 0,0001$) характеру. Генотип TG гена ІЛ-10 (rs 1800872) асоціюється з розвитком ускладнень, котрі пов'язані з приєднанням вторинної бактеріальної мікрофлори ($\chi^2 = 4,5$, $p = 0,03$).

Ключові слова:

оперізувальний герпес, інтерлейкін-10, поліморфізм гена.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 3(44). – С. 325–329

Ключевые слова:
опоясывающий герпес,
интерлейкин-10,
полиморфизм гена.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 325–329

Роль полиморфизма гена интерлейкина-10 (rs 1800872) в течении опоясывающего герпеса у взрослых

Н. В. Онищенко, Ю. Ю. Рябоконт, Е. В. Рябоконт

Цель работы – определить роль полиморфизма гена интерлейкина-10 (rs 1800872) в течении опоясывающего герпеса у взрослых.

Материалы и методы. В исследование включены 50 взрослых больных опоясывающим герпесом. Проведен анализ клинического течения заболевания и развития определенного характера осложнений в зависимости от наличия полиморфизма гена интерлейкина-10. Статистическую обработку данных осуществляли с использованием базы данных пациентов в программе «STATISTICA for Windows 13» (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J).

Результаты. Установлено, что генотип ТТ гена ИЛ-10 (rs 1800872) зарегистрирован у 30 (60,0 %) больных опоясывающим герпесом против 14 (35,0 %) здоровых лиц контрольной группы ($p = 0,02$), что подтверждало значение полиморфизма гена ИЛ-10 в реактивации вируса варицелла зостер и манифестации опоясывающего герпеса. Анализ полиморфизма гена ИЛ-10 (rs 1800872) в зависимости от клинической формы и степени тяжести опоясывающего герпеса показал, что генотип ТТ достоверно чаще регистрировали у больных с тяжелым течением заболевания (86,7 % против 48,6 %, $p = 0,01$), однако не влиял на формирование определенных клинических форм заболевания ($p > 0,05$). У больных опоясывающим герпесом полиморфизм гена ИЛ-10 (rs 1800872) влиял на тяжесть течения заболевания, а именно генотип ТТ ассоциировался с тяжелым течением заболевания ($p = 0,01$) и развитием осложнений неврологического характера ($p = 0,03$), которые были представлены менингитом (6), синдромом Рамсея–Ханта (3) и последующим формированием постгерпетической невралгии (3), а также офтальмологического характера ($p = 0,0001$), которые были представлены герпетическим блефароконъюнктивитом (16), кератоувеитом (3), иридоциклитом (1), субконъюнктивальным кровоизлиянием (1). В отличие от генотипа ТТ, генотип ТГ гена ИЛ-10 (rs 1800872) имел ассоциацию с развитием осложнений, связанных с присоединением вторичной бактериальной микрофлоры ($\chi^2 = 4,5$, $p = 0,03$), частота развития которых не зависела от тяжести течения опоясывающего герпеса ($p > 0,05$).

Выводы. У больных опоясывающим герпесом генотип ТТ гена ИЛ-10 (rs 1800872) ассоциируется с реактивацией вируса варицелла зостер и развитием тяжелого течения заболевания, с формированием осложнений неврологического ($\chi^2 = 4,75$, $p = 0,03$) и офтальмологического ($\chi^2 = 14,75$, $p = 0,0001$) характера. Генотип ТГ гена ИЛ-10 (rs 1800872) ассоциируется с развитием осложнений, связанных с присоединением вторичной бактериальной микрофлоры ($\chi^2 = 4,5$, $p = 0,03$).

Herpes zoster is an infection caused by reactivation of latent varicella zoster virus, which applies to herpes virus of the 3rd type. It is believed that every third person during his life is ill with herpes zoster. Each year in Europe and the United States there are more than 1 million new cases of shingles, which are 4–5 cases per 1000 population [1]. In Ukraine, official statistics indicate that the incidence of this disease is 12–15 cases per 100 000 population. Mortality from herpes zoster worldwide ranges from 0.017 to 0.465 cases per 100 000 population annually [2].

It is known that incidence and severity of herpes zoster are directly dependent on age of the patients, which is explained by a decrease in the activity of cellular immunity in the elderly [3]. According to the meta-analysis, female sex, the presence of concomitant pathology are risk factor for the development of herpes zoster [4]. The results of retrospective studies showed us that risk factors also include an aggravating family history, namely the presence of cases of shingles in relatives [5]. However, in recent years, the topicality of this disease is due to a rapid increase of the incidence rate among young and middle-aged people [6].

Today, special attention is paid to study of immunopathogenesis of herpes zoster. According to some authors [7] reported, the nature of the course of herpes zoster primarily depends on the immunological reactivity of early T-cell immunity, and much less depends on antibody production. The severe course of the disease is associated with a reduced T-cell response to the virus and high viral load in the human body [8]. However, current research suggests the dependence of the immune response on the polymorphism of genes, encoding cytokines, which are mediators of intercellular interactions [9]. The study of genes encoding the activity of

cytokines is important in predicting the onset of the disease, severity of its course, and also for individualization of therapy [10]. In our opinion, it is expedient to determine the role of polymorphism of the IL-10 gene, which is the main inhibitor of inflammation and cytokine cascade, in patients with herpes zoster [9, 11]. IL-10 is synthesized on the surface of many cells and suppresses effectors function of macrophages, T-cells, natural killers, neutrophils; co-stimulates the thymocytes proliferation and ripening, chemotaxis [9]; enhances synthesis of mast cells, B-cells proliferation and secretion of immunoglobulins; weakens the effect of angiotensin II and restores vascular endothelium [11]. At present the role of polymorphism of cytokine genes in the course of herpes virus infections is intensively studied, in particular an attempt is made to figure out the role of the IL-10 gene polymorphism in resistance to the most common herpesviruses [12, 13]. The foregoing determined the direction of our study.

Aim

To determine the role of polymorphism of the interleukin-10 gene (rs 1800872) in the course of herpes zoster in adults.

Materials and methods

This study included 50 adult patients who were examined and treated at the Department “Neuroinfection” of the communal institution “Zaporizhzhia Regional Clinical Infectious Disease Hospital” of Zaporizhzhia Regional Council. The age of the patients ranged from 27 to 85 years and made up 66.5 [55.0; 77.0] years. Among the hospitalized patients,

there were 19 (38.0 %) men and 31 (62.0 %) women. For the analysis of the obtained data, the patients were divided into groups depending on the severity of herpes zoster. The severity of shingles was determined based on the severity symptoms of intoxication, the duration and abundance of rash, the presence or absence of complications [14]. The moderate course of the disease was registered in 35 (70 %) patients, severe – in 15 (30 %) patients. All the patients had a negative blood test for antibodies to the human immunodeficiency virus. All the patients were included into the study randomly basis and by informed consent. The control group consisted of 40 healthy individuals who hadn't been sick of herpes zoster before. The age of persons of the control group ranged from 35 to 87 years, made up 64.5 [52.5; 73.5] years and weren't statistically different from the age of the examined patients ($P > 0.05$).

On the basis of the clinical laboratory of the Zapozhzhia Regional Clinical Infectious Disease Hospital for all the patients traditional laboratory (general blood and urine analysis, liver tests, coagulogram, proteinogram) and instrumental (electrocardiography, chest X-ray examination) tests were performed. In the presence of clinical evidence, lumbar puncture was performed with a study of liquor for the diagnosis of meningitis.

Special investigations were carried out on the basis of the Department of Molecular Genetic Studies of the Training and Laboratory Center of the ZSMU (headed by prof. O. M. Kamyshny). Determination of the IL-10 gene (rs1800872) polymorphism was performed using samples of total DNA isolated from the whole venous blood by the standard method using a set of DNA-EXPRESS-BLOOD-PLUS reagents (LitTech, Russian Federation). The molecular genetic study was performed by polymerase chain reaction in real-time according to the manufacturer's instructions (Applied Biosystems, USA). The genotype was determined using the CFX-96 Touch Real-Time polymerase chain reaction product detection system (BIO-RAD Laboratories, Inc., USA) using sets of NP-512-100 (RU).

Statistical data processing was performed in Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., №JPZ8041382130ARCN10-J) by the formed patient database. To assess the significance of the differences between the quantitative features in the independent groups, the Mann-Whitney criterion was used, and the quality method χ^2 was used between qualitative features. Relatively significant differences were considered at $P < 0.05$. The odds ratio (OR) was calculated using the formula: $OR = ad / bc$, where "a" is the frequency of a particular allele in the group of patients with herpes zoster, "b" is the frequency of a particular allele in the comparison group, "c" and "d" are the total frequency of other alleles in the study and comparison groups, respectively. The boundaries of 95 % confidence interval (CI) for OR were calculated using the Woolf method [15].

Results

According to the results of our study, it was found that genotype TT gene IL-10 (rs 1800872) was registered in 30 (60.0 %) patients with herpes zoster, against 14 (35.0 %) healthy people in the control group ($\chi^2 = 5.56$, $P = 0.02$), which confirmed the significance of IL-10 gene polymorphism in the reactivation of the varicella zoster virus and manifestation of shingles (Table 1).

The analysis of the dependence of clinical course and severity of herpes zoster from the polymorphism of the IL-10 gene (rs 1800872) showed that genotype TT was significantly more commonly registered in patients with severe course shingles, whereas in patients with moderate course genotype TG ($\chi^2 = 6.35$, $P = 0.01$) was detected 3.85 times more often (Table 1). The additive inheritance model made it possible to confirm association of the presence genotype TT of gene IL-10 (rs 1800872) with high chances of developing severe course of herpes zoster (0.867 vs. 0.133, $\chi^2 = 6.35$, $OR = 6.88$ 95 % $CI = 1.35-35.11$)

To determine genetic factors that have a statistically significant effect on the development of certain clinical forms of herpes zoster and complications various genesis, we have used the additive inheritance model using the criterion χ^2 . Analysis of the role of IL-10 gene (rs 1800872) polymorphism in the formation of various clinical forms of shingles in adults did not reveal statistically significant differences ($P > 0.05$). Localized forms or disseminated and generalized forms were registered at the same frequency in patients with different genotypes. In addition, when analyzing various localization of lesions in localized forms of herpes zoster, no differences were found in the presence of certain genotypes of the IL-10 gene (rs 1800872). However, it has been established that polymorphism of the IL-10 gene (rs 1800872) had influence on the severity of herpes zoster in adults, namely, genotype TT was associated with a severe course of the disease (0.867 vs. 0.468, $\chi^2 = 6.35$, $P = 0.01$, $OR = 6.88$ 95 % $CI = 1.35-35.11$) and development of neurological complications (0.857 vs. 0.4, $\chi^2 = 4.75$, $P = 0.03$, $OR = 9.0$ 95 % $CI = 0.96-84.5$), which were represented by meningitis (6), Ramsey-Hunt's syndrome (3) and subsequent formation of postherpetic neuralgia (3), and also ophthalmic (0.762 vs. 0.125, $\chi^2 = 14.75$, $P = 0.0001$, $OR = 22.4$ 95 % $CI = 3.74-134.15$) complications, which were represented by herpetic blepharconjunctivitis (16), keratouveitis (3), iridocyclitis (1), subconjunctival hemorrhage (1) (Table 2).

Unlike the genotype TT, genotype TG of the IL-10 gene (rs 1800872) was associated with development of complications such as addition of secondary bacterial microflora (0.800 vs. 0.407, $\chi^2 = 4.5$, $P = 0.03$, $OR = 5.82$ 95 % $CI = 1.03-32.79$) (Table 2). It should be noted that the incidence of complications associated with the addition of secondary bacterial microflora didn't depend on the se-

Table 1. Comparison of the frequency of registration of polymorphism of the gene IL-10 (rs 1800872) in patients with herpes zoster, depending on the severity of the disease, abs (%)

Indicator	Control group (n = 40)	Patients with herpes zoster (n = 50)	Patients with herpes zoster	
			moderate course (n = 35)	severe course (n = 15)
Genotype TT	14 (35.0 %)	30 (60.0 %) *	17 (48.6 %)	13 (86.7 %) ***
Genotype TG	26 (65.0 %)	20 (40.0 %)	18 (51.4 %)	2 (13.3 %) ***

*: the difference is significant, compared with healthy people ($P < 0.05$); **: compared with patients with moderate course ($P < 0.05$).

Table 2. Correlation matrix of dependence of development complications of shingles with polymorphism of gene IL-10 (rs 1800872)

Indicator	Genotype TT	Genotype TG	Coefficient χ^2 , P
Neurological (n = 7)	6 (85.7 %)	1 (14.3 %)	4.75, P = 0.03
Postherpetic neuralgia (n = 3)	3 (100 %)	0	3.45, P = 0.06
Ophthalmic (n = 21)	16 (76.2 %)	5 (23.8 %)	14.75, P = 0.0001
Visceral (hepatitis) (n = 10)	6 (60.0 %)	4 (40.0 %)	0.71, P = 0.4
Severe course (n = 15)	13 (86.7 %)	2 (13.3 %)	6.35, P = 0.01
Relapsing course (n = 4)	2 (50.0 %)	2 (50.0 %)	0.18, p = 0.67
Clinical forms, in particular:			
localized (n = 42)	25 (50.0 %)	17 (34.0 %)	0.02, P = 0.87
generalized and disseminated (n = 8)	5 (10.0 %)	3 (6.0 %)	
Localization of lesion in localized forms (n = 42):			
trigeminal nerve (n = 33)	20 (47.6 %)	13 (30.9 %)	0.07, P = 0.78
paravertebral ganglia (n = 9)	5 (11.9 %)	4 (9.6 %)	
Secondary bacterial infection (n = 10)	2 (20.0 %)	8 (80.0 %)	4.5, P = 0.03

verity of herpes zoster ($P > 0.05$). These complications developed in 8 (22.8 %) patients with moderate and in 2 (13.3 %) patients with severe course of shingles.

Discussion

It is known that dominant role in controlling dissemination and generalization of varicella zoster virus belongs to the cellular immunity of Th1-type [8,16,17]. Recently, special attention has been paid to study the role of IL-10 in the course of this infection. IL-10 is the main cytokine, which limits inflammatory processes, protects endothelium of vessels by reducing the effect of angiotensin II and restoring the activity of nitric oxide synthase which is inhibited by inducers of endothelial dysfunction [9,18], also it has an analgesic function [19]. It is determined that increase level of IL-10 is important for induction of immunity, which finally influences the frequency of relapses and severity course of the disease caused by varicella zoster virus [15,20,21]. With appearance of molecular genetic research which allows us to determine the polymorphism of the genes of interleukins, there was an opportunity to deepen the knowledge about the immunopathogenesis of herpes zoster. According to the results of our research, it has been proved that the genotype TT of the gene IL-10 (rs 1800872) influences the reactivation of the varicella zoster virus and manifestation of herpes zoster, which confirms its detection more often ($P = 0.02$) in patients with herpes zoster (60.0 %), compared with healthy people (35.0 %). The results of our study overlap with the results of other researchers [22], which have proven the special role of the haplotype ATA IL-10, presence of which leads to insufficient production of IL-10 and causes reactivation of the virus. At the same time, the other study [23] demonstrated that the increased risk of manifestation of shingles is associated with the carrier of the haplotype GCC, allele 1082, IL-10. The connection of the genetic polymorphism of the main complex of histocompatibility HLA (Complex 5) with the risk of development of herpes zoster is also discussed [24].

For today herpes zoster is a fairly widespread disease among immunocompetent people. Shingles can manifest with various clinical forms and possibility to development severe complications, primarily nervous system and organ of vision [25,26]. Recently, in addition to meningitis and meningoencephalitis, Ramsey–Hunt syndrome, namely a cervical node ganglionitis, has often begun to be diagnosed, development of which can lead to paralysis of facial muscles

and reduced hearing abruption [27]. The development of ophthalmic herpes, in which a complete loss of vision is possible due to lesion of the optic nerve and its atrophy, deserves particular attention [28]. No less widespread complication of shingles is postherpetic neuralgia, which can persist for several months after regression of rash, and often leads to a reduction in ability, and in some cases, to a person's disability [29]. In our study the association of the genotype TT gene IL-10 with a high risk development of severe course of herpes zoster, with the complications of neurological and ophthalmic character has been proved. In the modern literature, available to us, we did not find researches on studying the role of the polymorphism of IL-10 gene in the formation of certain complications of herpes zoster. At the same time, there are studies that demonstrate the role of quantitative content of this cytokine in the severity course of the disease. In patients with a moderate course of herpes zoster, the authors [7,21] found an increase in blood levels of IL-10, which was treated as an adequate immunological response to the virus, with ability to reconvalescence without development of different complications. However, in severe course of shingles there was an insufficient immunological reactivity of the organism, which was characterized by a constant level of IL-10 [8,17]. All of this scientific researches has a definite pathogenetic explanation, namely it is known that in damage of brain cells, neurogliaocytes produce IL-10, which increases the vitality of brain cells [16,25].

In modern literature there are solitary scientific researches which concern to determining the role of cytokines in the formation of bacterial complications in infected of varicella zoster virus. Thus, the study [8] has shown that interleukin-6 and interferon- γ can be used as early markers for the identification of patients with a high risk of developing bacterial skin complications. The data obtained in our study showed association of the TG gene IL-10 (rs 1800872) carrier with a high risk development of complications related the addition of secondary bacterial microflora (OR = 5.82 95 % CI = 1.03–32.79).

Conclusions

1. The genotype TT of the gene IL-10 (rs 1800872) is associated with reactivation of the varicella zoster virus and manifestation of herpes zoster.
2. The genotype TT of the gene IL-10 (rs 1800872) is associated with severe ($\chi^2 = 6.35$, $P = 0.01$) course of

shingles, development of neurological ($\chi^2 = 4.75, P = 0.03$) and ophthalmologic ($\chi^2 = 14.75, P = 0.0001$) complications.

3. In patients with herpes zoster, genotype TG of the gene IL-10 (rs 1800872) is associated with the development of complications related to the addition of secondary bacterial microflora ($\chi^2 = 4.5, P = 0.03$).

Prospects for further research. In our opinion, the promising direction of this study is the definition of the role of IL-10 gene polymorphism in relation to the quantitative level of this cytokine in the course of herpes zoster in adults (tendency to relapses, formation of a certain range of complications, etc.).

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

Information about authors:

Onishchenko N. V., MD, PhD-Postgraduate Student of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Riabokon Yu. Yu., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Children Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Riabokon O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Онiщенко Н. В., PhD аспірант каф. інфекційних хвороб, Запорiзький державний медичний унiверситет, Україна.
Рябокoнь Ю. Ю., д-р мед. наук, доцент каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорiзький державний медичний унiверситет, Україна.
Рябокoнь О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. інфекційних хвороб, Запорiзький державний медичний унiверситет, Україна.

Сведения об авторах:

Онiщенко Н. В., PhD аспірант каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Рябокoнь Ю. Ю., д-р мед. наук, доцент каф. детских инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Рябокoнь Е. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Надійшла до редакції / Received: 24.09.2018

Після доопрацювання / Revised: 02.11.2018

Прийнято до друку / Accepted: 06.11.2018

References

- [1] Koshiy, E., Mengting, L., Kumar, H., & Jianbo, W. (2018). Epidemiology, treatment and prevention of herpes zoster: A comprehensive review. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 84(3), 251–262. doi: 10.4103/ijdlv.IJDVL_1021_16.
- [2] Kawai, K., Gebremeskel, B. G., & Acosta, C. (2014). Systematic review of incidence and complications of herpes zoster: towards a global perspective. *BMJ Open*, 2014, 4(6), e004833. doi: 10.1136/bmjopen-2014.
- [3] Johnson, R. W., Alvarez-Pasquin, M. -J., Bijl, M., Franco, E., Gaillat, J., Clara, J. G., et al. (2015). Herpes zoster epidemiology, management, and disease and economic burden in Europe: a multidisciplinary perspective. *Therapeutic Advances in Vaccines*, 3(4), 109–120. doi: 10.1177/2051103615599151.
- [4] Kawai, K., & Yawn, B. (2017). Risk Factors for Herpes Zoster: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Open Forum Infectious Diseases*, 4(1), 313–314. doi: 10.1093/ofid/ofx163.733.
- [5] Tseng, H. F., Chia, M., Hung, P., Harpaz, R., Schmid, D. S., LaRussa, P., et al. (2018). Family history of zoster and risk of developing herpes zoster. *International Journal of Infectious Diseases*, 66, 99–106. doi: 10.1016/j.ijid.2017.11.016.
- [6] Borbinha, C., Marto, J. P., Calado, S., & Viana-Baptista, M. (2016). A Young Woman with Ischemic Stroke: Should We Pay More Attention to Varicella Zoster Infection. *Case Rep Neurol*, 8(2), 145–150. doi: 10.1159/000447296.
- [7] Zheleznikova, G. F., Skripchenko, N. V., & Skripchenko, E. Y. (2013). Virus vetryanoj ospy-opoyasyvayushego gerpesa i immunnij otvet [Varicella-zoster virus and immune response]. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal*, 7(16), 1, 35–48. [in Russian].
- [8] Hao, M., Wang, X., Du, J., Liu, L., Jiao, Y., Wu, H., et al. (2015). Cytokine levels are associated with the severity of varicella infections. *Infect Dev Ctries*, 9(2), 190–196. doi: 10.3855/jidc.5255.
- [9] Rojas, J. M., Avia, M., Martin, V., & Sevilla, N. (2017). IL-10: A Multifunctional Cytokine in Viral Infections. *Journal of Immunology Research*, 2017, 6104054. doi: 10.1155/2017/6104054.
- [10] Puzyryova, L., & Safonov, A. D. (2016). Geneticheskij polimorfizm citokinov: proshloe i budushee [Cytokines genetic polymorphism: the past and the future]. *Infekciya i immunitet*, 6(2), 103–108. [in Russian].
- [11] Trifunovic, J., Miller, L., Debeljak, Z., & Horvat, V. (2015). Pathologic patterns of interleukin 10 expression—a review. *Biochem Med (Zagreb)*, 25(1), 36–48. doi: 10.11613/BM.2015.004.
- [12] Hurme, M., Haanpää, M., Nurmikko, T., Wang, X. Y., Virta, M., Pessi, T., et al. (2003). IL-10 gene polymorphism and herpesvirus infections. *J Med Virol*, 70(1), 48–50. doi: 10.1002/jmv.10320.
- [13] Moraru, M., Cisneros, E., Gomez-Lozano, N., de Pablo, R., Portero, F., Cañizares, M., et al. (2012). Host genetic factors in susceptibility to herpes simplex type 1 virus infection: contribution of polymorphic genes at the interface of innate and adaptive immunity. *J Immunol*, 188(9), 4412–4420. doi: 10.4049/jimmunol.1103434.
- [14] Werner, R. N., Nikkels, A. F., Marinovic, B., Schäfer, M., Czamecka-Oprac, M., Agius, A. M., et al. (2016). European consensus-based (S2k) Guideline on the Management of Herpes Zoster – guided by the European Dermatology Forum (EDF) in cooperation with the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV), Part 2: Treatment. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 31(1), 20–29. doi: 10.1111/jdv.13957.
- [15] Hoppe, F. M., Hoppe, D. J., & Walter, S. D. (2018). Explaining odds ratios as conditional risk ratios. *Journal of Clinical Epidemiology*, 97, 123–124. doi: 10.1016/j.jclinepi.2017.10.009.
- [16] Jones, D., Neff, C. P., Palmer, B. E., Stenmark, K., & Nagel, M. A. (2017). Varicella zoster virus–infected cerebrovascular cells produce a proinflammatory environment. *Neurology, Neuroimmunology & Neuroinflammation*, 4(5), e382. doi: 10.1212/NXI.0000000000000382.
- [17] Marin, M., Harpaz, R., Zhang, J., Wollan, P. C., Bialek, S. R., & Yawn, B. P. (2016). Risk Factors for Herpes Zoster Among Adults. *Open forum infectious diseases*, 3(3), ofw119. doi: 10.1093/ofid/ofw119.
- [18] Serebrennikova, S., Seminsky, I., Semenov, N., & Guzovskaya, E. (2012). Interleukin-1, interleukin-10 v reguljacii vospalitel'nogo processa [Interleukin-1, interleukin-10 in regulation of inflammatory process]. *Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkuck)*, 115(8), 5–7. [in Russian].
- [19] Karpova, M. I. (2011). Izuchenie urovnya citokinov u bol'nykh migren'yu i glavnoj bol'yu napryazheniya [The study of cytokine levels in patients with migraine and tension-type headache]. *Citokiny i vospalenie*, 10(1), 32–36. [in Russian].
- [20] Zheleznikova, G. F., Lobzin, Y. V., Skripchenko, N. V., Ivanova, G. P., Skripchenko, E. Y., & Monakhova, N. E. (2015). Klinicheskoe znachenie syvorotochnykh urovnej citokinov pri vetryanoj oспе u detej [Clinical significance of cytokines serum levels in children with chicken pox]. *Infekciya i immunitet*, 5(1), 79–84. [in Russian].
- [21] Hai-Jun, Shi, & Zhi-Qiang, Cui. (2017). Correlation of serum inflammatory cytokine and immunoglobulin content with post-herpetic neuralgia in patients with acute herpes zoster. *Journal of Hainan Medical University*, 23(1), 97–100.
- [22] Cho, J. W., Shin, D. H., & Lee, K. S. (2007). Polymorphism of the IL-10 gene is associated with susceptibility to herpes zoster in Korea. *J Dermatol Sci*, 45(3), 213–215. doi: 10.1016/j.jdermsci.2006.11.004.
- [23] Haanpää, M., Nurmikko, T., & Hurme, M. (2002). Polymorphism of the IL-10 gene is associated with susceptibility to herpes zoster. *Scand J Infect Dis*, 34(2), 112–114. doi: 10.1080/00365540110077218.
- [24] Crosslin, D. R., Carrell, D. S., Burt, A., Kim, D. S., Underwood, J. G., Hanna, D. S., et al. (2015). Genetic variation in the HLA region is associated with susceptibility to herpes zoster. *Genes and Immunity*, 16(1), 1–7. doi: 10.1038/gene.2014.51.
- [25] Grahn, A., Bergstrom, T., Runesson, J., & Studahl, M. (2016). Varicella-zoster virus (VZV) DNA in serum of patients with VZV central nervous system infections. *J Infect*, 73(3), 254–60. doi: 10.1016/j.jinf.2016.04.035.
- [26] Tran, K. D., Falcone, M. M., Choi, D. S., Goldhardt, R., Karp, C. L., Davis, J. L., & Galor, A. (2016). Epidemiology of Herpes Zoster Ophthalmicus: Recurrence and Chronicity. *J Ophthalmology*, 123(7), 1469–1475. doi: 10.1016/j.ophtha.2016.03.005.
- [27] Serinken, M., Eken, C., Dal, O., & Kutlu, M. (2016). Man with facial nerve palsy and ear pain. Ramsay Hunt syndrome. *Ann Emerg Med*, 67(1), 141–148. doi: 10.1016/j.annemergmed.2015.04.010.
- [28] Lee, C.-Y., Tsai, H.-C., Lee, S.-J., & Chen, Y.-S. (2015). Orbital apex syndrome: an unusual complication of herpes zoster ophthalmicus. *BMC Infectious Diseases*, 15, 33. doi: 10.1186/s12879-015-0760-z.
- [29] Forbes, H. J., Thomas, S. L., Smeeth, L., Clayton, T., Farmer, R., Bhaskaran, K., & Langan, S. M. (2016). A systematic review and meta-analysis of risk factors for postherpetic neuralgia. *J Pain*, 15(1), 30–54. doi: 10.1097/j.pain.0000000000000307.

Морфологічні та ультразвукові особливості фіброзу печінки в дітей з аутоімунним гепатитом

В. С. Березенко^{1,2}, Т. Д. Задорожна¹, Х. З. Михайлюк^{1,2}, Б. А. Тарасюк³,
В. Ф. Коробко³, С. М. Келихевич¹

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, Україна, ³ДУ «Інститут ядерної медицини та променевої діагностики НАМН України», м. Київ

Ключові слова:

аутоімунний гепатит, діти, фіброз, ультразвукова еластографія.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 330–336

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.3.151815

E-mail: x_volocuga@ukr.net

Мета роботи – вивчити ультразвукові особливості жорсткості паренхіми печінки в дітей з аутоімунним гепатитом (АГ) методом еластографії зсувної хвилі в зіставленні з результатами морфологічного дослідження біоптату печінки.

Матеріали та методи. Обстежили 40 дітей, які хворі на аутоімунний гепатит, за період 2015–2018 рр. Усім дітям виконали комплекс лабораторних тестів згідно з протоколом, еластографію печінки методом зсувної хвилі та пункційну біопсію з морфологічним дослідженням біоптату. Активність захворювання визначали за допомогою індексу гістологічної активності (ІГА) за Knodell за результатами морфологічного дослідження біоптату печінки та біохімічними показниками (аланінамінотрансфераза, загальний білірубін, гамма-глобуліни, імуноглобулін G). Стадію захворювання оцінювали за гістологічним індексом фіброзу (ГІС) METAVIR та напівкількісно за допомогою еластографії зсувної хвилі паренхіми. Визначили взаємозв'язок гістологічної активності гепатиту з показниками жорсткості паренхіми. Дослідили зміни показників жорсткості печінки в динаміці (через 6 та 12 місяців лікування) у 23 дітей з АГ.

Результати. У 72,5 % (n = 29) дітей діагностовано виразний фіброз (стадія фіброзу >F2 за METAVIR ($\chi^2 = 16,2$; $p < 0,001$ між групою дітей із F1–2 і F3–4 METAVIR). ROC аналіз показав, що оптимальною «точкою відсічення» для діагностики фіброзу F3 METAVIR був показник жорсткості 9,4 кПа, а для F4 METAVIR – 13,0 кПа. Активність гепатиту впливала на жорсткість паренхіми печінки – зі зменшенням активності запального процесу зменшувався показник жорсткості паренхіми печінки ($p > 0,05$).

Висновки. У 50,0 % дітей з АГ стадія фіброзу, яку визначали методом еластографії до лікування, відповідала даним морфологічного дослідження біоптатів печінки. Активність гепатиту впливає на жорсткість паренхіми печінки, зі зменшенням активності запального процесу цей показник також зменшується. Дослідження показало, що в процесі лікування (антифібротична й імуносупресивна терапія) через 6 та 12 місяців показники жорсткості паренхіми печінки вірогідно знижуються ($p < 0,05$).

Ключевые слова:

аутоиммунный гепатит, дети, фиброз, ультразвуковая эластография.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 330–336

Морфологические и ультразвуковые особенности фиброза печени у детей с аутоиммунным гепатитом

В. С. Березенко, Т. Д. Задорожная, Х. З. Михайлюк, Б. А. Тарасюк,
В. Ф. Коробко, С. М. Келихевич

Цель работы – изучить ультразвуковые особенности жесткости паренхимы печени у детей с аутоиммунным гепатитом (АГ) методом эластографии сдвиговой волны в сопоставлении с результатами морфологического исследования биоптата печени.

Материалы и методы. Обследовали 40 детей, больных аутоиммунным гепатитом, за период 2015–2018 гг. Всем детям проведен комплекс лабораторных тестов в соответствии с протоколом, эластография печени методом сдвиговой волны и пункционную биопсию с морфологическим исследованием биоптата. Активность заболевания определяли с помощью индекса гистологической активности (ИГА) по Knodell по результатам морфологического исследования биоптата печени и биохимическим показателям (аланинамінотрансфераза, общий билирубин, гамма-глобулины, иммуноглобулины G). Стадию заболевания оценивали по гистологическому индексу склероза (ГИС) METAVIR и полуколичественно с помощью эластографии сдвиговой волны паренхимы. Проведено сопоставление взаимосвязи гистологической активности гепатита с показателями жесткости паренхимы. Исследованы изменения показателей жесткости печени в динамике (через 6 и 12 месяцев лечения) у 23 детей с АГ.

Результаты. У 72,5 % (n = 29) детей диагностирован выраженный фиброз (стадия фиброза >F2 по METAVIR ($\chi^2 = 16,2$; $p < 0,001$ между группой детей с F1–2 и F3–4 METAVIR). ROC анализ показал, что оптимальной «точкой отсечения» для диагностики фиброза F3 METAVIR был показатель жесткости 9,4 кПа, а для F4 METAVIR – 13,0 кПа. Активность гепатита влияла на жесткость паренхимы печени – с уменьшением активности воспалительного процесса уменьшался показатель жесткости паренхимы печени ($p > 0,05$).

Выводы. У 50,0 % детей с АГ стадия фиброза, определенная методом эластографии до лечения, соответствовала данным морфологического исследования биоптатов печени. Активность гепатита влияет на жесткость паренхимы печени, с уменьшением активности воспалительного процесса этот показатель также уменьшается. Проведенное исследование показало, что на фоне лечения (антифибротическая и иммуносупрессивная терапия) через 6 и 12 месяцев показатели жесткости паренхимы печени достоверно снижаются ($p < 0,05$).

Morphological and ultrasound features of liver fibrosis in children with autoimmune hepatitis

V. S. Berezenko, T. D. Zadorozhna, Kh. Z. Mykhailiuk, B. A. Tarasiuk, V. F. Korobko, S. M. Kelykhevych

Aim. To study the ultrasound peculiarities of the liver parenchyma stiffness in children with autoimmune hepatitis by shear wave elastography comparing with the results of liver biopsy morphological investigation.

Materials and methods. 40 children with autoimmune hepatitis were examined during the period of 2015–2018. All children were provided with a complex of laboratory tests according to the protocol, shear wave elastography of the liver and a puncture biopsy of the liver. The disease activity was ranged with the histological index of activity (IHA) according to Knodell by the results of a morphological study of liver biopsy and biochemical parameters (alanine aminotransferase, total bilirubin, gamma globulin, immunoglobulin G). The stage of the disease was estimated by the METAVIR histological index (HIS) and semi-quantitative elastography of the parenchyma shift wave. A comparison of the relationship between the histological activity of hepatitis and the parameters of the liver stiffness has been made. The changes in 23 children with hypertension were investigated in dynamics of liver stiffness (after 6 and 12 months of treatment).

Result. A progressive fibrosis was diagnosed in 72.5 % (n = 29) (METAVIR F2) ($\chi^2 = 16.2$; $P < 0.001$ between the group of children with F1-2 and F3-4 METAVIR). The ROC analysis showed that, the optimal “cut-off point” for the diagnosis of F3 METAVIR fibrosis was the stiffness index of 9.4 kPa, and for F4 METAVIR – 13.0 kPa. Hepatitis activity influenced the stiffness of the liver parenchyma – with a decrease in the activity of the inflammatory process decreased and the rigidity of the liver parenchyma ($P > 0.05$).

Conclusions. In 50 % of children with autoimmune hepatitis, the stage of fibrosis, which was determined by the method of elastography before treatment, corresponded to the data of the morphological study of liver biopsy. The activity of hepatitis affects the liver parenchyma stiffness, with the decrease of inflammatory process activity this index also decreases. The conducted research showed that in the process of treatment (anti-fibrotic and immunosuppressive therapy), after 6 and 12 months, the parameters of liver parenchyma severity decrease significantly ($P < 0.05$).

Key words:
autoimmune
hepatitis,
children, fibrosis,
elastography.

Pathologia
2018; 15 (3), 330–336

Автоімунний гепатит (АГ) – захворювання без чіткої патогномонічної симптоматики, що характеризується проградієнтним перебігом і швидким прогресуванням до значного фіброзу та цирозу печінки. Своєчасна діагностика цього захворювання є запорукою успішного лікування та запобігання ускладненням. Відповідно до рекомендацій EASL (European Association for the Study of Liver) «Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis European Association for the Study of the Liver 2015», «золотим стандартом» діагностики АГ є морфологічне дослідження біоптату печінки [8]. Біопсія печінки дає можливість встановити діагноз, оцінити стадію захворювання та гістологічну активність запального процесу. Однак цей метод має певні обмеження, враховуючи інвазивність процедури та можливість розвитку ускладнень, особливо для оцінювання ефективності лікування та стадії фіброзу печінки [1]. Саме тому пошук неінвазивних і високоінформативних методів оцінювання стадії АГ як основного критерію прогнозу захворювання має важливе клінічне значення [10].

Нині здійснюють багато досліджень у дітей і дорослих із хронічними гепатитами для розробки неінвазивних методів діагностики фіброзу печінки [11, 12]. Неінвазивні методи ґрунтуються на двох різних підходах: біологічному, що полягає в кількісному визначенні біомаркерів фіброзу в сироватці крові, та фізичному – вимірювання жорсткості печінки, коли визначається внутрішня фізична активність паренхіми печінки [4]. Серед фізичних методів діагностики для визначення жорсткості паренхіми печінки вагоме місце посідає еластографія печінки методом зсувної хвилі [3].

Згідно з рекомендаціями EFSUMB 2017, перед проведенням еластографії необхідно виключити основні потенційні фактори ризику (підвищення АСТ і/або АЛТ у 5 разів понад норму, обструктивний холестаза,

печінкову недостатність, гострий гепатит та інфільтративні захворювання печінки), для того, щоб уникнути переоцінювання фіброзу печінки і/або враховувати їх при інтерпретації результатів [5, 12–15]. Використання цієї методики для оцінювання фіброзу печінки у хворих з автоімунним гепатитом, який часто супроводжується високоактивним запальним процесом у печінці, не набуло широкого використання, що й зумовило вибір напрямку дослідження.

Мета роботи

Вивчити ультразвукові особливості жорсткості паренхіми печінки у дітей з автоімунним гепатитом методом ультразвукової еластографії зсувної хвилі в зіставленні з результатами морфологічного дослідження біоптату печінки.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали у відділенні дитячої гепатології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України» у 2016–2018 рр. Обстежили 40 дітей з АГ, з них 16 (40,0 %) хлопців і 24 (60,0 %) дівчини віком від 3 до 18 років. Найбільша кількість хворих віком 10–18 років – 62,5 % (n = 25) ($\chi^2 = 5,0$; $p = 0,004$). Діагноз АГ встановлено відповідно до міжнародних рекомендацій із вивчення захворювань печінки (EASL, «Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis, 2015»). Пункційну біопсію печінки виконали після отримання інформованої згоди батьків і пацієнта на оперативне втручання. Маніпуляцію виконували під загальним знеболенням та ехографічним контролем. Застосовували голки гільйотинного типу (16–18 G напівавтомат) для м'яких тканин. Отриманий біопсійний матеріал

Таблиця 1. Поділ дітей з АГ за стадією фіброзу та ступенем гістологічної активності (n = 40), абс.ч., (%)

Показник	Абс.ч.,%
Еластографія, кПа:	
F1	3 (7,5)
F2	9 (22,5)
F3	12 (30,0)
F4	16 (40,0)
Стадія фіброзу METAVIR:	
F 1,	2 (5,0)
F 2,	9 (22,5)
F 3,	19 (47,5)
F 4.	10 (25,0)
Індекс гістологічної активності за Knodell:	
1–3 бали (мінімальна)	8 (20,0)
4–8 балів (низька)	4 (10,0)
9–12 балів (помірна)	12 (30,0)
13–18 балів (висока)	16 (40,0)

обробляли за загальноприйнятими методиками, мікрозрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за ван Гізоном, плазматичні клітини ідентифікували, застосовуючи антитіла Mo a-Hu CD 138 Ab-2 Clone M115 (ThermoFisher Scientific, USA). Отримані гістологічні препарати досліджувалися на мікроскопі «OLYMPUS BX-51». Активність захворювання визначали згідно з гістологічним індексом активності (ІГА) за Knodell, який враховує виразність запалення. ІГА від 1 до 3 балів характеризувала мінімальну гістологічну активність, від 4 до 8 балів – низьку, від 9 до 12 балів – помірну, від 13 до 18 балів – високу гістологічну активність. Стадію захворювання оцінювали за гістологічним індексом фіброзу (ГІС) за METAVIR напівкількісно: 1 стадія фіброзу (F1) характеризується розширенням і появою портальних трактів зірчастої форми, друга (F2) – утворенням порто-портальних септ, третя (F3) – утворенням порто-центрального септ, четверта (F4) – псевдодольок.

Визначення жорсткості печінки виконали в ДУ «Інститут ядерної медицини та променевої діагностики НАМН України» (м. Київ) методом еластографії зсувної хвилі паренхіми печінки на сканері «Радмир ULTIMA» в ділянці правих міжреберних проміжків за допомогою трансабдомінального конвексного (5мГц) та лінійного (10 мГц) датчиків для поверхневих структур. Медіанне значення цих вимірювань характеризувало жорсткість паренхіми печінки, результат виражали у кілопаскалях (кПа). Для інтерпретації показників і визначення стадії фіброзу використовували дані L. Castera et al., за якими рівню виразності фіброзу F0 відповідали значення еластографії нижче ніж 5,8 кПа $5,8 \leq F1 \leq 7,2$ кПа (мінімальні зміни), $7,2 \leq F2 \leq 9,5$ кПа (помірні), $9,5 \leq F3 < 12,5$ кПа (виразні), F4 – від 12,5 кПа (цироз печінки) [12]. Біохімічну активність оцінювали за референтними значеннями локальної лабораторії. Підвищеними вважали рівні аланінамінотрансферази (АЛТ) ≥ 40 ОД/л, аспартатамінотрансферази (АСТ) ≥ 41 ОД/л. Мінімальна активність характеризувалася підвищенням АЛТ до 3 норм, низька – до 5 норм, помірна – до 10 норм, висока – понад 10 норм.

Для аналізу взаємозв'язку гістологічної активності гепатиту із показниками жорсткості паренхіми печінки

пацієнтів (n = 40) поділили на 2 групи. I група – діти, які на момент обстеження не отримували імуносупресивне лікування та мали ІГА > 9 балів за Knodell, – 62,5 % (n = 25); II – діти, які до пункційної біопсії отримували кортикостероїди та мали ІГА 1–8 балів за Knodell – 37,5 % (n = 15).

Оцінювання змін показників жорсткості печінки виконали через 6 та 12 місяців лікування у 23 дітей з АГ. Показники активності захворювання враховували за результатами лабораторних даних (АЛТ, ІgG, γ -глобуліни, загальний білірубін) на момент здійснення еластографії печінки та через 6 та 12 місяців лікування. Цих хворих поділили на 2 групи: перша (А) – діти (n = 8), яким виконана еластографія печінки до лікування та через 6 місяців; друга (В) – діти (n = 15), яким дослідження здійснене через 1 рік імуносупресивної терапії (2 дітей із групи А увійшли у групу В, що пов'язано з тривалим спостереженням цих пацієнтів у центрі дитячої гепатології).

Результати опрацювали статистично з використанням пакета програм IBM SPSS Statistic версія 22 № 128 від 01.08.2016 р. Загальностатистичний аналіз передбачав обчислення медіани й інтерквартильних інтервалів Me [UQ–LQ]. Для номінальних змінних взаємозв'язок розраховували за допомогою критеріїв Пірсона (χ^2) та Фішера (двобічний). Для порівняння двох залежних вибірок і та після лікування використовували критерій Вілкоксона. Оцінювання напряму, сили та значущості кореляційного зв'язку між різними ознаками виконали, використовуючи непараметричний кореляційний аналіз Тау Кендалла (τ). Різницю вважали статистично значущою при $p < 0,05$. Виконали аналіз операційної характеристичної кривої (Receiver Operating Characteristic Curve – ROC) із визначенням AUROC і «точки відсічення», яка відповідає найкращим результатам щодо чутливості та специфічності цього діагностичного методу.

Результати

За результатами обстеження у 72,5 % (n = 30) дітей діагностували виразну стадію фіброзу >F2 за METAVIR ($\chi^2 = 16,2$; $p < 0,001$ між групою дітей із F1–2 і F3–4 METAVIR). За результатами морфологічного дослідження 25,0 % (n = 10) дітей мали ознаки цирозу печінки. За результатами морфологічного дослідження у 70,0 % дітей активність гепатиту (ІГА) була >9 балів за Knodell, із них у 40,0 % відбувся високоактивний запальний процес у печінці ІГА >12 балів за Knodell ($\chi^2 = 3,8$; $p = 0,005$ між групою дітей з ІГА >12 і ІГА 1–3 бали за Knodell). Характеристика груп дітей наведена в таблиці 1.

Для визначення показника жорсткості печінки (у кПа), який може характеризувати виразний фіброз (стадія фіброзу >F2 за METAVIR), в обстежених дітей проведено ROC аналіз із визначенням AUROC і «точки відсічення» для показників еластографії. Інтегральною характеристикою для оцінювання ефективності тесту є площа під ROC-кривою – AUROC (area under ROC). У дослідження включені показники еластографії в кПа усіх обстежених дітей (n = 40).

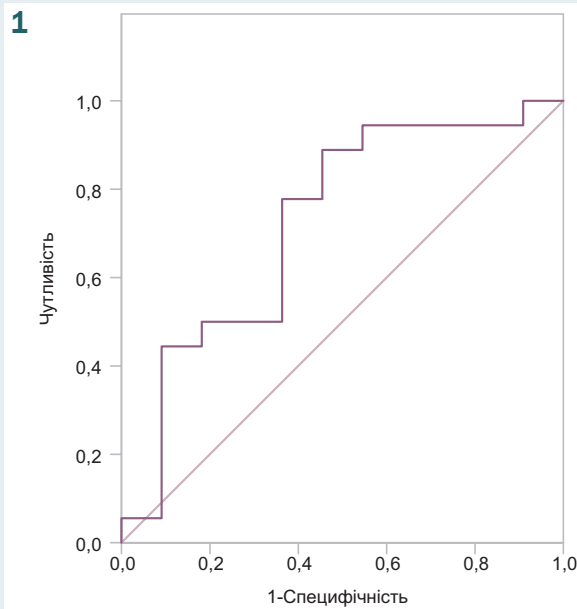


Рис. 1. ROC крива значення показника еластографії печінки для діагностики стадії фіброзу F3 METAVIR.

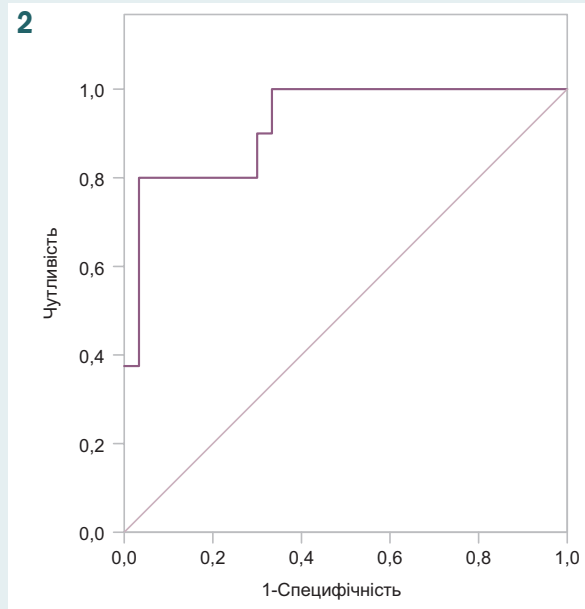


Рис. 2. ROC крива для значення показника еластографії печінки для діагностики стадії фіброзу F4 METAVIR.

Таблиця 2. Кореляційні (τ) зв'язки між показниками гістологічної активності (ІГА) та показниками жорсткості паренхіми печінки в дітей з аутоімунним гепатитом до лікування та на його тлі ($n = 40$)

Показник	Показники жорсткості паренхіми печінки в дітей з АГ до лікування, кПа. I група ($n = 25$)	Показники жорсткості паренхіми печінки в дітей з АГ на фоні лікування, кПа. II група ($n = 15$)
	τ	τ
Активність, бали	0,38*	-0,02

*: відмінність вірогідна ($p < 0,05$).

Таблиця 3. Лабораторні показники активності гепатиту та жорсткості паренхіми печінки у групі А ($n=8$), Ме [UQ–LQ]

	АЛТ, ОД/л	IgG, г/л	Загальний білірубін, мкмоль/л	Г-глобуліни, %	Жорсткість паренхіми печінки, кПа
Ме [UQ–LQ] до лікування	669 [271–1404]*	11,2[9,9-13]*	28,2 [15,1–49,1]*	23,4 [16,2–29,4]*	12,7 [9,5–14,2]*
Ме [UQ–LQ] через 6 місяців	23 [17–47]	9,19[7,2-12,3]	18,2 [14,8–23,0]	15,2 [13,5–16,2]	9,19 [7,5–11,2]

*: відмінність вірогідна ($p < 0,05$) до та через 6 місяців лікування.

Таблиця 4. Лабораторні показники активності гепатиту та жорсткості паренхіми печінки у групі В ($n = 15$), Ме [UQ–LQ]

	АЛТ, ОД/л	IgG, г/л	Загальний білірубін, мкмоль/л	Г-глобуліни, %	Жорсткість паренхіми печінки, кПа
Ме [UQ–LQ] до лікування	943 [450–1591]*	13,4 [10,5–16,4]*	22,5 [16,4–60,0]*	25,0 [19,5–39,0]*	10,3 [8,1–13,2]*
Ме [UQ–LQ] через 12 місяців	29 [10,5–16,4]	9,67 [7,2–13,0]	12,8 [9,8–15,0]	18,8 [17,4–20,7]	7,6 [5,8–12,5]

*: відмінність вірогідна ($p < 0,05$) до та через 12 місяців лікування.

У 95,0 % ($n = 38$) дітей за результатами морфологічного дослідження біоптату печінки діагностували стадію фіброзу \geq F2 METAVIR (табл. 1). У зв'язку з цим виконати ROC-аналіз для визначення показника еластографії для стадії фіброзу F1 та F2 у дослідженні неможливо.

AUROC для показника еластографії, який відповідає фіброзу F3 дорівнює 0,72 (ДІ 0,53 – 0,93). «Точкою відсічення» для діагностики фіброзу F3 METAVIR було значення показника еластографії 9,4 кПа (чутливість – 79,0 %, специфічність – 64,0 %).

ROC аналіз, виконаний у 10 дітей зі стадією фіброзу F4 METAVIR, показав: AUROC для показника

еластографії, який відповідає стадії фіброзу F4, становить 0,92 (ДІ 0,8–1,0). «Точкою відсічення» для діагностики стадії фіброзу F4 за METAVIR було значення показника еластографії 13,4 кПа (чутливість – 80,0 %, специфічність – 99,8 %).

Для визначення впливу імуносупресивного лікування на показники жорсткості паренхіми печінки виконали аналіз у дітей I та II груп. У дітей I групи показники жорсткості паренхіми печінки становили 14,2 [9,6–18,4] кПа, у дітей II групи – 12,3 [8,1–12,8] кПа. Аналіз взаємозв'язку гістологічної активності гепатиту з показниками жорсткості паренхіми печінки в I і II групах дітей показав: у групі дітей, які

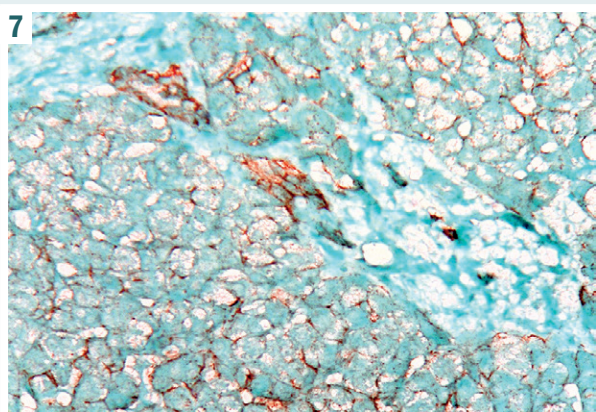
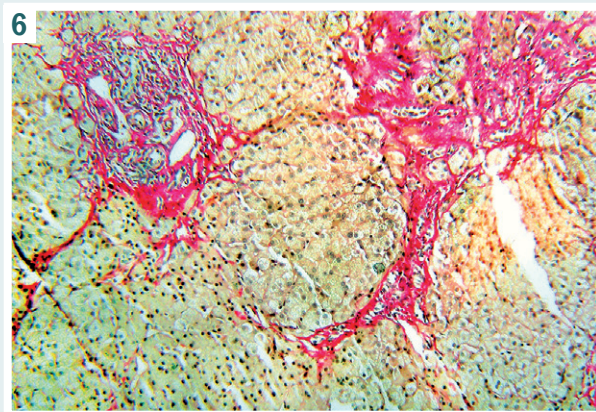
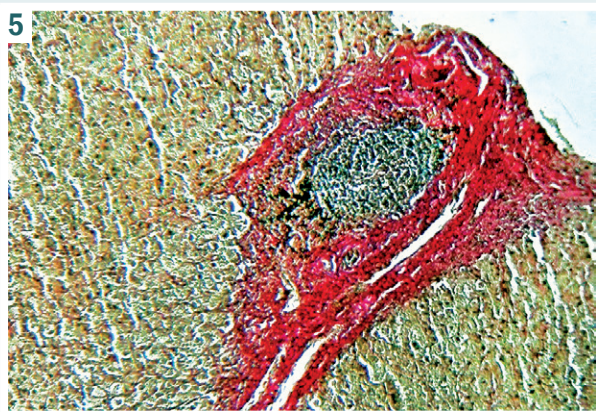
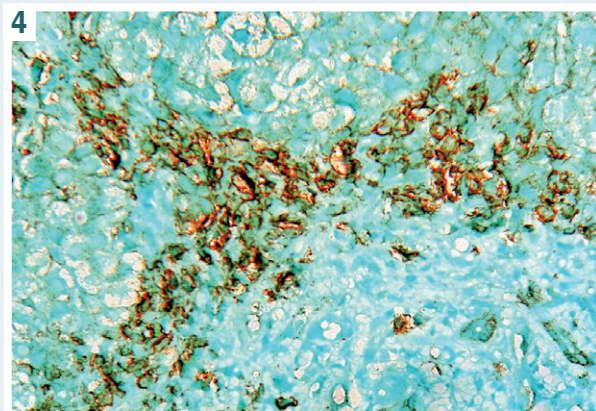
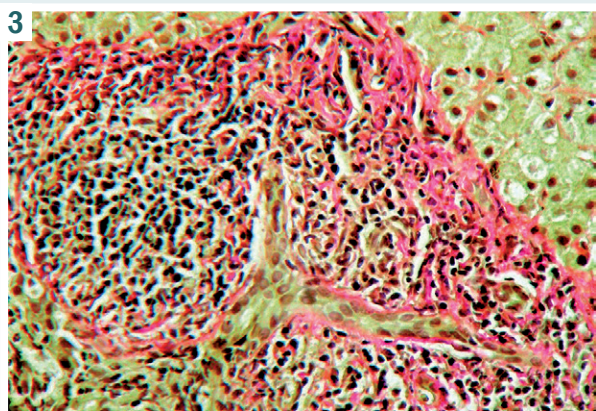


Рис. 3. Виразна поширена лімфоплазмозитарна інфільтрація портального тракту в біопатії печінки дитини віком 12 років до лікування аутоімунного гепатиту. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном. 36.: 10 × 40.

Рис. 4. Численні CD 138 імунопозитивні плазмацити в біопатії печінки дитини віком 13 років до лікування аутоімунного гепатиту. Мо a-Hu CD 138, Ab-2 Clone M15 (Thermo Fisher Scientific, USA). 36.: 10 × 40.

Рис. 5. Лімфоїдний фолікул у портальному тракті печінки дитини 13 років до лікування аутоімунного гепатиту. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном. 36.: 10 × 40.

Рис. 6. Помірна лімфоплазмозитарна інфільтрація портальних трактів у дитини віком 3 роки з аутоімунним гепатитом і мультилобулярним цирозом печінки, що отримувала лікування глюкокортикоїдами протягом 6 місяців. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізоном. 36.: 10 × 40.

Рис. 7. Поодинокі CD 138 імунопозитивні плазмацити в біопатії печінки дитини віком 3 роки після лікування глюкокортикоїдами аутоімунного гепатиту протягом 6 місяців. Мо a-Hu CD 138 Ab-2 Clone M15 (Thermo Fisher Scientific, USA). 36.: 10 × 40.

отримували лікування на момент виконання пункційної біопсії печінки, гістологічна активність АГ у балах (ІГА) була нижчою порівняно з хворими, які не отримували кортикостероїди (КС) (рис. 3, 4, 5, 6, 7). Для цього здійснили дослідження зв'язку гістологічної активності АГ із показниками жорсткості паренхіми печінки (кПа) за допомогою рангового кореляційного аналізу Тау Кендалла, результати наведені в таблиці 2.

За результатами кореляційного аналізу в I групі дітей з АГ встановлено позитивний значущий взаємозв'язок між гістологічною активністю захворювання в балах і жорсткістю паренхіми печінки – $t = 0,38$ ($p = 0,001$).

У II групі дітей за результатами кореляційного аналізу зафіксували слабкий недостовірний негативний

зв'язок між гістологічною активністю захворювання та жорсткістю паренхіми печінки – $t = -0,02$, $p > 0,05$ ($p = 0,8$).

Для оцінювання впливу імуносупресивної терапії на активність захворювання та показники жорсткості паренхіми печінки здійснили катамнестичний аналіз у 23 пацієнтів. Лабораторні показники, що характеризують активність гепатиту та показники жорсткості паренхіми печінки, наведені в таблицях 3, 4.

Результати свідчать, що через 6 місяців лікування майже в усіх дітей вдалося досягти нормалізації біохімічних показників ($p < 0,05$). У цих хворих одночасно зі зменшенням активності гепатиту спостерігали зниження показників жорсткості паренхіми печінки ($p < 0,05$).

Через 12 місяців у 67,0 % хворих на АГ (n = 10) у групі В вдалося досягти періоду клініко-лабораторної ремісії, що проявилось нормалізацією найбільш інформативних показників автоімунного процесу (p < 0,05). Показник еластографії до лікування у групі В (n = 15) дорівнював 10,3 кПа [8,1–13,2], через 1 рік – 7,6 кПа [5,8–12,5] (p = 0,013).

В обстежених групах дітей через 6 і 12 місяців лікування ROC-аналіз із визначенням AUROC і «точки відсічення» для показників еластографії не виконали через відсутність повторної біопсії печінки в ці терміни.

Обговорення

У науковій літературі відсутні публікації, що присвячені дослідженню жорсткості паренхіми печінки в дітей з АГ. У дорослих пацієнтів з активним АГ визначили високі показники жорсткості печінки, які прогресивно знижувались зі зменшенням активності гепатиту [2,7]. Дослідження, в яких здійснили порівняння гістологічних змін та еластографії зсувної хвилі, виявили аналогічні тенденції в пацієнтів дитячого віку.

Ультразвукова еластографія є точним методом для діагностики цирозу печінки. Для діагностики відмінності між легким і помірним фіброзом цей метод є менш чутливим. Застосування еластографії для діагностики фіброзу печінки на тлі лікування АГ дає змогу оцінити потенційний ризик прогресування захворювання [6,9].

Результати дослідження свідчать: застосування ультразвукової еластографії зсувної хвилі для оцінювання стадії фіброзу в дітей з АГ у період розгорнутих клінічних проявів недоцільне, оскільки активність гепатиту впливає на показники жорсткості паренхіми печінки. Показники еластографії печінки, отримані через 6 місяців лікування, при біохімічній нормалізації активного запального процесу в печінці можуть свідчити про стадію фіброзу печінки. Зниження показників жорсткості через 12 місяців може свідчити про ймовірну антифібротичну дію імуносупресивного лікування. Отже, в дітей з АГ еластографію печінки варто виконувати щонайменше через 6 місяців імуносупресивного лікування, надалі – моніторинг кожні 6 місяців для визначення ризику прогресування гепатиту.

Висновки

1. У 50,0 % дітей, які хворі на автоімунний гепатит, стадія фіброзу, встановлена під час гістологічного дослідження біоптатів печінки, збігалася з даними еластографії зсувної хвилі. Використання імуногістохімічного маркера CD 138 навіть при мінімальній його експресії дає можливість встановити діагноз автоімунний гепатит.

2. За даними еластографії зсувної хвилі, в дітей з автоімунним гепатитом активність запального процесу в печінці впливає на показники жорсткості паренхіми. При нормалізації біохімічних показників відбувається вірогідне зниження показників жорсткості паренхіми печінки.

3. Для оцінювання стадії фіброзу печінки ультразвукову еластографію зсувної хвилі в дітей з авто-

імунним гепатитом доцільно виконувати щонайменше через 6 місяців лікування.

4. Вірогідне зниження показників жорсткості паренхіми печінки через 1 рік імуносупресивного лікування свідчить не тільки про зменшення активності запального процесу в печінці, але і про можливе зменшення фіброзу в дітей з автоімунним гепатитом.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Березенко В. С., д-р мед. наук, професор, керівник відділення дитячої гепатології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», зав. каф. педіатрії № 1, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

Задорожна Т. Д., д-р мед. наук, професор, чл.-кор. НАМН України, керівник лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут педіатрії акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

Михайлюк Х. З., лікар-ординатор відділення дитячої гепатології, аспірант, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», асистент каф. педіатрії № 1, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

Тарасюк Б. А., д-р мед. наук, професор, заступник директора з наукової роботи, ДУ «Інститут ядерної медицини та променевої діагностики НАМН України», м. Київ.

Коробко В. Ф., молодший науковий співробітник, лікар з ультразвукової діагностики вищої кваліфікаційної категорії та лікар-терапевт, ДУ «Інститут ядерної медицини та променевої діагностики НАМН України», м. Київ.

Келихевич С. М., канд. мед. наук, науковий співробітник лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

Сведения об авторах:

Березенко В. С., д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения детской гепатологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика А. Н. Лукьяновой НАМН Украины», зав. каф. педиатрии № 1, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

Задорожная Т. Д., д-р мед. наук, профессор, чл.-кор. НАМН Украины, руководитель лаборатории патоморфологии, ГУ «Институт педиатрии акушерства и гинекологии имени академика А. Н. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Михайлюк К. З., врач-ординатор отделения детской гепатологии, аспирант, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика А. Н. Лукьяновой НАМН Украины», ассистент каф. педиатрии № 1, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

Тарасюк Б. А., д-р мед. наук, профессор, заместитель директора по научной работе, ГУ «Институт ядерной медицины и лучевой диагностики НАМН Украины», г. Киев.

Коробко В. Ф., младший научный сотрудник, врач ультразвуковой диагностики высшей квалификационной категории и врач-терапевт, ГУ «Институт ядерной медицины и лучевой диагностики НАМН Украины», г. Киев.

Келихевич С. М., канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории патоморфологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика А. Н. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Information about authors:

Berezenko V. S., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pediatric Hepatology SI "Institute of pediatrics, obstetrics and gynaecology named after Academician O.M. Lukyanova of NAMS of Ukraine", Head of the Department of Pediatrics №1 of the Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Mykhailiuk Kh. Z., MD, Doctor of the Department of Pediatric Hepatology, Postgraduate Student of SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynaecology named after Academician O. M. Lukianova of NAMS of Ukraine", Assistant of the Department of Pediatrics №1 of the Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.
Zadorozhna T. D., MD, PhD, DSc, Professor, Corresponding Member of NAMS of Ukraine, Head of the Laboratory of Pathomorphology, SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynaecology named after Academician O.M. Lukianova of NAMS of Ukraine", Kyiv.
Tarasiuk B. A., MD, PhD, DSc, Professor, Deputy Director for Scientific Work SI "Institute of Nuclear Medicine and Diagnostic Radiology of NAMS of Ukraine", Kyiv.
Korobko V. F., MD, Junior Researcher, Doctor of Ultrasound Diagnostics of the Highest Qualification Category and Doctor-Therapist, SI "Institute of Nuclear Medicine and Diagnostic Radiology of NAMS of Ukraine", Kyiv.
Kelykhevych S. M., MD, PhD, Researcher, Laboratory of Pathomorphology, SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynaecology named after Academician O.M. Lukianova of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Надійшла до редакції / Received: 15.08.2018
Після доопрацювання / Revised: 29.10.2018
Прийнято до друку / Accepted: 01.11.2018

Список літератури

- [1] Transient Elastography (FibroScan) Performs Better Than Non-Invasive Markers in Assessing Liver Fibrosis and Cirrhosis in Autoimmune Hepatitis Patients / L. Guo, L. Zheng, L. Hu, et al. // *Med Sci Monit.* – 2017. – Vol. 23. – P. 5106–5112.
- [2] Transient elastography in autoimmune hepatitis: Timing determines the impact of inflammation and fibrosis / J. Hartl, U. Denzer, H. Ehken, et al. // *Journal of Hepatology.* – 2016. – Vol. 65. – Issue 2. – P. 769–775.
- [3] Patients with typical laboratory features of autoimmune hepatitis rarely need a liver biopsy for diagnosis / E. Björnsson, J. Talwalkar, S. Treeprasertsuk, et al. // *Clin Gastroenterol Hepatol.* – 2011. – Vol. 9. – Issue 1. – P. 57–63.
- [4] EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis / European Association for the Study of the Liver, Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado // *Journal of Hepatology.* – 2015. – Vol. 63. – P. 237–264.
- [5] EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 1: Basic principles and technology / J. Bamber, D. Cosgrove, C.F. Dietrich, et al. // *Ultraschall Med.* – 2013. – Vol. 34. – Issue 2. – P. 169–84.
- [6] The usefulness of transient elastography, acoustic-radiation-force impulse elastography, and real-time elastography for the evaluation of liver fibrosis / J.H. Chung, H.S. Ahn, S.G. Kim, et al. // *Clin Mol Hepatol.* – 2013. – Vol. 19. – Issue 2. – P. 156–64.
- [7] Transient Elastography (FibroScan) Performs Better Than Non-Invasive Markers in Assessing Liver Fibrosis and Cirrhosis in Autoimmune Hepatitis Patients / L. Guo, L. Zheng, L. Hu, et al. // *Med Sci Monit.* – 2017. – Vol. 23. – P. 5106–5112.
- [8] EASL Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis / European Association for the Study of the Liver // *Journal of Hepatology.* – 2015. – Vol. 63. – Issue 4. – P. 971–1004.
- [9] Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy / E.A. Tsochatzis, K.S. Gurusamy, S. Ntaoula, et al. // *Journal of Hepatology.* – 2011. – Vol. 54. – Issue 4. – P. 650–659.
- [10] Castera L. Noninvasive Assessment of Liver Fibrosis / L. Castera // *Dig Dis.* – 2015. – Vol. 2015. – Issue 33. – P. 498–503.
- [11] Berzigotti A. Update on ultrasound imaging of liver fibrosis / A. Berzigotti, L. Castera // *Journal of Hepatology.* – 2013. – Vol. 59. – Issue 1. – P. 180–182.
- [12] Transient and 2-Dimensional Shear-Wave Elastography Provide Comparable Assessment of Alcoholic Liver Fibrosis and Cirrhosis / M. Thiele, S. Dettlfeisen, L. Sevelsted Møller, et al. // *Gastroenterology.* – 2016. – Vol. 150. – Issue 1. – P. 123–133.
- [13] Liver stiffness in nonalcoholic fatty liver disease: A comparison of Supersonic Shear Imaging, FibroScan and ARFI with liver biopsy / C. Cassinotto, J. Boursier, V. de Lédinghen, et al. // *Hepatology.* – 2016. – Vol. 63. – Issue 6. – P. 1817–17.
- [14] Diagnostic accuracy of two-dimensional shear wave elastography for the non-invasive staging of hepatic fibrosis in chronic hepatitis B: a cohort study with internal validation / J. Zeng, G.J. Liu, Z.P. Huang, et al. // *Eur Radiol.* – 2014. – Vol. 24. – Issue 10. – P. 2572–81.
- [15] Noninvasive assessment of liver fibrosis with impulse elastography: comparison of Supersonic Shear Imaging with ARFI and Fibroscan / C. Cassinotto, B. Lapuyade, A. Mouries, et al. // *J Hepatol.* – 2014. – Vol. 61. – Issue 3. – P. 550–7.

References

- [1] Guo, L., Zheng, L., Hu, L., Zhou, H., Yu, L., & Liang, W. (2017) Transient Elastography (FibroScan) Performs Better Than Non-Invasive Markers in Assessing Liver Fibrosis and Cirrhosis in Autoimmune Hepatitis Patients. *Med Sci Monit.* 23, 5106–5112. doi: [10.12659/MSM.907300].
- [2] Hartl, J., Denzer, U., Ehken, H., Zenouzi, R., Peiseler, M., Sebode, M., et al. (2016). Transient elastography in autoimmune hepatitis: Timing determines the impact of inflammation and fibrosis. *Journal of Hepatology*, 65(4), 769–775. doi: 10.1016/j.jhep.2016.05.023.
- [3] Björnsson, E., Talwalkar, J., Treeprasertsuk, S., Neuhauser, M., & Lindor, K. (2011) Patients with typical laboratory features of autoimmune hepatitis rarely need a liver biopsy for diagnosis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 9(1), 57–63. doi: 10.1016/j.cgh.2010.07.016.
- [4] European Association for the Study of the Liver, Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado (2015) EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *Journal of Hepatology*, 63(1), 237–264. doi: 10.1016/j.jhep.2015.04.006.
- [5] Bamber, J., Cosgrove, D., Dietrich, C. F., Fromageau, J., Bojunga, J., Calliada, F., et al. (2013) EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 1: Basic principles and technology. *Ultraschall Med.* 34(2), 169–84. doi: 10.1055/s-0033-1335205.
- [6] Chung, J. H., Ahn, H. S., Kim, S. G., Lee, Y. N., Kim, Y. S., Jeong, S. W., et al. (2013) The usefulness of transient elastography, acoustic-radiation-force impulse elastography, and real-time elastography for the evaluation of liver fibrosis. *Clin Mol Hepatol.* 19(2), 156–64. doi: 10.3350/cmh.2013.19.2.156.
- [7] Guo, L., Zheng, L., Hu, L., Zhou, H., Yu, L., & Liang, W. (2017) Transient Elastography (FibroScan) Performs Better Than Non-Invasive Markers in Assessing Liver Fibrosis and Cirrhosis in Autoimmune Hepatitis Patients. *Med Sci Monit.* 23, 5106–5112. doi: 10.12659/MSM.907300.
- [8] European Association for the Study of the Liver (2015) EASL Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis. *Journal of Hepatology*, 63(4), 971–1004. doi: 10.1016/j.jhep.2015.06.030.
- [9] Tsochatzis, E. A., Gurusamy, K. S., Ntaoula, S., Cholongitas, E., Davidsen, B. R., & Burroughs, A. K. (2011) Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *Journal of Hepatology*, 54(4), 650–659. doi: 10.1016/j.jhep.2010.07.033.
- [10] Castera, L. (2015) Noninvasive Assessment of Liver Fibrosis. *Dig Dis*, 33, 498–503. doi.org/10.1159/000374097.
- [11] Berzigotti, A., & Castera, L. (2013) Update on ultrasound imaging of liver fibrosis. *Journal of Hepatology*, 59(1), 180–182. doi: 10.1016/j.jhep.2012.12.028.
- [12] Thiele, M., Dettlfeisen, S., Sevelsted Møller, L., Madsen, B. S., Fuglsang Hansen, J., Fiella, A. D., et al. (2016) Transient and 2-Dimensional Shear-Wave Elastography Provide Comparable Assessment of Alcoholic Liver Fibrosis and Cirrhosis. *Gastroenterology*, 150(1), 123–133. doi: 10.1053/j.gastro.2015.09.040.
- [13] Cassinotto, C., Boursier, J., de Lédinghen, V., Lebigoit, J., Lapuyade, B., Cales, P., et al. (2016) Liver stiffness in nonalcoholic fatty liver disease: A comparison of Supersonic Shear Imaging, FibroScan and ARFI with liver biopsy. *Hepatology*, 63(6), 1817–27. doi: 10.1002/hep.28394.
- [14] Zeng, J., Liu, G. J., Huang, Z. P., Zheng, J., Wu, T., Zheng, R. Q., et al. (2014) Diagnostic accuracy of two-dimensional shear wave elastography for the non-invasive staging of hepatic fibrosis in chronic hepatitis B: a cohort study with internal validation. *Eur Radiol.*, 24(10), 2572–81. doi: 10.1007/s00330-014-3292-9.
- [15] Cassinotto, C., Lapuyade, B., Mouries, A., Hiriart, J. B., Vergniol, J., Gaye, D., et al. (2014) Noninvasive assessment of liver fibrosis with impulse elastography: comparison of Supersonic Shear Imaging with ARFI and Fibroscan. *J Hepatol.* 61(3), 550–7. doi: 10.1016/j.jhep.2014.04.044.

Результати вивчення *in vitro* антибактеріальної активності модифікованого магнієвого сплаву щодо тест-штамів *E. coli* та *P. aeruginosa*

В. М. Чорний, Н. М. Поліщук, О. М. Камишний, М. Л. Головаха

Запорізький державний медичний університет, Україна

Мета роботи – визначити чутливість грамнегативних мікроорганізмів – основних збудників імплантат-асоційованих інфекцій – до продуктів біодеградації магнієвого сплаву МЛ-10, з наступним обґрунтуванням можливості використання в травматологічній практиці у складі штучних імплантатів, що характеризуються антибактеріальною активністю.

Матеріали та методи. Вивчили чутливість еталонних тест-штамів мікроорганізмів *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 до екстракту магнієвого сплаву МЛ-10, що приготовлений на основі бульйону Мюллера–Хінтона (рН 7,4). Бактеріостатичну активність екстракту сплаву оцінювали за наявністю/відсутністю візуального росту у пробірках із посівами, бактерицидну – за наявністю/відсутністю росту колоній мікроорганізмів на чашках з агаром після висіву з пробірок.

Результати. Встановили, що досліджуваний екстракт магнієвого сплаву МЛ-10 характеризується високою бактеріостатичною та бактерицидною активністю щодо еталонних штамів *E. coli* та *P. aeruginosa*. Зростання культур кишкової та синьогнійної паличок на агарі спостерігали тільки у висівах із пробірок, в які напередодні додано мікроорганізми в концентрації 10^9 КУО/мл, 10^8 КУО/мл, 10^7 КУО/мл. Максимальне зростання колоній на агарі після висіву з цих пробірок зафіксовано тільки після першої доби інкубації. Протягом термостатування кількість колоній, що виростала на агарі після другого й третього висівів, істотно зменшувалась. Так, загальна кількість колоній *E. coli*, що виростала після висіву на агар із пробірок із найбільшим бактеріальним навантаженням (10^9 КУО/мл), зменшилась із 220 (після першої доби інкубації екстракту) до 2 колоній після 72 годин витримування рідини в термостаті, а в досліді із *P. aeruginosa* – з 192 до 1. Аналогічні результати отримали в досліді із меншими мікробними концентраціями, що свідчить про високу чутливість грамнегативних мікроорганізмів до екстракту магнієвого сплаву МЛ-10.

Висновки. Магнієвий сплав МЛ-10 у рідкому середовищі виявляє високу бактерицидну активність щодо грамнегативних мікроорганізмів, ефективно пригнічуючи зростання еталонних тест-штамів *E. coli* ATCC 25922 і *P. aeruginosa* ATCC 27853 впродовж 72 годин.

Ключові слова: магнієвий сплав, імплантат, антибактеріальні властивості, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 337–340

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.3.151854

E-mail: chorniy.vadim.doc@gmail.com

Результаты изучения *in vitro* антибактериальной активности модифицированного магниевого сплава в опытах с тест-штаммами *E. coli* и *P. aeruginosa*

В. Н. Чёрный, Н. Н. Полищук, А. М. Камышный, М. Л. Головаха

Цель работы – определить чувствительность грамотрицательных микроорганизмов – основных возбудителей имплантат-ассоциированных инфекций – к продуктам биodeградации магниевого сплава МЛ-10, с последующим обоснованием возможности использования в травматологической практике в составе искусственных имплантатов, обладающих антибактериальной активностью.

Материалы и методы. Изучена чувствительность эталонных тест-штаммов микроорганизмов *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 к экстракту магниевого сплава МЛ-10, приготовленного на основе бульона Мюллера–Хинтона (рН 7,4). Бактериостатическую активность экстракта сплава оценивали по наличию/отсутствию визуального роста в пробирках с посевами; бактерицидную активность – по наличию/отсутствию роста колоний микроорганизмов на чашках с агаром после высевы из пробірок.

Результаты. Установлено, что исследуемый экстракт магниевого сплава МЛ-10 обладает высокой бактериостатической и бактерицидной активностью по отношению к эталонным штаммам *E. coli* и *P. aeruginosa*. Рост культур кишечной и синегнойной паличек на агаре отмечен только в посевах из пробірок, в которые накануне были добавлены микроорганизмы в концентрации 10^9 КОЕ/мл, 10^8 КОЕ/мл, 10^7 КОЕ/мл. Максимальный рост колоний на агаре после высевы из данных емкостей зафиксирован только после первых суток инкубации. По мере термостатирования количество колоний, вырастающих на плотной среде после второго и третьего высевов, значительно уменьшалось. Так, общее количество колоний *E. coli*, выросших после высевы на агар из пробірок, в которые добавлено наибольшее количество бактерий (10^9 КОЕ/мл), уменьшилось с 220 (после первых суток инкубации экстракта) до 2 колоний после 72 часов выдержки жидкости в термостате, а в опытах с *P. aeruginosa* – с 192 до 1. Аналогичные результаты получены в опытах с меньшими микробными концентрациями, что говорит о высокой чувствительности грамотрицательных микроорганизмов к экстракту магниевого сплава МЛ-10.

Выводы. Магнийевый сплав МЛ-10 в жидкой среде проявляет высокую бактерицидную активність в отношении грамотрицательных микроорганизмов, эффективно подавляя рост эталонных тест-штаммов *E. coli* ATCC 25922 и *P. aeruginosa* ATCC 27853 в течение 72 часов.

Ключевые слова: магнийевый сплав, имплантат, антибактериальные свойства, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 337–340

Key words:
magnesium,
alloys, prostheses
and implants,
bacteriocides,
Escherichia coli,
Pseudomonas
aeruginosa.

Pathologia
2018; 15 (3), 337–340

Results of the in vitro study of the antibacterial activity of modified magnesium alloy in experiments with *E. coli* and *P. aeruginosa* test-strains

V. M. Chorny, N. M. Polishchuck, O. M. Kamyshnyi, M. L. Holovakha

The aim. To study the sensitivity of gram-negative microorganisms (the main pathogens of implant-associated infections) to the products of biodegradation of magnesium alloy ML-10, with subsequent justification for its use in traumatologic practice as artificial implants with antibacterial activity.

Methods. Magnesium alloy extract was prepared on the basis of Mueller-Hinton broth (pH 7.4). In sensitivity testing the reference test strains of *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 were used. The bacteriostatic activity of the alloy extract was estimated by the presence or absence of the visual growth in test-tubes with microorganisms; bactericidal activity – by presence or absence of the growth of microorganisms colonies on cups with Mueller-Hinton agar after sowing from test tubes.

The results of the study showed that the studied extract of magnesium alloy ML-10 shows high bacteriostatic and bactericidal activity with reference strains of *E. coli* and *P. aeruginosa*. The growth of this microorganisms on agar was observed only in test tubes, to which microorganisms at a concentration of 10^9 , 10^8 , 10^7 CFU/ml were added the day before. The maximum growth of colonies on agar after sowing from these containers was recorded only after the first day of incubation. During the incubation (37 °C) the number of colonies that grew in agar medium after the second and third sowing significantly decreased. Thus, the total number of *E. coli* colonies that grew after sowing on agar from tubes with the largest number of bacteria (10^9 CFU/ml) decreased from 220 (after the first day of incubation in extract) to 2 colonies after 72 hours of incubation of fluid in the thermostat, and from 192 to 1 colonies in experiments with *P. aeruginosa*. Similar results were obtained in experiments with lower microbial concentrations, which indicates high sensitivity of gram-negative microorganisms to ML-10 magnesium alloy extract.

Conclusions. Magnesium alloy ML-10 in a liquid medium shows high bactericidal activity against gram-negative microorganisms, effectively suppressing the growth of reference strains of *E. coli* ATCC 25922 and *P. aeruginosa* ATCC 27853 during 72 hours.

Актуальною проблемою застосування масивних заглиблених імплантатів в ортопедії, травматології є виникнення ускладнень, як-от інфікування в ділянці металоконструкцій [1,2]. У 1,0–8,5 % випадків встановлення постійного імплантата призводить до розвитку інфекції – хронічного постімплантаційного остеомієліту, що спричиняє інвалідизацію хворого [3]. За даними фахової літератури, у 8–10 % випадків збудниками імплантат-асоційованої інфекції (IAI) є грамнегативні мікроорганізми: представники родини *Enterobacteriaceae* – *Escherichia coli* та неферментуючі грамнегативні мікроорганізми – *Pseudomonas aeruginosa* [4–6]. Відомо, що ці бактерії входять до складу мікробіома кишечника людини, але вони характеризуються здатністю до швидкого формування багаторівневих мікробних біоплівки на поверхні штучних імплантатів і резистентністю до багатьох антибактеріальних препаратів, що істотно ускладнює терапію IAI [6,7]. У зв'язку з цим особливого значення у травматології та ортопедії набуває альтернативна профілактика IAI, що заснована на використанні як трансплантатів матеріалів, котрі завдяки антимікробним властивостям у процесі біодеградації можуть запобігати розмноженню патогенних мікроорганізмів та утворенню біоплівки.

Перспективним є вивчення біологічних властивостей сплавів на основі магнію (Mg^{2+}). Численні експерименти на кролях, щурах і вівцях показали, що сплави на основі магнію характеризуються біосумісністю, достатньою корозійною стійкістю, не токсичні, мають модуль пружності Юнга, який максимально наближений до модуля пружності кортикального шару кістки. Саме Mg не має антибактеріальних властивостей, але продукти корозії магнію (газоподібний водень, гідроксид магнію і солі Mg, що утворюються в результаті електрохімічної реакції), локально підвищують pH, що

надає ефективну бактерицидну дію. Постійний процес біокорозії поверхні імплантата ускладнює формування мікроорганізмами повноцінної біоплівки [8,9].

Для експерименту використали модифікований магнієвий сплав на основі промислового сплаву МЛ-10, модуль еластичності якого становить майже 45 GPa, що точніше відповідає модулю пружності кортикального шару кістки.

Мета роботи

Визначити чутливість грам негативних мікроорганізмів – основних збудників імплантат-асоційованих інфекцій – до продуктів біодеградації магнієвого сплаву МЛ-10 із наступним обґрунтуванням можливості використання у травматологічній практиці у складі штучних імплантатів, що характеризуються антибактеріальною активністю.

Матеріали і методи дослідження

Для експериментів зависі стружки (по 0,1 мг) стерилізували у 70 % спирті впродовж 5 хвилин, потім промивали у стерильному 0,85 % NaCl. Після стерилізації стружку занурювали у пробірки з бульйоном Мюллера–Хінтона (рН 7,4) з розрахунку 1 мг стружки на 1 мл бульйону. Зразки інкубували при 37 °C 72 годин, після чого надосадову рідину (екстракт) відбирали й центрифугували при 3000 обертах 5 хвилин. Екстракт, що отримали, використовували в дослідженнях.

Як тест-мікроорганізми використовували добові культури стандартних еталонних штамів *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (*American Type Culture Collection*), з яких методом серійних розведень у фізіологічному розчині (0,85 % NaCl) готували бактеріальну суспензію густиною від

10⁹ КУО/мл до 10⁴ КУО/мл. У кожен пробірку з 2 мл екстракту вносили по 0,2 мл бактеріальної суспензії відповідних розведень. Як контроль використовували пробірки з бульйоном Мюллера–Хінтона без екстракту, в які вносили ці посівні дози мікроорганізмів (контроль росту культури), і пробірки з бульйоном та екстрактом без внесення культури (контроль стерильності середовища). Пробірки з посівами інкубували при 37 °С 72 години. Щодня впродовж інкубації з пробірок робили висів вмісту (0,1 мл) на чашки з агаром Мюллера–Хінтона.

Облік результатів росту *E. coli* і *P. aeruginosa* на агарі (підрахунок колоній, що виростили) виконували після інкубації посівів при 37 °С 24 год. Бактеріостатичну активність екстракту сплаву оцінювали за наявністю/відсутністю візуального росту в пробірках із посівами, бактерицидну – за наявністю/відсутністю росту на чашках з агаром після висівання з пробірок. Антимікробну активність біодеградуючого сплаву досліджували в 5 повторях.

Статистичний аналіз отриманих результатів виконали за допомогою ліцензійних комп'ютерних програм Microsoft Excel 2010 і Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J). Під час аналізу розподілів кількісних даних визначали міри центральної тенденції – медіана (Me), міри варіації – інтерквартильний розмах у вигляді 25 і 75 перцентилів.

Результати

Встановили, що досліджуваний екстракт металу має високу бактеріостатичну й бактерицидну активність щодо еталонних штамів *E. coli* та *P. aeruginosa*. Під час огляду посівів у бульйоні Мюллера–Хінтона виявили: зростання культур в усіх пробірках з екстрактом і штамами протягом 3 діб візуально не визначили. Такий бактеріостатичний ефект продуктів біодеградації досліджуваного металу, ймовірно, пов'язаний зі значним зрушенням рН середовища в лужний бік до 9,64.

Під час вивчення бактерицидної активності сплаву виявлено, що протягом доби екстракт ефективно знешкоджує 10⁵, 10⁴, 10³ м.к. Зростання культур кишкової та синьогнійної паличок на агарі спостерігали тільки у висівах із пробірок, в які напередодні додано мікроорганізми в концентрації 10⁹ КУО/мл, 10⁸ КУО/мл, 10⁷ КУО/мл. Максимальне зростання колоній на агарі після висіву з цих пробірок зафіксували тільки після першої доби інкубації. Протягом термостатування кількість колоній, що виростала на агарі після другого та третього висівів, суттєво зменшувалась.

Найбільш показова бактерицидна дія екстракту – в досліді із найвищим мікробним навантаженням у 10⁹ КУО/мл. Так, загальна кількість колоній *E. coli*, що виростила після висіву на агар, зменшилась із 220 (після першої доби інкубації екстракту) до 2 колоній після 72 годин витримання рідини в термостаті (табл. 1), а в досліді із *P. aeruginosa* – з 192 до 1 (табл. 2). Аналогічні результати отримали в досліді із меншими мікробними концентраціями, що свідчить про високу чутливість грамнегативних мікроорганізмів до екстракту магнієвого сплаву МЛ-10.

Таблиця 1. Кількість колоній *E. coli* ATCC 25922, що виростили на агарі Мюллера–Хінтона після інкубації в екстракті магнієвого сплаву, Ме (Q25–Q75)

Час інкубації, години	Посівна доза <i>E. coli</i> , КУО/мл		
	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷
	Кількість колоній		
24	220 (128–242)	19 (16–31)	1,5 (1,0–2,0)
48	3 (2–29)	1,5 (1,0–2,0)	0
72	2,5 (2,0–3,0)	0	0

Таблиця 2. Кількість колоній *P. aeruginosa* ATCC 27853, що виростили на агарі Мюллера–Хінтона після інкубації в екстракті магнієвого сплаву, Ме (Q25–Q75)

Час інкубації, години	Посівна доза <i>P. aeruginosa</i> , КУО/мл		
	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁷
	Кількість колоній		
24	192 (102–201)	22 (16–24)	3 (1,5–4,5)
48	18 (1–9)	2 (1–2)	0
72	1 (1–1)	0	0

Висновки

1. Магнієвий сплав МЛ-10 у рідкому середовищі характеризується високою бактерицидною активністю завдяки утворенню продуктів біодеградації металу в результаті електрохімічної реакції та зміни рН середовища в лужний бік – із 7,4 до 9,6.

2. Грамнегативні мікроорганізми родини *Enterobacteriaceae* високочутливі до екстракту магнієвого сплаву МЛ-10, що підтверджується припиненням зростання тест-штаму *E. coli* ATCC 25922 протягом 3 діб.

3. Екстракт має антибактеріальні властивості щодо музейного тест-штаму неферментуючих грамнегативних мікроорганізмів – *P. aeruginosa* ATCC 27853, пригнічуючи його зростання впродовж 72 годин.

4. Результати досліджень підтверджують можливість застосування сплаву МЛ-10 в складі імплантатів, що мають унікальну особливість – запобігати зростанню збудників імплантат-асоційованих інфекцій.

Перспективи подальших досліджень. Результати, що отримали, свідчать про перспективність наукових досліджень у цьому напрямі, оскільки необхідне вивчення протимікробної активності магнієвого сплаву МЛ-10 щодо клінічних штамів мікроорганізмів – збудників інфекцій, зумовлених медичним втручанням.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Чорний В. М., канд. мед. наук, доцент каф. травматології та ортопедії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Поліщук Н. М., канд. мед. наук, старший викладач каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Камишний О. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Головаха М. Л., д-р мед. наук, професор, зав. каф. травматології та ортопедії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Чёрный В. Н., канд. мед. наук, доцент каф. травматологии и ортопедии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Полищук Н. Н., канд. мед. наук, старший преподаватель каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Камышный А. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Головаха М. Л., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. травматологии и ортопедии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Chornyi V. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Traumatology and Orthopedics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Polishchuck N. M., MD, PhD, Senior Lecturer of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

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

Holovakha M. L., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Traumatology and Orthopedics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 02.03.2018

Після доопрацювання / Revised: 11.08.2018

Прийнято до друку / Accepted: 23.08.2018

Список літератури

- [1] Surgical site infection in orthopedic trauma: A case-control study evaluating risk factors and cost / R.V. Thakore, S.E. Greenberg, H. Shi, et al. // *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*. – 2015. – Vol. 6. – Issue 4. – P. 220–226.
- [2] Infections in orthopedics and traumatology. Pathogenesis and therapy / D. Scheffer, S. Hofmann, M. Pietsch, C. Wenisch // *Orthopade*. – 2008. – Vol. 37. – Issue 7. – P. 709–18.
- [3] Biomaterial-Associated Infection: Locating the Finish Line in the Race for the Surface / H.J. Busscher, H.C. van der Mei, G. Subbiahdoss, et al. // *Science Translational Medicine*. – 2012. – Vol. 4. – Issue 153. – P. 153rv10.
- [4] Prevalence of Surgical Site Infection in Orthopedic Surgery: A 5-year Analysis / F.A. Al-Mulhim, M.A. Baragbah, M. Sadat-Ali, et al. // *International surgery*. – 2014. – Vol. 99. – Issue 3. – P. 264–268.
- [5] Outcome of acute prosthetic joint infections due to gram-negative bacilli treated with open debridement and retention of the prosthesis / J.C. Martínez-Pastor, E. Muñoz-Mahamud, F. Vilchez, et al. // *Antimicrobial agents and Chemotherapy*. – 2009. – Vol. 53. – Issue 11. – P. 4772–4777.
- [6] *Springer Series on Biofilms. Infections of Orthopaedic Implants and Device* / R.A. Brady, J.H. Calhoun, J.G. Leid, M.E. Shirtliff. – New York: Springer, 2009.
- [7] Stewart P.S. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms / P.S. Stewart, J.W. Costerton // *Lancet*. – 2001. – Vol. 358. – P. 135–82009.
- [8] Addition of Zn to the ternary Mg–Ca–Sr alloys significantly improves their antibacterial properties / He Guanping, Wu Yuanhao, Yu Zhang, et al. // *Journal of Materials Chemistry*. – 2015. – Vol. 3. – Issue 32. – P. 6676–6689.
- [9] In vitro antibacterial properties of magnesium metal against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* / D.A. Robinson, R.W. Griffith, D. Shechtman, et al. // *Acta Biomaterialia*. – 2010. – Vol. 6. – Issue 5. – P. 1869–1877.
- [3] Busscher, H. J., van der Mei, H. C., Subbiahdoss, G., Jutte, P. C., van den Dungen, J. J., Zaat, S. A., et al. (2012) Biomaterial-Associated Infection: Locating the Finish Line in the Race for the Surface. *Science Translational Medicine*, 4(153), 153rv10. doi: 10.1126/scitranslmed.3004528.
- [4] Al-Mulhim, F. A., Baragbah, M. A., Sadat-Ali, M., Alomran, A. S., & Azam, M. Q. (2014) Prevalence of Surgical Site Infection in Orthopedic Surgery: A 5-year Analysis. *International surgery*, 99(3), 264–8. doi: 10.9738/INTSURG-D-13-00251.1.
- [5] Martínez-Pastor, J. C., Muñoz-Mahamud, E., Vilchez, F., García-Ramiro, S., Bori, G., Sierra, J., et al. (2009) Outcome of acute prosthetic joint infections due to gram-negative bacilli treated with open debridement and retention of the prosthesis. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 53(11), 4772–7. doi: 10.1128/AAC.00188-09.
- [6] Brady, R. A., Calhoun, J. H., Leid, J. G., & Shirtliff, M. E. (2009) *Springer Series on Biofilms. Infections of Orthopaedic Implants and Device*. N.Y.: Springer.
- [7] Stewart, P. S., & Costerton, J. W. (2001) Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*, 358(9276), 135–8.
- [8] Guanping, H., Yuanhao, W., Zhang, Y., Zhu, Y., Liu, Y., Li, N., et al. (2015) Addition of Zn to the ternary Mg–Ca–Sr alloys significantly improves their antibacterial properties. *Journal of Materials Chemistry*, 3(32), 6676–6689. doi: [10.1039/C5TB01319D].
- [9] Robinson, D. A., Griffith, R. W., Shechtman, D., Evans, R. B., & Conzernius M. G. (2010) In vitro antibacterial properties of magnesium metal against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Acta Biomaterialia*, 6(5), 1869–1877. doi: 10.1016/j.actbio.2009.10.007.

References

- [1] Thakore, R. V., Greenberg, S. E., Shi, H., Foxx, A. M., Francois, E. L., Prablek, M. A., et al. (2015) Surgical site infection in orthopedic trauma: A case-control study evaluating risk factors and cost. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*, 6(4), 220–6. doi: 10.1016/j.jcot.2015.04.004.
- [2] Scheffer, D., Hofmann, S., Pietsch, M., & Wenisch, C. (2008) Infections in orthopedics and traumatology. *Pathogenesis and therapy. Orthopade*, 37(7), 709–18. doi: 10.1007/s00132-008-1301-x.

Стан кісткового метаболізму в пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу

В. І. Кривенко, О. І. Бородавко

Запорізький державний медичний університет, Україна

Мета роботи – дослідити стан кісткового метаболізму та його взаємозв'язок із показниками вуглеводного обміну у хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу.

Матеріали та методи. Обстежили 94 пацієнти. У 1 групу включили 22 особи, які хворі на остеопороз (ОП), у 2 – 22 пацієнти з ЦД 2 типу, 3 групу – 50 хворих із поєднаним перебігом ЦД 2 типу та ОП. Усім пацієнтам виконали ультразвукову денситометрію на ультразвуковому денситометрі Omnisense 7000 (BeamMed Ltd, Ізраїль). Стан кісткової тканини оцінювали за критеріями ВООЗ. Усім хворим визначали рівень остеокальцину (ОК), паратгормону (ПТГ), кальцитоніну в сироватці крові, рівень дезоксипіридиноліну (ДПІД) визначали у ранковій сечі. У пацієнтів із ЦД 2 типу визначали с-пептид, інсулін, глюкозу натще, HbA1c, розраховували індекс НОМА.

Результати. Виявили, що в пацієнтів 3 групи відбувалось вірогідне зниження рівня ОК на 44 %, ДПІД на 24 %, ПТГ на 28 % порівняно з пацієнтами 1 групи ($p < 0,05$). У 53 % хворих 3 групи розвиток ОП характеризувався зниженням кісткоутворення на тлі підвищеної резорбції. Пацієнти 3 групи мали вірогідно вищий рівень HbA1c на 11,5 %, глюкози – на 25,0 %, індекс НОМА – на 7,2 % ($p < 0,05$), а рівень ОК і ДПІД був нижчим на 8,5 % та 17,0 % ($p < 0,05$) відповідно порівняно з пацієнтами 2 групи. Рівень HbA1c суттєво впливає на стан кісткового метаболізму. При підвищенні HbA1c понад 7,5 %, рівень ОК знижується на 12,0 %, а ДПІД – на 17,0 % ($p < 0,05$).

Висновки. Результати свідчать, що ЦД 2 типу призводить до уповільнення кісткового метаболізму, оскільки в пацієнтів 3 групи вірогідно знижуються рівні ОК і ДПІД порівняно з пацієнтами 1 групи. Недостатній вуглеводний контроль може бути одним із факторів, що зумовлює зниження рівнів маркерів кісткового обміну.

Ключові слова:

цукровий діабет 2 типу, кістковий метаболізм, остеопороз.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 341–345

DOI:
10.14739/2310-1237.2018.3.151855

E-mail:
oleo1714@gmail.com

Состояние костного метаболизма у пациентов с сахарным диабетом 2 типа

В. И. Кривенко, О. И. Бородавко

Цель работы – оценить состояние костного метаболизма и его взаимосвязь с показателями углеводного обмена у больных сахарным диабетом (СД) 2 типа.

Материалы и методы. Обследовали 94 пациента. В 1 группу включили 22 больных остеопорозом (ОП), во 2 – 22 пациента с СД 2 типа, 3 группу – 50 больных с сочетанным течением СД 2 типа и ОП. Всем пациентам проводили ультразвуковую денситометрию на ультразвуковом денситометре Omnisense 7000 (BeamMedLtd, Израиль). Состояние костной ткани оценивали по критериям ВОЗ. Всем пациентам определяли уровень остеокальцина (ОК), паратгормона (ПТГ), кальцитонина в сыворотке крови, уровень дезоксипиридинолина (ДПИД) мочи определяли в утренней моче. Пациентам с СД 2 типа определяли уровень с-пептида, инсулина, глюкозы натощак, HbA1c, рассчитывали индекс НОМА.

Результаты. У пациентов 3 группы имело место достоверное снижение уровня ОК на 44 %, ДПИД на 24 %, ПТГ на 28 % в сравнении с пациентами 1 группы ($p < 0,05$). У 53 % больных 3 группы развитие ОП характеризовалось снижением костеобразования на фоне повышенной резорбции. Пациенты 3 группы имели достоверно более высокий уровень HbA1c на 11,5 %, глюкозы – на 25,0 %, индекс НОМА – на 7,2 % ($p < 0,05$), а уровень ОК и ДПИД был ниже на 8,5 % и 17,0 % ($p < 0,05$) соответственно в сравнении с пациентами 2 группы. Уровень HbA1c существенно воздействует на состояние костного метаболизма. При повышении HbA1c более 7,5 % уровень ОК снижается на 12,0 %, а ДПИД – на 17,0 % ($p < 0,05$).

Выводы. Полученные данные свидетельствуют, что СД 2 типа приводит к замедлению костного метаболизма, так как у пациентов 3 группы достоверно снижаются уровни ОК и ДПИД в сравнении с пациентами с ОП без СД 2 типа. Недостаточный углеводный контроль может быть одним из факторов, которые способствуют снижению уровня маркеров костного обмена.

Ключевые слова:

сахарный диабет 2 типа, костный метаболізм, остеопороз.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 341–345

The state of bone metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus

V. I. Kryvenko, O. I. Borodavko

The aim of this work is to investigate the state of bone metabolism status and its relationship with carbohydrate metabolism in patients with type 2 diabetes.

Materials and methods. 94 patients were studied, among whom the 1st group – 22 patients with osteoporosis (OP), the 2nd group – 22 patients with type 2 diabetes mellitus (DM), the 3rd group – 50 patients with combined course of these diseases. An ultrasound densitometry using the Omnisense 7000 ultrasound densitometer (BeamMed Ltd, Israel) was performed for all the patients. The state of bone tissue was determined by criteria of the WHO. The levels of osteocalcin (OC), parathyroid hormone (PTH), calcitonin in blood serum, the level of deoxypyridinoline (DPD) were determined in morning urine for all patients. In patients with type 2 DM the levels of C-peptide, insulin, glucose, HbA1c and HOMA index were studied.

Key words:

type 2 diabetes mellitus, bone metabolism, osteoporosis.

Pathologia
2018; 15 (3), 341–345

Results. It was revealed that patients of the 3rd group had significant decrease in OC level by 44 %, DPD by 24 %, PHT by 28 % ($P < 0.05$) in comparison to the patients of the 1st group. In 53 % of patients of the 3rd group the development of OP was characterized by decreased bone formation and increased bone resorption. The patients of the 3rd group had significantly higher levels of Hb1c by 11.5 %, glucose by 25 %, HOMA index by 7.2 % ($P < 0.05$), while the level of OC and DPD were lower by 8.5 % and 17 %, ($P < 0.05$) respectively in comparison with patients of group 2. The levels of OC and DPD were significantly lower in patients with decompensation of type 2 diabetes, in comparison with compensated diabetes by -12 % and -17 %, respectively ($P < 0.05$). The level of HbA1c significantly influences the state of bone metabolism. With an increase in HbA1c of more than 7.5 %, the level of OC decreases by 12 %, and DPD by 17 % ($P < 0.05$).

Conclusions. The results suggest that type 2 DM leads to slowdown of bone metabolism, as the 3rd group patients had significantly reduced levels of OC and DPD as compared to the patients of the 1st group. Poor glycemic control can be one of the factors that reduce the level of bone markers.

Кількість хворих на цукровий діабет (ЦД) невпинно зростає в Україні й усьому світі [1]. За даними Міжнародної асоціації діабету, за 25 років кількість хворих зростає до 650 млн осіб, і 90–95 % припадає на ЦД 2 типу [1].

Останнім часом науковці включають у групу хронічних ускладнень ЦД 2 типу прояви остеопорозу (ОП) [2]. Встановлено, що зниження мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ), переломи та зменшення рівня остеокальцину (ОК) у сироватці крові асоціюються з підвищенням смертності у хворих на ЦД 2 типу (ВШ 3,25; ДІ: 1,48–7,16 $p = 0,003$) [3].

Ще одним підтвердженням тісного взаємозв'язку ЦД 2 типу та ОП є дані щодо впливу ОК (маркера кісткоутворення) на вуглеводний обмін. За даними низки досліджень, дефіцит ОК призводить до проліферації бета-клітин, зниження секреції інсуліну, підвищення інсулінорезистентності, надалі – до розвитку ЦД, а екзогенне його введення поліпшує перебіг діабету [4]. Багато науковців вказують на знижений рівень ОК у хворих на ЦД 2 типу, але дані щодо кісткової резорбції є суперечливими [5]. Так, за даними низки вчених, у пацієнтів із ЦД 2 типу кісткова резорбція підвищується, а в більшості досліджень виявлено її зниження разом із кісткоутворенням [5]. Продовження вивчення потребує взаємозв'язок маркерів кісткового метаболізму з показниками вуглеводного обміну.

Мета роботи

Дослідити стан кісткового метаболізму та його взаємозв'язок із показниками вуглеводного обміну у хворих на цукровий діабет 2 типу.

Матеріали і методи дослідження

На базі навчально-наукового медичного центру «Університетська клініка» Запорізького державного медичного університету обстежили 94 пацієнти, яких поділили на 3 групи: у 1 включили 22 особи, які хворі на ОП (11 чоловіків, 11 жінок), 2 – 22 пацієнти з ЦД 2 типу (11 чоловіків, 11 жінок), у 3 групу – 50 хворих із поєднаним перебігом ЦД 2 типу та ОП (24 чоловіки, 26 жінок). Середній вік у групах вірогідно не відрізнявся та становив відповідно 59,0 (53,0; 63,0), 58,6 (54,0; 62,0), 60,5 (55,5; 65,0) року. Індекс маси тіла у групах дорівнював відповідно $29,8 \pm 3,9$, $31,8 \pm 4,0$, $31,3 \pm 4,5$ kg/m^2 і вірогідно відрізнявся в пацієнтів 1 та 2 груп.

Пацієнти 2 та 3 груп були зіставні за тривалістю ЦД 2 типу, отримували пероральну цукрознижувальну терапію, мали середній ступінь тяжкості ЦД.

Критерії залучення в дослідження: підписана інформована згода пацієнта на участь, верифікований діагноз ЦД 2 типу (згідно з наказом МОЗ України № 1118 від 21.12.2012 р.), вік від 50 до 70 років. Критерії виключення: ЦД 1 типу, вторинний інсулінозалежний ЦД, приймання глюкокортикостероїдів понад 3 місяці, порушення функції щитоподібної залози, хронічна серцева недостатність, хронічна хвороба нирок, системні захворювання сполучної тканини, жінки з передчасною (до 45 років) або штучною менопаузою.

Верифікацію ОП виконали згідно з наказом МОЗ № 676 від 12.10.2006 р. та рекомендаціями Міжнародної асоціації клінічної денситометрії (2015 р.) [6]. Усім пацієнтам виконали ультразвукову денситометрію на ультразвуковому денситометрі Omnisense 7000 (BeamMed Ltd, Ізраїль) на трьох кістках: проксимальна фаланга III пальця кисті, дистальний відділ 1/3 променевої кістки, середина великогомілкової кістки. Стан кісткової тканини оцінили за критеріями ВООЗ: нормальний стан – Т-критерій $> -1,0$ SD, остеопенія – Т-критерій від $-1,0$ SD до $-2,5$ SD, ОП – Т-критерій $< -2,5$ SD [6].

У всіх хворих визначили рівень остеокальцину (набір реактивів фірми Immunodiagnostic Systems Limited, Велика Британія), дезоксипіридиноліну сечі (набір реактивів фірми Quidel Corporation, США), кальцитоніну, паратгормона (набір реактивів Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd., Велика Британія). Пацієнтам із ЦД 2 типу визначали рівень інсуліну, с-пептиду (набір реактивів фірми Monobind Inc., США) за допомогою імуноферментного методу на мікропланшетному фотометрі Immunochem-2100 (High Technology, США). Глюкозу натще та глікозильований гемоглобін (HbA1c) досліджували в сироватці крові на біохімічному аналізаторі Prestige 24i (Токуо Boeki, Японія). Хворим на ЦД 2 типу розраховували індекс інсулінорезистентності (НОМА) за стандартною методикою [7].

Протягом роботи дотримувалися принципів біоетики: основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), GCP (1996 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи здійснення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2000 рр.) і наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р.

Статистичне опрацювання виконали за допомогою комп'ютерної програми Statistica 13.0 for Windows (StatSoft Inc., №JPZ8041382130ARCN10-J). Аналіз показників на нормальність розподілу виконали методом Шапіро–Уїлка. Дані описової статистики наведені як середнє арифметичне та стандартне відхилення

при нормальному розподілі ознаки, а при розподілі, що відрізняється від нормального, – як медіана та міжквартильний розмах. Якісні ознаки наведено як абсолютні значення та відсотки з зазначенням довірчого інтервалу (ДІ). Параметри в досліджуваних групах порівняли за допомогою *t*-критерію Стюдента й тесту Манна–Уїтні залежно від розподілу ознаки. Для визначення характеру та сили зв'язку між досліджуваними показниками залежності від характеру розподілу даних використовували коефіцієнт кореляції Пірсона або Спірмана. Для вивчення зв'язку між залежною перемінною та незалежними перемінними використовували метод парної регресії. Статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$.

Результати

Порівнюючи маркери кісткового обміну в пацієнтів 1 та 3 груп, виявили: в осіб з поєднаним перебігом ЦД 2 типу та ОП відбувалось статистично вірогідне зниження рівня ОК на 44 %, дезоксипіридиноліну (ДПІД) – на 24 %, паратгормона (ПТГ) – на 28 % порівняно з пацієнтами 1 групи (табл. 1).

Аналізуючи результати, можна виділити 3 варіанти кісткового метаболізму в пацієнтів з проявами ОП (1 та 3 групи): 1 варіант – кісткоутворення в нормі, резорбція підвищена; 2 варіант – кісткоутворення знижене, резорбція підвищена; 3 варіант – кісткоутворення знижене, а резорбція у нормі.

Перший варіант зареєстрували в 56 % пацієнтів 1 групи (ДІ: 39; 42). Серед хворих 3 групи його діагностували тільки в 11 % випадків (ДІ: 3; 21). У 89 % обстежених хворих (ДІ: 77; 95) із поєднаним перебігом ЦД 2 типу та ОП визначили 2 і 3 варіанти. Зниження процесів кісткоутворення на тлі підвищеної резорбції виявили у 53 % пацієнтів (ДІ: 39; 67), а у 36 % хворих (ДІ: 23; 56) діагностували зниження кісткоутворення при збереженій резорбції кісткової тканини.

Отримана неоднорідність варіантів стану кісткового метаболізму у хворих на ЦД 2 типу зумовила пошук факторів, що впливають на кістковий обмін. За даними науковців, порушення вуглеводного обміну може бути одним із таких чинників [5]. Тому надалі проаналізували маркери кісткового метаболізму, параметри вуглеводного статусу у хворих 2 та 3 груп.

Встановили, що в пацієнтів 3 групи порівняно з хворими 2 групи відбулося вірогідне підвищення HbA1c на 11,5 %, глюкози на 25,0 % та індексу НОМА на 7,2 % ($p < 0,05$). Враховуючи, що 2 та 3 групи не мали відмінностей за віком, статтю пацієнтів, тривалості перебігу ЦД 2 типу, а також беручи до уваги зниження у хворих з поєднаним перебігом ЦД 2 типу та ОП рівнів ОК на 8,5 % та ДПІД на 17,0 % ($p < 0,05$), можна припустити: саме порушення вуглеводного обміну чинять істотний вплив на МЩКТ і формування кісткового дисметаболізму в дослідженій когорті пацієнтів.

Зроблене припущення отримало підтвердження під час аналізу взаємозв'язку інсулінорезистентності з МЩКТ у хворих на ЦД 2 типу. Підвищення індексу НОМА мало вірогідний взаємозв'язок зі зниженням Т-індексу променевої ($r = -0,28$, $p < 0,05$) та великогомілкової кісток ($r = -0,31$, $p < 0,05$).

Надалі методом парного регресійного аналізу оцінили взаємозв'язок маркерів кісткового метаболізму та показників вуглеводного обміну. Виявили, що ОК асоціюється з концентрацією HbA1c та індексом НОМА, а величина ДПІД із рівнем HbA1c.

Модель залежності рівня ОК від HbA1c:

$$OK = -1,03HbA1c.$$

Модель із коефіцієнтом детермінації ($R^2 = 0,31$) описує 31 % вхідних даних, є статистично значущою, оскільки розрахункове значення критерію Фішера (Фрозрах. = 4,5) більше за критичне (Фкрит. (0,05;1;72) = 3,9). При підвищенні HbA1c на 1 % концентрація ОК знизиться на 1,03 нг/мл.

Модель залежності рівня ОК від індексу НОМА:

$$OK = -0,54НОМА.$$

Модель з коефіцієнтом детермінації ($R^2 = 0,32$) описує 32 % вхідних даних, є статистично значущою, оскільки розрахункове значення критерію Фішера (Фрозрах. = 4,7) більше за критичне (Фкрит. (0,05;1;72) = 3,9). При підвищенні індексу НОМА на 1 ум. од. рівень ОК знизиться на 0,54 нг/мл.

Модель залежності рівня ДПІД від HbA1c:

$$ДПІД = -0,73HbA1c.$$

Модель з коефіцієнтом детермінації ($R^2 = 0,30$) описує 30 % вхідних даних, є статистично значущою, оскільки розрахункове значення критерію Фішера (Фрозрах. = 4,8) більше за критичне (Фкрит. (0,05;1;72) = 3,9). Підвищення HbA1c на 1 % супроводжується зниженням ДПІД на 0,73 нмоль ДПІД/моль креатиніну.

Таблиця 1. Загальна характеристика кісткового метаболізму та вуглеводного обміну в хворих, яких обстежили

Показники, одиниці вимірювання	Хворі на ОП (1 група) n = 22	Хворі на ЦД 2 типу (2 група) n = 22	Хворі на ЦД 2 типу та ОП (3 група) n = 50
Остеокальцин, нг/мл	17,4 (12,1; 29,3)	10,6 (8,4; 13,1)	9,7 (6,0; 12,1) ^{§, #}
ДПІД, нмоль ДПІД/моль креатиніну	8,7 (6,8; 11,8)	8,0 (6,1; 9,3)	6,6 (4,6; 8,5) ^{§, #}
Кальцитонін, пг/мл	2,0 (2,0; 5,0)	2,3 (2,0; 13,3)	2,0 (2,0; 2,5)
Паратгормон, пг/мл	41,8 (29,4; 51,6)	27,8 (24,4; 32,4)	30,1 (20,2; 38,5) *
Тривалість ЦД 2 типу, роки	–	5 (2; 8)	6 (3; 9)
Глюкоза, ммоль/л	4,7 ± 1,2	8,7 ± 3,0	10,9 ± 2,4) ^{§, #}
HbA1c, %	5,8 (5,5; 6,0)	7,8 (6,4; 9,0)	8,7 (7,9; 10,6) ^{§, #}
Інсулін, мкОд/мл	–	28,7 (22,5; 37,0)	30,5 (26,5; 35,0)
С-пептид, нг/мл	–	5,6 (3,6; 8,4)	6,2 (4,4; 7,6)
Індекс НОМА, ум. од.	–	12,5 (9,4; 13,9)	13,4 (12,0; 16,5) [#]

*: $p < 0,05$; §: $p < 0,01$ порівняно з пацієнтами 1 групи; #: $p < 0,05$ порівняно з пацієнтами 2 групи.

Таблиця 2. Стан кісткового метаболізму у хворих на цукровий діабет 2 типу залежно від перебігу захворювання

Показники, одиниці вимірювання	Група 1.1 (HbA1c ≤ 7,5 %) 7,0 (6,4; 7,3) n = 31	Група 1.2 (HbA1c > 7,5 %) 8,4 (7,7; 9,8) n = 41
Остеокальцин, нг/мл	10,8 (9,1; 16,4)	9,5 (6,1; 11,3)*
ДПІД, нмоль ДПІД/моль креатиніну	8,4 (6,4; 10,7)	6,7 (4,7; 8,4)*
Кальцитонін, пг/мл	2 (2; 3)	2 (2; 4)
Паратгормон, пг/мл	27,9 (22,3; 32,0)	31,8 (20,8; 40,5)

*: p < 0,05.

За результатами парного регресійного аналізу, саме рівень глікозильованого гемоглобіну у хворих на ЦД 2 типу суттєво пов'язаний із кістковим обміном, що й зумовило необхідність аналізу стану кісткоутворення, резорбції залежно від величини HbA1c.

Для вирішення цього завдання пацієнтів із ЦД 2 типу поділили залежно від рівня HbA1c на 2 групи: у групу 1.1 включені пацієнти, які мали рівень HbA1c до 7,5 %, у групу 1.2 – хворі зі значенням HbA1c понад 7,5 % (табл. 2) [8]. У групі 1.2 зареєстровані вірогідно нижчі рівні ОК і ДПІД порівняно з групою 1.1 на 12 % та 17 % відповідно (p < 0,05).

Обговорення

Дані, що наводимо, свідчать про уповільнення у хворих на ЦД 2 типу та ОП метаболічних процесів у кістковій тканині. Так, у цієї когорти пацієнтів знижується рівень ОК, ДПІД і ПТГ порівняно з пацієнтами без ЦД 2 типу. За показником ОК отримані результати збігаються з дослідженнями інших науковців, адже гіперглікемія стимулює продукцію активних форм кисню, котрі можуть знижувати остеобластогенез через підвищення секреції склеростину та блокування Wnt-шляху [9].

Але у фаховій літературі залишається дискусійним питання щодо динаміки маркерів кісткової резорбції. Так, за даними метааналізу, кісткова резорбція у хворих на ЦД 2 типу може й підвищуватися, і знижуватися [5]. За результатами виконаного дослідження у хворих 3 групи рівень ДПІД був вірогідно нижчим, ніж у пацієнтів 1 групи, що, за даними науковців, можна пояснити негативним впливом кінцевих продуктів глікозування на експресію ліганд рецептора активатора ядерного фактора каппа В (RANKL), який стимулює диференціацію остеокластів [4].

Важливе значення для оцінювання процесів резорбції має також визначення рівня паратгормона, який регулює обмін кальцію та стимулює руйнування кісткової тканини. У пацієнтів із поєднаним перебігом ЦД 2 типу та ОП його рівень був на 28 % нижче, ніж у хворих 1 групи (p < 0,05). Незважаючи на вірогідне зниження ПТГ в осіб 3 групи, рівень кальцитоніну, який є фізіологічним антагоністом ПТГ, істотно не змінювався. Логічно припустити, що в пацієнтів із поєднаним перебігом ЦД 2 типу та ОП концентрація кальцитоніну в сироватці крові не показує зміни в кістковому метаболізмі.

У пацієнтів із поєднаним перебігом ЦД та ОП рівні ОК, ДПІД були вірогідно нижчими, а рівень HbA1c, глюкози та індексу НОМА вірогідно вищими порівняно

з пацієнтами з ізольованим ЦД. Одним з етіологічних чинників впливу на кісткову тканину є інсулінорезистентність. Виявили негативний кореляційний зв'язок показників денситометрії з індексом НОМА. За даними С. Verroken et al. (2016), індекс НОМА також мав негативну асоціацію з МЩКТ кортикального та трабекулярного шару променевої, великогомілкової кісток [10]. Але патогенетичні механізми впливу інсуліну на кісткову тканину у хворих на ЦД 2 типу нині остаточно не з'ясовані. За даними експериментальних досліджень, зниження МЩКТ може пояснюватися виникненням інсулінорезистентності саме у кістковій тканині [11].

У пацієнтів із недостатнім вуглеводним контролем рівень ОК на 12 %, а ДПІД на 17 % нижчий порівняно з пацієнтами з рівнем HbA1c до 7,5 %. Отримані дані також підтверджуються наявністю вірогідного взаємозв'язку за даними регресійного аналізу, ОК і ДПІД із рівнем HbA1c у хворих на ЦД 2 типу. Результати опосередковано підтверджують важливість контролю рівня HbA1c як одного з факторів прогресування зниження МЩКТ і кісткового дисметаболізму. За даними І. Kanazawa et al., зниження рівня HbA1c у хворих на ЦД 2 типу супроводжується підвищенням концентрації ОК і, відповідно, поліпшенням процесів кісткоутворення [12].

Отже, результати вказують на зниження кісткового обміну у хворих на ЦД 2 типу, що підтверджується зниженням рівня ДПІД, ОК і ПТГ у пацієнтів із поєднаним перебігом ЦД 2 типу щодо хворих без діабету. Наявність тісного взаємозв'язку між кістковим метаболізмом і вуглеводним обміном показує важливість контролю діабету для запобігання зниженню МЩКТ і розвитку ОП.

Висновки

У хворих на ЦД 2 типу відбувається порушення кісткового метаболізму, а саме його уповільнення, що проявляється вірогідним зниженням рівня ОК і ДПІД, які зворотно корелюють з вмістом HbA1c.

Перспективи подальших досліджень. Визначити взаємозв'язок оксидативного стресу з маркерами кісткового метаболізму у хворих із поєднаним перебігом ЦД 2 типу та ОП.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Кривенко В. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. сімейної медицини, терапії, кардіології і неврології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Бородавко О. І., аспірант каф. сімейної медицини, терапії, кардіології і неврології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Кривенко В. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. семейной медицины, терапии, кардиологии и неврологии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Бородавко О. И., аспирант каф. семейной медицины, терапии, кардиологии и неврологии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Kryvenko V. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Family Medicine, Therapy, Cardiology and Neurology, Faculty of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Borodavko O. I., MD, Postgraduate of the Department of Family Medicine, Therapy, Cardiology and Neurology, Faculty of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 25.07.2018

Після доопрацювання / Revised: 03.09.2018

Прийнято до друку / Accepted: 14.09.2018

Список літератури

- [1] Cho N.H. IDF Diabetes Atlas, seventh edition [Electronic resources] / N.H. Cho, D. Whiting, N. Forouhi, et al. // International Diabetes Federation. – 2015. – Retrieved from <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas/13-diabetes-atlas-seventh-edition.html>.
- [2] Мануленко В.В. Клинические особенности развития остеопатии у больных сахарным диабетом 2-го типа [Электронный ресурс] / В.В. Мануленко, А.Н. Шишкин, С.О. Мазуренко // Международный эндокринологический журнал. – 2010. – №3(27). – Режим доступа: <http://www.mif-ua.com/archive/article/12468>.
- [3] Miyake H. Association of Bone Mineral Density, Bone Turnover Markers, and Vertebral Fractures with All-Cause Mortality in Type 2 Diabetes Mellitus / H. Miyake, I. Kanazawa, T. Sugimoto // *Calcified Tissue International*. – 2018. – Vol. 102. – Issue 1. – P. 1–13.
- [4] Kanazawa I. Interaction between bone and glucose metabolism / I. Kanazawa // *Endocrine Journal*. – 2017. – Vol. 64. – Issue 11. – P. 1043–1053.
- [5] Starup-Linde J. Diabetes, Biochemical Markers of Bone Turnover, Diabetes Control, and Bone / J. Starup-Linde // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2013. – Vol. 4. – P. 21.
- [6] Official Positions of The International Society for Clinical Densitometry – 2015. [Electronic resources]. – Retrieved from <https://iscd.app.box.com/v/OP-ISCD-2015-Adult>.
- [7] Мітченко О.І. Реалізація міжнародних рекомендацій щодо профілактики серцево-судинних захворювань у жінок: фокус на омега-3-поліненасичені жирні кислоти / О.І. Мітченко, В.Ю. Романов, Г.Я. Ілляшина // Український медичний часопис. – 2013. – №2(94). – С. 107–109.
- [8] Correlates of aortic stiffness progression in patients with type 2 diabetes: importance of glycemic control: the Rio de Janeiro type 2 diabetes cohort study / M.T. Ferreira, N.C. Leite, C.R. Cardoso, G.F. Salles // *Diabetes Care*. – 2015. – Vol. 38. – Issue 5. – P. 897–904.
- [9] Vianna A.G.D. The impact of type 2 diabetes on bone metabolism / A.G.D. Vianna, C.P. Sanches, F.C. Barreto // *Diabetology & Metabolic Syndrome*. – 2017. – Vol. 9. – P. 85.
- [10] Insulin resistance is associated with smaller cortical bone size in non-diabetic men at the age of peak bone mass / C. Verroken, H.G. Zmierczak, S. Goemaere, et al. // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2017. – Vol. 102. – Issue 6. – P. 1807–1815.
- [11] Bone-specific insulin resistance disrupts whole-body glucose homeostasis via decreased osteocalcin activation / J. Wei, M. Ferron, C.J. Clarke, et al. // *J Clin Invest*. – 2014. – Vol. 124. – Issue 4. – P. 1781–1793.
- [12] Adiponectin is associated with changes in bone markers during glycemic control in type 2 diabetes mellitus / I. Kanazawa, T. Yamaguchi, M. Yamauchi, et al. // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2009. – Vol. 94. – Issue 8. – P. 3031–7.

References

- [1] Cho, N. H., Whiting, D., Forouhi, N., Guariguata, L., Hambleton, I., Li, R., et al. (2015). *IDF Diabetes Atlas, seventh edition*. International Diabetes Federation. Retrieved from: <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas/13-diabetes-atlas-seventh-edition.html>.
- [2] Manulenko, V. V., Shishkin, A. N. & Mazurenko, S. O. (2010). Klinicheskie osobennosti razvitiya osteopatii u bol'nykh sakharnym diabetom 2-go tipa [Clinical specificity of the development of osteopathy in patients with type 2 diabetes mellitus]. *Mezhdunarodnyj e'ndokrinologicheskij zhurnal*, 3(27). Retrieved from: <http://www.mif-ua.com/archive/article/12468> [in Russian].
- [3] Miyake, H., Kanazawa, I., & Sugimoto, T. (2018). Association of Bone Mineral Density, Bone Turnover Markers, and Vertebral Fractures with All-Cause Mortality in Type 2 Diabetes Mellitus. *Calcified Tissue International*. 102(1), 1–13. doi: 10.1007/s00223-017-0324-x.

- [4] Kanazawa, I. (2017). Interaction between bone and glucose metabolism *Endocrine Journal*, 64(11), 1043–1053. doi: 10.1507/endocrj.EJ17-0323.
- [5] Starup-Linde, J. (2013). Diabetes, Biochemical Markers of Bone Turnover, Diabetes Control, and Bone. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 4, 21. doi: 10.3389/fendo.2013.00021.
- [6] (2015). *Official Positions of The International Society for Clinical Densitometry* Retrieved from: <https://iscd.app.box.com/v/OP-ISCD-2015-Adult>.
- [7] Mitchenko, O. I., Romanov, V. Yu., Illiushyna, H. Ya. (2013). Realizatsiia mizhnarodnykh rekomendatsii shchodo profilaktyky sertsevo-sudy-nnykh zakhvoriuvan u zhinok: fokus na omeha-3-polinenasycheni zhyrni kysloty [Implementation of International Recommendations on the Prevention of Cardiovascular Diseases in Women: Focus on Omega-3-Polyunsaturated Fatty Acids]. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*, 2(94), 107–109. [in Ukrainian].
- [8] Ferreira, M. T., Leite, N. C., Cardoso, C. R., & Salles, G. F. (2015). Correlates of aortic stiffness progression in patients with type 2 diabetes: importance of glycemic control: the Rio de Janeiro type 2 diabetes cohort study. *Diabetes Care*, 38(5), 897–904. doi: 10.2337/dc14-2791.
- [9] Sanches, C. P., Vianna, A. G. D., & Barreto, F. C. (2017). The impact of type 2 diabetes on bone metabolism. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 9, 85. doi: 10.1186/s13098-017-0278-1.
- [10] Verroken, C., Zmierczak, H. G., Goemaere, S., Kaufman, J. M., & Lapauw, B. (2017). Insulin resistance is associated with smaller cortical bone size in non-diabetic men at the age of peak bone mass. *J Clin Endocrinol Metab*. 102(6), 1807–1815. doi: 10.1210/jc.2016-3609.
- [11] Wei, J., Ferron, M., Clarke, C. J., Hannun, Y. A., Jiang, H., Blauer, W. S., & Karsenty, G. (2014). Bone-specific insulin resistance disrupts whole-body glucose homeostasis via decreased osteocalcin activation. *Clin Invest*, 124(4), 1–13. doi: 10.1172/JCI72323.
- [12] Kanazawa, I., Yamaguchi, T., Yamauchi, M., Yamamoto, M., Kurioka, S., Yano, S., & Sugimoto, T. (2009). Adiponectin is associated with changes in bone markers during glycemic control in type 2 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol Metab*, 94(8), 3031–7. doi: 10.1210/jc.2008-2187.

Сучасні ендоскопічні критерії стратифікації хворих на атрофічний гастрит при розвитку передракових змін шлунка

Ю. М. Степанов^{A, F}, О. В. Сімонова^{B, C}, Л. М. Мосійчук^{B, E}, О. П. Петішко^{C, D}

ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро

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

Ключові слова:

атрофічний гастрит, хвороби шлунка, передракові стани, метаплазія, діагностика, ендоскопічні дослідження.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 346–353

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.3.151857

E-mail: gastrodnepr@i.ua

Мета роботи – встановити найбільш значущі ендоскопічні діагностичні критерії при розвитку змін слизової оболонки (СО) шлунка передракової спрямованості.

Матеріали та методи. Обстежили 80 хворих на атрофічний гастрит, із них 34 (42,5 %) чоловіки та 46 (57,5 %) жінок, середній вік – $57,7 \pm 2,1$ року. Діагноз встановили під час ендоскопічних досліджень і підтвердили морфологічно в усіх випадках. Езофагогастродуоденоскопію виконували за допомогою відеоендоскопічної системи EVIS EXERA III з гастроскопом Olympus 190 (Японія). Здійснили огляд шлунка в білому світлі, в режимах збільшення (ближній фокус) і NBI. Усіх обстежених поділили на групи за поширеністю кишкової метаплазії (KM) і наявністю дисплазії СО шлунка: I група – атрофія СО шлунка без KM (10 пацієнтів), II – атрофія СО шлунка з KM, що обмежена антральним відділом (20 хворих), III – атрофія СО шлунка з дифузною (мультифокальною) KM (39 хворих), IV – дисплазія СО шлунка (11 хворих).

Результати. Визначили діагностичні критерії структурних змін СО шлунка передракової спрямованості для формування групи ризику. При ендоскопії в білому світлі діагностичним критерієм за показниками чутливості (81,4 %) та специфічності (60,0 %) можна вважати вузлуватий/бугристий рельєф СО шлунка. Ксантоматоз шлунка у 5 разів збільшує ризик визначення під час морфологічного дослідження KM або дисплазії у хворих на атрофічний гастрит (чутливість – 47,1 %, специфічність – 90,0 %). Ендоскопія в режимі збільшення та вузькосмугової візуалізації дала змогу встановити ще один діагностичний критерій для формування групи високого ризику: пілоричну метаплазію (псевдопілоризацію) СО тіла шлунка, що майже в 7 разів підвищує частоту виявлення в пацієнта структурних передракових змін (чутливість – 71,4 %, специфічність – 70,0 %).

Висновки. Визначені ендоскопічні критерії можуть бути застосовані під час формування групи хворих на атрофічний гастрит, які мають високий потенціал розвитку раку шлунка й потребують ретельного обстеження з застосуванням сучасного ендоскопічного обладнання і динамічного спостереження (вузлуватий рельєф шлунка (OR = 4,96), ксантоматоз шлунка (OR = 4,94), пілорична метаплазія тіла шлунка (OR = 6,72)).

Ключевые слова:

атрофический гастрит, болезни желудка, предраковые состояния, метаплазия, диагностика, эндоскопические исследования.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 346–353

Современные эндоскопические критерии стратификации больных с атрофическим гастритом при развитии предраковых изменений желудка

Ю. М. Степанов, Е. В. Симонова, Л. Н. Мосийчук, О. П. Петішко

Цель работы – определить наиболее значимые эндоскопические диагностические критерии при развитии предраковых изменений слизистой оболочки (СО) желудка.

Материалы и методы. Обследовали 80 больных атрофическим гастритом, из них 34 (42,5 %) мужчины и 46 (57,5 %) женщин, средний возраст – $57,7 \pm 2,1$ года. Диагноз установлен при проведении эндоскопических исследований и подтвержден морфологически во всех случаях. Эзофагогастродуоденоскопию выполняли с помощью видеоэндоскопической системы EVIS EXERA III с гастроскопом Olympus 190 (Япония). Проводили осмотр желудка в белом свете, в режимах увеличения (ближний фокус) и NBI. Все обследованные пациенты разделены на группы по распространенности кишечной метаплазии (KM) и наличию дисплазии СО желудка: I группа – атрофия СО желудка без KM (10 пациентов), II – атрофия СО желудка с KM, ограниченной антральными отделом (20 больных), III – атрофия СО желудка с диффузной (мультифокальной) KM (39 больных), IV – дисплазия СО желудка (11 больных).

Результаты. Определены диагностические критерии структурных изменений СО желудка предраковой направленности для формирования группы пациентов с высоким риском развития рака желудка. При эндоскопии в белом свете диагностическим критерием по показателям чувствительности (81,4 %) и специфичности (60,0 %) можно считать узловатый/бугристый рельеф СО желудка. Ксантоматоз желудка в 5 раз увеличивает риск определения при морфологическом исследовании KM или дисплазии у больных с атрофическим гастритом (чувствительность – 47,1 %, специфичность – 90,0 %). Эндоскопия в режиме увеличения и узкополосной визуализации позволила установить еще один диагностический критерий для формирования группы высокого риска: пиlorическую метаплазию (псевдопиlorизацию) СО тела желудка, что почти в 7 раз повышает частоту установления у пациента структурных предраковых изменений (чувствительность – 71,4 %, специфичность – 70,0 %).

Выводы. Установленные эндоскопические критерии могут быть применены при формировании группы больных атрофическим гастритом, которые имеют высокий потенциал развития рака желудка и требуют тщательного обследования с применением современного эндоскопического оборудования и динамического наблюдения (узловатый рельеф желудка (OR = 4,96), ксантоматоз желудка (OR = 4,94), пиlorическая метаплазия тела желудка (OR = 6,72)).

Modern endoscopic criteria for stratification of patients with atrophic gastritis in the development of precancerous changes of the stomach

Yu. M. Stepanov, O. V. Simonova, L. M. Mosiichuk, O. P. Petishko

Purpose: to identify the most significant endoscopic diagnostic criteria for the development of precancerous changes of the of the stomach mucosa (SM).

Material and methods. 80 patients with atrophic gastritis were examined (34 (42.5 %) men and 46 (57.5 %) women, the average age (57.7 ± 2.1) years. The diagnosis was set during endoscopic examinations and was morphologically confirmed in all cases. Esophagogastroduodenoscopy was performed using EVIS EXERA III video endoscopic system with Olympus 190 gastroscope (Japan). Examination of the stomach was carried out in white light regimen, magnification (near focus) and NBI regimen. All examined patients were divided into groups according to the presence and prevalence of intestinal metaplasia (IM) and the presence of SM dysplasia: group I – SM atrophy without IM (10 patients), II – SM atrophy with IM, limited of the antral part (20 patients), III – SM atrophy with diffuse (multifocal) IM (39 patients), IV – SM dysplasia (11 patients).

Results. For the formation of group of patients with high risk of developing gastric cancer, diagnostic criteria of structural changes of gastric mucosa with pre-cancerous potential were identified. In white light upper endoscopy, the knotted / tuberos relief of the stomach mucosa can be considered as a diagnostic criterion for sensitivity (81.4 %) and specificity (60.0 %) indicators. The xanthomatosis of the stomach mucosa increases by 5 times the risk of IM or dysplasia in patients with atrophic gastritis (sensitivity – 47.1 %, specificity – 90.0 %). Magnification endoscopy and endoscopy with narrow-band imaging allowed us to establish another diagnostic criterion for the formation of the group with high risk of developing gastric cancer: pyloric metaplasia (pseudopylorisation) of the gastric corpus. Pyloric metaplasia increases the frequency of detection of structural precancerous changes in a patient with atrophic gastritis by almost 7 times (sensitivity – 71.4 %, specificity – 70.0 %).

Conclusion. The established endoscopic criteria (nodular relief of the stomach (OR = 4.96), xanthomatosis of the stomach (OR = 4.94), pyloric metaplasia of the stomach body (OR = 6.72)) can be applied in the formation of a group of patients with atrophic gastritis who have high potential for the development of gastric cancer and require careful examination using modern endoscopic equipment and dynamic surveillance.

Key words:
gastritis, stomach diseases, precancerous conditions, metaplasia, diagnosis, endosonography.

Pathologia
2018; 15 (3), 346–353

Проблема ранньої діагностики та успішного лікування хворих на рак шлунка (РШ) залишається однією з найбільш складних та актуальних як в Україні, так і в усьому світі. Це зумовлено не тільки великою поширеністю РШ, але й безсимптомним перебігом на ранніх стадіях, що призводить до того, що в 60–90 % випадків діагностують запущені форми цього захворювання [1,2].

Програма скринінгу РШ в Україні, як і в більшості країн світу відсутня, що зумовлено високою собівартістю, організаційними складнощами. Враховуючи це, на думку спеціалістів, розглядаючи питання про скринінг РШ, передусім необхідно зосередитися на захворюваннях, які передують розвитку цієї патології. Саме визначення найбільш значущих змін і станів слизової оболонки шлунка передракової спрямованості сприятиме формуванню груп з різним ризиком розвитку РШ, поліпшенню ранньої діагностики та успішного лікування РШ [1].

Згідно з Європейськими рекомендаціями «Guidelines for the Management of Precancerous Conditions and Lesions in the Stomach (MAPS)» (МАПС) (2012), в шлунку серед прекаncerозів розрізняють передракові стани та передракові зміни. До перших належать захворювання, що зумовлюють чимале збільшення ризику виникнення раку, до других – морфологічні зміни тканини, в якій рак може виникнути з більшою ймовірністю, ніж у нормальній тканині [1–3].

Безперечним є факт, що наявність атрофії слизової оболонки (СО) шлунка (Ш) та кишкової метаплазії (КМ) пов'язані з високим ризиком розвитку РШ, оскільки вони становлять тло, на якому розвиваються дисплазія та аденокарцинома кишкового типу. Атрофія СО Ш і КМ, згідно з консенсусом МАПС, є передраковим станом. Дисплазія СО Ш – передостанній етап

послідовності шлункового канцерогенезу, а отже є прямим передраковим ураженням СО Ш [1–3].

Триває постійний пошук додаткових критеріїв розвитку РШ, крім названих прекаncerозів. Зокрема, в «Київському глобальному консенсусі з Helicobacter pylori-асоційованого гастриту» (2015) визначено додаткові фактори ризику для прогресування прекаncerозів у РШ: внутрішньошлунковий розподіл і ступінь КМ, сімейний анамнез РШ, наявність неповної КМ (III тип). Але не всі ці спостереження були підтверджені в інших дослідженнях [4,5].

З усіх форм гастритів найбільше значення для розвитку раку шлунка (РШ) має атрофічний гастрит (АГ) [2,4,6]. Як АГ розуміють запальний процес слизової оболонки шлунка, який прогресує і характеризується втратою шлункових залоз. Клініко-морфологічною особливістю АГ є зменшення кількості спеціалізованих glanduloцитів, що забезпечують секреторну функцію шлунка, та заміщення їх більш примітивними клітинами, котрі продукують слиз. На думку спеціалістів, найбільший ризик розвитку РШ мають пацієнти, які захворіли на АГ у молодому віці [1,6].

Кишкова метаплазія – прижиттєвий патологічний процес заміщення шлункового епітелію на кишковий. КМ може бути класифікована як повна (тонкокишкова, або тип I) або неповна (тонко-товстокишкова, або тип II/A/II, товстокишкова, або тип II/B/III) [2,3,6,7]. Виявляючи КМ, рекомендується визначити її поширеність, уточнити тип (товстокишкова, тонкокишкова) й форму (повна, неповна), визначити ознаки прогресування, оскільки на тлі неповної (товстокишкової) метаплазії набагато частіше розвивається неоплазія Ш [5,6,14]. Але натепер визначення форми та типу КМ викликає певні складнощі, а питання доцільності визначення підтипів КМ надалі обговорюється [2,3].

Пілорична метаплазія характеризується утворенням на місці головних залоз у тілі й дні Ш слизових клітин, що нагадують пілоричні, розвивається як наслідок запальних процесів, порушення клітинного оновлення та як результат вікових змін СО Ш. Цей тип метаплазії не є достатньо вивченим; дослідники не виключають її можливу роль у розвитку пренеопластичних процесів [2,3].

Також у фаховій літературі згадують такі ендоскопічні зміни СО Ш, як ксантоми, гіперплазії, виразки, ерозії, котрі належать до так званих сателітів РШ кишкового типу [6,8].

За даними дослідників, загальноприйнята ендоскопія в білому світлі не дає змоги надійно діагностувати КМ, дисплазію СО Ш, тобто точно диференціювати й діагностувати передпухлинні стани Ш, але при відповідній підготовці Ш (піногасівники, премедикація) дає можливість визначити зміни рельєфу СО, наявність ксантом, гіперплазій, поліпів, ерозій, виразок [2,3].

Згідно з MAPS, діагностику передракових станів і змін Ш поліпшує ендоскопія зі збільшенням і хромоскопією, вузькосмугова ендоскопія (NBI), котра має високу чутливість і специфічність [2,3]. Ендоскопи з функцією NBI обладнані спеціальними оптичними фільтрами, які звужують спектр світла, яким освітлюється СО, що посилює контрастність рисунка капілярів та ямкового рисунка гирл залоз. Зображення, що одержали, дають можливість під час ендоскопічного дослідження виявляти дрібні вогнища КМ, атипії епітелію, які не візуалізуються при застосуванні звичайного освітлення [2,3,9–12]. Однак виконання ендоскопії з NBI потребує спеціального дорогого обладнання, що, на жаль, є не в кожній лікувально-профілактичній установі. Тому важливим залишається питання щодо визначення передракових критеріїв, які змогли б насторожити лікаря під час звичайної ендоскопії в білому світлі.

Отже, пошук, визначення певних ендоскопічних особливостей хронічного атрофічного гастриту та критеріїв передракової спрямованості є вкрай актуальним і важливим для формування груп підвищеного ризику.

Мета роботи

Встановити найбільш значущі ендоскопічні діагностичні критерії щодо розвитку змін СО Ш передракової спрямованості.

Матеріали і методи дослідження

Обстежили 80 хворих на атрофічний гастрит, із них 34 (42,5 %) чоловіки та 46 (57,5 %) жінок, середній вік – $57,7 \pm 2,1$ року, яких обстежували та лікували в ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України» у 2016–2018 роках. Діагноз встановлено під час виконаних упродовж останніх 1–2 років ендоскопічних і морфологічних досліджень з приводу захворювань шлунка. Езофагогастродуоденоскопію (ЕГДС) виконували з використанням відеоендоскопічної системи EVIS EXERA III з гастроскопом Olympus 190 (Японія). Усі дослідження виконали з попереднім застосуванням піногасівника та премедикацією холінолітиком (бускопан). Під час ендоскопічного дослідження здійснювали

огляд Ш в білому світлі, в режимах збільшення (ближній фокус) і NBI, виконували фотофіксацію. Аналізуючи дані ендоскопічного дослідження в білому світлі, визначали стан просвіту органів, вираженість складок, перистальтики, наявність і вираженість дуодено-гастрального рефлюксу (ДГР), макроскопічних ознак запалення, атрофії СО, наявність гіперплазій, поліпів, ксантом, ерозій.

Наявність атрофії СО Ш визначали при появі в білому світлі вогнищ стоншення, западин СО блідого, білуватого кольору, видимих підслизових судин, у режимі NBI – зникнення малюнка капілярної субепітеліальної мережі з безладно розташованими збирковими венулами; оцінювали за поширеністю (антральний відділ, дифузно).

Діагностику КМ здійснювали при виявленні в режимі збільшення та NBI плоских, плоско-піднятих і плоско-заглиблених вогнищ, які мали регулярну гребенеподібну або тубуловільозну мікроструктуру, що здебільшого супроводжувалось позитивним симптомом LBC (light blue crests) – наявність чітко видимих блідо-блакитних ліній або звивин, які розташовані на гребені поверхні епітелію [9–12]. Поширеність КМ вивчали за топографією: антральний відділ, тіло Ш, дифузно.

Пілоризацію залоз тіла Ш діагностували на підставі виявлення в режимі збільшення та NBI в тілі Ш паличковидного рисунка капілярної мережі, який притаманний для антрального відділу Ш.

Наявність деформації мікросудинного рисунка й нерегулярної мікроструктури СО Ш свідчила про дисплазію [9–12].

В усіх випадках отримували рандомальну біопсію з СО Ш за Сіднейською системою (велика, мала кривина антрального відділу і тіла Ш, кут Ш) та цільові з необхідних ділянок. Дані ендоскопії в режимах збільшення та NBI зіставляли з результатами гістологічних досліджень.

Для гістологічних досліджень біоптати СО Ш фіксували в 10,0 % розчині нейтрального забуференого формаліну, зневоднювали у спиртах висхідної концентрації та заливали в парафін. Гістологічні зрізи завтовшки 5 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином, ставили PAS-реакцію. В отриманих гістологічних препаратах за допомогою світлової мікроскопії напівкількісним методом визначали атрофічні зміни в СО Ш (зменшення кількості специфічних клітин паренхіми шляхом зменшення їхньої абсолютної кількості чи метапластичної трансформації), верифікували КМ і дисплазію.

Статистичне опрацювання результатів досліджень здійснили методами варіаційної статистики [13], що реалізовані стандартним пакетом прикладних програм Excel Microsoft Office 2010. Для порівняння якісних показників використовували критерій χ^2 . Статистичну значущість різниці оцінювали на рівні не нижче ніж 95,0 % (імовірність помилки $p < 0,05$). Оцінювання діагностичної значущості показників виконали шляхом визначення чутливості та специфічності, а також за розрахунком відношення шансів (OR) та його статистичної значущості.

Результати

За даними ЕГДС із режимами збільшення і NBI, а також морфологічного дослідження в усіх хворих підтверджено наявність АГ.

Ретельний аналіз даних показав, що ендоскопічна картина була вкрай неоднорідною: в 10 випадках (12,5 %) виявлено АГ без КМ, в 70 (87,5%) – з КМ, яка мала різне поширення у шлунку та у 13,8 % випадків супроводжувалась наявністю дисплазії епітелію. Враховуючи, що, за рекомендаціями МАПС, має значення не стільки тип КМ, скільки її об'єм у Ш [2,3], всіх обстежених поділили на групи за поширеністю КМ і наявністю дисплазії СО Ш: I група – атрофія СО Ш без КМ (10 пацієнтів), II група – атрофія СО Ш з КМ, що обмежена антральним відділом Ш (20 хворих), III група (39 хворих) – атрофія СО Ш з дифузною (мультифокальною) КМ, IV група – дисплазія СО Ш (11 хворих). Групи репрезентативні за віком і статтю пацієнтів. Ендоскопічні дані морфологічно підтверджені в усіх випадках. Порівняльна характеристика виявлених ендоскопічних змін у групах наведена в таблиці 1.

З наведених даних видно, що при АГ у переважної більшості пацієнтів (80,0 %) складчастість була збереженою, в 15,0 % випадків визначили зменшення складок (згладженість), що супроводжувалось дифузною атрофією СО Ш, в окремих випадках (5,0 %) зафіксували збільшення розмірів складок, що зумовлено гіперплазією СО Ш.

У чверті хворих на АГ (26,3 %) зафіксували ДГР, переважно мінімального й помірного ступенів, без суттєвої різниці у групах.

Зміни забарвлення СО Ш (різний ступінь вогнищевої гіперемії, пістрявість) виявили в усіх пацієнтів;

у більшості вони були поширені в шлунку дифузно (93,7 %), що свідчить про те, що атрофічні зміни СО Ш, як правило, поєднуються з запаленням різного ступеня вираженості.

Аналізуючи частоту, вираженість атрофічних змін СО Ш у хворих на АГ, виявили: атрофічні зміни, що обмежені антральним відділом Ш, зафіксували в 45,0 % випадків, дифузну атрофію СО Ш (із залученням тіла й антрального відділу) – в 55,0 %, а це підтверджує відомий факт про поширення атрофічних процесів, починаючи з антрального відділу проксимально вгору, в тіло й кардіальний відділ Ш (так звана експансія хронічного гастриту в антро-кардіальному напрямі) [2,5].

Порівняльний аналіз у групах показав: частота дифузних атрофічних змін СО Ш, за даними ендоскопії, була суттєво вищою в III (74,3 %) і в IV (63,6 %) групах ($p < 0,05$) порівняно з I групою, де була найвищою частота атрофії, що обмежена антральним відділом (80,0 %) ($p < 0,05$).

Атрофію СО Ш визначають на підставі поєднання таких ознак: стоншення СО, її тьмяність, пістряве забарвлення, візуалізація підслизових судин, вразливість [14]. Серед обстежених хворих саме таку картину мали тільки 23,7 % (рис. 1).

У 61 пацієнта (76,3 %) слизова шлунка мала абсолютно іншу ендоскопічну картину: вузлувату або буржисту поверхню, була ніби потовщеною, з наявністю невеликих випинань (протрузій) різного розміру, одиничних і множинних, що іноді створювало рельєф «бруківки», і зазвичай було проявом вогнищевої гіперплазії СО, що при поєднанні з атрофією СО Ш морфологічно відповідало атрофічно-гіперпластичному гастриту (рис. 2).

Таблиця 1. Макроскопічні зміни шлунка хворих досліджених груп при огляді в білому світлі

Ендоскопічна ознака	I група (n = 10)		II група (n = 20)		III група (n = 39)		IV група (n = 11)		Загалом (n = 80)	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
ДГР	2	20,0	6	30,0	9	23,1	4	36,4	21	26,3
Складки:										
норма	8	80,0	19	95,0	28	71,8	9	81,8	64	80,0
гіпертрофія	1	10,0	0	0	2	5,1	1	9,1	4	5,0
згладженість	1	10,0	1	5,0	9	23,1	1	9,1	12	15,0
Еритема СО Ш: загалом	10	100,0	20	100,0	39	100,0	11	100,0	80	100,0
антральна	0	0	3	15,0	2	5,1	0	0	5	6,2
дифузна	10	100,0	17	85,0	37	94,9	11	100,0	75	93,7
Атрофія СО Ш: загалом	10	100,0	20	100,0	39	100,0	11	100,0	80	100,0
антральна	8	80,0	14	70,0	10	25,6 [#]	4	36,4 [*]	36	45,0
дифузна	2	20,0	6	30,0	29	74,4 [#]	7	63,6 [*]	44	55,0
Вузлуватий рельєф	5	50,0	11	55,0	35	84,6 [#]	11	100,0 [#]	62	77,5
антральний відділ	1	10,0	7	35,0	5	10,2	2	18,2	15	17,5
тіло	1	10,0	1	5,0	2	5,1	0	0	4	6,3
дифузно	3	30,0	3	15,0	28	69,2 [#]	9	81,8 [#]	43	53,7
Геморагії СОШ	2	20,0	3	15,0	12	30,8	3	27,3	20	25,0
Ерозії СОШ: загалом	5	50,0	9	45,0	4	10,2 [#]	2	18,2	20	25,0
антральний відділ	5	50,0	9	45,0	3	7,7 [#]	2	18,2	19	23,7
дифузно	0	0	0	0	1	2,6	0	0	1	1,2
Поліпи Ш	0	0	0	0	7	17,9 [#]	1	9,1	8	10,0
Гіперплазії Ш	1	10,0	6	30,0	4	10,2	2	18,2	13	16,2
Ксантоми шлунка	1	10,0	5	25,0	22	56,4 [#]	6	54,5 [*]	34	42,5

*: $p < 0,05$ – вірогідна різниця показників порівняно з I групою; #: $p < 0,05$ – вірогідна різниця показників порівняно з II групою.

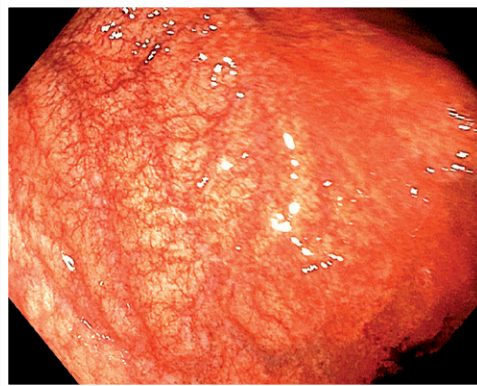


Рис. 1.
Атрофія слизової оболонки шлунка.
Огляд у білому світлі.

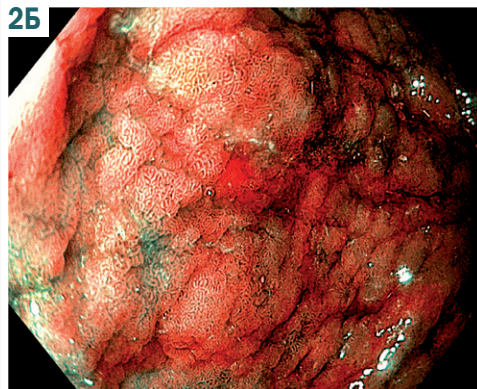
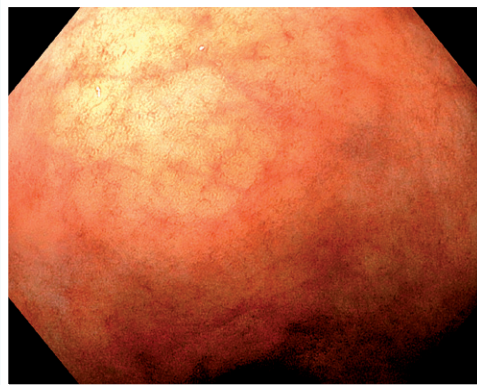
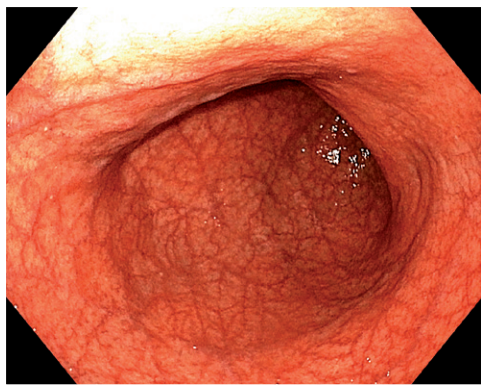


Рис. 2.
Атрофічно-гіперпластичний гастрит. Слизова оболонка шлунка має дрібнобугристий рельєф: А – огляд у білому світлі, хромоендоскопія з розчином індигокарміну; Б – огляд у режимі вузькосмугової візуалізації.

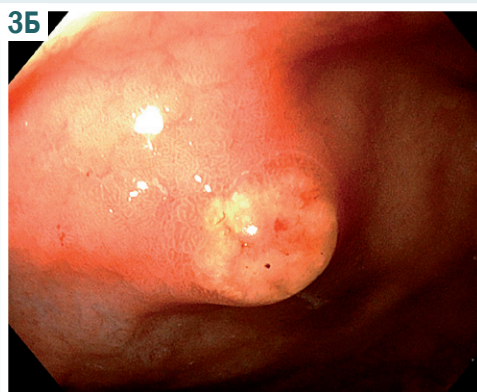
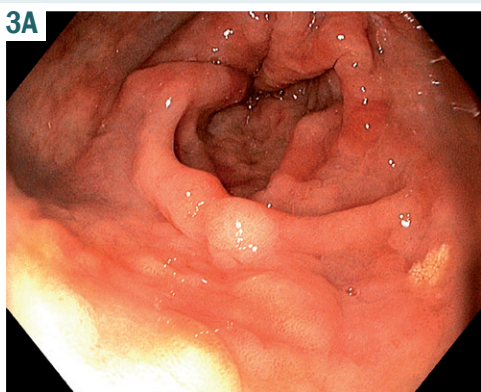


Рис. 3.
Ендоскопія в білому світлі. Ксантома антрального відділу шлунка, поряд численні вогнища кишкової метаблазії – червоні западиння (А). Ксантома тіла шлунка (поліповидний тип) на тлі вогнищевої атрофії СО (Б).

Частота наявності вузлувато-бугристого рельєфу збільшувалась із вираженістю та поширенням структурних змін СО Ш: якщо в I групі ця ознака виявлена в кожного другого пацієнта (50,0 %), то в IV групі діагностована в усіх випадках (100,0 %) ($\chi^2 = 18,26$, $p < 0,001$). Наявність макроскопічних атрофічно-гіперпластичних змін підтверджена морфологічно: виявлено атрофію СО Ш, що поєднана з гіперпластичними змінами поверхневого епітелію і/або з кишковою метаплазією, котра також призводить до змін рельєфу СО Ш.

Вогнищеві гіперплазії СО виявлені в середньому в 16,2 % випадків, із тенденцією до збільшення частоти у II групі.

Поліпи СО Ш виявили тільки в пацієнтів III та IV груп (17,9 % і 9,1 % відповідно) ($p < 0,05$ щодо I і III груп). Поліпи з однаковою частотою локалізувались у різних відділах Ш (кардія, тіло, антральний відділ) і за структурою у 2/3 випадків були гіперплазіогенними, третині – аденоматозними.

У чверті хворих на АГ діагностували ерозивні зміни СО Ш, при цьому частота їх була суттєво вищою в I і II групах (50,0 % і 45,0 % відповідно), де атрофічні зміни СО Ш здебільшого охоплювали тільки антральний відділ Ш, що не впливало на кислотопродукувальну функцію Ш. У III і IV групах, де переважала частота дифузної атрофії СО, ерозії Ш виявляли значно рідше ($p < 0,05$).

При АГ певний інтерес викликало вивчення ксантоматозу СО Ш. Макроскопічно ксантоми визначають як плями або ледь підвищені пласкі, або сочевицеподібні утворення розміром від 0,1 см до 1,5 см. Їхній колір варіює від білого до блідо-жовтого й оранжевого. Гістологічно ксантоми представлені накопиченням пінистих клітин, що містять ліпіди, зазвичай розташовані у власному шарі СО, але іноді доходять до м'язової пластинки. Частіше локалізуються в нижній третині Ш, але при виражених ДГР можуть траплятися й у верхніх відділах. Наукові роботи щодо ролі ксантоматозу при

АГ нечисленні. Вважають, що ксантоми є маркерами, перш за все, атрофії СО Ш, а також розташованих поряд передракових станів, змін СО та навіть раннього раку Ш [6,8]. Тому особливу увагу звернули на вивчення ксантоматозу Ш.

У здійсненому дослідженні ксантоми СО Ш зафіксовані у 34 із 80 (42,5 %) хворих на АГ. Здебільшого ксантоми мали пласку форму, і тільки в 1 хворого – поліпоподібну (рис. 3). Частота їх переважала у III групі (53,8 %) ($\chi^2 = 5,26$; $p < 0,05$ порівняно з II групою, $p > 0,05$ порівняно з I і IV групами). Якщо в I групі ксантоми локалізувались тільки в антральному відділі Ш, то в інших групах вони були поширені в різних відділах Ш, тобто збільшення структурних морфологічних змін СО Ш супроводжувалось поширенням ксантоматозу Ш.

Застосування протягом ендоскопічного дослідження режимів збільшення та вузькосмугової візуалізації дало змогу виявити в певній частині пацієнтів пілоричну метаплазію СО тіла Ш (псевдопілоризацію) (рис. 4, 5). Частота цієї перебудови була доволі значущою та мала тенденцію до збільшення зі зростанням

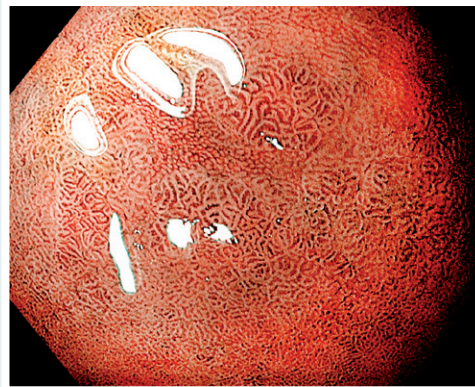


Рис. 4. Хворий М. Тіло шлунка. Режим NBI, подвійний фокус. Мікроструктура тіла шлунка сотовидна з дрібними вогнищами пілоризації та вогнищами кишкової метаплазії.

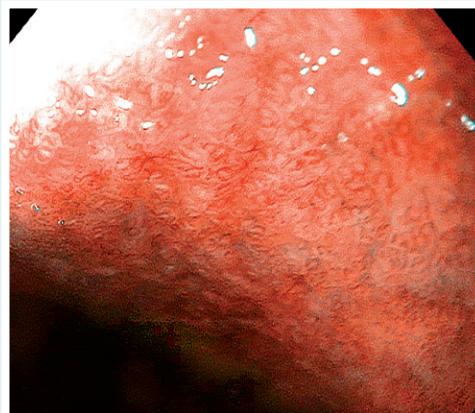
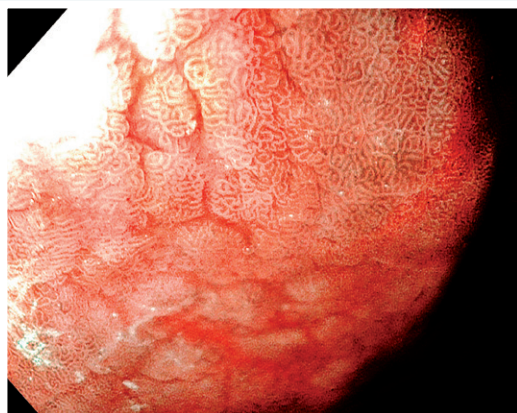


Рис. 5. Хвора П. Тіло шлунка. Режим NBI, подвійний фокус. Дифузна пілоризація СО тіла шлунка (мікроструктура слизової у формі котушки, відповідає пілоричним залозам).

Таблиця 2. Характеристика ендоскопічних діагностичних критеріїв формування ризику структурних змін СО Ш передракової спрямованості

Показник	Відношення шансів (OR)	Чутливість, %	Специфічність, %	Достовірність, p
вузлуватий / бугристый рельєф шлунка	4,96	81,4	60,0	0,0147
ксантоматоз шлунка	4,94	47,1	90,0	0,0015
пілорична метаплазія тіла шлунка	6,72	71,4	70,0	0,0106

поширеності й тяжкості преанцерозних змін СО Ш, становлячи у II групі 11 (55,0 %) випадків ($p > 0,05$), в III – 30 (76,9 %) ($\chi^2 = 7,97$; $p < 0,01$), в IV – 9 (81,8 %) ($\chi^2 = 5,74$; $p < 0,05$) порівняно з I групою – 3 (30,0 %) випадки.

Для формування групи ризику структурних змін СО Ш передракової спрямованості оцінили інформативність ендоскопічних показників як діагностичних критеріїв.

При ендоскопії в білому кольорі діагностичним критерієм за показниками чутливості та специфічності можна розглядати вузлуватий/бугристий рельєф СО Ш (чутливість 81,4 %, специфічність 60,0 %) (табл. 2).

Виявлений під час огляду ксантоматоз шлунка збільшує в'ятеро ризик визначення при морфологічному дослідженні КМ або дисплазії у хворих на атрофічний гастрит (чутливість 47,1 %, специфічність 90,0 %).

Застосування ендоскопії в режимі збільшення та вузькосмугової візуалізації дало змогу виявити ще один діагностичний критерій для формування групи високого ризику: пілоричну метаплазію СО тіла шлунка, виявлення якої майже всемоє підвищує можливість діагностування в пацієнта структурних змін передракової спрямованості (чутливість 71,4 %, специфічність 70,0 %).

Обговорення

У консенсусі МАПС (2012) чітко визначені передракові стани (АГ, КМ) і зміни СО Ш (дисплазія), їхнє значення, сучасні методи діагностики. У «Київському глобальному консенсусі з *Helicobacter pylori*-асоційованого гастриту» (2015) визначено додаткові фактори ризику для прогресування преанцерозів у РШ (внутрішньошлунковий розподіл і ступінь КМ тощо).

У нашій роботі запланували висвітлити неоднорідність ендоскопічних проявів СО шлунка при АГ, що вкрай недостатньо описано в фаховій літературі, визначити найбільш значущі ознаки, які могли б бути додатковими критеріями передракової спрямованості, що є важливим для формування груп підвищеного ризику.

Сучасні ендоскопічні методи, зокрема застосування ендоскопії зі збільшенням і NBI-режимом, дають змогу з високою ймовірністю діагностувати як передракові стани (атрофію СО, кишкову метаплазію та її поширеність), так і передракові зміни (дисплазія) СО шлунка, виконати прицільну біопсію. Але ендоскопія з NBI потребує спеціального дорогого обладнання, яке є не в кожному лікувальному закладі, тому важливим залишається визначення ендоскопічних ознак передракової спрямованості, які змогли б насторожити лікаря під час виконання звичайної ендоскопії в білому світлі. Так, у фаховій літературі наведено такі ендоскопічні зміни, як ксантоми, гіперплазії, поліпи, ерозії, що належать до так званих сателітів РШ кишкового типу [6,8].

Протягом дослідження в певній кількості хворих на АГ визначили зміни рельєфу СО Ш (вузлуватість, бугристість), що відповідало атрофічно-гіперпластичним змінам на морфологічному рівні та не висвітлено

у фаховій літературі. Це дало привід зосередити увагу на вивченні частоти названих змін, визначити їхню цінність як діагностичних критеріїв передракових змін.

Висновки

1. Аналіз даних ендоскопічного обстеження хворих дав змогу виявити неоднорідність макроскопічних змін СО Ш при АГ.

2. Статистичний аналіз показав, що наявність таких ознак, як поширена атрофія, поширена КМ, пілорична метаплазія СО тіла Ш, вузлувано-бугристий рельєф СО Ш (атрофічно-гіперпластичні зміни), ксантоми, гіперплазії, поліпи Ш, свідчить про більш виражені структурні зміни в СО Ш, що мають передракову спрямованість.

3. Визначені ендоскопічні критерії можуть бути застосовані під час формування групи хворих на АГ, які мають високий потенціал розвитку РШ і потребують ретельного обстеження із застосуванням сучасного ендоскопічного обладнання, динамічного спостереження (вузлуватий рельєф Ш (OR = 4,96), ксантоматоз Ш (OR = 4,94), пілорична метаплазія тіла Ш (OR = 6,72)).

4. Застосування сучасних ендоскопічних методів діагностики (відеоендоскопія з високою роздільною здатністю, режимами збільшення та вузькосмугової візуалізації, хромоендоскопія) дає змогу з високою ймовірністю діагностувати передракові стани та зміни шлунка (АГ, КМ, пілоричну метаплазію, дисплазію), вивчати їхню поширеність, виконувати надточний забір біопсійного матеріалу.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним і важливим науковим напрямом вважаємо обґрунтування наявності атрофічно-гіперпластичного варіанта АГ, а також вивчення значення пілоричної метаплазії СО тіла шлунка щодо канцерогенезу.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Степанов Ю. М., д-р мед. наук, професор, директор ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», заслужений лікар України, м. Дніпро.

Симонова О. В., канд. мед. наук, старший науковий співробітник, зав. відділу мініінвазивних ендоскопічних втручань та інструментальної діагностики, ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро.

Мосійчук Л. М., д-р мед. наук, старший науковий співробітник, зав. відділу захворювань шлунка та дванадцятипалої кишки, дієтології та лікувального харчування, ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро.

Петішко О. П., науковий співробітник, відділ науково-організаційної, методичної роботи та інформаційних технологій, ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро.

Сведения об авторах:

Степанов Ю. М., д-р мед. наук, профессор, директор ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», заслуженный врач Украины, г. Днепро.

Симонова Е. В., канд. мед. наук, старший научный сотрудник, зав. отдела миниинвазивных эндоскопических вмешательств и инструментальной диагностики, ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», г. Днепро.

Мосийчук Л. Н., д-р. мед. наук, старший научный сотрудник, зав. отдела заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки, диетологии и лечебного питания, ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», г. Днипро.
Петишко О. П., научный сотрудник, отдел научно-организационной, методической работы и информационных технологий, ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», г. Днипро.

Information about authors:

Stepanov Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor, Director of the State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro.

Simonova O. V., MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Head of the Department of the Minimally Invasive Endoscopic Interventions and Instrumental Diagnostics, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro.

Mosichuk L. M., MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Head of the Department of the Diseases of Stomach and Duodenum, Dietetics and Clinical Nutrition, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro.

Petishko O. P., Researcher of the Department of Scientific-Organizational, Methodological Work and Information Technologies, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro.

Надійшла до редакції / Received: 23.10.2018

Після доопрацювання / Revised: 29.10.2018

Прийнято до друку / Accepted: 01.11.2018

Список літератури

- [1] Степанов Ю.М. Сучасні ендоскопічні методи діагностики передракових станів шлунка: проблеми і перспективи / Ю.М. Степанов, О.В. Симонова, Л.М. Мосийчук // Гастроентерологія. – 2017. – №1(51). – С. 85–93.
- [2] Ведение пациентов с предраковыми состояниями и повреждениями в желудке. Клинические рекомендации / В.И. Никишаев, Н.А. Болотских, И.Н. Тумах, Е.В. Баранников // Украинский журнал малоинвазивной та ендоскопічної хірургії. – 2013. – Т. 17. – №1. – С. 25–50.
- [3] Management of precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS): guideline from the European society of gastrointestinal endoscopy (ESGE), European Helicobacter study group (EHSG), European society of pathology (ESP), and the sociedade Portuguesa de endoscopia digestiva (SPED) / M. Dinis-Ribeiro, M. Areia, A.C. de Vries, et al. // *Endoscopy*. – 2012. – Vol. 44. – Issue 1. – P. 74–94.
- [4] Ткач С.М. Современные подходы к классификации, диагностике и ведению больных с хроническим гастритом в свете международного Киотского консенсуса / С.М. Ткач // Сучасна гастроентерологія. – 2016. – №1(87). – С. 110–116.
- [5] Kyoto global consensus report on Helicobacter pylori gastritis / K. Sugano, J. Tack, E.J. Kuipers, et al. // *Gut*. – 2015. – №64. – Issue 9. – P. 1353–1367.
- [6] Степанов Ю.М. Повышение информативности эндоскопической диагностики предраковых изменений и рака желудка у больных с атрофическим гастритом / Ю.М. Степанов, Е.В. Симонова // Гастроентерологія. – 2013. – №4(50). – С. 23–33.
- [7] The prevalence of gastric intestinal metaplasia and distribution of Helicobacter pylori infection, atrophy, dysplasia, and cancer in its subtypes / S. Olmez, M. Aslan, R. Erten, et al. // *Gastroenterology research and practice*. – 2015. – №2015. – 434039.
- [8] Симонова О.В. Ксантоматоз шлунка при атрофічному гастриті / О.В. Симонова, Л.В. Демешкіна // Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України : матеріали IV Міжнародного медичного конгресу (19–21 квітня 2016). – К., 2016. – С. 59–60.
- [9] Атлас ендоскопії пищеварительного тракта: возможности высокого разрешения и изображения в узком световом спектре / под ред. Дж. Козна ; пер. с англ. под ред. А.А.Будзинского. – М. : Логосфера, 2012. – 344 с.
- [10] Ендоскопічна і морфологічна діагностика, малоінвазивне лікування передракових змін слизової оболонки шлунка : монографія / В.О. Яковенко, М.П. Захараш, О.Г. Курик. – Вінниця : ФОРМ Каштелянов О.І., 2013. – 136 с.
- [11] A multicenter validation of an endoscopic classification with narrow band imaging for gastric precancerous and cancerous lesions / P. Pimentel-Nunes, M. Dinis-Ribeiro, J.B. Soares, et al. // *Endoscopy*. – 2012. – №44. – Issue 3. – P. 236–246.
- [12] Yao K. A new diagnostic VS classification system produced by magnification endoscopy plus narrow-band imaging in the stomach: microvascular architecture and microsurface structure / K. Yao, A. Iwashita, T. Matsui // *New Challenges in Gastrointestinal Endoscopy*. – Tokyo, 2008. – P. 169–176.
- [13] Халафян А.А. Современные статистические методы медицинских исследований / А.А. Халафян. – М. : Ленанд, 2014. – 320 с.
- [14] Hun H. What have we accomplished in endoscopic image analysis for atrophic gastritis / H. Hun, N. Uedo // *The Korean journal of Helicobacter and upper gastrointestinal research*. – 2013. – Vol. 13. – Issue 1. – P. 6–19.
- [1] Stepanov, Yu. M., Simonova, O. V., & Mosychuk, L. M. (2017) Suchasni endoskopichni metody diahnostyky peredrakovykh zmin shlunka: problemy i perspektyvy [Modern endoscopic techniques of precancerous stomach conditions diagnostics: problems and possibilities]. *Hastroenterolohiia*, 1(51), 85–93. [in Ukrainian]. doi: 10.22141/2308-2097.51.1.2017.97873.
- [2] Nikishaev, V. I., Bolotских, N. A., Tumakh, I. N., Barannikov, E. V. (2013) Vedenie pacientov s predrakovymi sostoyaniyami i povrezhdeniyami v zheludke. Klinicheskie rekomendacii [Maintaining patients with precancerous conditions and injuries in the stomach. Clinical recommendations]. *Ukrainskyi zhurnal maloinvazivnoi ta endoskopichnoi khirurgii*, 17(1), 25–50. [in Russian].
- [3] Dinis-Ribeiro, M., Areia, M., de Vries, A. C., Marcos-Pinto, R., Monteiro-Soares, M., O'Connor, A., et al. (2012) Management of precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS): guideline from the European society of gastrointestinal endoscopy (ESGE), European Helicobacter study group (EHSG), European society of pathology (ESP), and the sociedade Portuguesa de endoscopia digestiva (SPED). *Endoscopy*, 44(1), 74–94. doi: 10.1055/s-0031-1291491.
- [4] Tkach, S. M. (2016) Sovremenyie podkhody k klassifikacii, diagnostike i vedeniyu bol'nykh s khronicheskim gastritom v svete mezhdunarodnogo Kiotskogo konsensusa [New approaches to the classification, diagnosis and management of patients with chronic gastritis in the view of global Kyoto's consensus]. *Suchasna hastroenterolohiia*, 1(87), 110–116. [in Russian].
- [5] Sugano, K., Tack, J., Kuipers, E. J., Graham, D. Y., El-Omar, E. M., Miura, S., et al. (2015) Kyoto global consensus report on Helicobacter pylori gastritis. *Gut*, 64(9), 1353–67. doi: 10.1136/gutjnl-2015-309252.
- [6] Stepanov, Yu. M., & Simonova, Ye. V. (2013) Povyshenie informativnosti e'ndoskopicheskoy diagnostiki predrakovykh izmenenij i raka zheludka u bol'nykh s atroficheskim gastritom [Increase of informativeness of endoscopic diagnosis for precancerous changes and gastric cancer in patients with atrophic gastritis]. *Hastroenterolohiia*, 4(50), 23–33. [in Russian].
- [7] Olmez, S., Aslan, M., Erten, R., Sayar, S., & Bayram, I. (2015) The prevalence of gastric intestinal metaplasia and distribution of Helicobacter pylori infection, atrophy, dysplasia, and cancer in its subtypes. *Gastroenterology research and practice*, 2015, 434039. doi: 10.1155/2015/434039.
- [8] Simonova, O. V., & Demeshkina, L. V. (2016) Ksantomatоз shlunka pry atrofichnomu hastryti [Stomach xanthomatosis in atrophic gastritis]. Vprovadzheniia suchasnykh dosiahnen medychnoi nauky v praktyku okhorony zdorov'ia Ukrainy Proceedings of the IV International Medical Congress, (P. 59–60). Kyiv. [in Ukrainian].
- [9] Cohen, J. (Ed) (2012) Atlas e'ndoskopii pishevaritel'nogo trakta: vozmozhnosti vysokogo razresheniya i izobrazeniya v uzkom spectre [Atlas of endoscopy of the digestive tract: the possibilities of high resolution and images in a narrow light spectrum]. Moscow : Logosphaera. [in Russian].
- [10] Yakovenko, V. O., Zakharash, M. P., & Kuryk, O. H. (2013) Endoskopichna i morfolohichna diahnostyka, maloinvasyvne likuvannya peredrakovykh zmin slyzovoi obolonky shlunka [Endoscopic and morphological diagnostics, minimally invasive treatment of precancerous changes in the gastric mucosa]. Vinnytsia. [in Ukrainian].
- [11] Pimentel-Nunes, P., Dinis-Ribeiro, M., Soares, J. B., Marcos-Pinto, R. J., Santos, C., Rolanda, C., et al. (2012) A multicenter validation of an endoscopic classification with narrow band imaging for gastric precancerous and cancerous lesions. *Endoscopy*, 44(3), 236–46. doi: 10.1055/s-0031-1291537.
- [12] Yao, K., Iwashita, A., & Matsui, T. (2008) A New Diagnostic VS Classification System Produced by Magnification Endoscopy Plus Narrow-Band Imaging in the Stomach: Microvascular Architecture and Microsurface Structure. *New Challenges in Gastrointestinal Endoscopy*. (P. 169–176). Tokyo. doi: 10.1007/978-4-431-78889-8_16.
- [13] Halafyan, A. A. (2014) Sovremenyie statisticheskie metody medicinskih issledovanij [Modern statistical methods of medical research] Moscow: Lenand. [in Russian].
- [14] Hun, H., & Uedo, N (2013) What have we accomplished in endoscopic image analysis for atrophic gastritis. *The Korean Journal of Helicobacter and Upper Gastrointestinal research*, 13(1), 6–19. doi: 10.7704/kjhgr.2013.13.1.6.

Prediction of the functional outcome of acute recurrent cerebral ischemic hemispheric stroke

O. A. Koziolkin^{A,F}, A. A. Kuznietsov^{A,C,E}, L. V. Novikova^{A-D}

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

Key words:

acute stroke, prognosis.

Pathologia

2018; 15 (3), 354–359

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.3.151859

E-mail:

l.novikova.med@gmail.com

The aim of the work is to develop criteria for predicting the functional outcome of the acute period of recurrent cerebral ischemic hemispheric stroke (RCIHS) based on a comprehensive clinical and paraclinical examinations.

Materials and methods. An open, comparative, prospective, cohort study of 111 patients (49 (44.1 %) women and 62 (55.9 %) men, age 72.0 (64.0; 77.0) years) with acute RCIHS was performed. All patients underwent a detailed clinical and neurological examination using National Institutes of Health Stroke Scale, mRS (modified Rankin scale), computed tomography of the brain, hematological and biochemical investigation.

Results. Based on a univariate logistic regression analysis, it was found that the functional outcome of the acute RCIHS is influenced by the following parameters: age of patient (OR 1.06, 95 % CI 1.00–1.11, $P = 0.0284$), contralateral localization of RCIHS (OR 2.86 95 % CI 1.05–7.79, $P = 0.0391$), the baseline NIHSS score (OR 1.76. 95 % CI 1.38–2.26; $P < 0.0001$), the infarct volume (OR 1.03, 95 % CI 1.00–1.05, $P = 0.0221$). It was determined that localization of RCIHS in the contralateral hemisphere was associated with the unfavorable functional outcome on the 21st day of the disease ($\chi^2 = 4.44$, $P = 0.0352$). The independent influence of the initial level of glycemia on the functional outcome of the acute period of RCIHS in patients without diabetes (OR 2.39 95 % CI 1.32–4.33, $P = 0.0042$) was revealed.

Conclusions. The independent predictor of the unfavorable functional outcome of the acute period of the RCIHS (mRS ≥ 3 at 21st day of disease) was score by NIHSS >10 at baseline (sensitivity 73.3 %, specificity 90.5 %). The mathematical model, which included the baseline levels of neurological deficit was developed and it could determine the prognosis of the functional outcome of the acute period of RCIHS with an accuracy of 87.5 % (AUC = 0.92, $P < 0.05$).

Ключові слова:

гострий інсульт, прогноз.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 3(44). – С. 354–359

Прогнозування функціонального результату гострого періоду повторного мозкового ішемічного півкульового інсульту

О. А. Козьолкін, А. А. Кузнєцов, Л. В. Новікова

Мета роботи – розроблення критеріїв прогнозування функціонального результату гострого періоду повторного мозкового ішемічного півкульового інсульту (ПМІПІ) на підставі комплексного клініко-параклінічного дослідження.

Матеріали та методи. Виконали відкрите, порівняльне, проспективне, когортне дослідження 111 хворих (49 (44,1 %) жінок і 62 (55,9 %) чоловіки віком 72,0 (64,0; 77,0) року) в гострому періоді ПМІПІ. Усім пацієнтам провели детальне клініко-неврологічне обстеження з використанням National Institutes of Health Stroke Scale, mRS (modified Rankin scale), виконали комп'ютерну томографію головного мозку, а також гематологічне та біохімічне дослідження.

Результати. На підставі уніваріантного логістичного регресійного аналізу встановлено, що на функціональний результат гострого періоду ПМІПІ впливали вік хворих (ВШ 1,06 95 % ДІ 1,00–1,11, $p = 0,0284$), контралатеральна локалізація ПМІПІ (ВШ 2,86 95 % ДІ 1,05–7,79, $p = 0,0391$), значення сумарного бала за NIHSS на 1 добу (ВШ 1,76 95 % ДІ 1,38–2,26, $p < 0,0001$), об'єм осередку ураження (ВШ 1,03 95 % ДІ 1,00–1,05, $p = 0,0221$). Встановлено, що локалізація ПМІПІ у контралатеральній півкулі асоційована з гіршим функціональним відновленням на 21 добу захворювання ($\chi^2 = 4,44$, $p = 0,0352$). Виявили незалежний вплив ініціального рівня глікемії на функціональний результат гострого періоду ПМІПІ у пацієнтів без цукрового діабету (ВШ 2,39 95 % ДІ 1,32–4,33, $p = 0,0042$).

Висновки. Незалежним предиктором несприятливого функціонального результату гострого періоду ПМІПІ (mRS ≥ 3 на 21 добу) є значення сумарного бала за NIHSS >10 на 1 добу захворювання (чутливість 73,3 %, специфічність 90,5 %). Розробили математичну модель, котра враховує ініціальні рівні неврологічного дефіциту та глікемії і дає змогу визначати прогноз функціонального результату гострого періоду ПМІПІ з точністю до 87,5 % (AUC = 0,92, $p < 0,05$).

Ключевые слова:

острый инсульт, прогноз.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 3(44). – С. 354–359

Прогнозирование функционального исхода острого периода повторного мозгового ишемического полушарного инсульта

А. А. Козёлкин, А. А. Кузнєцов, Л. В. Новікова

Цель работы – разработка критериев прогнозирования функционального исхода острого периода повторного мозгового ишемического полушарного инсульта (ПМИПИ) на основании комплексного клинико-параклинического исследования

Материалы и методы. Проведено открытое, сравнительное, проспективное, когортное исследование 111 больных (49 (44,1 %) женщин и 62 (55,9 %) мужчины, возраст – 72,0 (64,0; 77,0) года) в остром периоде ПМИПИ. Всем пациентам проведено детальное клинико-неврологическое обследование с использованием National Institutes of Health Stroke Scale, mRS (modified Rankin scale), выполнена компьютерная томография головного мозга, а также гематологическое и биохимическое исследования.

Результаты. На основании унивариантного логистического регрессионного анализа установлено, что на функциональный исход острого периода ПМИПИ влияли возраст больных (ОШ 1,06, 95 % ДИ 1,00–1,11, $p = 0,0284$), контралатеральная локализация ПМИПИ (ОШ 2,86 95% ДИ 1,05–7,79, $p = 0,0391$), значение суммарного балла по NIHSS на 1 сутки (ОШ 1,76, 95 % ДИ 1,38–2,26; $p < 0,0001$), объем очага поражения (ОШ 1,03, 95 % ДИ 1,00–1,05, $p = 0,0221$). Установлено, что локализация ПМИПИ в контралатеральном полушарии ассоциировалась с худшим функциональным исходом на 21 сутки заболевания ($\chi^2 = 4,44$, $p = 0,0352$). Установлено независимое влияние инициального уровня гликемии на функциональный исход острого периода ПМИПИ у пациентов без сахарного диабета (ОШ 2,39, 95 % ДИ 1,32–4,33, $p = 0,0042$).

Выводы. Независимый предиктор неблагоприятного функционального исхода острого периода ПМИПИ (mRS ≥ 3 на 21 сутки) – значение суммарного балла по NIHSS >10 на 1 сутки заболевания (чувствительность 73,3 %, специфичность 90,5 %). Разработана математическая модель, учитывающая инициальные уровни неврологического дефицита и гликемии и позволяющая определять прогноз функционального исхода острого периода ПМИПИ с точностью до 87,5 % (AUC = 0,92, $p < 0,05$).

Cerebrovascular diseases, particularly cerebral ischemic stroke (IS) is the leading reason of disability and mortality throughout the world. It has been shown that the risk of recurrent acute cerebrovascular events among people who have had stroke in the past is 6–9 times higher than among people of the same age and sex without history of stroke. During the first year, every fourth person has a recurrent stroke [1–3], while the indicators of the 5th and 10th year cumulative risk of recurrent stroke reach 16.6 % and 43.0 % respectively. It has been revealed that recurrent IS is characterized by more severe course, accompanied by higher level of neurological deficiency and it is the common reason of severe cognitive impairments, which makes this problem extremely relevant in the medical, social and economic aspects [1–4]. Development of differentiated approach, which includes individual prognosis, is the optimal management strategy for increase the effectiveness of treatment patients with IS [5]. Numerous studies have found that the leading factors which influence the stroke outcome are: the age of the patient, the initial level of neurological deficits, infarct volume, the severity of the dislocation syndrome, and the presence of decompensated somatic pathology [6,7].

Accumulated certain information as for negative influence of stress hyperglycemia, hypercoagulation and proinflammatory activation on the course and IS outcome [8,9]. However, the issue of predicting the functional outcome of the acute period of recurrent IS stays unclear, so that justifies the necessity of our investigation, which dedicated to develop criteria for predicting the functional outcome of the acute period of recurrent cerebral ischemic hemispheric stroke (RCIHS) based on a comprehensive clinical and paraclinical investigations.

Materials and methods

Prospective, cohort and comparative hospital-based study which enrolled 111 patients (49 women and 62 men, age 72.0 (64.0; 77.0) years) with acute RCIHS was conducted. The inclusion of patients in the study was carried out according to the following criteria:

1. Men and women aged from 45 to 85 years.
2. Verified IS in the past.

3. Clinical and neuroimaging confirmations of RCIHS.
4. Atherothrombotic or cardiomyolic subtypes of IS according to TOAST classification.

5. Hospitalization in the first 24 hours from RCIHS onset.

6. Signed informed consent of the patient participation in the study.

The criteria for exclusion from the study were:

1. The presence of two or more focuses of lesion.
2. Hemorrhagic transformation of ischemic focus.
3. Combined cerebral stroke.
4. Baseline NIHSS score ≥ 20 .
5. Admission mRS score ≥ 3 (after primary stroke).
6. Lethal outcome of acute period of RCIHS.
7. Presence of oncological and/or decompensated somatic pathology.
8. Anamnestic data about alcohol abuse, craniocerebral trauma.
9. Psychopathological syndrome.

The baseline assessment of stroke severity was conducted using the National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS). The functional outcome of the acute period of RCIHS was evaluated by Modified Rankin Scale (mRS) on the 21st day after stroke onset. Depending on mRS score all patients were divided into two groups. Thus the value of mRS score ≥ 3 was considered as an unfavorable functional outcome, whereas mRS score ≤ 3 was considered as a favorable one.

In order to verify the diagnosis of RCIHS and to assess the structural changes in the brain, all patients underwent brain computer tomography (CT) which was performed using Siemens Somatom Spirit (Germany). The localization, the infarct volume, the presence and severity of the dislocation process, the size and localization of the cyst (a sign of a previously ischemic stroke) were determined during CT. The infarct volume (IV) was evaluated by the following formula: $IV = (abc\pi)/6$, where a, b, c – the linear dimensions of the lesion center according to the computer tomography (cm).

The baseline laboratory investigations included hematological and biochemical samples, which were taken from a cubital vein. The levels of absolute white blood cells and their subpopulations, glucose levels,

the prothrombin index, and the content of fibrinogen in plasma were determined during laboratory assessment. The neutrophil-to-lymphocytic ratio (NLC) was considered as a marker of proinflammatory activation.

Statistical processing of the obtained results was carried out using the software Statistica 13.0 (StatSoft Inc., USA, serial number JPZ8041382130ARCN10J). Since the distribution of most of the studied indicators (according to the Shapiro–Wilk criterion) was different from normal, descriptive statistics was presented as median and interquartile intervals. The presence of intergroup differences in quantitative parameters was determined using the Mann–Whitney criterion. The Pearson χ^2 criterion was used to assess the correlations between qualitative indicators. In order to detect the dependent and independent risk factors of the unfavorable functional outcome of the acute period of RCIHS, univariate and multivariate regression analysis was conducted. The predictive value of the indicators was evaluated using ROC analysis with the calculation of sensitivity and specificity. Statistical significance of results was defined at the P value <0.05.

Results

Unfavorable functional outcome (UFO) was detected in 90 (81.1 %) patients, while 21 (18.9 %) patients had favorable functional outcome (FFO). Patients did not differ in gender structure (48 (53.3 %) males and 42 (46.7 %) females with NFU versus 14 (66.7 %) and 7 (33.3 %) respectively with FFO ($\chi^2 = 1.23$, $P = 0.2679$). The median of the time interval between first-ever stroke and recurrent one among patients with FFO was 24.0 (9.0; 48.0) months, that was not significantly different from patients with UFO, which had RCIHS in 20.5 (11.0; 36.0) months ($P = 0.269$). The patients with UFO were older than patients with FFO (74.0 (65.0; 79.0) years versus 66.0 (60.0; 74.0) years, $P = 0.0127$).

The frequency of right-hemisphere localization of RCIHS in patients with UFO was significantly higher than in patients with FFO (46.7 % versus 19.1 %, $\chi^2 = 5.30$, $P = 0.0213$). Difference in lateralization of RCIHS regarding to first-ever stroke lesion was found: localization of RCIHS in the ipsilateral hemisphere was more frequent among patients with FFO (66.7 % versus 41.4 %, $\chi^2 = 4.44$, $P = 0.0352$). At the same time, the frequency

of UFO in case of contralateral RCIHS localization consisted 88.3 %, which was 1.22 times higher than in case of ipsilateral RCIHS.

Diabetes mellitus was diagnosed in 20 (22.2 %) patients with UFO and in 3 patients (14.3 %) with FFO ($\chi^2 = 0.95$, $P = 0.3922$), atrial fibrillation in 35 (38.9 %) and 8 (38.1 %) patients respectively ($\chi^2 = 0.005$, $P = 0.974$).

Clinical and paraclinical characteristics of the general cohort patients as well as results of comparative analysis of neurological, computer-tomographic, biochemical and hematological parameters in comparison with the functional outcome of the acute period of RCIHS are presented in *Table 1*.

As shown in *Table 1*, patients with UFO at baseline assessment had significantly difference in: NIHSS score (12.0 (10.0; 14.0) points versus 8.0 (6.0; 10.0) points, $P < 0.0001$), infarct volume (36.5 (23.4; 65.3) ml versus 18.6 (11.6; 28.8) ml, $P = 0.0053$) and in glucose serum level (6.1 (5.0; 7.7) mmol/l versus 5.1 (4.8; 5.3) mmol/l, $P = 0.0034$). At the same time, no significant intergroup differences in levels of hematocrit, fibrinogen, prothrombin index, hematologic markers of proinflammatory activation were detected.

Univariate logistic regression analysis showed that age of patients (OR 1.06 95 % CI 1.00–1.11, $P = 0.0284$), contralateral localization of RCIHS (OR 2.86 95 % CI 1.05–7.79, $P = 0.0391$), baseline NIHSS score (OR 1.76 95 % CI 1.38–2.26, $P < 0.0001$), the infarct volume (OR 1.03 95 % CI 1.00–1.05, $P = 0.0221$) were the factors associated with stroke outcome.

According to multivariate logistic regression analysis the independent influence of the baseline NIHSS score on functional outcome of RCIHS (OR 1.74 95 % CI 1.36–2.23, $P < 0.0001$) was proved. Based on ROC-analysis it was found that baseline NIHSS score >10 was predictor of UFO of the acute period of RCIHS (AUC = 0.86, $P < 0.05$) with an optimal ratio of sensitivity (73.3 %) and specificity (90.5 %).

At the second stage of the study, the prognostic value of clinical neurological, computed tomography, biochemical and hematological parameters was determined among 88 patients without diabetes mellitus.

Unfavorable functional outcome of the acute period of RCIHS was determined in 70 (79.5 %) patients (38 men and 32 women), FFO – in 18 (20.5 %) persons (5 men

Table 1. Clinical and paraclinical characteristics of general cohort of patients with recurrent cerebral hemispheric ischemic stroke and comparative analysis of clinical neurological, computed tomography, biochemical and hematological parameters in comparison with the functional outcome of acute period of disease

Parameters, units	Total cohort (n = 111)	mRS <3 on the 21 st day (n = 21)	mRS ≥3 on the 21 st day (n = 90)	P
NIHSS score at baseline, points	12.0 (10.0; 13.0)	8.0 (6.0; 10.0)	12.0 (10.0; 14.0)	<0.0001
Infarct volume, ml	32.4 (17.9; 56.9)	19.8 (12.3; 28.8)	35.8 (23.0; 61.9)	0.0035
The volume of the post-stroke cyst, ml	8.3 (2.1; 18.4)	7.9 (2.3; 17.4)	8.7 (2.1; 19.0)	0.9169
Glucose serum level, mmol/l	5.9 (5.0; 7.2)	5.1 (4.8; 5.3)	6.1 (5.0; 7.7)	0.0034
Fibrinogen, g/l	3.5 (2.9; 4.4)	3.5 (2.7; 4.4)	3.5 (2.9; 4.4)	0.9969
Prothrombin index, %	90.0 (86.0; 96.0)	88.0 (86.0; 96.0)	91.0 (85.5; 96.0)	0.5801
Hematocrit, %	41.0 (37.5; 45.0)	41.0 (37.0; 43.0)	42.0 (37.8; 46.0)	0.3506
White blood cells (WBC), G/l	7.6 (6.3; 9.5)	6.8 (5.7; 10.1)	7.7 (6.4; 9.4)	0.1718
Absolute neutrophils count (ANC), G/l	5.5 (4.3; 7.6)	5.2 (3.8; 7.9)	5.8 (4.5; 7.3)	0.2833
Absolute lymphocyte count (ALC), G/l	1.3 (0.9; 1.9)	1.1 (1.0; 1.7)	1.4 (0.8; 1.9)	0.7433
Absolute monocyte count, G/l	0.4 (0.3; 0.6)	0.3 (0.2; 0.3)	0.4 (0.3; 0.6)	0.6299
NLC	4.4 (2.8; 7.0)	3.9 (2.9; 5.4)	4.6 (2.2; 7.3)	0.7206

Table 2. Clinical and paraclinical characteristics of general cohort of patients with recurrent cerebral hemispheric ischemic stroke without diabetes mellitus and comparative analysis of clinical neurological, computed tomography, biochemical and hematological parameters in comparison with the functional outcome of acute period of disease

Parameters, units	Total cohort (n = 88)	mRS <3 on the 21 st day (n = 18)	mRS ≥3 on the 21 st day (n = 70)	P
NIHSS score at baseline, points	12.0 (10.0; 14.0)	8.0 (6.0; 10.0)	12.0 (10.0; 14.0)	0.001
Infarct volume, ml	32.4 (17.9; 56.9)	18.6 (11.6; 28.8)	36.5 (23.4; 65.3)	0.0053
The volume of the post-stroke cyst, ml	6.9 (1.9; 16.5)	4.0 (0.9; 14.4)	6.9 (1.9; 16.5)	0.4438
Glucose serum level, mmol/l	5.5 (5.0; 7.2)	5.0 (4.6; 5.2)	6.0 (5.0; 7.7)	0.0118
Fibrinogen, g/l	91.0 (85.5; 96.0)	90.5 (85.0; 96.0)	91.0 (86.0; 96.0)	0.8526
Prothrombin index, %	3.4 (2.9; 4.6)	3.7 (2.7; 4.9)	3.4 (2.9; 4.4)	0.9070
Hematocrit, %	42.0 (37.8; 46.0)	41.5 (37.0; 44.0)	42.0 (38.0; 46.0)	0.3350
White blood cells (WBC), G/l	7.6 (6.3; 9.5)	6.8 (5.7; 10.1)	7.7 (6.4; 9.4)	0.1657
Absolute neutrophils count (ANC), G/l	5.4 (4.3; 7.2)	5.5 (4.5; 7.1)	4.9 (3.8; 7.9)	0.2797
Absolute lymphocyte count (ALC), G/l	1.4 (0.9; 1.9)	1.5 (0.8; 2.0)	1.2 (1.0; 1.7)	0.7289
Absolute monocyte count, G/l	0.4 (0.3; 0.6)	0.4 (0.2; 0.6)	0.4 (0.3; 0.6)	0.4690
NLC	4.1 (2.6; 6.6)	4.2 (2.4; 7.1)	3.7 (2.9; 5.4)	0.8280

and 13 women). No significant intergroup differences in gender structure were detected ($\chi^2 = 1.87$, $P = 0.1716$), however the patients with FFO were significantly younger (66.0 (59.0; 74.0) years versus 73.0 (65.0; 77.0) years, $P = 0.0245$). The frequency of left-stroke localization (77.8 % compared with 50.0 %, $\chi^2 = 4.43$; $P = 0.0354$) was significantly higher in patients who had FFO of RCIHS without diabetes mellitus. It was found that the lesion of contralateral hemisphere (61.4 % compared with 27.8 %, $\chi^2 = 6.46$; $P = 0.0110$) was significantly higher among patients with FFO without diabetes mellitus. No significant differences in median of time interval between first-ever stroke and recurrent one was detected (24.0 (9.0; 48.0) months in patients with FFO versus 21.0 (11.0; 32.0) months in patients with UFO, $P = 0.6894$).

Atrial fibrillation was diagnosed among 27 (38.6 %) patients with FFO and among 7 (38.9 %) patients with UFO ($\chi^2 = 0.0006$, $P = 0.9803$).

Comparative analysis of clinical neurological, computed tomography, biochemical and hematological parameters among patients without diabetes mellitus revealed the presence of significant intergroup differences by following indicators: baseline NIHSS score (8.0 (6.0; 10.0) points in patients with FFO versus 12.0 (10.0; 14.0) points in patients with UFO, $P = 0.001$), the infarct volume (18.6 (11.6; 28.8) ml versus 36.5 (23.4; 65.3), $P = 0.0053$), glucose serum level (5.0 (4.6; 5.2) mmol/l versus 6.0 (5.0; 7.7) mmol/l, $P = 0.0118$). According to other indicators significant intergroup differences were not found (Table 2).

Based on univariate logistic regression analysis it was found that contralateral stroke localization (OR 4.14 95 % CI 1.33–12.92, $P = 0.0144$), baseline NIHSS score (OR 1.83 95 % CI 1.38–2.42, $P < 0.0001$), the infarct volume (OR 1.03; 95 % CI 1.00–1.06, $P = 0.0266$), glucose serum level (OR 2.39 95 % CI 1.32–4.33, $P = 0.0042$) had association with functional outcome among patients without diabetes mellitus. Taking into account the results of multivariate regression analysis it was proved that functional outcome of RCIHS was independently associated not only with baseline NIHSS score (OR 1.77, 95 %, CI 1.32–2.38, $P = 0.001$) but with glucose serum level as well (OR 2.69, 95 %, CI 1.15–6.28, $P = 0.0220$). These indicators have been integrated into a prediction model of the following form: $\beta = 0.57 \cdot P_1 + 0.99 \cdot P_2 - 9.63$, where P_1 – baseline NIHSS score, P_2 – baseline glucose serum level.

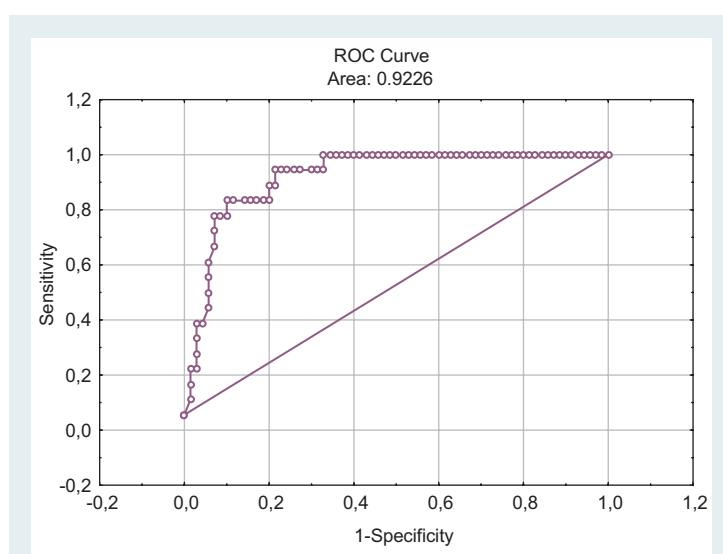


Fig. 1. ROC-curve for the developed mathematical model.

Based on ROC-analysis it was found that $\beta > 0.82$ is the integral predictor of UFO of the acute period RCIHS (AUC = 0.92, $P < 0.05$) with high sensitivity (90.0 %) and specificity (83.3 %) (Fig. 1).

The prediction accuracy of the developed mathematical model was 87.5 %.

Discussion

Based on our investigation, it was found that age of patient, localization of recurrent cerebral ischemic hemispheric stroke in the contralateral hemisphere, initial level of neurological deficiency and the infarct volume are the most important factors that negatively affect the functional outcome of the acute period of disease. The obtained results are in agreement with the results of other studies. Thus, in numerous studies it has been defined that younger patients have better stroke outcome and they have higher abilities for recovering than older people. In our opinion, it may be explained by the decrease in neuronal plasticity of the brain as a result of aging in conjunction with an increase in the frequency of comorbidity pathology, which worsens the recovery of the patient.

In our study we found out that the frequency of UFO among patients with contralateral localization of recurrent cerebral ischemic hemispheric stroke consisted 88.3%. It was 1.22 times higher than in patients with localization of recurrent cerebral ischemic hemispheric stroke in the ipsilateral hemisphere ($P = 0.0352$). These data coincide with the results of clinical and experimental studies [6, 10]. Thus, in the Copenhagen Stroke Study it was revealed, that patients who had recurrent stroke in the contralateral hemisphere regarding to the first-ever stroke, demonstrated worse functional outcome in comparison with patients with localization of RCIHS in the ipsilateral hemisphere [11]. Data from an experimental study by C. Fan et al. (2017) where the effect of recurrent cerebral ischemic hemispheric stroke lateralization on the level of α -mRNA tumor necrosis factor α was studied, also indicate that the severity of the brain injury following by second ischemic event would be alleviated when the second stroke located in the ipsilateral hemisphere [12].

The frequency of RCIHS localization in the right hemisphere in patients with UFO was significantly higher than in patients with FFO (46.7 % compared with 19.1 %, $\chi^2 = 5.30$, $P = 0.0213$). In accordance with the data of S. Laredo et al. (2018) patients with left and right hemisphere localization of stroke had no difference in the level of neurological deficiency [13], while in the study of V. S. Hedna et al. (2015), with the involvement of 2.673 patients with CHIS it was found that infarctions in the right hemisphere are characterized by more severe neurological deficiency [14]. On the one hand, our findings can be explained by the negative influence of the spatial neglect syndrome, which significantly impairs the functional recovery and is specific for right hemisphere damage. On the other hand, we support the idea that right hemisphere plays a crucial role in the cardiovascular regulation due to autonomic nervous system lateralization so that sympathetic functioning used to be more affected by right hemisphere stroke, which more often accompanies increase norepinephrine levels as well as elevations of blood pressure [15].

The obtained results concerning the influence of the infarct volume on functional outcome completely coincided with the data of other studies [16, 17].

Multivariate logistic regression analysis proved that baseline NIHSS score, was an independent factor associated with functional outcome of RCIHS. It also is in agreement with numerous studies that have proven a significant influence of the initial level of neurological deficiency on the functional outcome of cerebral ischemic hemispheric stroke [7, 18].

Based on the ROC analysis it was found that baseline NIHSS score >10 was a predictor of unfavorable functional outcome of the acute period of the RCIHS and was optimum for the ratio of sensitivity (73.3 %) and specificity (90.5 %). It coincides with S. A. Raza et al (2017) study where it was proved that total NIHSS score >10 is a predictor of severe disability [19]. However, in studies by M. E. Reznik et al. (2018) [20] and V. Inoa et al. (2014) [7] in which first-time CHIS patients were involved, the NIHSS total score for determining the risk of UFO was slightly lower: ≥ 6 and ≥ 8 respectively.

Our study did not reveal intergroup differences in levels of hematocrit, prothrombin index, fibrinogen and

hematological parameters among patients with different functional outcomes of the acute period of RCIHS. The obtained data dissociated with the results of a few studies, which described the association between the neutrophil-lymphocyte ratio [21] and the level of fibrinogen in plasma [22] with the functional outcome of cerebral ischemic hemispheric stroke. All mentioned above suggests that clinical neuroimaging methods have greater predictive value than the laboratory parameters.

Univariate logistic regression analysis which was performed among patients without diabetes mellitus, revealed an independent association of glucose serum levels and functional outcome of the acute period RCIHS (OR 2.69 95 % CI 1.15–6.28, $P = 0.0220$). Patients with UFO significantly differed in higher level of glycemia at baseline (6.0 (5.0; 7.7) mmol/l compared with 5.0 (4.6; 5.2) mmol/l, $P = 0.0118$). The obtained data are consistent with numerous studies, in which negatively influence of increased serum glucose level on the functional stroke outcome was proved [8, 23]. Thus, GLIAS (Glycemia in Acute Stroke) multicentre study described a high predictive value of an initial glucose serum levels in patients with ischemic stroke [23]. According to the study by J. Sung et al. (2017), serum glucose concentration during hospitalization of a patient with IS is a highly informative indicator for the determination of functional prognosis [24].

In order to cumulate the predictive value of the baseline NIHSS score and glucose serum level were integrated into the mathematical model that allows to determine the functional outcome of the acute period of RCIHS among patients without diabetes mellitus with an accuracy of 87.5 % (AUC = 0.92, $P < 0.05$).

The ROC analysis determined the value of β , which is an integral predictor of UFO of the acute period of RCIHS among patients without diabetes mellitus (sensitivity 90.0 %, specificity 83.3 %). It is expedient to use the developed mathematical model in routine clinical practice for improving the accuracy of prediction of functional outcome in patients.

Conclusions

1. Initial level of neurological deficiency (OR 1.74 95 % CI 1.36–2.23, $P < 0.0001$) and glucose serum level at baseline (OR 2.39 95 % CI 1.32–4.33, $P = 0.0042$) (in the absence of diabetes mellitus) had the most significant influence on the functional outcome of the acute recurrent cerebral ischemic hemispheric stroke.

2. Localization of recurrent cerebral ischemic hemispheric stroke in the contralateral hemisphere regarding first-ever stroke was associated with a unfavorable functional outcome on the 21st day of the disease. ($\chi^2 = 4.44$, $P = 0.0352$).

3. Baseline NIHSS score >10 was an independent predictor of unfavourable functional outcome which was determined by the mRS score ≥ 3 (sensitivity 73.3 %, specificity 90.5 %).

4. The mathematical model which included the level of initial neurological deficit and glucose serum level could predict the functional outcome of recurrent cerebral ischemic hemispheric stroke in patients without

diabetes mellitus with accuracy of 87.5 % (AUC = 0.92, $P < 0.05$).

Prospect of work is development of clinical and para-clinical criteria for vital prediction of the acute recurrent cerebral ischemic hemispheric stroke outcome.

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

Information about authors:

Koziolkin A. A., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Nervous Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kuznietsov A. A., MD, PhD, Associate Professor of Department of Nervous Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Novikova L. V., MD, PhD-Student of the Department of Nervous Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Козьолкін О. А., д-р мед. наук, професор, зав. каф. нервових хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Кузнєцов А. А., канд. мед. наук, доцент каф. нервових хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Новикова Л. В., очний аспірант каф. нервових хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Козьолкин А. А., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. нервных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Кузнєцов А. А., канд. мед. наук, доцент каф. нервных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Новикова Л. В., очный аспирант каф. нервных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Надійшла до редакції / Received: 30.10.2018

Після доопрацювання / Revised: 06.11.2018

Прийнято до друку / Accepted: 08.11.2018

References

- [1] Kotova, S. G., & Antonov, I. P. (2003). Povtornye ishemicheskie insulty: osnovnyye prichiny vozniknoveniya i puti profilaktiki [Recurrent ischemic strokes: the main causes and ways of prevention]. *Medicinskie novosti*, 11, 3–9. [in Russian].
- [2] Gafurov, B. G. & Rakhmanova, Sh. P. (2011). Nekotorye kliniko-patogeneticheskie kharakteristiki pervogo i povtornogo mozgovykh insultov [Some clinical and pathogenetic characteristics of the first and recurrent ischemic strokes]. *Mezhdunarodnyj nevrologicheskij zhurnal*, 1, 59–62. [in Russian].
- [3] Chin, Y. Y. Sakinah, H. Aryati, A. & Hass, B. M. (2018). Prevalence, risk factors and secondary prevention of Stroke recurrence in eight countries from south, east and southeast asia: a scoping review. *Med J Malaysia*, 73(2), 90–99.
- [4] Kryzhanovskij, S. M. & Mozharovskaya, M. A. (2012). Povtornyj ishemicheskij insult: osobennosti taktiki i vedeniya pacientov [Recurrent ischemic stroke: features of patient management tactics]. *Consilium Medicum*, 9, 44–47. [in Russian].
- [5] Klochikhina, O. A. (2018). Povtornyj ishemicheskij insult: osobennosti taktiki i vedeniya pacientov [Prediction of probability of the long term fatal outcome of stroke by the data of territory and populational registry]. *Kardiovaskuliarna terapija i profilaktika*, 17(3), 33–37. [in Russian].
- [6] Alonso, A., Ebert, A. D., Kern, R., Rapp, S., Hennerici, M. G., & Fatar, M. (2015). Outcome predictors of acute stroke patients in need of intensive care treatment. *Cerebrovasc Dis.*, 40(1–2), 10–17. doi: 10.1159/000430871.
- [7] Inoa, V., Aron, A. W., Staff, I., Fortunato, G., & Sansing, L. H. (2014). Lower NIH Stroke Scale Scores Are Required to Accurately Predict a Good Prognosis in Posterior Circulation Stroke. *Cerebrovascular Diseases*, 37(4), 251–255. doi: 10.1159/000358869.
- [8] Nardi, K., Milia, P., Eusebi, P., Paciaroni, M., Caso, V., & Agneli, G. (2012). Predictive value of admission glucose serum level on short-term mortality in acute cerebral ischemia. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 26(2), 70–76. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2012.03.001.
- [9] Lee, S.-J., Hong, J. M., Lee, S. E., Kang, D. R., Ovbiagele, B., Demchuk, A. M., & Lee, J. S. (2017). Association of fibrinogen level with early neurological deterioration among acute ischemic stroke patients with diabetes. *BMC Neurology*, 17(1), 101. doi: 10.1186/s12883-017-0865-7.
- [10] Soriano-Tárraga, C., Giralte-Steinhauer, E., Mola-Caminal, M., Ois, A., Rodríguez-Campello, A., Cuadrado-Godia, E., & Jiménez-Conde, J. (2018). Biological Age is a predictor of mortality in Ischemic Stroke. *Scientific Reports*, 8(1), 4148. doi: 10.1038/s41598-018-22579-0.
- [11] Jørgensen, H. S. (1996). The Copenhagen Stroke Study experience. *J Stroke Cerebrovasc Dis.*, 6(1), 5–16. doi: https://doi.org/10.1016/S1052-3057(96)80020-6.
- [12] Fan, C., Zhang, L., He, Z., Shao, P., Ding, L., Wang, G., & Jia, J. (2017). Reduced Severity of Outcome of Recurrent Ipsilateral Transient Cerebral Ischemia Compared with Contralateral Transient Cerebral Ischemia in Rats. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 26(12), 2915–2925. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.09.001.
- [13] Laredo, C., Zhao, Y., Rudilosso, S., Renú, A., Pariente, J. C., Chamorro, Á., & Urra, X. (2018). Prognostic Significance of Infarct Size and Location: The Case of Insular Stroke. *Scientific Reports*, 8(1), 9498. doi: 10.1038/s41598-018-27883-3.
- [14] Hedna, V. S., Bodhit, A. N., Ansari, S., Falchook, A. D., Stead, L., Heilman, K. M., & Waters, M. F. (2013). Hemispheric Differences in Ischemic Stroke: Is Left-Hemisphere Stroke More Common? *Journal of Clinical Neurology*, 9(2), 97–102. doi: 10.3988/jcn.2013.9.2.97.
- [15] Markkula, R. L. (2014). Recovery from Neglect after Right Hemisphere Stroke. *International Journal of Neurorehabilitation*, 1, 103. doi: 10.4172/2376-0281.1000103.
- [16] Bruno, A., Shah, N., Akinwuntan, A. E., Close, B., & Switzer, J. A. (2013). Stroke size correlates with functional outcome on the simplified modified Rankin Scale questionnaire. *J Stroke Cerebrovasc Dis.*, 22(6), 781–3. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2012.03.011.
- [17] Kruezelmann, A., Kohrmann, M., Sobesky, J., Cheng, B., Rosenkranz, M., Röther, J., et al. (2011). Pretreatment diffusion-weighted imaging lesion volume predicts favorable outcome after intravenous thrombolysis with tissue-type plasminogen activator in acute ischemic stroke. *Stroke*, 42(5), 1251–1254. doi: 10.1161/STROKEAHA.110.600148.
- [18] Yaghi, S., Willey, J. Z., Andrews, H., Boehme, A. K., Marshall, R. S., & Boden-Albala, B. (2016). The itemized NIHSS Scores are associated with discharge disposition in patients with minor stroke. *Neurohospitalist*, 6(3), 102–106. doi: 10.1177/1941874416641466.
- [19] Raza, S. A., Frankel, M. R., & Rangaraju, S. (2017). Abbreviation of the follow-up NIH stroke scale using factor analysis. *Cerebrovasc Dis*, 7(3), 120–129. doi: 10.1159/000479933.
- [20] Reznik, M. E., Yaghi, S., Jayaraman, M. V., McTaggart, R. A., Hemminger, M., Mac Grory, B. C., & Furie, K. L. (2018). Baseline NIH Stroke Scale is an inferior predictor of functional outcome in the era of acute stroke intervention. *International Journal of Stroke*, 3(8), 806–810. doi: 10.1177/1747493018783759.
- [21] Zhang, J., Ren, Q., Song, Y., He, M., Zeng, Y., Liu, Z., & Xu, J. (2017). Prognostic role of neutrophil-lymphocyte ratio in patients with acute ischemic stroke. *Medicine*, 96(45), e8624. doi: 10.1097/md.00000000000008624.
- [22] Swarowska, M., Ferens, A., Pera, J., Slowik, A., & Dziedzic, T. (2016). Can Prediction of Functional Outcome after Stroke Be Improved by Adding Fibrinogen to Prognostic Model. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 25(11), 2752–2755. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.07.
- [23] Fuentes, B., Castillo, J., San Jose, B., Leira, R., Serena, J., & Vivancos, J. (2008). The Prognostic Value of Capillary Glucose Levels in Acute Stroke: The GLyceria in Acute Stroke (GLIAS) Study. *Stroke*, 40(2), 562–568. doi: 10.1161/strokeaha.108.519926.
- [24] Sung, J. Y., Chen, C. I., Hsieh, Y. C., Chen, Y. R., Wu, H. C., Chan, L., et al. (2017). Comparison of admission random glucose, fasting glucose, and glycated hemoglobin in predicting the neurological outcome of acute ischemic stroke: a retrospective study. *Peer J.*, 5, e2948. doi: 10.7717/peerj.2948.

Сравнительная характеристика реакции вазопрессинергических нейронов супраоптического и паравентрикулярного ядер гипоталамуса при прерывистом действии гипоксической гипоксии

А. В. Абрамов, В. А. Шаменко, Ю. М. Колесник

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

Ключевые слова: [Arg⁸]-вазопрессин, белок cFos, фактор, индуцибельный гипоксией, гипоталамус, гипоксическая гипоксия.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 360–366

DOI:
10.14739/2310-1237.
2018.3.151862

E-mail:
abramov@zsmu.pp.ua

Вазопрессинергическая система гипоталамуса занимает важное место в нейроэндокринных механизмах поддержания гомеостаза, контроля вегетативных реакций и процессах адаптации организма к действию острых и хронических стрессоров. Основная часть крупноклеточных вазопрессин-синтезирующих нейронов локализуется в супраоптическом ядре (SON), а также в латеральной части заднего крупноклеточного субъядра паравентрикулярного ядра гипоталамуса (PVNpmI).

Цель работы – изучить особенности функционального состояния вазопрессинергических нейронов крупноклеточных ядер гипоталамуса при многодневном действии прерывистой гипоксической гипоксии и в постгипоксический период.

Материалы и методы. Исследование проведено на 30 самцах крыс линии Wistar. Прерывистую гипоксию моделировали ежедневным 6-часовым пребыванием крыс на высоте 6000 м ($pO_2 = 9,8 \%$) в течение 15 дней, постгипоксический период длился 10 дней. Распределение [Arg⁸]-вазопрессина (AVP), белков cFos, HIF-1 α и HIF-3 α исследовали методами количественной иммунофлуоресценции в серийных фронтальных срезах гипоталамуса.

Результаты. Действие гипоксической гипоксии приводило к дегенеративным изменениям в нейронах SON, торможению на 40 % синтеза AVP в SON, снижению на 56 % содержания белка cFos и отсутствию реакции нейроцитов на гипоксию со стороны белков семейства HIF. В нейронах PVNpmI прерывистая гипоксия стимулировала повышение содержания AVP в 6 раз и на 80 % белка cFos. Реакция нейронов PVNpmI на гипоксию сопровождалась повышением содержания белков семейства HIF в 3 раза. В постгипоксический период в нейронах SON содержание AVP частично восстанавливалось, однако сохранялась депрессия синтеза белка секреторной активности cFos. В нейронах PVNpmI в постгипоксический период содержание AVP и белков семейства HIF существенно снижалось, но оставалось выше, чем в группе контроля. Показатели синтеза белка секреторной активности cFos существенно не изменялись по сравнению с гипоксическим периодом. Эти данные указывают на сохранение высокого уровня функциональной активности крупноклеточных вазопрессинергических нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса в 10-дневный постгипоксический период.

Выводы. Прерывистая гипоксия стимулирует функциональную активность крупноклеточных нейронов PVNpmI, что проявляется усилением синтеза вазопрессина, белков cFos, HIF-1 α и HIF-3 α . В постгипоксический период в PVNpmI наблюдали незначительное уменьшение синтеза вазопрессина, белков HIF-1 α и HIF-3 α без уменьшения содержания белка cFos. Прерывистая гипоксия термозит функциональную активность нейронов SON, которая частично восстанавливается в постгипоксический период.

Ключові слова: [Arg⁸]-вазопрессин, білок cFos, фактор, що індукується гіпоксією, гіпоталамус, гіпоксична гіпоксія.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 360–366

Порівняльна характеристика реакції вазопресинергічних нейронів супраоптичного та паравентрикулярного ядер гіпоталамуса при переривчастій дії гіпоксичної гіпоксії

А. В. Абрамов, В. О. Шаменко, Ю. М. Колесник

Вазопресинергічна система гіпоталамуса посідає чільне місце в нейроендокринних механізмах підтримки гомеостазу, контролю вегетативних реакцій і процесів адаптації організму до дії гострих і хронічних стресорів. Основна частина великоклітинних вазопресин-синтезуючих нейронів локалізується в супраоптичному ядрі (SON) і в латеральній частині заднього великоклітинного суб'ядра паравентрикулярного ядра гіпоталамуса (PVNpmI).

Мета роботи – вивчити особливості функціонального стану вазопресинергічних нейронів великоклітинних ядер гіпоталамуса при багатоденній дії переривчастої гіпоксичної гіпоксії та в постгіпоксичний період.

Матеріали та методи. Дослідження виконали на 30 самцях шурів лінії Wistar. Переривчасту гіпоксію моделювали щоденним 6-годинним перебуванням шурів на висоті 6000 м ($pO_2 = 9,8 \%$) протягом 15 днів, постгіпоксичний період тривав 10 днів. Розподіл [Arg⁸]-вазопресину (AVP), білків cFos, HIF-1 α та HIF-3 α досліджували методами кількісної імунофлуоресценції в серійних фронтальних зрізах гіпоталамуса.

Результати. Дія гіпоксичної гіпоксії призводила до дегенеративних змін у нейронах SON, гальмування на 40 % синтезу AVP у SON, зниження на 56 % вмісту білка cFos і відсутності реакції нейроцитів на гіпоксію з боку білків сімейства HIF. У нейронах PVNpmI переривчаста гіпоксія стимулювала підвищення вмісту AVP у 6 разів і збільшення на 80 % білка cFos. Реакція нейронів PVNpmI на гіпоксію супроводжувалася підвищенням вмісту білків сімейства HIF утричі. У постгіпоксичний період у нейронах SON вміст AVP частково відновлювався, але зберігалася депресія синтезу білка секреторної активності cFos. У нейронах PVNpmI у постгіпоксичний період вміст AVP і білків сімейства HIF істотно знижувався, але залишався вищим, ніж у групі контролю. Показники синтезу білка секреторної активності cFos суттєво не змінювалися порівняно з гіпоксичним періодом. Ці дані вказують на збереження високого рівня функціональної ак-

тивності великоклітинних вазопресинергічних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса протягом 10-денного постгіпоксичного періоду.

Висновки. Переривчаста гіпоксія стимулює функціональну активність великоклітинних нейронів PVNpmI, що проявляється посиленням синтезу вазопресину, білків cFos, HIF-1 α і HIF-3 α . У постгіпоксичний період у PVNpmI спостерігають незначне зменшення синтезу вазопресину, білків HIF-1 α і HIF-3 α без зменшення вмісту білка cFos. Переривчаста гіпоксія гальмує функціональну активність нейронів SON, що частково відновлюється в постгіпоксичний період.

Comparative characteristics of vasopressinergic neurons of the supraoptic and paraventricular nuclei of hypothalamus response in the intermittent hypoxic hypoxia

A. V. Abramov, V. O. Shamenko, Yu. M. Kolesnyk

The vasopressinergic system of the hypothalamus occupies an important place in the neuroendocrine mechanisms of maintaining homeostasis, controlling autonomic reactions and the processes of adaptation of the organism to the acute and chronic stressors. The main portion of the magnocellular vasopressin-synthesizing neurons is localized in the supraoptic nucleus (SON) and in the lateral part of the posterior magnocellular subnuclei of the paraventricular nucleus (PVNpmI).

The aim of study was to establish the features of the vasopressinergic neurons of the hypothalamus magnocellular nuclei functional state under the influence of prolonged intermittent hypoxic hypoxia and in the post-hypoxic period.

Materials and methods. The research was carried out on 30 male Wistar rats. Intermittent hypoxia was modeled by daily 6 hour stay of rats at the simulated altitude of 6000 m ($pO_2 = 9.8\%$) for 15 days, the post-hypoxic period lasted 10 days. The distribution of [Arg⁸]-vasopressin (AVP), cFos, HIF-1 α , and HIF-3 α proteins was investigated by quantitative immunofluorescence methods in serial frontal sections of hypothalamus.

Results. The hypoxic hypoxia action led to SON neurons degeneration, inhibition of AVP synthesis in SON by 40%, decrease of cFos protein content by 56%, and the failure of reaction to hypoxia from the HIF-proteins family. In PVNpmI neurons, intermittent hypoxia stimulated 6-fold increase in the AVP content along with cFos-protein increase by 80%. The response of PVNpmI neurons to hypoxia was accompanied by 3-times increase of the HIF family proteins content. In the post-hypoxic period the AVP content was partially restored in SON neurons, but decrease of cFos-protein synthesis indicated inhibition of secretory activity in SON. In the post-hypoxic period the content of the AVP and the HIF-proteins decreased significantly in PVNpmI neurons, but the level of all proteins remained higher than in the control group. At the same time, the level of cFos secretory activity did not change significantly as compared with the hypoxic period. These data indicate the stability of the high level of functional activity of the PVNpmI vasopressinergic neurons during the 10-day post-hypoxic period.

Conclusions. Intermittent hypoxia stimulates the functional activity of the PVNpmI that manifests as an increase of vasopressin, cFos, HIF-1 α , and HIF-3 α proteins synthesis in magnocellular neurons. In the post-hypoxic period, a slight decrease in the synthesis of vasopressin, HIF-1 α and HIF-3 α proteins is observed without a decrease in the cFos protein content in PVNpmI. Intermittent hypoxia inhibits the functional activity of SON neurons, which is partially restored in the post-hypoxic period.

Key words:

Arg-vasopressin, cFos protein, hypoxia-inducible factor, hypothalamus, hypoxia.

Pathologia

2018; 15 (3), 360–366

Одно из важных звеньев нейроэндокринной системы гипоталамуса – вазопресинергические нейроны, которые обеспечивают регуляцию водно-солевого гомеостаза в организме [1], регулируют уровень артериального давления крови [2,3], а также определяют реактивность гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГТАКС) в ответ на действие различных стрессовых факторов [4–7]. Основными источниками синтеза вазопрессина (AVP) являются крупноклеточные нейроны супраоптического (SON) и латеральной части заднего субъядра паравентрикулярного (PVNpmI) ядер гипоталамуса [8,9]. Один из наиболее универсальных факторов по природе своего действия на организм млекопитающих – гипобарическая гипоксическая гипоксия [10], которая при многодневном дозированном воздействии вызывает стойкое повышение общей резистентности организма ко многим патогенным факторам среды: острой гипоксии, гиперкапнии, гипероксии, гипокинезии, воздействию высокой температуры и глубокого охлаждения, ионизирующего излучения и физической нагрузки [11,12]. В единичных исследованиях, проведенных на крысах, показано, что однократное 2-часовое ($pO_2 = 10\%$) [13], а также 3-недельное (по 6 часов, $pO_2 = 9,8\%$) [14,15] действие гипоксической гипоксии

приводит к гипертрофии пептидергических нейронов PVN и увеличению иммунореактивности к AVP. В единичных исследованиях на людях, пребывающих различные сроки (от 3 до 30 дней) на различных высотах (от 2000 м до 4500 м), не установлено существенное повышение концентрации AVP в крови [16,17]. Только в работе M. Rostrup (1998) показано, что недельное пребывание альпинистов на высоте 4200 м в Гималаях приводило к повышению концентрации AVP в крови в 1,5–2,0 раза [18]. В исследованиях, посвященных изучению механизмов адаптации плода к фетальной гипоксии и асфиксии/аноксии при родах, показано нарастание концентрации AVP в организме [13,19–21].

Цель работы

Изучить особенности функционального состояния вазопресинергических нейронов крупноклеточных ядер гипоталамуса при многодневном действии прерывистой гипоксической гипоксии и в постгипоксический период.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на 30 половозрелых самцах крыс линии Вистар массой 220–250 г, которые

были разделены на 3 группы по 10 животных в каждой: контрольная, с 15-дневными гипоксическими тренировками и с 10-дневным постгипоксическим периодом. Прерывистую гипоксию моделировали ежедневным 6-часовым пребыванием крыс в вентилируемой барокамере (объем 1,0 м³) с постепенным повышением высоты с 1000 м до 6000 м с 1 по 6 день эксперимента (по 1000 м в день) и последующим пребыванием на высоте 6000 м (pO₂ = 9,8 %) до 15 дня исследований. Животные контрольной группы находились такой же период времени в вентилируемой барокамере при нормальном атмосферном давлении (высота проведения исследований – 86 м над уровнем моря). Вне эксперимента все животные находились в унифицированных условиях вивария на стандартном рационе питания.

Через 24 часа после окончания эксперимента животных декапитировали под тиопенталовым наркозом (50 мг/кг) в соответствии с требованиями международных принципов Европейской конвенции (Страсбург, 1985). Мозг быстро извлекали и на 20 часов помещали в фиксатор Буэна (для постановки иммуногистохимических реакций, по 6 животных из каждой группы) и в фиксатор Карнуа (для окраски по Эйнарсону, по 4 животных из каждой группы). После стандартной гистологической обработки мозг заливали в парапласт (MkCormick, США). Объект изучения – крупноклеточные нейроны супраоптического (SON) и латеральной части заднего крупноклеточного субъядра паравентрикулярного (PVNpm) ядер гипоталамуса [8,9].

Для морфометрии нейронов SON и PVNpm, а также количественной оценки РНК в клетках серийные фронтальные срезы гипоталамуса толщиной 7 мкм депарафинировали в кисоле, регидрировали в нисходящих концентрациях этанола и окрашивали галлоцианин-хромовыми квасцами по Эйнарсону [22]. Изучение гистохимической реакции проводили на микроскопе AxioImager M2 (Carl Zeiss, Германия), оснащенном камерой AxioCam-5HRm (Carl Zeiss, Германия), в проходящем свете. Измеряли площадь тела нейронов (мкм²) и суммарное содержание РНК в нейронах (усл. ед. оптической плотности – Eop).

Для постановки иммунофлуоресцентной реакции серийные фронтальные срезы гипоталамуса толщиной 14 мкм депарафинировали и демаскировали в цитратном РТ-буфере (pH = 6,0) в РТ-модуле (Thermo Scientific, США), инкубировали (24 часа, T = +4 °C) с мышиными моноклональными антителами (IgG) к вазопрессину (AVP), белкам cFos, HIF-1α и HIF-3α (табл. 1), затем с мышиным IgG-карра-связывающим протеином (45 мин, T = +36 °C) и заключали в смесь глицерин/фосфатный буфер (9:1). Изучение иммунофлуоресцентной реакции проводили на флуоресцентном микроскопе AxioImager M2 (Carl Zeiss, Германия), оснащенного камерой AxioCam-5HRm (Carl Zeiss, Германия), с применением высокоэmissionsного светофильтра 38HE (λ_{ex} = 470/40 нм, λ_{em} = 525/50 нм) (Carl Zeiss, Германия). Количественный анализ иммунофлуоресцентной реакции проводили с помощью системы цифрового анализа изображения AxioVision-4.8.2 (Carl Zeiss, Германия). В границах

области SON и PVNpm измеряли площадь материала, иммунореактивного к нейропептидам (мкм²), и его относительную величину по отношению к площади нейроцитов (%), а также суммарное содержание нейропептида (усл. ед. иммунофлуоресценции – Еиф).

Статистический анализ экспериментальных данных проводили пакетом программ для статистического анализа EXCEL 2003 (Microsoft Corp.) с интегрированной программной надстройкой AtteStat [23]. Для оценки достоверности различий в группах применяли t-критерий Стьюдента.

Результаты

Прерывистая гипоксия приводила к увеличению на 13 % площади нейронов SON и уменьшению на 55 % концентрации РНК в цитоплазме (табл. 2). В нейронах отмечен разный степени выраженности пикноз ядра, которое уменьшалось в размерах, характеризовалось неровными фестончатыми контурами и содержало глыбки хроматина с признаками конденсации. Специфическая функция нейронов SON – синтез AVP, содержание которого в структуре после действия гипоксии снижалось на 40 % (табл. 2). Подобное ограничение синтеза AVP сочеталось со снижением на 35 % площади иммунореактивности к cFos и содержания самого белка в области SON на 56 %. Гипоксические воздействия приводили к ограничению в области SON площади иммунореактивности к белку HIF-1α на 46 % и на 14 % к белку HIF-3α без достоверных изменений содержания самих белков в структуре. Таким образом, 15-дневное прерывистое воздействие гипоксической гипоксии приводило к торможению функциональной активности вазопрессинергических нейронов SON и формированию дистрофических изменений в самих нейронах.

Через 10 дней после окончания гипоксических воздействий наблюдали практически полное восстановление функциональной активности вазопрессинергической системы SON (табл. 2). По сравнению с периодом окончания гипоксических воздействий в цитоплазме нейронов достоверно повышалась концентрация РНК, увеличивалась площадь иммунореактивности к AVP и белку c-Fos с увеличением его содержания в SON. Показатели иммунореактивности к c-Fos и HIF-1α оставались существенно ниже, чем у контрольных животных.

В вазопрессинергических нейронах PVNpm прерывистая гипоксия стимулировала увеличение размеров нейроцитов на 14 % без существенного изменения концентрации РНК в цитоплазме и площади иммунореактивности к AVP (табл. 3). Суммарное содержание AVP в PVNpm увеличилось в 6 раз. В результате прерывистого действия гипоксической гипоксии в PVNpm в 2 раза увеличивалась площадь иммунореактивности к белку HIF-3α, на 80 % – к белку c-Fos, на 55 % – к белку HIF-1α. Усиление иммунореактивности сопровождалось нарастанием содержания в PVNpm белка HIF-1α в 3,4 раза, белка HIF-3α – в 3 раза, белка c-Fos – практически в 2 раза по отношению к контролю. Полученные данные доказывают, что прерывистая гипоксическая гипоксия

существенно повышает функциональную активность вазопрессинергических нейронов PVNpm1.

В постгипоксический период гипертрофия нейронов PVNpm1 сохранялась, однако отмечено постепенное уменьшение площади иммунореактивности и содержания в структуре AVP, белков HIF-1 α , HIF-3 α и c-Fos (табл. 3). Вместе с тем, суммарное содержание AVP в PVNpm1 на 43 % превышало аналогичный показатель контрольной группы, содержание белка c-Fos – на 57 %, белков HIF-1 α и HIF-3 α – на 87 % и 20 % соответственно. Полученные данные свидетельствуют, что высокий уровень функциональной активности и синтеза AVP в PVNpm1 сохранялись и в отдаленный постгипоксический период.

Обсуждение

Ранее показано, что в ответ на острую кратковременную гипоксию наблюдают повышение секреции AVP вазопрессинергическими нейронами гипоталамуса и нарастание концентрации нейропептида в крови [13,19–21]. Это приводит к повышению реабсорбции воды, нарастанию общего периферического сопротивления току крови, активации симпатических отделов центральной нервной системы и ренин-ангиотензиновой системы [2,3]. В ответ на острую гипоксию отмечают оптимизацию работы сердечно-сосудистой и дыхательной систем, ответственных за транспорт кислорода в организме. Хроническое действие гипобарической гипоксической гипоксии приводит к снижению концентрации AVP в крови, потере воды организмом и повышению осмоляльности крови [16–18]. Последнее наиболее близко характеризует функциональное состояние нейронов SON, которое наблюдали в проведенном исследовании на фоне многодневных гипоксических воздействий: угнетение синтеза РНК и AVP, снижение показателей секреторной активности нейронов (снижение концентрации белка cFos) и ареактивность на действие гипоксии (отсутствие повышения содержания белков семейства HIF). Однако на фоне угнетения функциональной активности SON в крупноклеточных нейронах PVNpm1 гипоксическая гипоксия приводила к функциональной активации и повышению синтеза AVP. Неоднозначность функциональной реакции крупноклеточных вазопрессинергических нейронов гипоталамуса на гипоксию может быть обусловлена особенностью влияния глюкокортикоидов, концентрация которых в крови нарастает в условиях многодневных гипоксических воздействий [16, 18, 19]. Показано, что длительная хроническая гипоксическая гипоксия – стрессовый фактор, приводящий к активации ГГКС и повышению продукции кортикостероидов надпочечниками [16–19]. Глюкокортикоиды по механизму отрицательной обратной связи могут ограничивать активность секреции кортикотропин-рилизинг гормона (CRH) гипоталамическими нейронами и секрецию АКТГ кортикотропами аденогипофиза [5,24,25]. Крупноклеточные вазопрессинергические нейроны гипоталамуса также чувствительны к действию глюкокортикоидов. В гипоталамусе глюкокортикоиды способны реализовать выраженный тормозной эффект через низкоаффинные глюкокортикоидные рецепторы (рецепторы

Таблица 1. Характеристика мышиных антител (IgG) к антигенам крысы, использованным в исследовании

Антигены крысы	№ по каталогу Santa Cruz Biotechnology (США)	Рабочее разведение
AVP (E-8)	sc-390723	1:200
cFos (C-10)	sc-271243	1:100
HIF-1 α (H1alpha 67)	sc-53546	1:100
HIF-3 α (D-7)	sc-390769	1:100
mouse IgG kappa binding protein conjugated to fluorescein (FITC)	sc-516140	1:64

Таблица 2. Функциональные показатели вазопрессинергической системы супраоптического ядра гипоталамуса (M \pm m)

Показатели, единицы измерения	Группы животных		
	Контрольная	Гипоксические тренировки	Постгипоксический период
Площадь нейронов, мкм ²	177,2 \pm 4,4	200,8 \pm 3,6*	216,0 \pm 3,7**
Содержание РНК, Еоп	19,86 \pm 0,90	9,01 \pm 0,39*	10,52 \pm 0,37**
AVP площадь ИРМ, %	24,03 \pm 1,58	22,75 \pm 1,23	28,13 \pm 1,07**
содержание, Еиф	1336,6 \pm 100,7	800,4 \pm 43,7*	1461,4 \pm 59,1 #
cFos площадь ИРМ, %	4,67 \pm 0,55	3,02 \pm 0,28*	3,91 \pm 0,41
содержание, Еиф	27,92 \pm 3,17	12,31 \pm 1,2*	16,43 \pm 1,20**
HIF-1 α площадь ИРМ, %	4,83 \pm 0,36	2,60 \pm 0,11*	3,13 \pm 0,11**
содержание, Еиф	0,044 \pm 0,002	0,043 \pm 0,003	0,045 \pm 0,002
HIF-3 α площадь ИРМ, %	2,86 \pm 0,16	2,48 \pm 0,10*	2,86 \pm 0,13 #
содержание, Еиф	0,027 \pm 0,001	0,033 \pm 0,002	0,033 \pm 0,001*

ИРМ: иммунореактивный материал; *: достоверность отличий $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе; #: достоверность отличий $p < 0,05$ по отношению к окончанию гипоксических воздействий.

Таблица 3. Функциональные показатели вазопрессинергической системы латеральной части заднего крупноклеточного субъядра паравентрикулярного ядра гипоталамуса (M \pm m)

Показатели, единицы измерения	Группы животных		
	Контрольная	Гипоксические тренировки	Постгипоксический период
Площадь нейронов, мкм ²	171,5 \pm 2,7	195,700 \pm 4,495*	210,5 \pm 5,0**
Содержание РНК, Еоп	13,02 \pm 0,45	13,8 \pm 0,48	13,14 \pm 0,72
AVP площадь ИРМ, %	23,15 \pm 1,54	31,08 \pm 2,38*	25,87 \pm 1,22#
содержание, Еиф	727,4 \pm 40,8	4301,4 \pm 409,2*	1038,8 \pm 30,9**
cFos площадь ИРМ, %	3,36 \pm 0,34	4,75 \pm 0,34*	4,63 \pm 0,47*
содержание, Еиф	12,70 \pm 2,01	22,83 \pm 2,74*	19,970 \pm 2,086*
HIF-1 α площадь ИРМ, %	4,12 \pm 0,39	6,39 \pm 0,65*	5,12 \pm 0,58
содержание, Еиф	0,039 \pm 0,003	0,134 \pm 0,016*	0,073 \pm 0,008**
HIF-3 α площадь ИРМ, %	2,88 \pm 0,17	5,86 \pm 0,55*	3,610 \pm 0,269**
содержание, Еиф	0,030 \pm 0,002	0,090 \pm 0,009*	0,036 \pm 0,002**

ИРМ: иммунореактивный материал; *: достоверность отличий $p < 0,05$ по отношению к контрольной группе; #: достоверность отличий $p < 0,05$ по отношению к окончанию гипоксических воздействий.

II типа), высокая плотность которых отмечена на вазопрессинергических нейронах SON [26,27], в то время как данный тип рецепторов практически отсутствует на вазопрессинергических нейронах PVNpm1, экспрессирующих высокоаффинные минералокортикоидные рецепторы (рецепторы I типа) [26–28]. Принимая во внимание данное обстоятельство, становится понятным отсутствие реакции угнетения функциональной активности нейронов PVNpm1 на фоне гиперкортицизма, вызванного гипоксической гипоксией. Большинство исследователей полагают, что отсутствие глюкокортикоидных рецепторов на

нейронах PVNpm1 исключает возможность регуляции их функции со стороны эндогенных и/или синтетических кортикостероидов при стрессе и, следовательно, участие крупноклеточных вазопрессинергических нейронов PVNpm1 в механизмах адаптации к стрессу ставится под сомнение. Однако наши исследования показали, что, во-первых, нейроны PVNpm1 демонстрируют специфическую реакцию на гипоксию в виде усиления синтеза белков HIF-1 α , HIF-3 α , во-вторых, отвечают на гипоксический стимул значительным повышением синтеза AVP и белка c-Fos. Полагаем, что повышение функциональной активности нейронов PVNpm1 способствует поддержанию механизмов нейроэндокринной адаптации к гипоксии, поскольку секретируемый ими AVP оказывает стимулирующий и совместно с CRH перmissive эффекты на синтез АКГТ и кортикостероидов [4,6,7,29,30]. Возможно, таким образом AVP крупноклеточных нейронов PVNpm1 обеспечивает более эффективную стратегию нейроэндокринной адаптации организма в условиях многодневного действия гипоксической гипоксии. Известно, что ключевые в стратегии адаптации к стрессу – активация ГГКС и усиление синтеза глюкокортикоидов, которые в физиологических и супрафизиологических концентрациях являются анаболическими гормонами и обеспечивают молекулярные механизмы адаптации организма, повышая мощность энергетического и белкового обмена в клетках [5,26]. Примечательно, что, в отличие от CRH-ергической, вазопрессинергическая система PVN отвечает более ранней реакцией на стресс [14,15], приводящей к активации ГГКС. При этом сохранение высокого уровня функциональной активности нейронов PVNpm1 как на фоне гипоксических воздействий, так и в постгипоксический период свидетельствует о важной роли крупноклеточной вазопрессинергической системы PVN в поддержании нейроэндокринного гомеостаза в условиях адаптации организма к стрессу.

Выводы

1. Прерывистое действие гипоксической гипоксии стимулирует функциональную активность крупноклеточных нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса, что проявляется усилением синтеза вазопрессина, белков cFos, HIF-1 α и HIF-3 α .

2. В постгипоксический период в крупноклеточных нейронах паравентрикулярного ядра гипоталамуса отмечено незначительное ограничение синтеза вазопрессина, белков HIF-1 α и HIF-3 α , содержание которых сохраняется достоверно выше, чем в контрольной группе. Содержание белка cFos в нейронах не изменяется и остается на уровне периода окончания гипоксических воздействий.

3. Гипоксическая гипоксия вызывает торможение функциональной активности вазопрессинергической системы супраоптического ядра с последующим частичным ее восстановлением в постгипоксический период.

Перспективы дальнейших исследований заключаются в установлении особенности реакции вазопрессинергических нейронов мелкоклеточных субъядер PVN на действие гипоксической гипоксии и сопоставлении их физиологической активности в сравнении с реакцией крупноклеточных нейронов.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Сведения об авторах:

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

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

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, профессор, ректор, Запорожский государственный медицинский университет, заслуженный деятель науки и техники Украины.

ORCID ID: 0000-0002-1556-5085

Відомості про авторів:

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

Шаменко В. О., лікар вищої категорії, асистент каф. дитячих хвороб ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор, ректор, Запорізький державний медичний університет, заслужений діяч науки і техніки України.

Information about authors:

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

Shamenko V.O., MD, Assistant Lecturer of the Department of Children Diseases of Faculty of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

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

Надійшла до редакції / Received: 10.08.2018

Після доопрацювання / Revised: 12.09.2018

Прийнято до друку / Accepted: 28.09.2018

Список литературы

- Bankir L. Vasopressin: physiology, assessment and osmosensation / L. Bankir, D.G. Bichet, N.G. Morgenthaler // *J Intern Med.* – 2017. – Vol. 282. – Issue 4. – P. 284–97.
- Shell B. Neural control of blood pressure in chronic intermittent hypoxia / B. Shell, K. Faulk, J.T. Cunningham // *Curr Hypertens Rep.* – 2016. – Vol. 18. – Issue 3. – P. 19.
- Dysregulation of the renin-angiotensin system and the vasopressinergic system interactions in cardiovascular disorders / E. Szczepanska-Sadowska, K. Czarzasta, A. Cudnoch-Jedrzejewska // *Current Hypertension Reports.* – 2018. – Vol. 20. – Issue 3. – P. 19.
- McEwen B.S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain / B.S. McEwen // *Physiol Rev.* – 2007. – Vol. 87. – Issue 3. – P. 873–904.
- Stress, the stress system and the role of glucocorticoids / N.C. Nicolaides, E. Kyrtzi, A. Lamprokostopoulou, et al. // *Neuroimmunomodulation.* – 2015. – Vol. 22. – P. 6–19.
- Volpi S. Vasopressinergic regulation of the hypothalamic pituitary adrenal axis and stress adaptation / S. Volpi, C. Rabadan-Diehl, G. Aguilera // *Stress.* – 2004. – Vol. 7. – Issue 2. – P. 75–83.
- Sivukhina E.V. Magnocellular hypothalamic system and its interaction with the hypothalamo-pituitary-adrenal axis / E.V. Sivukhina, G.F. Jirikowski // *Steroids.* – 2016. – Vol. 111. – P. 21–8.
- Silverman A.J. Magnocellular neurosecretory system / A.J. Silverman, E.A. Zimmerman // *Annu Rev Neurosci.* – 1983. – Vol. 6. – P. 357–80.
- Swanson L.W. Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei / L.W. Swanson, P.E. Sawchenko // *Annu Rev Neurosci.* – 1983. – Vol. 6. – P. 269–324.

- [10] Ramirez J.-M. Hypoxia tolerance in mammals and birds: from the wilderness to the clinic / J.-M. Ramirez, L.P. Folkow, A.S. Blix // *Annu Rev Physiol.* – 2007. – Vol. 69. – P. 113–43.
- [11] Березовский В.А. Природная и инструментальная оротерапия / В.А. Березовский. – Донецк : Заславский А.Ю., 2012.
- [12] Караш Ю.М. Нормобарическая гипоксия в лечении, профилактике и реабилитации / Ю.М. Караш, Р.Б. Стрелков, Ф.Я. Чижов. – М. : Медицина, 1988.
- [13] Acute hypoxia activates neuroendocrine, but not presympathetic, neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus: differential role of nitric oxide / K.M. Coldren, D.P. Li, D.D. Kline, et al. // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* – 2017. – Vol. 312. – Issue 6. – R982–95.
- [14] Абрамов А.В. Влияние интервальных гипоксических тренировок на функциональное состояние пептидергических нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса и нейронов ствола мозга крыс / А.В. Абрамов // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* – 1998. – №84(3). – С. 173–81.
- [15] Колесник Ю.М. Состояние вазопрессин-, окситоцин- и кортиколиберинсинтезирующих структур гипоталамуса у крыс с сахарным диабетом при гипоксических воздействиях / Ю.М. Колесник, Ю.Н. Орестенко, А.В. Абрамов // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* – 1993. – №79(9). – С. 34–42.
- [16] Effects of hypoxemia at sea level and high altitude on sodium excretion and hormonal levels / G. Ramirez, M. Hammond, S.J. Agosti, et al. // *Aviat Space Environ Med.* – 1992. – Vol. 63. – Issue 10. – P. 891–8.
- [17] Recovery of plasma volume after 1 week of exposure at 4,350 m / P. Robach, E. Lafforgue, N.V. Olsen, et al. // *Pflugers Arch.* – 2002. – Vol. 444. – Issue 6. – P. 821–8.
- [18] Rostrup M. Catecholamines, hypoxia and high altitude / M. Rostrup // *Acta Physiol Scand.* – 1998. – Vol. 162. – Issue 3. – P. 389–399.
- [19] Myers D.A. Altitude, attitude and adaptation. / D.A. Myers, C.A. Ducsay // *Advances in Experimental Medicine and Biology.* – 2014. – Vol. 814. – P. 147–57.
- [20] Arginine vasopressin marker copeptin is a sensitive plasma surrogate of hypoxic exposure / L. Ostergaard, A. Rudiger, S. Wellmann, et al. // *Hypoxia.* – 2014. – Vol. 2. – P. 143–51.
- [21] Surge of peripheral arginine vasopressin in a rat model of birth asphyxia / M. Summanen, S. Bäck, J. Voipio, K. Kaila // *Front Cell Neurosci.* – 2018. – Vol. 12. – P. 2.
- [22] Пирс Э. Гистохимия / Э. Пирс. – М. : Изд-во ин. лит., 1962. – 962 с.
- [23] Гайдышев И.П. Решение научных и инженерных задач средствами Excel, VBA и C/C++ / И.П. Гайдышев. – СПб. : БХВ–Петербург, 2004. – 512 с.
- [24] The corticotropin-releasing hormone network and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: molecular and cellular mechanisms involved / J.J. Bonfiglio, C. Inda, D. Refojo, et al. // *Neuroendocrinology.* – 2011. – Vol. 94. – Issue 1. – P. 12–20.
- [25] Keller-Wood M. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis–feedback control / M. Keller-Wood // *Compr Physiol.* – 2015. – Vol. 5. – Issue 3. – P. 1161–82.
- [26] Myers B. Glucocorticoid actions on synapses, circuits, and behavior: Implications for the energetics of stress / B. Myers, J.M. McKlveen, J.P. Herman // *Frontiers in Neuroendocrinology.* – 2014. – Vol. 35. – Issue 2. – P. 180–96.
- [27] Sivukhina E.V. Adrenal steroids in the brain: Role of the intrinsic expression of corticosteroid-binding globulin (CBG) in the stress response / E.V. Sivukhina, G.F. Jirikowski // *Steroids.* – 2014. – Vol. 81. – P. 70–3.
- [28] Colocalization of mineralocorticoid receptor and glucocorticoid receptor in the hippocampus and hypothalamus / F. Han, H. Ozawa, K. Matsuda, et al. // *Neuroscience Research.* – 2005. – Vol. 51. – Issue 4. – P. 371–81.
- [29] Aguilera G. Vasopressinergic regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: implications for stress adaptation / G. Aguilera, C. Rabadan-Diehl // *Regulatory Peptides.* – 2000. – Vol. 96. – P. 23–9.
- [30] Arginine vasopressin (AVP): a review of its historical perspectives, current research and multifunctional role in the hypothalamo-hypophysial system / F. Rotondo, H. Butz, L. Syro, et al. // *S Pituitary.* – 2016. – Vol. 19. – Issue 4. – P. 345–55. doi: 10.1007/s11102-015-0703-0.
- [1] Bankir, L., Bichet, D. G., & Morgenthaler, N. G. (2017) Vasopressin: physiology, assessment and osmosensation. *J Intern Med.*, 282(4), 284–97. doi: 10.1111/joim.12645.
- [2] Shell, B., Faulk, K., & Cunningham, J. T. (2016) Neural control of blood pressure in chronic intermittent hypoxia. *Curr Hypertens Rep.*, 18(3), 19. doi: 10.1007/s11906-016-0627-8.
- [3] Szczepanska-Sadowska, E., Czarzasta, K., & Cudnoch-Jedrzejewska, A. (2018) Dysregulation of the renin-angiotensin system and the vasopressinergic system interactions in cardiovascular disorders. *Current Hypertension Reports.*, 20(3), 19. doi: 10.1007/s11906-018-0823-9.
- [4] McEwen, B. S. (2007) Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev.*, 87(3), 873–904. doi: 10.1152/physrev.00041.2006.
- [5] Nicolaidis, N. C., Kyrazi, E., Lamprokostopoulou, A., Chrousos, G. P., & Charmandari, E. (2015) Stress, the stress system and the role of glucocorticoids. *Neuroimmunomodulation*, 22(1–2), 6–19. doi: 10.1159/000362736.
- [6] Volpi, S., Rabadan-Diehl, C., & Aguilera, G. (2004) Vasopressinergic regulation of the hypothalamic pituitary adrenal axis and stress adaptation. *Stress.*, 7(2), 75–83. doi: 10.1080/10253890410001733535.
- [7] Sivukhina, E. V., & Jirikowski, G. F. (2016) Magnocellular hypothalamic system and its interaction with the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Steroids*, 111, 21–8. doi: 10.1016/j.steroids.2016.01.008.
- [8] Silverman, A. J., & Zimmerman, E. A. (1983) Magnocellular neurosecretory system. *Annu Rev Neurosci.*, 6, 357–80. doi: 10.1146/annurev.ne.06.030183.002041.
- [9] Swanson, L. W., & Sawchenko, P. E. (1983) Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. *Annu Rev Neurosci.*, 6, 269–324. doi: 10.1146/annurev.ne.06.030183.001413.
- [10] Ramirez, J.-M., Folkow, L. P., & Blix, A. S. (2007) Hypoxia tolerance in mammals and birds: from the wilderness to the clinic. *Annu Rev Physiol.*, 69, 113–43. doi: 10.1146/annurev.physiol.69.031905.163111.
- [11] Berezovskij, V. A. (2012) *Prirodnaya i instrumental'naya oroterapiya [Natural and instrumental orotherapy]*. Doneck: Zaslavskij A.Yu. [in Russian].
- [12] Karash, Yu. M., Strelkov, R. B., & Chizhov, F. Ya. (1988) *Normobaricheskaya gipoksiya v lechenii, profilaktike i reabilitacii [Normobaric hypoxia in the treatment, prevention and rehabilitation]*. Moscow : Medicina. [in Russian].
- [13] Coldren, K. M., Li, D. P., Kline, D. D., Hasser, E. M., & Heesch, C. M. (2017) Acute hypoxia activates neuroendocrine, but not presympathetic, neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus: differential role of nitric oxide. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 312(6), R982–95. doi: 10.1152/ajpregu.00543.2016.
- [14] Абрамов, А. В. (1998) *Vliyanie interval'nykh gipoksicheskikh trenirovok na funktsional'noye sostoyanie peptidergicheskikh neyronov paraventrikulyarnogo yadra gipotalamusa i neyronov stvola mozga krysa [The effect of interval hypoxic training on the functional state of the peptidergic neurons of the paraventricular nucleus of the hypothalamus and rat brainstem neurons]*. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova*, 84(3), 173–81. [in Russian].
- [15] Kolesnik, Yu. M., Orestenko, Yu. N., & Abramov, A. V. (1993) *Sostoyanie vazopressin-, oksitocin- i kortikoliberinsinteziruyushchikh struktur gipotalamusa u krysa s sakharnym diabetom pri gipoksicheskikh vozdeystviyakh [The state of vasopressin-, oxytocin- and corticolibersin-synthesizing structures of the hypothalamus in diabetic rats with hypoxic effects]*. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova*, 79(9), 34–42. [in Russian].
- [16] Ramirez, G., Hammond, M., Agosti, S. J., Bittle, P. A., Dietz, J. R., & Colice, G. L. (1992) Effects of hypoxemia at sea level and high altitude on sodium excretion and hormonal levels. *Aviat Space Environ Med.*, 63(10), 891–8.
- [17] Robach, P., Lafforgue, E., Olsen, N. V., De'chaux, M., Fouqueray, B., Westerterp-Plantenga, M., et al. (2002) Recovery of plasma volume after 1 week of exposure at 4,350 m. *Pflugers Arch.*, 444(6), 821–8. doi: 10.1007/s00424-002-0894-x.
- [18] Rostrup, M. (1998) Catecholamines, hypoxia and high altitude. *Acta Physiol Scand*, 162(3), 389–399. doi: 10.1046/j.1365-201X.1998.00335.x.
- [19] Myers, D. A., & Ducsay, C. A. (2014) Altitude, attitude and adaptation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 814, 147–57. doi: 10.1007/978-1-4939-1031-1_13.
- [20] Ostergaard, L., Rudiger, A., Wellmann, S., Gammella, E., Beck-Schimmer, B., Struck, J., et al. (2014) Arginine vasopressin marker copeptin is a sensitive plasma surrogate of hypoxic exposure. *Hypoxia.*, 2, 143–51. doi: 10.2147/HP.S57894.
- [21] Summanen, M., Bäck, S., Voipio, J., & Kaila, K. (2018) Surge of peripheral arginine vasopressin in a rat model of birth asphyxia. *Front Cell Neurosci.*, 12, 2. doi: 10.3389/fncel.2018.00002.
- [22] Пирс, Е. (1962) *Gistokhimiya [Histochemistry]*. Moscow : Izd-vo in. lit. [in Russian].
- [23] Гайдышев, И. П. (2004) *Reshenie nauchnykh i inzhenernykh zadach sredstvami Excel, VBA i C/C++ [Solving scientific and engineering problems with Excel, VBA and C / C ++]*. SPb. : BKHV–Peterburg. [in Russian].
- [24] Bonfiglio, J. J., Inda, C., Refojo, D., Holsboer, F., Arzt, E., & Silberstein, S. (2011) The corticotropin-releasing hormone network and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: molecular and cellular mechanisms involved. *Neuroendocrinology*, 94(1), 12–20. doi: 10.1159/000328226.
- [25] Keller-Wood, M. (2015) Hypothalamic-pituitary-adrenal axis–feedback control. *Compr Physiol.*, 5(3), 1161–82. doi: 10.1002/cphy.c140065.

- [26] Myers, B., McKlveen, J. M., & Herman, J. P. (2014) Glucocorticoid actions on synapses, circuits, and behavior: Implications for the energetics of stress. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 35(2), 180–96. doi: 10.1016/j.yfrne.2013.12.003.
- [27] Sivukhina, E. V., & Jirikowski, G. F. (2014) Adrenal steroids in the brain: Role of the intrinsic expression of corticosteroid-binding globulin (CBG) in the stress response. *Steroids*, 81, 70–3. doi: 10.1016/j.steroids.2013.11.001.
- [28] Han, F., Ozawa, H., Matsuda, K., Nishi, M., & Kawata, M. (2005) Colocalization of mineralocorticoid receptor and glucocorticoid receptor in the hippocampus and hypothalamus. *Neuroscience Research*, 51(4), 371–81. doi: 10.1016/j.neures.2004.12.013.
- [29] Aguilera, G., & Rabadan-Diehl, C. (2000) Vasopressinergic regulation of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis: implications for stress adaptation. *Regulatory Peptides*, 96(1–2), 23–9. doi: 10.1016/S0167-0115(00)00196-8.
- [30] Rotondo, F., Butz, H., Syro, L., Yousef, G., Di Ieva, A. D., Restrepo, L. M., et al. (2016) Arginine vasopressin (AVP): a review of its historical perspectives, current research and multifunctional role in the hypothalamo-hypophysial system. *Pituitary*, 19(4), 345–55. doi: 10.1007/s11102-015-0703-0.

Особенности экспрессии ангиотензина II в аркуатном ядре гипоталамуса экспериментальных щурів при різних за етіологією артеріальних гіпертензіях

С. В. Тищенко

Запорізький державний медичний університет, Україна

Доведено, що ефективність регуляції артеріального тиску (АТ) залежить від тих нейромодуляторів і нейрогормонів, які утворюються або надходять до гіпоталамуса. Встановлена важлива роль аркуатного ядра (АрЯ) як внутрішньогіпоталамічного регулятора функціональної активності його ядерних структур і координатора надсегментарних, сегментарних центрів контролю АТ. Є дані про залежність АТ від вмісту пресорного нейрогормона ангиотензину II в АрЯ гіпоталамуса.

Мета роботи – визначити особливості вмісту ангиотензину II в АрЯ гіпоталамуса в щурів ліній Wistar і SHR при етіологічно різних артеріальних гіпертензіях: ендокринно-сольовій та есенціальній.

Матеріали та методи. Дослідження виконали на 24 статевозрілих щурах-самцях масою 250–270 г віком 13–14 місяців, яких поділили на 3 експериментальні групи по 8 тварин у кожній: 1 – контрольна – щури лінії Wistar із нормальними показниками АТ (Рс/Рд = 110/75 ± 5 мм рт. ст.), 2 – щури лінії Wistar з ендокринно-сольовою моделлю АГ (Рс/Рд 145/110 ± 10 мм рт. ст.), 3 – щури лінії SHR зі спонтанною АГ (Рс/Рд = 150/110 ± 10 мм рт. ст.). Для вивчення вмісту ангиотензину II в аркуатному ядрі використали імуногістохімічний метод із наступним цифровим опрацюванням даних програмою Image J та EXCEL-7.0.

Висновки. У щурів зі сформованою АГ незалежно від етіології та патогенезу формування в АрЯ гіпоталамуса спостерігають зниження вмісту та концентрації ангиотензину II. Особливості вмісту ангиотензину II в АрЯ гіпоталамуса залежать від етіологічного чинника розвитку артеріальної гіпертензії та патогенезу. При есенціальній гіпертензії (SHR) спостерігають нижчі показники експресії ангиотензину II у структурі АрЯ гіпоталамуса, ніж при змодельованій вторинній ендокринно асоційованій АГ.

Ключові слова: гіпоталамус, аркуатне ядро, ангиотензин II, артеріальна гіпертензія, щури.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 367–371

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.3.151864

E-mail: gancheva@zsmu.pp.ua

Особенности экспрессии ангиотензина II в аркуатном ядре гипоталамуса экспериментальных крыс при различных по этиологии артериальных гипертониях

С. В. Тищенко

Установлено, что эффективность регуляции артериального давления (АД) зависит от тех нейромодуляторов и нейрогормонов, которые образуются или поступают в гипоталамус. Доказана важная роль аркуатного (АрЯ) как внутригипоталамического регулятора функциональной активности его ядерных структур и координатора надсегментарных и сегментарных центров контроля АД. Есть данные о зависимости АД от содержания пресорного нейрогормона ангиотензина II в АрЯ гипоталамуса.

Цель работы – определить особенности содержания ангиотензина II в АрЯ гипоталамуса у крыс линий Wistar и SHR при этиологически различных артериальных гипертониях: эндокринно-солевой и эссенциальной.

Материалы и методы. Исследование проведено на 24 половозрелых крысах-самцах массой 250–270 г в возрасте 13–14 месяцев, которых поделили на 3 экспериментальные группы по 8 животных в каждой: 1 – контрольная – с нормальными показателями АД (Рс/Рд = 110/75 ± 5 мм рт. ст.) – крысы линии Wistar, 2 – крысы линии Wistar с эндокринно-солевой моделью АГ (Рс/Рд 145/110 ± 10 мм рт. ст.), 3 – крысы линии SHR со спонтанной АГ (Рс/Рд = 150/110 ± 10 мм рт. ст.). Для изучения содержания ангиотензина II в АрЯ использовали иммуногистохимический метод с последующей цифровой обработкой данных программой Image J и EXCEL-7.0.

Выводы. У крыс со сформировавшейся АГ независимо от этиологии и патогенеза формирования в АрЯ гипоталамуса отмечено снижение содержания и концентрации ангиотензина II. Особенности содержания ангиотензина II в АрЯ гипоталамуса зависят от этиологического фактора развития артериальной гипертонии и патогенеза. При эссенциальной гипертонии (SHR) наблюдают низкие показатели экспрессии ангиотензина II в структуре АрЯ гипоталамуса, чем при смоделированной вторичной эндокринно ассоциированной АГ.

Ключевые слова: гипоталамус, аркуатное ядро, ангиотензин II, артериальная гипертония, крысы.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 367–371

Features of angiotensin II expression in the arcuate nucleus of the hypothalamus of experimental rats with arterial hypertension of various etiology

S. V. Tishchenko

It is proved that the effectiveness of blood pressure regulation mainly depends on those neuromodulators and neurohormones that are formed in or enter the hypothalamus. The important role of the arcuate nucleus (ArC) both as the intrahypothalamic regulator of the functional activity of its nuclear structures, and the coordinator over the suprasegmental and segmental centers of blood pressure regulation is proved. There are data that blood pressure is dependent on the content of the pressor neurohormone angiotensin II in the ArC of hypothalamus.

Key words: hypothalamus, arcuate nucleus, angiotensin II, arterial hypertension, rats.

Pathologia 2018; 15 (3), 367–371

The aim of the study was to determine the specific properties of angiotensin II content in the ArC of hypothalamus in the rats of Wistar and SHR lines with etiologically different arterial hypertension: endocrine-salt and essential.

Materials and methods. The study was carried out on 24 mature male rats 250–270 g weight at the age of 13–14 months, which were divided into three experimental groups each consisting of 8 animals. First group of the Wistar rats with normal BP parameters (Ps/Pd = 110/75 ± 5 mm) was a control one. The second was the group of Wistar rats with the endocrine-salt model of arterial hypertension (Ps/Pd 145/110 ± 10 mm). The third group was presented by the SHR rats with spontaneous arterial hypertension (Ps/Pd = 150/110 ± 10 mm). An immunohistochemical method was used to study the content of angiotensin II in the ArC, which was followed by digital processing of the data by Image J and EXCEL-7.0.

Results. Reduction in the content and concentration of angiotensin II is observed in the rats with arterial hypertension independently of its etiology and pathogenesis. Peculiarities of angiotensin II content in ArC of hypothalamus are dependent from the etiology and pathogenesis of arterial hypertension. In essential hypertension (SHR) lower levels of angiotensin II expression in the ArC structure of the hypothalamus are observed than in secondary endocrine associated arterial hypertension.

Нині артеріальна гіпертензія (АГ) діагностована у 972 млн осіб. Захворювання має поліетіологічний характер, але провідні місця посідає есенціальна та вторинна щодо ендокринних порушень АГ [1,2].

Відомо, що гіпоталамус – структура, що бере участь у підтримці гомеостазу організму, водно-електролітного та гормонального балансу, регулює артеріальний тиск (АТ) [3]. У реалізації цієї функції бере участь комплекс ядерних структур: паравентрикулярне, супраоптичне, перивентрикулярне, аркуатне та інші ядра [4]. Від узгодженості та скоординованості їхньої дії залежатиме ефективність регуляції АТ в умовах, що змінюються. Ключовою структурою, що координує та модулює їхню роботу, більшість науковців вважають аркуатне ядро (АрЯ). Ця функція реалізується завдяки топографічному розташуванню та синтезу в ньому великої кількості нейропептидів, а також мультирецепторному апарату [5]. Є припущення, що від функціональної активності та спроможності нейронів АрЯ залежить адекватність регуляції АТ [5].

Є дані, що ефективність регуляції АТ залежить від тих нейромодуляторів і нейрогормонів, котрі утворюються або надходять до АрЯ гіпоталамуса [5]. Одним із таких нейромодуляторів, якому притаманна як центральна, так і периферична дія, є ангіотензин II. До того ж ангіотензін II впливає на відчуття спраги, секрецію вазопресину, пам'ять [6]. Так, у дослідженні J. Coote показано, що ін'єкції ангіотензину II в АрЯ гіпоталамуса щура призводять до підвищення АТ, і рівень підвищення АТ залежав від концентрації введеного ангіотензину II [7,8], проте як змінюється вміст ангіотензину II в АрЯ при сформованій АГ, не вивчено.

Тому вважаємо, що глибоке та детальне вивчення особливостей вмісту ангіотензину II в АрЯ гіпоталамуса при різних за етіологією моделях АГ сприятиме розширенню розуміння патофізіологічних механізмів формування АГ.

Мета роботи

Встановити особливості вмісту ангіотензину II в АрЯ гіпоталамуса в щурів ліній Wistar і SHR при етіологічно різних артеріальних гіпертензіях: ендокринно-сольовій та есенціальній.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали на 24 статевозрілих щурах-самцях масою 250–270 г віком 13–14 місяців, яких поділили на 3 експериментальні групи по 8 тварин у кожній: 1 – контрольна – щури лінії Wistar із нормальними показниками АТ (Pc/Pd = 110/75 ± 5 мм рт. ст.); 2 – щури лінії Wistar з ендокринно-сольовою моделлю АГ, що відповідає вторинній щодо ендокринних порушень у людей; 3 – щури лінії SHR зі спонтанною АГ (Pc / Pd = 165/100 ± 10 мм рт. ст.). Щурам другої групи протягом 30 днів двічі на добу внутрішньом'язово вводили преднізолон о 7:00 годині в дозі 2 мг/кг та о 20:00 у дозі 4 мг/кг з одночасним примусовим випоюванням 5 мл сольового розчину (NaCl 2,3 %). Починаючи з другого тижня АТ у них становив Pc/Pd = 155/110 ± 10 мм рт. ст.

Експериментальну частину дослідження виконували згідно з національними «Спільними етичними принципами експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що погоджені з положенням Ради 2010/63EU Європейського парламенту і Ради від 22 вересня 2010 р. із захисту тварин, яких використовують з науковими цілями (Council Directive 2010/63EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes).

Об'єкт дослідження в експериментальних тварин – гіпоталамус. Для підвищення детекції в гіпоталамусі ангіотензину II за 2 доби до виведення тварин з експерименту їм інтрацеребровентрикулярно вводили колхіцин, який порушує аксональний транспорт і зумовлює локальне накопичення в тілах нейронів гіпоталамуса синтезованих речовин [9].

Після стандартної гістологічної обробки та фіксації в парапласті фрагментів мозку на ротаційному мікромомі Microm-325 (Microm Corp., ФРН) виготовляли 14 мкм зрізи гіпоталамуса, на яких виконували імуногістохімічне дослідження експресії ангіотензину II з ідентифікацією його в АрЯ [10]. На зрізи наносили первинні кролячі IgG до ангіотензину II (Santa Cruz Biotechnology, США) в розведенні 1:200 (інкубували в полімерних камерах при T = +4 °C 24 години), наносили вторинні мишачі IgG до повної молекули IgG кроля, кон'юговані з FITC (Santa Cruz Biotechnology, США) в розведенні 1:200 (інкубували при T = +37 °C 45 хвилин) та укладали в суміш гліцерин/фосфатний буфер (9:1).

Контроль специфічності зв'язування антитіл здійснювали аналогічно, але перед нанесенням первинних

антитіл скельця зі зрізами інкубували з блокувальним пептидом, відповідним до первинних антитіл (Santa Cruz Biotechnology, США), в розведенні 1:50. Зрізи вивчали в ультрафіолетовому спектрі збудження 390 нм за допомогою світлофільтра 38HE з високою емісією (Carl Zeiss, ФРН) на мікроскопі AxioImager-M2 (Carl Zeiss, ФРН).

Зображення, що отримані за допомогою 16-бітної відеокамери AxioCam-ERC5s (Carl Zeiss, ФРН), записували як комп'ютерний файл. Аналіз зображення здійснювали в напівавтоматичному режимі за допомогою програмного забезпечення з відкритим кодом Image J (National Institutes of Health, USA). Для точної ідентифікації області флуоресценції та відповідності її структурі АрЯ в інтерактивному режимі наносили «маску», в якій розраховували вміст імунореактивного матеріалу (IPM) до ангіотензину II ($Od_{\text{чф}}$), концентрацію IPM до ангіотензину II в 1 $\mu\text{м}^2$ ($Od_{\text{чф}}/\mu\text{м}^2$) та питому площу IPM до ангіотензину II (%). Дослідили не менше ніж 200 полів зору в кожній серії.

Експериментальні дані опрацювали за допомогою програмного забезпечення EXCEL-7.0 (Microsoft Corp., США). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсність і помилки середньої (m). Для виявлення вірогідності відмінностей результатів досліджень в експериментальних групах визначали коефіцієнт Стюдента (t), після чого визначали ймовірність відмінності вибірок (p) і довірчий інтервал середньої за таблицями розподілу Стюдента. Вірогідними вважали значення, для яких $Pst < 0,05$ [11].

Результати

Протягом дослідження розподілу та вмісту ангіотензину II в АрЯ гіпоталамуса в щурів з ендокринно-сольовою моделлю АГ (ЕСГ) і SHR встановили, що стійке підвищення артеріального тиску супроводжується

однотипними змінами експресії ангіотензину II при етіологічно різних АГ. Характеризується вірогідним зменшенням як вмісту, так і концентрації IPM до ангіотензину II в щурів лінії SHR на 72 % та 70 % відповідно; у тварин з ендокринно-сольовою АГ – на 53 % та 59 % відповідно (табл. 1, рис. 1).

Є припущення, що поширеність ангіотензину II у структурі АрЯ залежить від кількості нейронів, що його накопичують. Так, при моделі есенціальної АГ (щурів лінії SHR) питома площа IPM до ангіотензину II вірогідно була менша на 67 %, ніж у щурів контрольної групи, а у тварин з ЕСГ вірогідно не відрізнялася від показників контролю (табл. 1).

Порівняльний аналіз показників експресії IPM до ангіотензину II в АрЯ гіпоталамуса в щурів різних моделей АГ за етіологією показав, що вміст і концентрація ангіотензину II були нижчі у групі щурів лінії SHR на 36 % та 25 % відповідно порівняно з групою тварин з ЕСГ. При цьому питома площа IPM до ангіотензину II була вірогідно менша на 5 % (табл. 1).

Обговорення

Отримані в ході дослідження неоднозначні результати щодо вмісту ангіотензину II в АрЯ гіпоталамуса необхідно пов'язати з його фізіологічною дією та етіопатогенетичними особливостями формування АГ.

Імуногістохімічне дослідження нейронів АрЯ гіпоталамуса дало змогу встановити наявність у структурі ангіотензину II, що порушує питання щодо джерела його надходження до гіпоталамуса. Доведено, що його утворення – це каскадний ферментативний процес, під час якого ангіотензиноген, синтезований астроцитами, секретується в міжклітинну рідину [12]. Після цього під впливом ангіотензин-перетворювального ферменту (АПФ), який поширений у всьому головному мозку з найбільшою концентрацією в organum subfornicale та eminentia medialis, ангіотензиноген у міжклітинній

Таблиця 1. Експресія ангіотензину II в АрЯ гіпоталамуса експериментальних тварин (M \pm m)

Експериментальні групи, n = 8	Вміст імунореактивного матеріалу, $Od_{\text{чф}}$	Концентрація імунореактивного матеріалу, $Od_{\text{чф}}/\mu\text{м}^2$	Питома площа імунореактивного матеріалу, %
Wistar	413,34 \pm 0,10	39,02 \pm 0,90	48,12 \pm 0,70
SHR	117,88 \pm 4,40 ¹	12,56 \pm 0,30 ¹	46,59 \pm 0,70 ¹
ЕСГ	181,53 \pm 5,20 ^{1,2}	16,32 \pm 0,40 ^{1,2}	48,87 \pm 0,60 ²

¹: вірогідна різниця показників експериментальних груп ($Pst < 0,05$) порівняно з показниками контролю; ²: вірогідна різниця показників щурів лінії SHR ($Pst < 0,05$) порівняно з показниками щурів групи з ЕСГ.

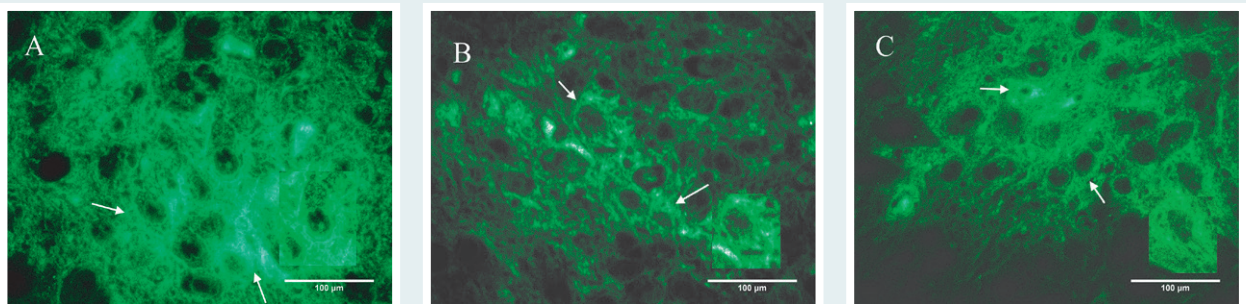


Рис. 1. Розподіл IPM у нейронах АрЯ в контрольних щурів (А), у групі SHR (В) та ЕСГ (С). Реакція непрямої імунофлуоресценції. 36. \times 400.

рідині перетворюється в ангіотензин II [12]. Локально утворений ангіотензин II взаємодіє зі специфічними рецепторами та чинить свою фізіологічну дію: регулює АТ, водно-сольовий обмін, стимулює секрецію вазопресину, АКГГ [13]. Відомі 3 типи рецепторів: АТ₁, АТ₂ та АТ₄. Активність рецепторів АТ₁, які знаходяться в паравентрикулярному, супраоптичному, вентромедіальному, вентролатеральному та аркуатному ядрах гіпоталамуса призводить до підвищення АТ, збільшення секреції вазопресину, виникнення спраги та симпатикотонії [12]. Також є припущення, що рецептор АТ₂ є антагоністом рецептора АТ₁, але їхня концентрація у структурах, що відповідають за регуляцію АТ, суттєво нижча [12]. Саме з цим, на нашу думку, пов'язаний низький рівень ангіотензину II при сформованій АГ у щурів експериментальних груп. Фізіологічна регуляція вмісту ангіотензину II може здійснюватися кількома механізмами: зниженням синтезу астроцитами ангіотензиногену, пригніченням активності АПФ і зміною балансу рецепторів АТ₁ та АТ₂. Імовірно, в АрЯ гіпоталамуса при стабільно сформованій АГ зниження рівня нейрогормона має захисний характер, що спрямований на компенсацію негативних ефектів ангіотензину II. Це повинно сприяти зниженню рівня натрію, зменшенню ОЦК і нормалізації системного АТ [12].

Отже, можна припустити, що саме рівень ангіотензину II у структурі АрЯ гіпоталамуса необхідно розглядати як важливий патогенетичний регулятор системного АТ. За нормальних умов без сформованої патології збільшення чи зменшення його концентрації локально в ядрі є вектором системних проявів ангіотензину II – підвищення чи зниження АТ. При стійкому збільшенні АТ знижені концентрації свідчать про включення механізмів компенсації, котрі спрямовані на нормалізацію АТ.

Підтвердженням цієї думки стали роботи Hideki, в яких показано, що ін'єкції ангіотензину II нормотензивним щурам лінії Wistar в АрЯ гіпоталамуса призводять до підвищення АТ, а введення антагоністів АТ₁ рецепторів супроводжувалося зниженням АТ [6]. Аналогічну клінічну картину спостерігали й інші дослідники, які працювали з щурами, що мали спадкову стрес-індуковану АГ. У молодих щурів цієї лінії виявили високий рівень мРНК ангіотензиногену та рецептора АТ₁, а це зумовило нейрогенну генетично детерміновану АГ. Але інтрацеребровентрикулярне введення блокатора АТ₁, по-перше, зумовило до зниження АТ цих щурів, по-друге, це призвело до зменшення рівня мРНК ангіотензиногену в гіпоталамусі [13]. Однак відсутні дослідження ефектів рецептора АТ₂ щодо регуляції АТ.

Важливим фактом, що встановлений в роботі, є визначення відмінностей показників експресії ангіотензину II при етіологічно різних АГ – менші його концентрації спостерігали при есенціальній АГ (щури SHR), ніж при ендокринно-сольовій АГ. Для пояснення встановленої відмінності необхідно враховувати етіопатогенетичні особливості обох моделей АГ. Так, експериментальну модель вторинної ендокринно асоційованої АГ (ЕСГ) відтворювали шляхом підвищення рівня кортикостероїдів, порушення добового

циркадіанного їх ритму та формування гіпернатріємії. Саме сформована гіпернатріємія через примусове вполювання гіпертонічним розчином NaCl і введення преднізолону, який має альдостеронову активність, призводить до чималого збільшення ОЦК. Крім того, багаторазове введення кортикостероїда мало стимулювальний вплив на синтез ангіотензиногену в мозку, що було експериментально доведено в роботах [12].

На відміну в щурів лінії SHR, за даними багатьох дослідників, у патогенезі формування АГ ключову роль відіграє симпатикотонія, що протягом тривалого часу не супроводжується суттєвими змінами активності ренін-ангіотензин-альдостеронової системи [14.]. Вважаємо, що саме ці етіопатогенетичні особливості зумовили більший вміст ангіотензину II в АрЯ гіпоталамуса в щурів з ЕСГ на відміну від показників щурів лінії SHR.

Висновки

1. У щурів зі сформованою АГ незалежно від етіології та патогенезу формування в АрЯ гіпоталамуса спостерігали зниження вмісту та концентрації ангіотензину II.

2. Особливості вмісту ангіотензину II в АрЯ гіпоталамуса залежать від етіологічного чинника розвитку артеріальної гіпертензії та патогенезу. При есенціальній гіпертензії (SHR) спостерігають найнижчі показники експресії ангіотензину II у структурі АрЯ гіпоталамуса, ніж при змодельованій вторинній ендокринно асоційованій АГ.

Перспективи подальших досліджень передбачають встановлення особливостей балансу пресорних (ангіотензин II) та депресорних (мозковий натрійуретичний пептид) в АрЯ гіпоталамуса при етіологічно різних артеріальних гіпертензіях в експерименті.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про автора:

Тіщенко С. В., асистент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторе:

Тіщенко С. В., ассистент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about author:

Tishchenko S. V., MD, Assistant of the Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 28.09.2018

Після доопрацювання / Revised: 29.10.2018

Прийнято до друку / Accepted: 05.11.2018

Список літератури

- [1] Mozaffarian D. Heart disease and stroke statistics update: a report from the American Heart Association / D. Mozaffarian, E. Benjamin // Circulation. – 2015 – №4. – P. 29–322.

- [2] Герасимова А.С. Артериальная гипертензия ассоциированная с метаболическим синдромом, особенности поражения органов мишеней. Обзор литературы / А.С. Герасимова, В.Е. Олейников // Медицинские науки. – 2008. – № 3.
- [3] Kawabe T. Cardiovascular Responses to Chemical Stimulation of the Hypothalamic Arcuate Nucleus in the Rat: Role of the Hypothalamic Paraventricular Nucleus / T. Kawabe, K. Kawabe, H. Sapru // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7. – Issue 9. – P. e45180.
- [4] Chronwall B. Anatomy and physiology of the neuroendocrine arcuate nucleus / B. Chronwall // *Peptides*. – 1985. – Vol. 6. – P. 1–11.
- [5] Polarized endocytosis and transcytosis in the hypothalamic tanycytes of the rat / B. Peruzzo, F.E. Pastor, J.L. Blazquez, et al. // *Cell Tissue Res*. – 2004. – Vol. 317. – Issue 2. – P. 147–164.
- [6] Arakawa H. The hypothalamic arcuate nucleus: a new site of cardiovascular action of angiotensin-(1–12) and angiotensin II / H. Arakawa, V. Chitravanshi, H. Sapru // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2011. – Vol. 300. – Issue 3. – P. H951–960.
- [7] Iellamo F. Neural mechanisms of cardiovascular regulation during exercise / F. Iellamo // *Autonomic Neuroscience*. – 2001. – Vol. 90. – Issue 1–2. – P. 66–75.
- [8] The brain renin-angiotensin system: location and physiological roles / M. McKinley, A. Albiston, A. Allen, et al. // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. – 2003. – Vol. 35. – Issue 6. – P. 901–918.
- [9] Norstrom A. Effects of colchicine on axonal transport and ultrastructure of the hypothalamo-neurohypophyseal system of the rat / A. Norstrom, H. Hansson, J. Sjostrand // *Zeitschrift für Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie*. – 1971. – Vol. 113. – Issue 2. – P. 271–293.
- [10] Paxinos G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates / G. Paxinos, C. Watson // *Academic Press*. – 2007.
- [11] Зайцев В. Прикладная медицинская статистика : учебно-методическое пособие / В. Зайцев, В. Лифляндский, В. Маринкин. – СПб.: Фолиант, 2003. – 429 с.
- [12] Decreased Angiotensin II Receptors in Subfornical Organ of Spontaneously Hypertensive Rats After Chronic Antihypertensive Treatment With Enalapril / A. Nazarali, J. Gutkind, F. Correa, J. Saavedra // *American Journal of Hypertension*. – 1990. – Vol. 3. – Issue 1. – P. 59–61.
- [13] Gunther S. Regulation by angiotensin II of its receptors in resistance blood vessels / S. Gunther, M. Gimbrone, R.W. Alexander // *Nature*. – 1980. – Vol. 287. – P. 230–232.
- [14] The use of plasma aldosterone and urinary sodium to potassium ratio as translatable quantitative biomarkers of mineralocorticoid receptor antagonism / R. Eudy, V. Sahasrabudhe, K. Sweeney, et al. // *Journal Of Translational Medicine*. – 2011. – Vol. 9. – P. 180.

References

- [1] Mozaffarian, D. , & Benjamin, E. J. (2015). Heart disease and stroke statistics-(2015) update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 4, 29–322.
- [2] Gerasimova, A. S., & Olejnikov, V. E. (2008). Arterial'naya gipertenziya associirovannaya s metabolicheskim sindromom, osobennosti porazheniya organov mishenej. Obzor literatury [Arterial hypertension associated with metabolic syndrome: features of the course and lesion of target organs. Literature Reviews]. *Medicinskie nauki*, 3. [in Russian].
- [3] Kawabe, T. , Kawabe, K. , & Sapru, H. (2012). Cardiovascular Responses to Chemical Stimulation of the Hypothalamic Arcuate Nucleus in the Rat: Role of the Hypothalamic Paraventricular Nucleus. *PLoS ONE*, 7(9), e45180. doi: 10.1371/journal.pone.0045180.
- [4] Chronwall, B. (1985). Anatomy and physiology of the neuroendocrine arcuate nucleus. *Peptides*, 6, 1–11. doi: 10.1016/0196-9781(85)90128-7.
- [5] Peruzzo, B. , Pastor, F. E., Blazquez, J. L., Amat, P. , & Rodríguez, E. M. (2004). Polarized endocytosis and transcytosis in the hypothalamic tanycytes of the rat. *Cell Tissue Res*. 317(2), 147–164. doi: 10.1007/s00441-004-0899-1.
- [6] Arakawa, H. , Chitravanshi, V. , & Sapru, H. (2011). The hypothalamic arcuate nucleus: a new site of cardiovascular action of angiotensin-(1–12) and angiotensin II. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 300(3), H951–960. doi: 10.1152/ajpheart.01144.2010.
- [7] Iellamo, F. (2001). Neural mechanisms of cardiovascular regulation during exercise. *Autonomic Neuroscience*, 90(1–2), 66–75. doi: 10.1016/S1566-0702(01)00269-7.
- [8] McKinley, M. J., Albiston, A. L., Allen, A. M., Mathai, M. L., May, C. N., McAllen, R. M., et al. (2003). The brain renin-angiotensin system: location and physiological roles. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 35(6), 901–918. doi.org/10.1016/S1357-2725(02)00306-0.
- [9] Norstrom, A. , Hansson, H. , & Sjostrand, J. (1971). Effects of colchicine on axonal transport and ultrastructure of the hypothalamo-neurohypophyseal system of the rat. *Zeitschrift für Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie*, 113(2), 271–293. doi.org/10.1007/BF00339421.
- [10] Paxinos, G. , & Watson, C. (2007). The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. *Academic Press*.

Прогностическое значение сывороточного уровня копептина у пациентов с субарахноидальным кровоизлиянием

Н. М. Бучакчийская¹, К. Ю. Полковникова²

¹ГЗ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины», ²КУ «Запорожская областная клиническая больница ЗОС», Украина

Ключевые слова: субарахноидальное кровоизлияние, прогноз.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 372–377

DOI:
10.14739/2310-1237.2018.3.151867

E-mail:
kuzya.cat01121981@gmail.com

Субарахноидальное кровоизлияние (САК) – один из тяжелых типов нарушения мозгового кровообращения. Согласно эпидемиологическим расчетам, в Украине ежегодно происходит до 5000 случаев САК аневризматического генеза при среднем показателе заболеваемости 12 случаев / 100 000 / год на 45 000 000 населения.

Цель работы – оценка диагностической информативности сывороточных значений копептина в определении риска развития осложнений у пациентов с субарахноидальным кровоизлиянием.

Материалы и методы. Проведено проспективное, когортное исследование 82 пациентов (40 мужчин и 42 женщины, средний возраст – 49,6 ± 1,3 года). Диагноз устанавливали на основании клинико-нейровизуализационных критериев. Аневризматический генез САК по данным церебральной ангиографии верифицирован у 58 (71,9 %) пациентов. Сывороточный уровень копептина определяли на 3 сутки заболевания иммуноферментным методом. В качестве первичной конечной точки рассматривали развитие совокупности осложнений САК (вторичная ишемия и церебральный ангиоспазм). Пороговое значение сывороточной концентрации копептина в оценке риска развития осложнений САК определяли по результатам ROC-анализа.

Результаты. Совокупность осложнений САК диагностирована у 27 (32,9 %) пациентов, сывороточный уровень копептина в данной субкогорте статистически значимо превышал таковой в группе пациентов без осложнений на 44,2 % – 0,738 (0,667–0,800) нг/мл против 0,419 (0,347–0,549) нг/мл, $p < 0,01$. Установлено, что сывороточный уровень копептина $\geq 0,605$ нг/мл ассоциирован с повышением кумулятивного риска осложнений САК в 9,5 раза (95 % ДИ 3,6–24,8, $p < 0,0001$; AUC = 0,95 ± 0,02, 95 % ДИ 0,90–0,99, $p = 0,001$; диагностическая точность – 85,4 %, чувствительность – 85,2 %, специфичность – 85,5 %).

Выводы. Сывороточный уровень копептина – высокоинформативный маркер детекции индивидуального кумулятивного риска осложнений у пациентов с САК.

Ключові слова: субарахноїдальний крововилив, прогноз.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 372–377

Прогностичне значення сироваткового рівня копептину в пацієнтів із субарахноїдальним крововиливом

Н. М. Бучакчийська, К. Ю. Полковникова

Субарахноїдальний крововилив (САК) – один із важких типів порушення мозкового кровообігу. За епідеміологічними розрахунками, в Україні щорічно відбувається до 5000 випадків САК аневризматичного генезу при середньому показнику захворюваності 12 випадків / 100 000 / рік на 45 000 000 населення.

Мета роботи – оцінювання діагностичної інформативності сироваткових значень копептину у визначенні ризику розвитку ускладнень у пацієнтів із субарахноїдальним крововиливом.

Матеріали та методи. Здійснили проспективне, когортне дослідження 82 пацієнтів (40 чоловіків і 42 жінки, середній вік – 49,6 ± 1,3 року). Діагноз встановлювали на підставі клініко-нейровізуалізаційних критеріїв. Аневризматичний генез САК за даними церебральної ангиографії верифікований у 58 (71,9 %) пацієнтів. Сироватковий рівень копептину визначали на 3 добу захворювання імуноферментним методом. Як первинну кінцеву точку розглядали розвиток сукупності ускладнень САК (вторинна ішемія та церебральний ангиоспазм). Граничне значення сироваткової концентрації копептину в оцінюванні ризику розвитку ускладнень САК визначали за результатами ROC-аналізу.

Результати. Сукупність ускладнень САК діагностували у 27 (32,9 %) пацієнтів, сироватковий рівень копептину в цій субкогорті статистично значущо перевищував такий у групі пацієнтів без ускладнень на 44,2 % – 0,738 (0,667–0,800) нг/мл проти 0,419 (0,347–0,549) нг/мл, $p < 0,01$. Встановили, що сироватковий рівень копептину $\geq 0,605$ нг/мл асоційований із підвищенням кумулятивного ризику ускладнень САК у 9,5 раза (95 % ДІ 3,6–24,8, $p < 0,0001$; AUC = 0,95 ± 0,02, 95 % ДІ 0,90–0,99, $p = 0,001$; діагностична точність – 85,4 %; чутливість – 85,2 %, специфічність – 85,5 %).

Висновки. Сироватковий рівень копептину є високоінформативним маркером детекції індивідуального кумулятивного ризику ускладнень у пацієнтів із САК.

Key words: subarachnoid hemorrhage, prognosis.

Pathologia
2018; 15 (3), 372–377

Prognostic value of serum copeptin level in patients with subarachnoid haemorrhage

N. M. Buchakchyiska, K. Yu. Polkovnikova

Subarachnoid haemorrhage (SAH) is one of the most common forms of intracranial vascular pathology and one of the severest types of cerebral circulation disorders. According to epidemiology, up to 5000 cases of SAH of aneurysmal genesis occur annually in Ukraine with an average incidence of 12 cases / 100.000 / year per 45 million people.

Purpose of the study. Evaluation of diagnostic informativeness of copeptin serum values in determining the risk of complications in patients with subarachnoid hemorrhage.

Materials and methods. A prospective, cohort study of 82 patients (40 men and 42 women, mean age 49.6 ± 1.3 years) was conducted. The diagnosis was made on the basis of clinical neuroimaging criteria. Aneurysmal genesis of SAH according to cerebral angiography was verified in 58 (71.9 %). Serum copeptin level was determined on the 3rd day of the disease by ELISA. The development of a complex of SAH complications in the form of secondary ischemia and cerebral angiospasm was considered as the primary end point. The threshold value of serum concentration of copeptin in the assessment of the risk of the development of SAH complications was determined by the results of ROC analysis.

Results. The combination of SAH complications was diagnosed in 27 (32.9 %) patients, while the serum level of copeptin in this subcohort was significantly higher than that in the group of patients without complications by 44.2 ± 0.738 (0.667–0.800) ng / ml versus 0.419 (0.347–0.549), $P < 0.01$. The serum level of copeptin ≥ 0.605 ng / ml was found to be associated with an increase in the cumulative risk of SAH complications by 9.5 times (95 % CI 3.6–24.8, $P < 0.0001$; AUC = 0.95 ± 0.02 95 % CI 0.90–0.99, $P = 0.001$; diagnostic accuracy is 85.4 %; sensitivity – 85.2 %, specificity – 85.5 %).

Conclusion. The serum level of copeptin is a highly informative marker for the detection of individual cumulative risk of complications in patients with SAH.

Субарахноидальное кровоизлияние (САК) – один из тяжелейших типов нарушений мозгового кровообращения [1]. Согласно эпидемиологическим расчетам, в Украине ежегодно происходит до 5000 случаев САК аневризматического генеза при среднем показателе заболеваемости 12 случаев / 100 000 / год на 45 000 000 населения [2].

Основная причина развития САК – разрыв мешотчатой аневризмы сосудов головного мозга, которую диагностируют в 50–90 % случаев. В 15 % случаев причина остается неустановленной, артериовенозные мальформации составляют 5–7 % случаев. Частота встречаемости аневризм сосудов головного мозга у женщин – 12, у мужчин – 7 на 100 тыс. населения в год. Догоспитальная летальность при первичном кровоизлиянии вследствие разрыва аневризм составляет 10–15 % [3,4].

Основная причина осложнений при САК обусловлена повторными кровоизлияниями при наличии аневризмы (до 25 % в течение 2 недель, до 50% в течение 6 месяцев), при которых летальность достигает 70 %. Также одним из важных факторов осложнений является развитие артериального спазма, который наблюдается примерно у 60–65% больных после САК и приводит к летальному исходу или глубокой инвалидизации у 10–15 % вследствие вторичных ишемических нарушений [5].

Разработаны стандартные критерии диагностики и лечения пациентов с данной патологией, однако многие вопросы остаются открытыми, а именно своевременная диагностика изменений головного мозга, которые могут повлиять на прогноз и последствия САК. В последнее время появляются работы зарубежных исследователей на тему определения в сыворотке крови пациентов с САК копептина (КП) и предполагают, что уровень копептина может коррелировать с состоянием больного в будущем [6].

Ретроспективно доказано, что плазменные уровни копептина у пациентов с САК коррелируют с тяжестью течения, а наличие других сопутствующих системных заболеваний (включая уремию, цирроз печени, злокачественные новообразования, септическое состояние, острый инфаркт миокарда) может быть связано с элевацией уровня копептина [7].

Отмечено, что плазменные уровни копептина при госпитализации пациентов с САК были значительно выше, чем у здоровых людей контрольной группы; а у пациентов, которые имели плохой функциональный результат течения САК и/или умерли через год после САК или умерли во время пребывания в больнице, уровни копептина при госпитализации также были значительно выше по сравнению с уровнями у тех, кто выжил после САК, или у пациентов с хорошим функциональным результатом [8].

Известно, что копептин синтезируется вместе с аргинин вазопрессинем в гипоталамусе и секретируется в обратную систему кровоснабжения нейрогипофиза. Аргинин вазопрессин, также известный как вазопрессин, аргипресин, или антидиуретический гормон (АДГ), – нейрогипофизарный гормон, который синтезируется у многих млекопитающих и способствует регуляции осмотического и сердечно-сосудистого гомеостаза [9]. Выдвинута гипотеза, что соотношение уровней копептина и степени активации нейрогормональной оси стресса – основа его уникальной значимости как прогностического биомаркера. Данные экспериментальных исследований указывают, что вазопрессин играет важную роль в формировании отека головного мозга, так как блокирование рецепторов вазопрессина ослабляет проявления отека головного мозга в ишемических и травматических моделях его повреждения у мышей [10].

Данные специализированной литературы свидетельствуют, что уровень копептина можно считать потенциальным независимым прогностическим фактором в отношении церебровасоспазма больных с САК, что требует уточнения.

Цель работы

Оценка диагностической информативности сывороточных значений копептина в определении риска развития осложнений у пациентов с субарахноидальным кровоизлиянием.

Материалы и методы исследования

Проведено проспективное, когортное исследование 82 пациентов (40 мужчин и 42 женщины) со спонтан-

ным (нетравматическим) САК. Возраст больных – от 23 до 72 лет (средний возраст – $49,6 \pm 1,3$ года), из них 20 (24,4 %) в возрасте 21–40 лет, 46 (56,1 %) в возрасте 41–60 лет, 16 (19,5 %) пациентов старше 61 года.

Диагноз устанавливали на основании клинико-нейровизуализационных критериев. Клиническую оценку тяжести состояния пациентов выполнили согласно классификации Всемирной организации нейрохирургов (WFNS). Визуализация структурных изменений головного мозга и ликворосодержащих пространств проведена методом рентгеновской компьютерной томографии с использованием аппарата «Toshiba» Asteion Super 4 (Япония). Также пациентам проводили магнитно-резонансную томографию головного мозга с использованием аппарата i_Open 0.36T (Beijing WANDONG Medical Equipment, КНР) с напряженностью магнитного поля 0,36 Тесла. Всем пациентам выполнили церебральную ангиографию с использованием ангиографического комплекса AXIOM Artis MP «Siemens» (ФРГ). Селективное исследование сосудистых бассейнов осуществлялось через феморальный доступ по методике Сельдингера. Аневризматический генез САК по данным церебральной ангиографии верифицирован у 58 (71,9 %), при этом наиболее часто диагностировали аневризмы передней мозговой артерии и передней соединительной артерии (26,8 %), внутренней сонной артерии (18,3 %) и средней мозговой артерии (24,4 %), наиболее редко – аневризмы сосудов вертебрально-базиллярного бассейна (2,4 %). У остальных пациентов аневризматические или артериовенозные мальформационные васкулярные изменения не были детектированы, что свидетельствует о неустановленном генезе САК.

У всех пациентов на 3 сутки после мозговой катастрофы определяли содержание копептина в сыворотке крови. Исследование проведено иммуноферментным методом на иммуноферментном анализаторе TEKAN Austria GmbH с использованием коммерческих тест-систем согласно прилагаемых к ним инструкций. Исследования проводили на базе ООО «Диагностический центр «МЕДЛАЙФ-БИО». Для определения копептина использовали метод иммуноферментного анализа с помощью набора Coreptin (Human) ELISA Kits, Phoenix Pharmaceuticals Inc., USA.

Из исследования исключали пациентов с декомпенсированной соматической патологией и другими заболеваниями (цирроз печени, септический процесс, соответствующая эндокринная патология, острый инфаркт миокарда и т. д.), которые оказывают существенное влияние на метаболизм копептина.

В качестве первичной конечной точки рассматривали развитие осложнений САК в виде вторичной ишемии в сочетании с церебральным вазоспазмом.

Лечение пациентов проведено на базе Областного центра профилактики и лечения инсульта, а также нейрохирургического отделения КУ «ЗОКБ» ЗОС согласно утвержденным клиническим протоколам ведения пациентов с данной патологией.

Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США, серийный номер RGXR412D674002FWC7). Оценку нормальности распределения значений оценивали

согласно критерию Shapiro–Wilk. Результаты представлены в виде медианы (Me, Q_{50}) и межквартильного интервала (25–75 перцентили (Me(Q_{25} ; Q_{75}))). Статистическую значимость межгрупповых различий оценивали, используя метод Mann–Whitney (M-W U-test). Для оценки диагностической значимости применяли ROC-анализ (Receiver Operating Characteristic) с расчетом площади под характеристической кривой (AUC). Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Большинство пациентов соответствовали Grade 1 (40,2 %) и Grade 2 (34 – 41,5%) согласно WFNS, Grade 3 – 13 (15,9%) пациентов, остальные пациенты соответствовали градации Grade 4 согласно WFNS.

Совокупность осложнений САК диагностирована у 27 (32,9 %) пациентов, у 55 больных сочетания описанных осложнений не верифицированы. Указанные субкороты достоверно не отличались по клинико-демографическим и гендерным характеристикам. Сывороточный уровень копептина в группе пациентов с сочетанными осложнениями САК статистически значимо превышал таковой в группе пациентов без осложнений на $44,2 \%$ ($0,738$ ($0,667–0,800$) нг/мл против $0,419$ ($0,347–0,549$) нг/мл, $p < 0,01$), что стало обоснованием целесообразности определения точки отсечения значения сывороточного уровня копептина для прогнозирования осложнений у пациентов с САК с оптимальным соотношением чувствительности и специфичности.

На основании ROC-анализа установлено, что сывороточный уровень копептина на 3 сутки САК $\geq 0,605$ нг/мл характеризуется оптимальным соотношением чувствительности (85,2 %) и специфичности (85,5 %) в оценке кумулятивного риска развития таких осложнений САК, как вторичная ишемия в комбинации с церебральным ангиоспазмом, при этом значение AUC составило $0,95 \pm 0,02$ 95 % ДИ $0,90–0,99$, $p = 0,001$ (рис. 1).

В группе пациентов с сывороточным уровнем копептина на 3 сутки САК $\geq 0,605$ нг/мл ($n = 31$) осложнения зафиксированы у 74,2 %, что в 9,5 раза больше (95 % ДИ $3,6–24,8$, $p < 0,0001$), чем в группе пациентов с сывороточным уровнем копептина $< 0,605$ нг/мл (табл. 1).

Значения положительной и отрицательной предсказующей ценности сывороточного уровня копептина на 3 сутки САК в определении кумулятивного риска осложнений САК составили 74,2 % и 92,2 % соответственно, точность прогнозирования (сумма верно классифицированных наблюдений) – 85,4 %.

Обсуждение

Церебровасоспазм – патологическое и длительное сокращение гладких мышц мозговых артерий. Доказано, что в развитии мозгового ангиоспазма после САК принимает участие множество вазоактивных веществ, однако сложный механизм этого процесса не вполне понятен [11]. Некоторые авторы сообщают,

что аргинин вазопрессин может играть важную роль в развитии мозгового вазоспазма и ишемического отека головного мозга. Аргинин вазопрессин вызывает вазоконстрикцию у кроликов, кошек, коз, крыс и человека. На модели САК у крыс продемонстрирован двухфазный, ангиографически выраженный вазоспазм с максимальным острым вазоспазмом через 10 мин после САК и максимальным поздним вазоспазмом через 2 дня [12]. Плазменные уровни копептина отражают содержание аргинин вазопрессина.

Исследование Н. Yoneda et al. [13] представляет в данном аспекте особый интерес: по их данным, в популяции 303 больных с аневризматическим САК обнаружен повышенный уровень копептина, а его уровни коррелировали не только с неблагоприятным прогнозом в терапии пациентов, но и с более высокой смертностью, а также со спазмом сосудов в подостром периоде. Углубленное понимание патофизиологии аневризматического типа САК привело к растущему интересу в определении сывороточных маркеров, которые могут дать более точные прогнозы для таких пациентов. Поскольку одним из основных признаков успешной терапии или неблагоприятного исхода у пациента является прогресс отрицательной неврологической симптоматики или полное отсутствие положительной динамики с 4 по 14 день после САК, многие исследователи пытались определить потенциальные сывороточные маркеры, которые позволяют прогнозировать спазм сосудов и неблагоприятный функциональный результат в целом.

В условиях стресса гипоталамо-гипофизарная ось производит гормоны стресса: кортикотропин, рилизинг-гормоны и вазопрессин. Среди множества последствий гиперпродукции вазопрессина – усиление реабсорбции воды в почках и повышение артериального давления, в основном за счет вазоконстрикции. Усилия, направленные на определение уровня вазопрессина в сыворотке в клинических условиях, ограничены тем, что он неустойчив при комнатной температуре и быстро разрушается в плазме крови. 164-аминокислоты прекурсора пептида аргинин вазопрессина (nonapeptide arginine vasopressin – AVP) – провазопрессина, трансформируется в 3 пептида: AVP, нейрофизин 2 (neurophysin II) и копептин (copeptin) [14].

Поскольку большая часть копептина производится в эквивалентных соотношениях с AVP, его легче измерить в сыворотке крови, он может быть косвенным маркером для определения AVP. Повышенные уровни копептина должны соотноситься с неблагоприятными прогнозами ишемического инсульта, интрапаренхиматозных кровоизлияний, травмы головного мозга, а также сепсиса, пневмонии и инфаркта миокарда.

В ретроспективном исследовании [15] акцент сделан именно на копептине при аневризматическом типе САК, а результаты убедительно доказывают, что повышенный уровень этого маркера тесно коррелирует со спазмом сосудов, стационарной смертностью, смертностью в течение первого года после САК, отрицательным функциональным результатом у пациента в течение первого года после САК. В качестве контрольной группы исследовали 150 здоровых добровольцев, сопоставимых по возрасту и полу. Спазм сосудов подтвержден

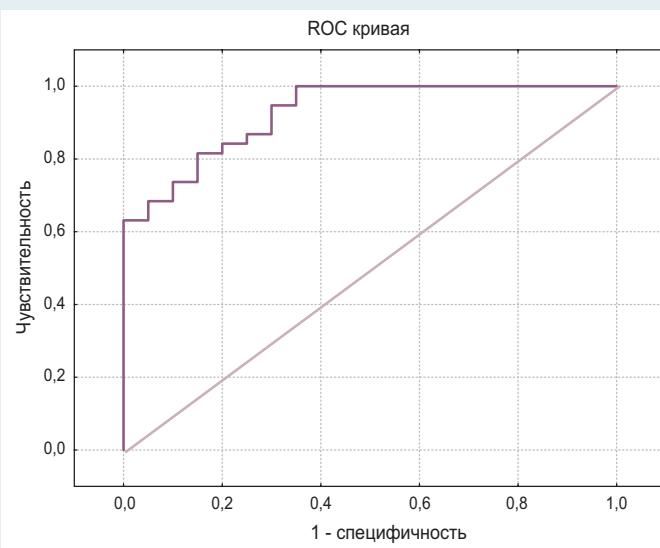


Рис. 1. ROC-кривая для оценки диагностической ценности сывороточного уровня копептина в детекции риска осложнений у пациентов с САК.

Таблица 1. Априорные вероятности развития сочетанных осложнений для групп с различным уровнем копептина у больных с САК

Сывороточный уровень копептина на 3 сутки заболевания	Осложнения САК		Итого
	Диагностированы сочетанные осложнения	Сочетанные осложнения не обнаружены	
≥0,605 нг/мл	23	8	31
<0,605 нг/мл	4	47	51
Итого	27	55	82

компьютерной томографией и ангиографией во всех случаях. Эпидемиология и результаты обследования 303 пациентов демонстрируют: 10,6 % стационарная смертность, 13,9 % смертность в течение первого года, 29,7 % неудовлетворительные результаты лечения в течение первого года, 43,2 % случаев спазма сосудов однозначно коррелируют с результатами в больших сериях исследований.

В данном исследовании показатели шкалы Всемирной федерации нейрохирургических сообществ (World Federation of Neurological Surgeons – WFNS), модифицированной шкалы Фишера (Fisher grade) и уровни копептина (без учета размера аневризмы, вазоспазма, толщины сгустка, размера ишемии, компьютерной томографии) связаны с увеличением смертности и неблагоприятным исходом согласно многофакторного анализа. Предсказательная ценность копептина практически идентична оценочной шкале WFNS в плане смертельного исхода в течение первого года, но была несколько ниже, чем в шкале WFNS в аспекте спазма сосудов. Вызывает вопросы факт, что в сочетании с логистическим регрессионным анализом копептин не дал положительного результата по площади под кривой шкалы WFNS при статистической оценке значимых вариантов. Однако потенциальную роль уровней копептина в сыворотке крови с точки зрения коррекции плана ведения пациентов с аневризматическим типом САК следует учитывать при проведении дальнейших исследований.

В исследовании S.J. Fernandez et al. копе́птин определен как суррогатный маркер аргинин вазо-прессина [16]. Цель этого исследования – определение временной взаимосвязи между изменениями концентрации копе́птина и эпизодами отсроченного ишемического неврологического дефицита с гипонатриемией. Концентрацию копе́птина в цереброспинальной жидкости определяли количественно у 19 пациентов с использованием иммуноферментного анализа с участием ферментов: 10 больных с эпизодами отсроченного ишемического неврологического дефицита, 6 пациентов без эпизодов отсроченного ишемического неврологического дефицита, 3 – контроль. Концентрация копе́птина была выше у пациентов с эпизодами отсроченного ишемического неврологического дефицита и без этих эпизодов, чем в контроле, что полностью согласуется с нашими результатами. У гипонатриемических пациентов с эпизодами отсроченного ишемического неврологического дефицита концентрации копе́птина были выше по сравнению с больными с гипонатриемией и без эпизодов отсроченного ишемического неврологического дефицита. Авторы сделали выводы, что эпизоды отсроченного ишемического неврологического дефицита связаны с комбинацией снижения уровня натрия и увеличения концентрации копе́птина в крови пациентов с САК.

Fung C. et al. [17] отметили благоприятный исход у 50 % пациентов с субарахноидальным кровоизлиянием в рамках шкалы Всемирной федерации нейрохирургических сообществ (WFNS) V степени и довольно слабым прогнозом ухудшения клинической картины, что подтверждает идею определенной степени ограниченности эффективности нынешней системы классификации WFNS для прогнозирования наихудших сценариев клинических осложнений и дальнейшего принятия решения о лечении пациента. Одна из причин отсутствия дифференциации – использование «негативных», или «бессимптомных» диагностических признаков для определения WFNS Grade V. Поэтому авторы пересмотрели шкалу WFNS, используя «положительные» клинические признаки и шкалу комы Глазго. Авторы провели ретроспективный анализ 182 пациентов с САК, у которых были плохие оценки по шкале WFNS. Пациенты классифицированы в соответствии с исходной шкалой WFNS и дополнительно, в соответствии с модифицированной классификацией, шкалой WFNS herniation (hWFNS) (степень IV, без клинических признаков грыжи, степень V, клинические признаки грыжи). Прогноз плохого результата сравнивали между этими двумя системами классификации. Положительные прогностические значения класса V для плохого исхода составили 74,3 % (OR 3,79, 95 % ДИ 1,94–7,54) для класса WFNS V, 85,7 % (OR 8,27, 95 % ДИ 3,78–19,47) для класса hWFNS V. Что касается смертности, положительные прогностические значения составили 68,3 % (OR 3,9, 95 % ДИ 2,01–7,69) класса WFNS V и 77,9 % (OR 6,22, 95 % ДИ 3,07–13,14) для класса hWFNS V. Дополнение класса WFNS V для положительных клинических признаков шкалы комы Глазго, таких как сгибание, разгибание

и нарушения зрачковой реакции вместо включения отсутствия моторной реакции увеличивает прогноз смертности и плохого исхода у пациентов с тяжелым течением САК. Как и в нашем исследовании, авторы делают акцент на корреляцию высоких уровней копе́птина в крови пациентов с САК и неблагоприятного клинического исхода в дальнейшем, не озвучивая при этом пороговую величину значений копе́птина для определения риска развития осложнений.

В исследовании [18] проанализирована база данных пациентов с САК, поступивших в медицинские учреждения Джона Хопкинса в период с 1991 по 2009 г. Авторы сравнили внутрибольничную смертность и функциональные результаты при клиническом обследовании в первые 30–120 дней после САК с использованием дихотомической шкалы результатов Глазго (хороший результат – шкала результатов Глазго 4–5) и значений уровней копе́птина. В анализ включены 1134 пациента с САК (скорая помощь – 40,1 %, неотложное межгоспитальное перемещение – 59,9 %). Прямые поступления пациентов через скорую помощь имели более высокую оценку по шкале Hunt–Hess (4/5) и основным сопутствующим заболеваниям, без существенных различий между группами по возрасту, были внутрижелудочковые кровоизлияния и гидроцефалия. Внутрибольничная смертность при поступлении по скорой помощи (14,9 %) значительно ниже, чем при неотложном межгоспитальном перемещении (20,5 %), в 1,8 раз более высокими скорректированными коэффициентами выживаемости после многофакторного анализа ($p = 0,001$) при невысоких уровнях копе́птина в крови. При поступлении в отделение неотложной помощи было почти в 2 раза больше шансов на хорошие результаты (отношение шансов 1,89, $p < 0,001$) без элевации значений копе́птина после многомерного анализа.

Названные исследования и полученные авторами результаты в аспекте оценки прогностического значения копе́птина согласуются с результатами нашего исследования, которое также позволило определить пороговое значение уровня копе́птина для диагностики риска развития осложнений у пациентов с САК.

Выводы

1. Сывороточный уровень копе́птина – высокоинформативный маркер детекции индивидуального кумулятивного риска осложнений у пациентов с САК (AUC = 0,95, 95 % ДИ 0,90–0,99, $p = 0,001$; диагностическая точность – 85,4 %).

2. Сывороточный уровень копе́птина $\geq 0,605$ нг/мл ассоциирован с повышением кумулятивного риска осложнений САК в 9,5 раза (95 % ДИ 3,6–24,8, $p < 0,0001$; чувствительность – 85,2 %, специфичность – 85,5 %).

Перспективы дальнейших исследований. Исследование взаимосвязи динамики копе́птина и электролитных нарушений у больных с САК.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Сведения об авторах:

Бучакчийська Н. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. нервних хвороб, ГЗ «Запорізька медичинська академія післядипломного образования МЗ України». Полковникова К. Ю., доктор неврологічного відділення, КУ «Запорізька обласна клінічна лікарня ЗОС», Україна.

Відомості про авторів:

Бучакчийська Н. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. нервних хвороб, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України». Полковникова К. Ю., лікар неврологічного відділення, КУ «Запорізька обласна клінічна лікарня ЗОР», Україна.

Information about authors:

Buchakchyska N. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Nervous Diseases, SI "Zaporizhzhia Medical Academy of Postgraduate Education of the Ministry of Health of Ukraine". Polkovnikova K. Yu., MD, Neurological Department, Communal Institution "Zaporizhzhia Regional Clinical Hospital" of Zaporizhzhia Regional Council, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 29.08.2018

Після доопрацювання / Revised: 17.09.2018

Прийнято до друку / Accepted: 28.09.2018

Список литературы

- [1] Erratum: Medical and Surgical Advances in Intracerebral Hemorrhage and Intraventricular Hemorrhage / W. Ziai, J.R. Carhuapoma, P. Nyquist, D.F. Hanley / *Semin Neurol.* – 2017. – Vol. 37. – Issue 1. – P. 103–104.
- [2] Педаченко Е.Г. Нейрохирургическая помощь при цереброваскулярных болезнях в Украине. Анализ статистических данных нейрохирургической службы / Е.Г. Педаченко, А.П. Гук, А.Н. Никифорова // *Український нейрохірургічний журнал.* – 2017. – №1. – С. 33–39.
- [3] Основні принципи діагностики, формування діагнозу, лікування та профілактики мозкового інсульту / І.С. Зозуля, Ю.І. Головченко, А.І. Зозуля, та ін. // *Український медичний часопис.* – 2015. – №5. – С. 34–38.
- [4] Волошин П.В. Основні напрямки наукових розробок в неврології, психіатрії та наркології в Україні / П.В. Волошин, Н.О. Марута // *Український вісник психоневрології.* – 2017. – Т. 25. – Вип. 1. – С. 10–18.
- [5] Cusack T.J. Update on the Treatment of Spontaneous Intraparenchymal Hemorrhage: Medical and Interventional Management / T.J. Cusack, J.R. Carhuapoma, W.C. Ziai // *Curr Treat Options Neurol.* – 2018. – Vol. 20. – Issue 1. – P. 1.
- [6] The Barrow Neurological Institute Grading Scale as a Predictor for Delayed Cerebral Ischemia and Outcome After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Data From a Nationwide Patient Registry (Swiss SOS) / M.C. Neider, N. Maldaner, M.N. Stienen, et al. // *Neurosurgery.* – 2018. – Vol. 83. – Issue 6. – P. 1286–1293.
- [7] Serum neurofilament light chain in patients with acute cerebrovascular events / G.M. De Marchis, M. Katan, C. Barro, et al. // *Eur J Neurol.* – 2018. – Vol. 25. – Issue 3. – P. 562–568.
- [8] Copeptin Levels in Cerebral Infarction, Intracranial Hemorrhage and Subarachnoid Hemorrhage / F. Aksu, M. Gurger, M. Yilmaz, et al. // *Clin Lab.* – 2016. – Vol. 62. – Issue 12. – P. 2387–2393.
- [9] Tamargo R.J. Copeptin in aneurysmal subarachnoid hemorrhage / R.J. Tamargo // *Crit Care.* – 2012. – Vol. 16. – Issue 1. – P. 103.
- [10] Association between elevated plasma norepinephrine levels and cardiac wall motion abnormality in poor-grade subarachnoid hemorrhage patients / K. Sugimoto, J. Inamasu, Y. Kato et al. // *Neurosurgical Review.* – 2013. – Vol. 36. – Issue 2. – P. 259–266.
- [11] Relationship between thrombus attenuation and different stroke subtypes / J.M. Niesten, I.C. van der Schaaf, G.J. Biessels, et al. // *Dutch acute Stroke Trial (DUST). Neuroradiology.* – 2013. – Vol. 55. – Issue 9. – P. 1071–1079.
- [12] Prolonged elevated heart rate is a risk factor for adverse cardiac events and poor outcome after subarachnoid hemorrhage / J.M. Schmidt, M. Crimmins, H. Lantigua, et al. // *Neurocritical Care.* – 2014. – Vol. 20. – Issue 3. – P. 390–398.
- [13] Multicenter prospective cohort study on volume management after subarachnoid hemorrhage: Hemodynamic changes according to severity of subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm / H. Yoneda, T. Nakamura, S. Shirao, et al. // *Stroke.* – 2013. – Vol. 44. – Issue 8. – P. 2155–2161.
- [14] Prevalence of unruptured cerebral aneurysms in Chinese adults aged 35 to 75 years: a cross-sectional study / M.H. Li, S.W. Chen, Y.D. Li, et al. // *Annals of Internal Medicine.* – 2013. – Vol. 159. – Issue 8. – P. 514–521.
- [15] Kingwell K. Stroke: improving the management of patients at risk of haemorrhagic stroke / K. Kingwell // *Nature Reviews Neurology.* – 2014. – Vol. 10. – Issue 1. – P. 1–13.
- [16] Association of copeptin, a surrogate marker of arginine vasopressin, with cerebral vasospasm and delayed ischemic neurologic deficit after aneurysmal subarachnoid hemorrhage / S.J. Fernandez, I. Barakat, J.J. Ziogas, et al. // *Neurosurg.* – 2018. – May 4. – P. 1–7.
- [17] Fung C. Reconsidering the logic of World Federation of Neurosurgical Societies grading in patients with severe subarachnoid hemorrhage / C. Fung, F. Inglin, M. Murek // *J Neurosurg.* – 2016. – Vol. 124. – Issue 2. – P. 299–304.
- [18] Impact of pattern of admission on outcomes after aneurysmal subarachnoid hemorrhage / N.S. Naval, T. Chang, F. Caserta, et al. // *J Crit Care.* – 2012. – Vol. 27. – Issue 5. – P. 532.e 1–7.

References

- [1] Ziai, W., Carhuapoma, J. R., Nyquist, P., & Hanley, D. F. (2017). Erratum: Medical and Surgical Advances in Intracerebral Hemorrhage and Intraventricular Hemorrhage. *Semin Neurol*, 37(1), 103–104. doi: 10.1055/s-0037-1598083.
- [2] Pedachenko, E. G., Huk, A. P., & Nikiforova, A. N. (2017). Neirokhirurgicheskaya pomoshh' pri cerebrovaskulyarnykh boleznyakh v Ukraine. Analiz statisticheskikh dannykh neirokhirurgicheskoy sluzhby [Neurosurgical care in cerebrovascular diseases in Ukraine. Analysis of statistical data of neurosurgical service]. *Ukrainskyi neirokhirurhichnyi zhurnal*, 1, 33–39 [in Russian].
- [3] Zozulya, I. S., Golovchenko, Yu. I., Zozulya, A. I., Onoprienko, O. P., & Volosovets, A. O. (2015). Osnovni pryntsypty diagnostyky, formuvannya diahnozu, likuvannya ta profilaktyky mozkovoho insultu [General principles of diagnostic, forming of diagnosis, treatment and prediction of stroke]. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*, 5, 34–38. [in Ukrainian].
- [4] Voloshyn, P. V., & Maruta, N. O. (2017). Osnovni napriamky naukovykh rozrobok v nevrolohii, psykhiiatrii ta narkolohii v Ukraini [The main directions for scientific developments in the fields of neurology, psychiatry and narcology in Ukraine]. *Ukrainskyi visnyk psikhonevrolohii*, 25(1), 10–18. [in Ukrainian].
- [5] Cusack, T. J., Carhuapoma, J. R., & Ziai, W. C. (2018). Update on the Treatment of Spontaneous Intraparenchymal Hemorrhage: Medical and Interventional Management. *Curr Treat Options Neurol*, 20(1), 1. doi: 10.1007/s11940-018-0486-5.
- [6] Neider, M. C., Maldaner, N., Stienen, M. N., Roethlisberger, M., Zurnofen, D. W., & D'Alonzo, D. (2018). The Barrow Neurological Institute Grading Scale as a Predictor for Delayed Cerebral Ischemia and Outcome After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Data From a Nationwide Patient Registry (Swiss SOS). *Neurosurgery*, 83(6), 1286–1293. doi: 10.1093/neuros/nyx609.
- [7] De Marchis, G. M., Katan, M., Barro, C., Fladt, J., Traenka, C., Seiffge, D. J., et al. (2018). Serum neurofilament light chain in patients with acute cerebrovascular events. *Eur J Neurol*, 25(3), 562–568. doi: 10.1111/ene.13554.
- [8] Aksu, F., Gurger, M., Yilmaz, M., Atescelik, M., Yildiz, M., Ilhan, N., et al. (2016). Copeptin Levels in Cerebral Infarction, Intracranial Hemorrhage and Subarachnoid Hemorrhage. *Clin Lab*, 62(12), 2387–2393. doi: 10.7754/Clin.Lab.2016.160532.
- [9] Tamargo, R. J. (2012). Copeptin in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Crit Care*, 16(1), 103. doi: 10.1186/cc10594.
- [10] Sugimoto, K., Inamasu, J., Kato, Y., Yamada, Y., Ganaha, T., Oheda, M., et al. (2013). Association between elevated plasma norepinephrine levels and cardiac wall motion abnormality in poor-grade subarachnoid hemorrhage patients. *Neurosurgical Review*, 36(2), 259–266. doi: 10.1007/s10143-012-0424-z.
- [11] Niesten, J. M., van der Schaaf, I. C., Biessels, G. J., van Otterloo, A. E., van Seeters, T., Horsch, A. D., et al. (2013). Relationship between thrombus attenuation and different stroke subtypes. *Dutch acute Stroke Trial (DUST). Neuroradiology*, 55(9), 1071–1079. doi: 10.1007/s00234-013-1217-y.
- [12] Schmidt, J. M., Crimmins, M., Lantigua, H., Fernandez, A., Zammit, C., Faló, C., et al. (2014). Prolonged elevated heart rate is a risk factor for adverse cardiac events and poor outcome after subarachnoid hemorrhage. *Neurocritical Care*, 20(3), 390–398. doi: 10.1007/s12028-013-9909-z.
- [13] Yoneda, H., Nakamura, T., Shirao, S., Tanaka, N., Ishihara, H., Suehiro, E., et al. (2013). Multicenter prospective cohort study on volume management after subarachnoid hemorrhage: Hemodynamic changes according to severity of subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm. *Stroke*, 44(8), 2155–2161. doi: 10.1161/STROKEAHA.113.001015.
- [14] Li, M. H., Chen, S. W., Li, Y. D., Chen, Y. C., Cheng, Y. S., Hu, D. J., et al. (2013). Prevalence of unruptured cerebral aneurysms in Chinese adults aged 35 to 75 years: a cross-sectional study. *Annals of Internal Medicine*, 159(8), 514–521. doi: 10.7326/0003-4819-159-8-201310150-00004.
- [15] Kingwell, K. (2014). Stroke: improving the management of patients at risk of haemorrhagic stroke. *Nature Reviews Neurology*, 10(1), 1–13.
- [16] Fernandez, S. J., Barakat, I., Ziogas, J., Frugier, T., Styli, S. S., Laidlaw, J. D. et al. (2018). Association of copeptin, a surrogate marker of arginine vasopressin, with cerebral vasospasm and delayed ischemic neurologic deficit after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurg*, 1–7. doi: 10.3171/2017.10.JNS17795.
- [17] Fung, C., Inglin, F., Murek, M., Balmer, M., Abu-Isa, J., Z'Graggen, W. J., et al. (2016). Reconsidering the logic of World Federation of Neurosurgical Societies grading in patients with severe subarachnoid. *J Neurosurg*, 124(2), 299–304. doi: 10.3171/2015.2.JNS14614.
- [18] Naval, N. S., Chang, T., Caserta, F., Kowalski, R. G., Carhuapoma, J. R., & Tamargo, R. J. (2012). Impact of pattern of admission on outcomes after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Crit Care*, 27(5), 532.e 1–7. doi: 10.1016/j.jcrrc.2012.03.006.

Diagnostic value of the integral assessment of electroencephalographic pattern in patients in the acute period of spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage

A. A. Kuznietsov

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Key words:

cerebral hemorrhage, electroencephalography, X-Ray tomography.

Pathologia

2018; 15 (3), 378–385

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.3.151869

E-mail:

titus3.05@gmail.com

The main purpose of the study was to verify the diagnostic informative value of the integral evaluation of the electroencephalographic pattern in patients with spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage (SSICH) on the basis of the comparison of brain activity changes with clinical and neuroimaging data.

Material and methods. Prospective cohort study of 46 patients in acute period of SSICH was conducted. It included complex clinical (using Glasgow Coma Scale, Full Outline of UnResponsiveness (FOUR) score, National Institute of Health Stroke Scale, Intracerebral hemorrhage score) and neuroimaging estimation of cerebral injury severity in the onset of the disease. Investigation of brain bioelectrical activity was made during first 24–48 hours from the onset with determination of average absolute spectral rhythm power (AASRP), relative spectral rhythm power (RSRP), fronto-occipital rhythm gradient (FORG) in the affected hemisphere (AH) and intact hemisphere (IH), interhemispheric rhythm asymmetry values.

Results. On the basis of cluster analysis 2 types of the brain bioelectric activity changes were identified in patients with SSICH. Type I of EEG pattern was registered in 56.5 % patients, it was characterized by ipsilateral increase of RSRP of δ -range with the dominance of θ -range rhythms in slow-wave activity structure in combination with smoothing of zonal differences of α -range rhythms in AH, whereas type II was characterized by bilateral domination of the RSRP δ -range with an accent in IH in combination with FORG inversion of α -range due to elevation of the α 2-subrange in the anterior areas of IH. The patients with type II of EEG pattern were characterized by ipsilateral increase of RSRP of δ -range with the dominance of θ -range rhythms in slow-wave activity structure in combination with smoothing of zonal differences of α -range rhythms in AH. The patients with type II of EEG pattern were characterized by more severe brain impairment (ICH score 3 (2; 4) versus 0 (0; 1), $P < 0.0001$). Type II of EEG pattern was revealed in 94.7 % of patients with medium/severe dysfunction of subtentorial structures (FOUR score ≤ 14), type I – in 92.6 % of patients with low dysfunction or without any dysfunction (FOUR score > 14).

Conclusions. Complex analysis of bioelectric activity of the brain in patients with SSICH allows to identify the integral types of EEG pattern, which represent the functional state of cerebral structures and are associated with the clinical and neuroimaging criteria of midline shift severity.

Ключові слова:

внутрішньо-мозковий крововилив, електроенцефалографія, комп'ютерна томографія.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 3(44). – С. 378–385

Діагностичне значення інтегральної оцінки ЕЕГ-патерну в пацієнтів у гострому періоді спонтанного супратенторіального внутрішньомозкового крововиливу

A. A. Кузнєцов

Мета роботи – визначити діагностичну інформативність інтегральної оцінки електроенцефалографічного (ЕЕГ) патерну в пацієнтів зі спонтанним супратенторіальним внутрішньомозковим крововиливом (ССВМК) на підставі зіставлення показників біоелектричної активності головного мозку з клініко-нейровізуалізаційними даними.

Матеріали та методи. Здійснили проспективне, когорне дослідження 46 пацієнтів у гострому періоді ССВМК, що включав комплексне клінічне (з використанням Glasgow Coma Scale, Full Outline of UnResponsiveness (FOUR) score, National Institute of Health Stroke Scale, Intracerebral hemorrhage (ICH) score) та нейровізуалізаційне оцінювання тяжкості ураження церебральних структур у дебюті захворювання. Дослідження спонтанної біоелектричної активності головного мозку виконали в перші 24–48 годин від дебюту ССВМК із визначенням абсолютної спектральної потужності ритмів (АСПР), відносної спектральної потужності ритмів (ВСПР), лобно-потиличних градієнтів ритмів (ЛПГР) різних діапазонів ЕЕГ-патерну в ураженій півкулі (УП) та інтактній півкулі (ІП), а також показників міжпівкульової асиметрії ритмів.

Результати. На підставі кластерного аналізу виділили 2 типи змін біоелектричної активності головного мозку в пацієнтів із ССВМК. I тип ЕЕГ-патерну, зареєстрований в 56,5 % випадків, представлений переважно іпсилатеральним підвищенням ВСПР δ -діапазону з домінуванням у структурі повільнохвильової активності ритмів θ -діапазону в комбінації зі збереженням зональних відмінностей ритмів α -діапазону в УП, а II тип характеризувався білатеральним домінуванням ВСПР δ -діапазону з акцентом в ІП в комбінації з інверсією ЛПГР α -діапазону шляхом елевації АСПР α 2-піддіапазону в передніх відділах ІП. Пацієнти з II типом ЕЕГ-патерну відрізнялися тяжчим пошкодженням церебральних структур (ICH score 3 (2; 4) проти 0 (0; 1), $p < 0,0001$). У 94,7 % пацієнтів із клінічними ознаками середньої тяжкості дисфункції субтенторіальних структур (FOUR score ≤ 14) виявили II тип ЕЕГ-патерну, у 92,6 % пацієнтів із клінічними ознаками легкої дисфункції або без такої (FOUR score > 14) – I тип.

Висновки. Комплексний аналіз показників біоелектричної активності головного мозку в пацієнтів зі ССВМК дає змогу ідентифікувати інтегральні типи ЕЕГ-патерну, які показують функціональний стан церебральних структур та асоційовані з вираженістю дислокаційного синдрому.

Диагностическое значение интегральной оценки ЭЭГ-паттерна у пациентов в остром периоде спонтанного супратенториального внутримозгового кровоизлияния

А. А. Кузнецов

Цель работы – установить диагностическую информативность интегральной оценки электроэнцефалографического (ЭЭГ) паттерна у пациентов со спонтанным супратенториальным внутримозговым кровоизлиянием (ССВМК) на основании сопоставления показателей биоэлектрической активности головного мозга с клинико-нейровизуализационными данными.

Материалы и методы. Проведено проспективное, когортное исследование 46 пациентов в остром периоде ССВМК, которое включало комплексную клиническую (с использованием Glasgow Coma Scale, Full Outline of UnResponsiveness (FOUR) score, National Institute of Health Stroke Scale, Intracerebral hemorrhage (ICH) score) и нейровизуализационную оценку тяжести повреждения церебральных структур в дебюте заболевания. Исследование спонтанной биоэлектрической активности головного мозга проведено в первые 24–48 часов от дебюта ССВМК с определением абсолютной спектральной мощности ритмов (АСМР), относительной спектральной мощности ритмов (ОСМР), лобно-затылочных градиентов ритмов (ЛЗГР) различных диапазонов ЭЭГ-паттерна в пораженном полушарии (ПП) и интактном полушарии (ИП), а также показателей межполушарной асимметрии ритмов.

Результаты. На основании кластерного анализа выделили 2 типа изменений биоэлектрической активности головного мозга у пациентов с ССВМК. I тип ЭЭГ-паттерна, зарегистрированный в 56,5 % случаев, представлен преимущественно ипсилатеральным увеличением ОСМР δ -диапазона с доминированием в структуре медленноволновой активности ритмов θ -диапазона в сочетании с сохранением зональных различий ритмов α -диапазона в ПП, а II тип характеризовался билатеральным доминированием ОСМР δ -диапазона с акцентом в ИП в сочетании с инверсией ЛЗГР α -диапазона за счет элевации АСМР $\alpha 2$ -поддиапазона в передних отделах ИП. Пациенты со II типом ЭЭГ-паттерна отличались более тяжелым повреждением церебральных структур (ICH score 3 (2; 4) против 0 (0; 1), $p < 0,0001$). У 94,7 % пациентов с клиническими признаками умеренной/тяжелой дисфункции субтенториальных структур (FOUR score ≤ 14) установлен II тип ЭЭГ-паттерна, у 92,6 % пациентов с клиническими признаками легкой дисфункции или без таковой (FOUR score > 14) – I тип.

Выводы. Комплексный анализ показателей биоэлектрической активности головного мозга у пациентов со ССВМК позволяет идентифицировать интегральные типы ЭЭГ-паттерна, которые отражают функциональное состояние церебральных структур и ассоциированы с выраженностью дислокационного синдрома.

Ключевые слова: внутримозговое кровоизлияние, электроэнцефалография, компьютерная томография.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 378–385

Despite significant progress of fundamental sciences and clinical neurology, acute cerebrovascular pathology is still one of the most difficult and, unfortunately, unresolved problems of modern medicine. The most destructive form of cerebrovascular diseases is cerebral hemorrhagic stroke, which is the leading cause of death and disability of the adult population in most countries of the world [8, 11].

One of the most effective ways to increase the effectiveness of therapeutic measures in patients with supratentorial spontaneous intracerebral hemorrhages (SSICH) is the differentiated choice of optimal treatment tactics, taking into consideration the individual prognosis of the acute period outcome of the disease [15]. The aforesaid justifies the relevance of the research which is aimed at the identification of parameters associated with the lethal outcome risk.

Numerous studies have confirmed a high diagnostic and prognostic value of spectral analysis parameters of the bioelectric activity of the brain in case of acute brain injuries which predominantly have ischemic and traumatic genesis [9, 16]. The expediency of the detection of these indicators in clinical practice as neurophysiological criteria for the assessment of patients' state severity and markers of the effectiveness of the therapy was justified [1, 5, 13, 14, 20]. At the same time, very few papers were devoted to the study of these aspects in patients with SSICH [6, 12].

Moreover, the overwhelming majority of scientific research related to the study of the functional state of cerebral structures within brain injuries of various origins

with the use of spectral analysis of bioelectric activity of the brain was aimed at the determination of isolated parameters that are associated with clinical and neuroimaging data and the outcome of the disease [4, 7, 10, 17]. Besides, it is necessary to mention that this monoparametric approach has restrictions, since the functional state of the brain in patients with brain damage in supratentorial localization is a very complex and extremely variable set of related changes of absolute power, structure, zonal distribution of rhythms of different ranges in affected and intact hemispheres, as well as interhemispheric rhythm asymmetry [2]. The aforementioned justifies the expediency of the identification of integral electroencephalographic patterns as they take into consideration a complete set of spectral analysis parameters of bioelectric activity of the brain.

The aim

Therefore the aim of this study was to verify the diagnostic informative value of the integral evaluation of the electroencephalographic pattern in patients with spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage on the basis of the comparison of brain activity changes with clinical and neuroimaging data.

Materials and methods

In order to achieve this goal a prospective, cohort study was conducted in 46 patients (27 men and 19 women,

median age 67 (61–75) years) in the acute period of spontaneous hemorrhage in the left (58.7 %) and the right brain hemispheres (41.3 %). The study included patients with SSICH confirmed by clinical and neuroimaging examination who were hospitalized within the first 24 hours from the onset of the disease. The following are criteria for the exclusion from the study:

- 1) anamnestic data about presence of acute brain circulation disorders, traumatic brain injuries, epileptic seizures;
- 2) more than 2 lesions;
- 3) subtentorial lesion localization;
- 4) decompensated somatic pathology;
- 5) oncological pathology.

Neuroimaging study was conducted upon admission to hospital, which was performed with the use of a computed tomography scanner “Siemens Somatom Spirit” (Germany). The intracerebral hemorrhage volume (ICHV) was determined with the help of the ellipsoid formula: $ICHV (ml) = (a \cdot b \cdot c) / 2$, where a, b, c are linear lesion sizes (cm). The degree of septum pellucidum displacement and the pineal gland displacement were considered as neuroimaging criteria for the severity of midline shift.

Clinical and neurological examination included the assessment of subtentorial structures dysfunction in accordance with the Glasgow Coma Scale (GCS) score and Full Outline of UnResponsiveness (FOUR) score. The National Institute of Health Stroke Scale (NIHSS) was used in order to determine the level of neurological deficit. Integral neurological and neuroimaging assessment of SSICH severity was performed in accordance with the ICH scale.

During the first 24–48 hours after SSICH onset all patients underwent electroencephalographic examination held with the use of 21-channel computer electroencephalograph (EEG) “NeuroCom Standard” (XAI-Medica, Ukraine). Electrodes were applied on the basis of the international system “10–20”. Artifact removal was carried out using the Independent Component Analysis decomposition procedure (Blind Source Separation technology). Spectral analysis of spontaneous bioelectrical activity of the brain was carried out to get the artifact-free epoch using the fast Fourier transform method, while values of average absolute spectral rhythm power (AASRP) were defined separately for the affected hemisphere (AH) and intact hemisphere (IH), and separately for the frontal region (FR) and occipital region (OR) of AH and IH: δ - (0.5–4.0 Hz), θ - (4–8 Hz), α - (8–13 Hz), β - (13–35 Hz) ranges, θ_1 - (4–6 Hz), θ_2 - (6–8 Hz), α_1 - (8–10 Hz), α_2 - (10–13 Hz), β_1 - (13–25 Hz) and β_2 - (25–35 Hz) subranges (μV^2). Relative spectral rhythm power (RSRP) values within the specified ranges (%) and integral coefficients, which demonstrate the AASRP of various ranges and subranges ratio of the EEG pattern were also calculated: $DTABR = (\delta + \theta) / (\theta + \beta)$, $DTR = \delta / \theta$, $T1T2R = \theta_1 / \theta_2$, $DAR = \delta / \alpha$, $TAR = \theta / \alpha$, $ABR = \alpha / \beta$, $A1A2R = \alpha_1 / \alpha_2$, $B1B2R = \beta_1 / \beta_2$. The values of fronto-occipital rhythm gradient (FORG) were used for a quantitative assessment of zonal differences in the distribution of rhythms in AH and IH, which were calculated with the following

formula: $FORG = (AASRP \text{ in FR} - AASRP \text{ in OR}) / (AASRP \text{ in FR} + AASRP \text{ in OR})$. The severity of interhemispheric rhythm asymmetry (IHRA) was determined in accordance with the following formula: $IHRA = (AASRP \text{ in AH} - AASRP \text{ in IH}) / (AASRP \text{ in AH} + AASRP \text{ in IH})$.

Statistical analysis of the results was held with the help of Statistica 13.0 software (StatSoft Inc., USA, series number JPZ8041382130ARCN10-J) and MedCalc (version 16.4). Since most of the studied parameters according to the Shapiro-Wilk criterion had a distribution that differed from the normal, descriptive statistics are presented in the form of a median and interquartile range. The integral types of EEG pattern were determined on the basis of a cluster analysis. Within this analysis agglomerative-hierarchical algorithms (construction of vertical dendrograms using the Ward method) and iterative algorithms (k-means method in McKean's variation) were used. In order to determine the intergroup differences of the studied traits, the Mann-Whitney test was used. The relations between qualitative (discrete) signs were assessed on the basis of the analysis of contingency tables using Pearson's chi-squared test. The values $P < 0.05$ were considered as statistically significant results.

Results

Upon admission to hospital focal neurological deficit of various severity was registered in all patients, while the NIHSS score value in the studied cohort was 14 (7; 21). Clinical signs of dislocation syndrome in the onset of SSICH were revealed in 23 (50.0 %) patients. In the clinical structure of subtentorial structures dysfunction in this subcohort of patients variable combinations of consciousness reduction (100.0 %) with heterogeneous ophthalmoplegic syndrome (91.3 %), brain stem reflexes disorders (65.2 %), muscular dystonic syndrome (56.5 %) and respiratory pattern disorders (47.8 %), while the dysfunction severity of subtentorial structures corresponded to the following gradation: low (FOUR score 15) in 17.4 % of cases, medium (FOUR score 13–14) – to 26.1 %, severe (FOUR score ≤ 12) – 50.0 %. The FOUR score value in the general cohort constituted 15 (11; 16), GCS score – 14 (8; 15).

In accordance with the neuroimaging study, lateral displacement of median brain structures was revealed in 34 (73.9 %) patients. The values of the septum pellucidum displacement and pineal gland displacement constituted 3 (1; 5) mm (for both indexes), ICHV – 13.8 (5.2; 65.0) ml.

The selection of integral types of electroencephalographic pattern in the studied patients was made at 2 stages. At the first stage, the hierarchical-agglomeration algorithm of cluster analysis was used in order to classify observations, whereas the results of spectral analysis of spontaneous bioelectrical affected and unaffected hemispheres (AASRP, RSRP, FORG, IHAR) used as signs for classification. Since the Euclidean metric was used to estimate the intercluster distance, the studied parameters were previously normalized. The Ward method was used in order to merge observations into clusters.

The analysis of the vertical dendrogram suggests that electroencephalographic patterns in studied patients with SSICH were divided into 2 groups (Fig. 1).

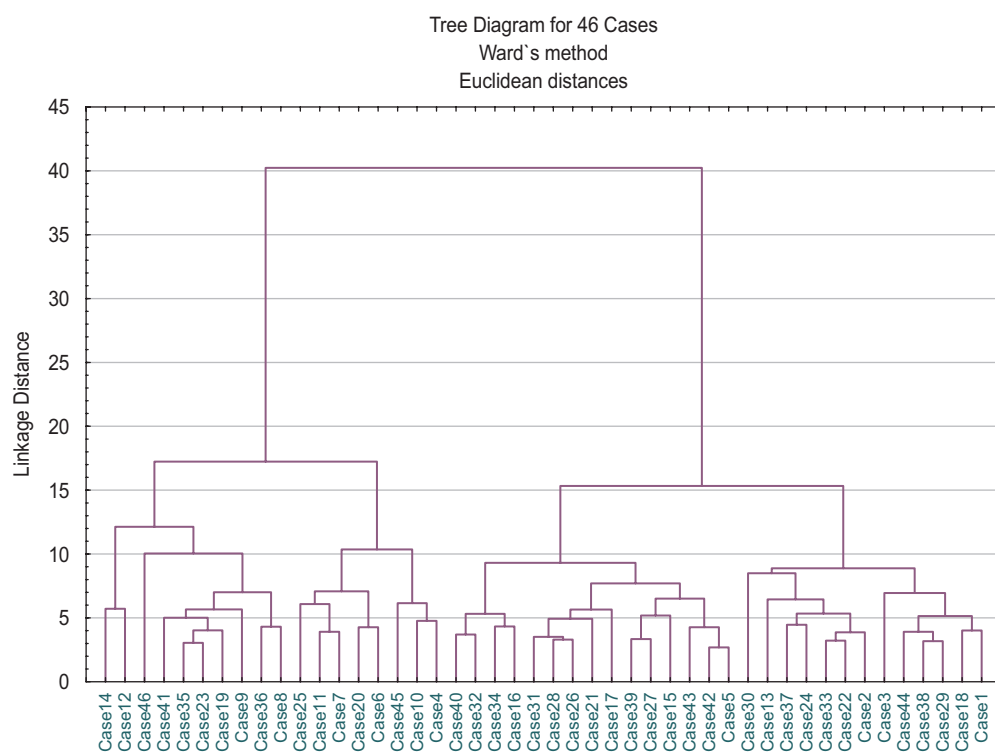


Fig. 1. The results of hierarchical clustering of observations on the basis of a set of parameters of the spectral analysis of spontaneous bioelectrical activity of the brain (vertical dendrogram with the assessment of intercluster distance in the Euclidean metric, Ward method).

At the second stage, two types of EEG pattern were selected using iterative cluster analysis algorithm (k-means method in McKean's variation).

Depending on the type of EEG pattern, patients were divided into 2 groups – 26 (56.5 %) and 20 (43.5 %) patients, respectively. Comparative analysis of RSRP of OH and IH in patients with different types of EEG pattern is presented in *Table 1*.

It was determined that patients of the second group had more severe violations of the bioelectrical activity of the affected and intact hemispheres. Type II of the EEG pattern was characterized by bilateral dominance (with an accent in IH) of slow-wave activity, predominantly of the δ -range, combined with depression of α - and β -ranges. RSRP values of δ -range constituted 57.7 (46.0; 70.9) % in AH and 60.8 (49.1; 70.8) % in IH, which exceeded by 3.2 and 4.1 times respectively the values of these indexes in patients with type I of the EEG pattern ($P < 0.0001$ for both parameters). No statistically significant intergroup differences in the RSRP θ -range of the AH and IH were found. The elevation of the RSRP θ_1 -subrange characterized type II of EEG pattern (16.5 (12.6; 24.1) % versus 10.8 (8.5; 13.9) %, $P = 0.0125$), while the RSRP values of α - and β -ranges were respectively 6.9 ($P < 0.0001$) and 3.7 ($P < 0.0001$) times lower in the AH, in 6.7 ($P < 0.0001$) and 3.1 ($P < 0.0001$) times lower in the IH. Type I of the EEG pattern was characterized by more pronounced disorder of bioelectric activity in the affected hemisphere (RSRP level of δ -range in AH was 18.1 (10.9; 30.1) % versus 14.7 (9.0; 20.3) % in IH;

RSRP level of α -range constituted respectively 27.7 (19.1; 41.7) % and against 35.7 (26.3; 44.5) %).

On the basis of a comparative analysis of the values of integral coefficients, the structure of changes in bioelectrical activity of the brain in the studied subcohorts of patients was detailed (*Table 2*).

It was determined that bilateral elevation of slow-wave activity in patients with type II of EEG pattern dominated in IH (DTABR value constituted 9.5 (6.0; 13.6) in IH versus 7.9 (4.6; 17.2) in AH). The center of gravity shift of the slow-wave activity to δ -range area was also distinctive (the DTR value constituted 2.3 (1.3; 4.7) and 2.6 (1.7; 3.5) in the AH and IH respectively), whereas type I was characterized by the center of gravity shift of the slow-wave activity to θ -range area (the DTR value constituted 0.6 (0.5; 1.0) and 0.5 (0.3; 0.9) in AH and IH respectively). Type II of EEG pattern was characterized by the dominance of θ_1 -subband oscillations in θ -range rhythms structure (T1T2R value constituted 1.8 (1.5; 2.7) and 2.5 (1.9; 3.8) in AH and IH respectively). θ_2 -subranges dominated in type I of EEG pattern (T1T2R value constituted 0.7 (0.5; 1.1) and 0.7 (0.4; 1.0) in AH and IH respectively). In the group of patients with type II of EEG pattern, DAR and TAR levels in AH and IH were significantly higher, while the ABR and A1A2R levels in IH were lower than in patients with type I of EEG pattern. Thus, more pronounced disorders of bioelectrical activity of the brain in patients with type I of EEG pattern were registered in the AH, and in the IH – in patients with type II. The latter was also confirmed by intergroup differences between IHRA values of the δ -range

Table 1. Comparative analysis of RSRP (%) of OH and IH in patients with different types of EEG pattern.

Indexes	I type of EEG pattern (n = 26)	II type of EEG pattern (n = 20)	P
RSRP δ AH	18.1 (10.9; 30.1)	57.7 (46.0; 70.9)	<0.0001
RSRP θ1 AH	11.3 (7.4; 15.8)	15.0 (9.6; 22.1)	0.2757
RSRP θ2 AH	13.9 (10.9; 23.1)	6.4 (4.5; 11.0)	0.0013
RSRP θ AH	27.7 (21.8; 39.7)	24.7 (14.9; 37.5)	0.3973
RSRP α1 AH	18.7 (10.6; 25.2)	3.2 (1.7; 7.2)	<0.0001
RSRP α2 AH	11.2 (5.5; 15.7)	2.0 (1.3; 3.6)	<0.0001
RSRP α AH	27.7 (19.1; 41.7)	4.8 (3.4; 11.5)	<0.0001
RSRP β1 AH	14.3 (9.1; 19.3)	3.8 (1.9; 7.8)	<0.0001
RSRP β2 AH	1.5 (1.2; 2.9)	0.9 (0.2; 1.9)	0.0142
RSRP β AH	15.7 (10.9; 25.4)	4.3 (2.7; 9.6)	<0.0001
RSRP δ IH	14.7 (9.0; 20.3)	60.8 (49.1; 70.8)	<0.0001
RSRP θ1 IH	10.8 (8.5; 13.9)	16.5 (12.6; 24.1)	0.0125
RSRP θ2 IH	14.6 (12.1; 22.9)	4.9 (4.0; 9.5)	<0.0001
RSRP θ IH	28.9 (20.8; 37.6)	24.0 (17.1; 32.9)	0.1819
RSRP α1 IH	26.0 (16.7; 31.9)	3.1 (1.7; 5.0)	<0.0001
RSRP α2 IH	8.3 (5.7; 16.2)	2.0 (1.5; 3.1)	<0.0001
RSRP α IH	35.7 (26.3; 44.5)	5.3 (3.4; 8.0)	<0.0001
RSRP β1 IH	12.2 (9.9; 17.3)	3.1 (1.8; 5.6)	<0.0001
RSRP β2 IH	1.5 (1.0; 2.6)	0.5 (0.2; 1.7)	0.0067
RSRP β IH	14.1 (11.0; 19.4)	4.5 (2.0; 7.5)	<0.0001

Table 2. Comparative analysis of integral coefficients in AH and IH in patients with different types of EEG pattern

Parameters	I type of EEG pattern (n = 26)	II type of EEG pattern (n = 20)	P
DTABR AH	1.0 (0.5; 1.7)	7.9 (4.6; 17.2)	<0.0001
DTR AH	0.6 (0.5; 1.0)	2.3 (1.3; 4.7)	<0.0001
T1T2R AH	0.7 (0.5; 1.1)	1.8 (1.5; 2.7)	0.0002
DAR AH	0.7 (0.3; 1.3)	11.5 (4.6; 19.8)	<0.0001
TAR AH	1.0 (0.5; 1.9)	4.1 (2.0; 5.7)	<0.0001
ABR AH	2.0 (1.3; 2.8)	1.4 (0.8; 2.0)	0.1893
A1A2R AH	1.7 (1.2; 2.7)	1.8 (1.2; 2.6)	0.9563
B1B2R AH	8.4 (4.8; 10.0)	6.1 (3.3; 7.2)	0.0819
DTABR IH	0.9 (0.6; 1.3)	9.5 (6.0; 13.6)	<0.0001
DTR IH	0.5 (0.3; 0.9)	2.6 (1.7; 3.5)	<0.0001
T1T2R IH	0.7 (0.4; 1.0)	2.5 (1.9; 3.8)	<0.0001
DAR IH	0.5 (0.2; 0.7)	11.6 (6.4; 19.9)	<0.0001
TAR IH	0.8 (0.5; 1.1)	5.0 (2.5; 6.9)	<0.0001
ABR IH	2.7 (1.7; 3.7)	1.6 (0.9; 2.3)	0.0067
A1A2R IH	2.6 (1.5; 4.1)	1.5 (1.1; 2.3)	0.0172
B1B2R IH	8.4 (4.8; 10.0)	6.1 (3.3; 7.2)	0.0819

Table 3. Comparative analysis of IHRA values in patients with different types of EEG pattern

Parameters	I type of EEG pattern (n = 26)	II type of EEG pattern (n = 20)	P
IHRA δ	0.074 (-0.015; 0.178)	-0.120 (-0.275; 0.088)	0.0095
IHRA θ1	-0.049 (-0.228; 0.248)	-0.129 (-0.398; 0.068)	0.0707
IHRA θ2	-0.041 (-0.229; 0.215)	-0.105 (-0.232; 0.076)	0.4616
IHRA θ	-0.044 (-0.133; 0.103)	-0.144 (-0.316; 0.031)	0.1819
IHRA α1	-0.145 (-0.385; -0.012)	-0.179 (-0.429; 0.146)	0.8693
IHRA α2	-0.023 (-0.200; 0.181)	-0.141 (-0.282; -0.030)	0.2048
IHRA α	-0.139 (-0.310; -0.043)	-0.116 (-0.375; 0.051)	0.9040
IHRA β1	-0.006 (-0.154; 0.043)	-0.095 (-0.258; 0.044)	0.4616
IHRA β2	-0.001 (-0.066; 0.140)	0.056 (-0.117; 0.176)	0.9040
IHRA β	0.010 (-0.145; 0.057)	-0.082 (-0.226; 0.055)	0.5170
IHRA total	-0.059 (-0.188; 0.073)	-0.060 (-0.151; 0.040)	0.9738

(0.074 (-0.015; 0.178) versus -0.120 (-0.275; 0.088), $P = 0.0095$) (Table 3).

It was determined that type II of EEG pattern was characterized by more pronounced disorders of zonal differences of α -range rhythms (0.069 (-0.084; 0.306) versus -0.122 (-0.304; 0.041) in AH, $P = 0.0125$; 0.103 (-0.108; 0.195) versus -0.198 (-0.359; 0.004) in IH, $P = 0.0008$) due to α 2-subrange (0.106 (-0.125; 0.276) versus -0.104 (-0.297; 0.061) in AH, $P = 0.0395$; 0.027 (-0.109; 0.306) versus -0.157 (-0.442; 0.018), $P = 0.0017$) (Table 4).

The obtained data certify the elevation of AASRP of α 2-subrange in frontal areas of IH in patients with type II of EEG pattern, which was confirmed by corresponding IHRA values (-0.147 (-0.403; 0.069) versus 0.073 (-0.072; 0.217), $P = 0.0395$) (Table 5).

In the group of patients with type I of EEG pattern the dysfunction of subtentorial structures was not revealed in 88.5% of cases, low dysfunction (FOUR score 15) was verified in 7.7%, medium (FOUR score 13–14) – only in 3.8%, whereas in patients with type II severe dysfunction of subtentorial structures (FOUR score ≤ 12) dominated (65.0%), medium dysfunction was verified in 25.0% of patients, low dysfunction – only in 10.0%. On the basis of the analysis of frequency distribution of grades assessment of FOUR score in patients with different types of EEG patterns it was determined that the integral type of EEG pattern was associated with functional state of subtentorial structures (Chi-squared = 38.5, $P < 0.0001$), whereas type II of EEG pattern was revealed in 94.7% of patients with medium/severe dysfunction of subtentorial structures, type I – in 92.6% of patients with low dysfunction or without any dysfunction. Thus, pattern type II of bioelectrical activity of the brain is the integral electroencephalographic diagnostic criterion of medium/severe dysfunction of subtentorial structures in patients with SSICH (sensitivity = 94.7%, specificity = 92.6%). On the basis of comparative analysis of clinical data it was determined that patients with type II of EEG pattern had statistically higher values of NIHSS score (21 (15; 30) versus 7 (5; 11), $P < 0.0001$) in combination with lower values of GCS score (8 (4; 11) versus 15 (14; 15), $P < 0.0001$) and FOUR score (12 (5; 15) versus 16 (16; 16), $P < 0.0001$).

In 50.0% patients with type I of EEG pattern the midline shift was not detected. Septum pellucidum displacement 1–3 mm was registered in 38.5% cases, 4–5 mm and >5 mm – in 11.5% (in equal shares), whereas midline shift was diagnosed in all the patients with type II of EEG pattern. Septum pellucidum displacement 4–5 mm and >5 mm was registered in 80.0% cases (in equal shares), 1–3 mm – in 20.0%. On the basis of the analysis of frequency distribution of grades assessment of septum pellucidum displacement in patients with different types of EEG patterns it was determined that the integral type of EEG pattern was associated with midline shift severity (Chi-squared = 21.4, $P = 0.0001$). The patients with type II of EEG pattern had statistically higher values of ICHV (67.9 (24.0; 98.1) mL versus 5.3 (2.8–8.9) mL, $P < 0.0001$), septum pellucidum displacement (5 (4; 9) mm versus 1 (0; 3) mm, $P < 0.0001$), pineal gland displacement (5 (4; 7) mm versus 1 (0; 3) mm, $P < 0.0001$) and ICH score (3 (2; 4) versus 0 (0; 1), $P < 0.0001$).

Discussion

Thus, the step-by-step use of hierarchical, agglomerative and iterative algorithms for cluster analysis along with the further detection of intergroup differences allowed to identify 2 types of electroencephalographic pattern in patients with SSICH and to verify their diagnostic criteria. Thus, type I of EEG pattern was characterized by the predominance of violations in the AH. In the structure of slow-wave activity, θ -range rhythms dominated in the AH (DTR median constituted 0.6). The values of IHRA median of the δ -range (0.074) indicated the predominance of ipsilateral nature of slow-wave elevation in this group of patients. Zonal differences remained in the rhythms of α -range in the AH, which was confirmed by the corresponding values of FORG (-0.122 (-0.304; 0.041) for the α -band and -0.104 (-0.297; 0.061) for the $\alpha 2$ subband). The results of the analysis of clinical neuroimaging data in this subcohort of patients serve as a basis to consider type I of EEG pattern as an integral neurophysiological marker of ipsilateral focal lesion of specific systems of supratentorial localization in combination with low dysfunction of synchronizing systems of diencephalic level due to slightly pronounced displacement of median brain structures.

Type II of EEG pattern was characterized by more pronounced dysfunction of the bioelectric activity of AH and IH. Bilateral elevation of slow-wave activity was distinctive. δ -range rhythms dominated in its structure, which was confirmed by corresponding RSRP levels of the δ -range (57.7 (46.0; 70.9) % in AH, 60.8 (49.1; 70.8) % in IH), RSRP of α -range (4.8 (3.4; 11.5) % in AH, 5.3 (3.4; 8.0) % in IH), DTABR (7.9 (4.6; 17.2) in AH, 9.5 (6.0; 13.6) in IH), DTR (2.3 (1.3; 4.7) in AH, 2.6 (1.7; 3.5) in IH), DAR (11.5 (4.6; 19.8) in AH, 11.6 (6.4; 19.9) in IH), TAR (4.1 (2.0; 5.7) in AH, 5.0 (2.5; 6.9) in IH). We should note the predominance of slow-wave activity elevation in the IH, which was indicated by the value of IHRA median of δ -range (-0.118 (-0.308; 0.071) versus 0.117 (-0.006; 0.261), $P = 0.0018$). The results of the analysis of clinical and neuroimaging criteria for the assessment of the severity of damage and dysfunction of cerebral structures in the studied subcohort of patients (FOUR score constituted 8 (3; 13), septum pellucidum displacement – 5 (4; 9), pineal gland displacement – 5 (4; 9)) allow to represent the complex of these changes in the bioelectrical activity of the brain as an integral electroencephalographic marker of deep depression of synchronizing systems of the diencephalic level with the development of functional interhemispheric diaschisis as a result of the severe dislocation of sub-tentorial structures. The obtained data are consistent with the results of other studies. Thus, in the study of M. Purandare et al. (2018) it was determined that RSRP levels of δ -, α -ranges, DTABR, DAR in patients with SSICH were associated with Glasgow coma scale score and ICHV [12]. In the study by P. Xu et al. (2008) it was revealed that intracranial hypertension and the development of dislocation syndrome in patients with intracerebral hemorrhage are accompanied by the elevation of the absolute spectral power of slow-wave activity with an accented range within 0.5–3.0 Hz [18]. The study by G. Assenza et al. (2013) demonstrated the diagnostic

Table 4. Comparative analysis of fronto-occipital rhythm gradients in AH and IH in patients with different types of EEG pattern

Parameters	I type of EEG pattern (n = 26)	II type of EEG pattern (n = 20)	P
FORG δ AH	0.272 (0.047; 0.386)	0.150 (-0.002; 0.266)	0.1893
FORG $\theta 1$ AH	0.143 (-0.092; 0.335)	0.316 (0.014; 0.438)	0.1543
FORG $\theta 2$ AH	0.146 (-0.102; 0.322)	0.015 (-0.207; 0.247)	0.6847
FORG θ AH	0.087 (-0.076; 0.244)	0.223 (0.074; 0.416)	0.1893
FORG $\alpha 1$ AH	-0.097 (-0.317; 0.123)	0.204 (-0.144; 0.319)	0.0607
FORG $\alpha 2$ AH	-0.104 (-0.297; 0.061)	0.106 (-0.125; 0.276)	0.0395
FORG α AH	-0.122 (-0.304; 0.041)	0.069 (-0.084; 0.306)	0.0125
FORG $\beta 1$ AH	0.051 (-0.044; 0.134)	0.001 (-0.121; 0.141)	0.4889
FORG $\beta 2$ AH	0.087 (-0.074; 0.343)	-0.046 (-0.193; 0.094)	0.0946
FORG β AH	0.033 (-0.070; 0.134)	-0.016 (-0.130; 0.113)	0.2957
FORG δ IH	0.116 (-0.116; 0.251)	0.086 (0.014; 0.466)	0.4483
FORG $\theta 1$ IH	0.145 (-0.049; 0.307)	0.071 (-0.061; 0.177)	0.3385
FORG $\theta 2$ IH	0.070 (-0.076; 0.270)	-0.161 (-0.274; -0.023)	0.0281
FORG θ IH	0.146 (-0.089; 0.263)	-0.017 (-0.113; 0.175)	0.2128
FORG $\alpha 1$ IH	-0.142 (-0.376; 0.018)	0.010 (-0.191; 0.276)	0.0547
FORG $\alpha 2$ IH	-0.157 (-0.442; 0.018)	0.027 (-0.109; 0.306)	0.0017
FORG α IH	-0.198 (-0.359; 0.004)	0.103 (-0.108; 0.195)	0.0008
FORG $\beta 1$ IH	-0.004 (-0.111; 0.171)	0.010 (-0.208; 0.306)	0.9738
FORG $\beta 2$ IH	0.208 (-0.066; 0.395)	0.073 (-0.071; 0.277)	0.5313
FORG β IH	0.043 (-0.096; 0.182)	0.007 (-0.182; 0.301)	0.7504

Table 5. Comparative analysis of IHRA values in frontal and caudal areas of brain hemispheres in patients with different types of EEG pattern.

Parameters	I type of EEG pattern (n = 26)	II type of EEG pattern (n = 20)	P
IHRA δ FR	0.117 (-0.006; 0.261)	-0.118 (-0.308; 0.071)	0.0018
IHRA $\theta 1$ FR	0.078 (-0.128; 0.199)	0.100 (-0.147; 0.210)	0.9040
IHRA $\theta 2$ FR	-0.051 (-0.231; 0.087)	0.187 (-0.115; 0.236)	0.0315
IHRA θ FR	-0.051 (-0.175; 0.110)	0.067 (-0.113; 0.224)	0.2048
IHRA $\alpha 1$ FR	-0.145 (-0.199; 0.055)	-0.050 (-0.258; 0.176)	0.5906
IHRA $\alpha 2$ FR	0.073 (-0.072; 0.217)	-0.147 (-0.403; 0.069)	0.0395
IHRA α FR	-0.055 (-0.166; 0.067)	-0.148 (-0.296; 0.058)	0.5459
IHRA $\beta 1$ FR	0.000 (-0.068; 0.099)	-0.118 (-0.185; 0.000)	0.0707
IHRA $\beta 2$ FR	-0.047 (-0.173; 0.171)	-0.143 (-0.243; 0.088)	0.3275
IHRA β FR	-0.003 (-0.057; 0.096)	-0.084 (-0.196; 0.015)	0.0466
IHRA total FR	0.011 (-0.049; 0.115)	-0.026 (-0.194; 0.084)	0.2856
IHRA δ OR	0.044 (-0.191; 0.177)	0.008 (-0.248; 0.150)	0.5906
IHRA $\theta 1$ OR	-0.049 (-0.228; 0.248)	-0.129 (-0.398; 0.068)	0.0707
IHRA $\theta 2$ OR	-0.041 (-0.229; 0.215)	-0.105 (-0.232; 0.076)	0.4616
IHRA θ OR	-0.044 (-0.133; 0.103)	-0.144 (-0.316; 0.031)	0.1819
IHRA $\alpha 1$ OR	-0.145 (-0.385; -0.012)	-0.179 (-0.429; 0.146)	0.8693
IHRA $\alpha 2$ OR	-0.023 (-0.200; 0.181)	-0.141 (-0.282; -0.030)	0.2048
IHRA α OR	-0.139 (-0.310; -0.043)	-0.116 (-0.375; 0.051)	0.9040
IHRA $\beta 1$ OR	-0.006 (-0.154; 0.043)	-0.095 (-0.258; 0.044)	0.4616
IHRA $\beta 2$ OR	-0.001 (-0.066; 0.140)	0.056 (-0.117; 0.176)	0.9040
IHRA β OR	0.010 (-0.145; 0.057)	-0.082 (-0.226; 0.055)	0.5170
IHRA total OR	-0.059 (-0.188; 0.073)	-0.060 (-0.151; 0.040)	0.9738

significance of the contralateral elevation of the absolute spectral rhythm power as a neurophysiological marker of hemispheric diaschisis in patients in the acute period of severe supratentorial stroke [3]. In the study of M. E. Wolf et al. (2017), it was found that generalized (bilateral) changes of the bioelectric activity of the brain reflect the severity of supratentorial structures damage in patients with cerebral ischemic hemispheric stroke, not the focal ones [19]. The numerous studies demonstrate a high diagnostic informative value of the integral EEG

pattern coefficients, which reflect the severity of slow-wave activity within the assessment of the severity of acute brain damage of ischemic and traumatic genesis [2,4,5,17].

The conducted study allowed us to obtain data on reciprocal changes in the anterior and posterior gradient of EEG pattern rhythms in patients with SSICH. Thus, type I of the EEG pattern was characterized by the maintenance of the negative FORG α -band in both hemispheres, which indicated the integrity of the interhemispheric organization of corresponding rhythms, whereas type II of the EEG pattern had a bilateral inversion of FORG α -band 0.069 (-0.084; 0.306) in AH, 0.103 (-0.108; 0.195) in the IH) due to α 2-subrange (0.106 (-0.125; 0.276) in the AH, 0.027 (-0.109; 0.306) in the IH). The revealed changes in AH reflected the severity of focal lesions of supratentorial structures, whereas the genesis of contralateral inversion of these indicators was due to the decrease of AASRP of α 2-subrange in caudal areas of PI (as a marker of the depression of pacemaker activity of thalamic structures) in combination with the elevation of AASRP α 2-subrange in anterior areas of IH (as a marker of the irritation of non-specific systems of diencephalic level under conditions of pronounced lateral displacement of median brain structures), which was further confirmed by negative values of IHRA α 2-subrange in the frontal area (-0.147 (-0.403; 0.069) versus 0.073 (-0.072; 0.217), $P = 0.0395$). The results of clinical neuroimaging data analysis in the group of patients with type II of EEG pattern make it possible to interpret the indicated changes of FORG α 2-subrange in IH combined with the formation of negative IHRS of α 2-subrange in anterior areas of the brain as a neurophysiological criterion for the assessment of the dysfunction severity of the midbrain structures due to their lateral dislocation.

Thus, the study identified EEG pattern types in patients with SSICH, which reflect the main consistency of the reorganization of bioelectric activity of the brain in the acute period of the disease. It was defined that the integral assessment of the bioelectrical activity of the brain with the use of the spectral analysis is characterized by a high sensitivity (over 90%) to changes of the functional state of cerebral structures in the onset of SSICH, which explains the expediency of the determination of EEG pattern type (in accordance with the developed neurophysiological diagnostic criteria) in order to improve the integrated assessment of damage severity of brain structures in this group of patients. It is also necessary to conduct further prospective studies as for the corresponding statistical power for the verification of the prognostic informative value of the integral assessment of the EEG pattern in patients with SSICH.

Conclusions

1. Integral EEG patterns were identified in patients with cerebral hemorrhagic hemispheric stroke, which take into consideration the totality of spectral analysis parameters of spontaneous bioelectric activity of both hemispheres (relative spectral power, intra-hemispheric zone differences, interhemispheric rhythm asymmetry). These types of EEG pattern are associated with the func-

tional state of subtentorial structures (Chi-squared = 38.5, $P < 0.0001$) and the neuroimaging criteria of midline shift severity (Chi-squared = 21.4, $P = 0.0001$).

2. Bilateral domination of the RSRP δ -range with an accent in IH in combination with FORG inversion of α -range due to elevation of the α 2-subrange in the anterior areas of IH in patients with SSICH is an informative integral electroencephalographic diagnostic criterion for medium/severe dysfunction of subtentorial structures (sensitivity – 94.7 %, specificity – 92.6 %), whereas ipsilateral increase of RSRP of δ -range with the dominance of θ -range rhythms in slow-wave activity structure in combination with smoothing of zonal differences of α -range rhythms in AH in patients with SSICH the reflects focal lesion of the hemisphere in combination along with the low dysfunction of subtentorial structures or with the absence of the latter.

The perspective for the further scientific research is the research is the elaboration of EEG criteria for the prediction of SSICH acute period outcome.

Funding

Investigation is funded as a part of scientific research work in Zaporizhzhia state medical university "Optimization of the diagnostic, treatment and rehabilitation approaches in patients with acute and chronic cerebral bloodflow violations", number of state registration 0113U000798 (2013–2017).

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

Information about author:

Kuznietsov A. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Nervous Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про автора:

Кузнецов А. А., канд. мед. наук, доцент каф. нервних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторе:

Кузнецов А. А., канд. мед. наук, доцент каф. нервных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Надійшла до редакції / Received: 25.09.2018

Після доопрацювання / Revised: 12.10.2018

Прийнято до друку / Accepted: 17.10.2018

References

- Chernii, T. V. (2014) Neirofiziologicheskaya traktovka E'E'G-fenomenologii v ocenke funktsional'nykh narushenij pri tyazhelykh povrezhdeniyakh golovnogo mozga [Neurophysiological explanation of EEG-phenomenon in the estimation of functional disorders due to severe brain injury]. *Zhurnal nevrologii im. B. M. Mankovskoho*, 3, 81–91. [in Russian].
- Cherniy, V. I., Andronova, I. A., Gorodnik, G. A., Nazarenko, K. V., & Cherniy, O. V. (2016) Issledovanie E'E'G--prediktorov nejromediatornoj i nejroglial'noj aktivnosti, osobennostej perestrojki mezhtsentral'nykh odnoshenij mozga u pacientov s tyazhelej cherepno-mozgovoj travmoy [The research of EEG predictors of neurotransmitter and neuroglial activity, the features of restructuring the brain intracranial relations in patients with severe TBI]. *Mizhnarodnyi nevrolohichnyi zhurnal*, 5, 41–54. [in Russian]. doi: 10.22141/2224-0713.5.83.2016.78470.
- Assenza, G., Zappasodi, F., Pasqualetti, P., Vernieri, F., & Tecchio, F. (2013). A contralateral EEG power increase mediated by inter-hemispheric disconnection provides negative prognosis in acute stroke. *Restor Neural Neurosci*, 31(2), 177–188. doi: 10.3233/RNN-120244.

- [4] Agius Anastasi, A., Falzon, O., Camilleri, K., Vella, M., & Muscat, R. (2017) Brain Symmetry Index in Healthy and Stroke Patients for Assessment and Prognosis. *Stroke Res Treat*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8276136>.
- [5] Bentes, C., Peralta, A. R., Viana, P., Martins, H., Morgado, C., Casimiro, C., et al. (2018) Quantitative EEG and functional outcome following acute ischemic stroke. *Clin Neurophysiol.*, 129(8), 1680–1687. doi: 10.1016/j.clinph.2018.05.021.
- [6] Chen, Y., Xu, W., Wang, L., Yin, X., Cao, J., Deng, F., et al. (2018) Transcranial Doppler combined with quantitative EEG brain function monitoring and outcome prediction in patients with severe acute intracerebral hemorrhage. *Crit Care*, 22, 36. doi: [10.1186/s13054-018-1951-y].
- [7] Diedler, J., Sykora, M., Bast, T., Poli, S., Veltkamp, R., Mellado, P., et al. (2009). Quantitative EEG correlates of low cerebral perfusion in severe stroke. *Neurocrit Care*, 11(2), 210–216. doi: 10.1007/s12028-009-9236-6.
- [8] Fiorella, D., Zuckerman, S. L., Khan, I. S., Ganesh Kumar, N., & Mocco, J. (2015) Intracerebral Hemorrhage: A Common and Devastating Disease in Need of Better Treatment. *World Neurosurg*, 84(4), 1136–1141. doi: 10.1016/j.wneu.2015.05.063.
- [9] Li, J., Shalabi, A., Ji, F., & Meng, L. (2017). Monitoring cerebral ischemia during carotid endarterectomy and stenting. *J Biomed Res*, 31, 11–16. doi: 10.7555/JBR.31.20150171.
- [10] Finnigan, S. P., Walsh, M., Rose, S. E., & Chalk, J. B. (2007). Quantitative EEG indices of sub-acute ischaemic stroke correlate with clinical outcomes. *Clin Neurophysiol.*, 118(11), 2525–2532. doi: 10.1016/j.clinph.2007.07.021.
- [11] Kirkman, M. A., & Smith, M. (2013) Supratentorial intracerebral hemorrhage: a review of the underlying pathophysiology and its relevance for multimodality neuromonitoring in neurointensive care. *J Neurosurg Anesthesiol*, 25(3), 228–239. doi: 10.1097/ANA.0b013e3182836059.
- [12] Purandare, M., Ehler, A. N., Vaitkevicius, H., Dworetzky, B. A., & Lee, J. W. (2018) The role of cEEG as a predictor of patient outcome and survival in patients with intraparenchymal hemorrhages. *Seizure*, 61, 122–127. doi: 10.1016/j.seizure.2018.08.014.
- [13] Sheorajpanday, R. V., Nagels, G., Weeren, A. J., De Surgeloose, D., & De Deyn, P. P. (2010). Additional value of quantitative EEG in acute anterior circulation syndrome of presumed ischemic origin. *Clin Neurophysiol*, 121(10), 1719–1725. doi: 10.1016/j.clinph.2009.10.037.
- [14] Sheorajpanday, R. V., Nagels, G., Weeren, A. J., van Putten, M. J., & De Deyn, P. P. (2011). Quantitative EEG in ischemic stroke: correlation with functional status after 6 months. *Clin Neurophysiol*, 122(5), 874–883. doi: 10.1016/j.clinph.2010.07.028.
- [15] Schreuder, F. H., Sato, S., Klijn, C. J., & Anderson, C. S. (2017) Medical management of intracerebral haemorrhage. *J Neural Neurosurg Psychiatry*, 88(1), 76–84. doi: 10.1136/jnnp-2016-314386.
- [16] van Putten, M. J., & Hofmeijer, J. (2016). EEG Monitoring in Cerebral Ischemia: Basic Concepts and Clinical Applications. *J Clin Neurophysiol*, 33(3), 203–210. doi: 10.1097/WNP.0000000000000272.
- [17] Xin, X., Chang, J., Gao, Y., & Shi, Y. (2017). Correlation Between the Revised Brain Symmetry Index, an EEG Feature Index, and Short-term Prognosis in Acute Ischemic Stroke. *J Clin Neurophysiol*, 34(2), 162–167. doi: 10.1097/WNP.0000000000000341.
- [18] Xu, P., Scalzo, F., Bergsneider, M., Vespa, P., Chad, M., & Hu, X. (2008) Wavelet entropy characterization of elevated intracranial pressure. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 2008, 2924–2927. doi: 10.1109/IEMBS.2008.4649815.
- [19] Wolf, M. E., Ebert, A. D., & Chatzikonstantinou, A. (2017). The use of routine EEG in acute ischemic stroke patients without seizures: generalized but not focal EEG pathology is associated with clinical deterioration. *Int J Neurosci*, 127(5), 421–426. doi: 10.1080/00207454.2016.1189913.
- [20] Wu, J., Srinivasan, R., Burke Quinlan, E., Solodkin, A., Small, S. L., & Cramer, S. C. (2016) Utility of EEG measures of brain function in patients with acute stroke. *J Neurophysiol*, 115(5), 2399–2405. doi: 10.1152/jn.00978.2015.

Ранні морфологічні зміни колінного суглоба щурів після опіоїдного впливу

К. І. Войченко

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

Ключові слова:

аналгезуючі опіоїдні засоби, хрящ суглобовий, колінний суглоб, щур.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 386–389

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.3.151871

E-mail: kostya_89@ukr.net

Мета роботи – вивчити ранні морфологічні зміни колінного суглоба щурів після експериментального опіоїдного впливу.

Матеріали та методи. Матеріал дослідження – статевозрілі безпородні щури-самці (n = 16) масою 80 г, віком 4,5 місяця. Тварин поділили на 2 групи: експериментальну і контрольну. Експериментальним щурам (n = 10) робили ін'єкції розчину налбуфіну гідрохлориду дигідрату в/м'язово, щоденно 1 раз на добу впродовж 7 днів; початкова доза препарату – 8 мг/кг. Так створювали умови хронічного опіоїдного впливу. Щури контрольної групи (n = 6) протягом 7 днів отримували ін'єкції фізіологічного розчину в/м'язово. Для гістологічного дослідження використали дистальний епіфіз стегнової та проксимальний епіфіз великогомілкової кісток щурів, враховуючи збереження топографічного співвідношення структурних компонентів колінного суглоба. Гістологічні препарати після декальцинації забарвлювали гематоксилином та еозином, азуром та азаном за Гейденгайном. Вимірювали товщину покривного синовіального шару суглобового хряща.

Результати. В експериментальних тварин після дії опіатів порушується архітектоніка суглобового хряща, відбувається потоншення покривного синовіального шару суглобового хряща. Визначена тенденція до зменшення кількості хондроцитів у зоні проліферації, а також до загального стоншення хряща.

Висновки. У ранньому періоді опіоїдного впливу у структурах колінного суглоба експериментальних щурів виникають зміни в синовіальному шарі та в зоні проліферації хондроцитів, які можуть бути передумовою наступних патологічних проявів опіоїдної хондропатії.

Ключевые слова:

аналгезирующие средства опиоидные, хрящ суставной, коленный сустав, крыса.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 386–389

Ранние морфологические изменения сустава крыс после опиоидного влияния

К. И. Войченко

Цель работы – исследовать ранние морфологические изменения коленного сустава крыс после экспериментального опиоидного влияния.

Материалы и методы. Материал исследования – половозрелые беспородные крысы-самцы (n = 16) массой 80 г, в возрасте 4,5 месяца. Животных поделили на 2 группы: экспериментальную и контрольную. Экспериментальным животным (n = 10) проводили инъекции раствора налбуфина гидрохлорида дигидрата в/мышечно 1 раз в сутки в течение 7 дней; начальная доза – 8 мг/кг. Таким образом создали условия хронического опиоидного влияния. Крысы контрольной группы (n = 6) на протяжении 7 суток получали инъекции физиологического раствора в/мышечно. Для гистологического исследования использовали дистальный эпифиз бедренной и проксимальный эпифиз большеберцовой кости крыс, учитывая сохранение топографического соотношения структурных компонентов коленного сустава. Гистологические препараты после декальцинации окрашивали гематоксилином и еозином, азуром и азаном по Гейденгайну. Измеряли толщину покровного синовиального слоя суставного хряща.

Результаты. У экспериментальных животных после действия опиатов нарушается архитектура суставного хряща, происходит истончение покровного синовиального слоя суставного хряща, установлена тенденция к уменьшению количества хондроцитов в зоне пролиферации, а также к общему истончению хряща.

Выводы. В раннем периоде опиоидного влияния в структурах коленного сустава экспериментальных крыс возникают изменения в синовиальном слое и в зоне пролиферации хондроцитов, которые могут быть причиной последующих патологических проявлений опиоидной хондропатии.

Key words:

analgesics, cartilage articular, knee joint, rat.

Pathologia 2018; 15 (3), 386–389

Early morphological changes in the knee joint of rats after opioid exposure

K. I. Voitsenko

The objective is to study early morphological changes of rats' knee joint after experimental opioid exposure.

Materials and methods. Research material is mature, non-breeding male rats 4.5 months old (n = 16) with body weight 80 g. Animals were divided into 2 groups: experimental and control. The experimental group of rats (n = 10) got the injection of nalbuphine hydrochloride intramuscularly, one time per day during 7 days; initial dose – 8 mg/kg. The condition of chronic opioid exposure has been modeled. The rats of control group (n = 6) got the injection of physiological solution intramuscularly during 7 days. The distal epiphysis of rat thigh and proximal epiphysis of rat tibia taking into account the preservation of topographical correlation of the knee joint structural components have been used for histological analysis. Following decalcination, the histologic specimens have been stained with hematoxylin, eosin, azure and azan by Heidenhain. The thickness of the cover synovial layer of articular cartilage has been measured.

Results. The architectonics of articular cartilage distorts, the cover synovial layer of articular cartilage gets thinner due to experimental action of opiates. There is also tendency towards volume decrease of chondrocytes in proliferation zone and thickness loss of the cartilage.

Conclusions. At the early stage of opioid exposure the structure abnormality of laboratory rats' knee joint can be seen in the synovial layer and in the zone of chondrocytes proliferation. These research data can be a prerequisite for opioid chondropathy.

За даними сучасної статистики, патології кісткової, м'язової систем та ураження сполучної тканини становлять найпоширенішу групу серед дітей підліткового віку [1]. За останні роки велика кількість досліджень присвячена проблемі неконтрольованого вживання сильнодійних і психотропних препаратів медичного та сурогатного походження [2,3]. Є роботи, що присвячені вивченню впливу опіатів на морфологію внутрішніх органів і нервової системи: сітківку [4,5], мозочок [8,9], міокард [10], ободову кишку [11], мозолисте тіло [12]. Оpubліковані дані, що свідчать про поширеність захворювань опорно-рухового апарату в осіб із залежністю від опіатів, які приймають наркотичні знеболювальні препарати. M. Ezzatabadipour et al. (2011) досліджували вплив морфіну на структурну організацію епіфізарного хряща статевозрілих щурів [13]. Нез'ясованим залишається питання щодо проявів токсичної хондропатії на основі опіоїдного впливу та появи, наростання дегенеративних змін структурних компонентів колінного суглоба. Детальне вивчення суглобових поверхонь колінного суглоба в експериментальному аспекті має велике теоретичне значення для встановлення закономірностей появи та наростання патоморфологічних проявів на тлі впливу опіатів.

Мета роботи

Вивчити ранні морфологічні зміни колінного суглоба щурів після експериментального опіоїдного впливу.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на 16 статевозрілих безпородних щурах-самцях масою 80 г, віком 4,5 міс. Тварин поділили на 2 групи: експериментальну і контрольну. Експериментальним щурам ($n = 10$) робили ін'єкції розчину налбуфіну гідрохлориду дигідрату в м'язово, щоденно 1 раз на добу в одному проміжку часу (10–11 година ранку) протягом 7 діб. Початкова доза препарату становила 8 мг/кг. Так створювали умови хронічного опіоїдного впливу [6]. Контрольна група ($n = 6$) протягом 7 діб отримувала ін'єкції фізіологічного розчину в м'язово в одному проміжку часу (10–11 година ранку).

Усі тварини перебували в умовах віварію. Робота, що стосувалася питань утримання, догляду, маркування, та всі інші маніпуляції виконали, дотримуючись положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [Страсбург, 1985], «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», що ухвалені Першим Національним конгресом з біоетики [Київ, 2001]. Комісія з біоетики

Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького встановила: наукові дослідження відповідають етичним вимогам згідно з наказом МОЗ України № 231 від 01.11.2000 р. (протокол № 10 від 26.12.2011 р.).

Для гістологічного дослідження використали дистальний епіфіз стегнової та проксимальний епіфіз великогомілкової кісток щурів, враховуючи збереження топографічного співвідношення структурних компонентів колінного суглоба. Гістологічні препарати після декальцинації забарвлювали гематоксиліном та еозином, азуром та азаном за Гейденгайном [7]. У зрізах вимірювали товщину покривного синовіального шару суглобового хряща. Дані опрацьовано методом варіаційної статистики.

Результати

У тварин контрольної групи в суглобовому хрящі дистального епіфіза стегнової кістки добре візуалізуються хондроцити всіх зон (рис. 1). У експериментальних щурів після завершення експерименту в порожнині суглоба визначили обривки тканин. Привертає увагу порушення стовпчастої структури суглобового хряща щурів експериментальної групи. На відміну від контрольних щурів, в експериментальних тварин чітку межу між морфофункціональними зонами суглобового хряща не визначили. Хондроцити розподілені нерівномірно. Суглобовий хрящ набуває мозаїчної структури, цитоплазма більшості хондроцитів усіх морфофункціональних зон вакуолізована. У суглобовому хрящі експериментальних тварин виявили ділянки розволокнення покривного синовіального шару суглобового хряща з утворенням на його поверхні неоднорідних заглиблень, які розташовані переважно на периферії суглобової поверхні (рис. 2). Визначили його потоншення порівняно з контрольними тваринами ($12,33 \pm 0,26$ мкм і $16,94 \pm 0,45$ мкм відповідно). Базальна пластинка тонка, переривчаста. Виявлені ділянки руйнування основної речовини покривного синовіального шару суглобового хряща. Спостерігали демаскування колагенових волокон поверхневої зони, внаслідок чого фіксують ділянки розволокнення міжтериторіального матриксу. На відміну від контрольних тварин, у перехідній зоні суглобової капсули експериментальних щурів визначили неупорядковане розташування волокон, котрі вплітаються в кісткову тканину.

В епіфізарному хрящі експериментальних тварин визначили тенденцію до зменшення кількості хондроцитів у зоні проліферації, а також до загального стоншення хряща.

В експериментальних щурів порушується архітектоніка перехідної частини суглобової капсули, що

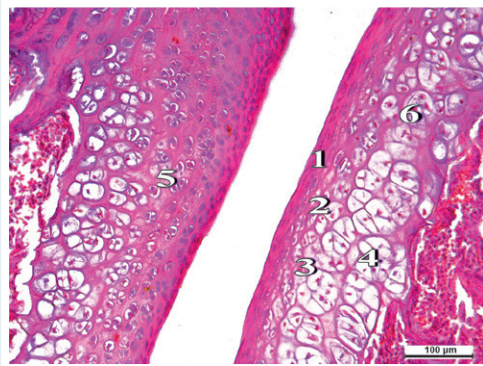


Рис. 1. Порожнина колінного суглоба щура в нормі. 1: поверхнева пластинка суглобового хряща; 2: хондроцити поверхневої зони; 3: хондроцити перехідної зони; 4: хондроцити глибокої зони; 5: суглобовий хрящ наколінника; 6: суглобовий хрящ дистального епіфіза стегнової кістки. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.: $\times 200$.

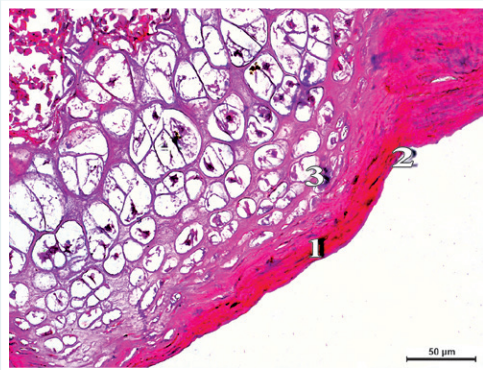


Рис. 2. Суглобовий хрящ дистального епіфіза стегнової кістки щура на 7 добу опіоїдного впливу. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.: $\times 400$.

проявляється потовщенням, звитістю волокон, які влітають в матрикс хряща, деформують його. Визначили збільшення розмірів венозних і лімфатичних судин, поступове потовщення та лімфоцитарну інфільтрацію їхньої стінки. Синовіальний шар суглобової капсули набряклий, виявили осередки лімфоцитарної інфільтрації та сформовані лімфоїдні вузлики. Спостерігали збільшення шаруватості покривного шару синовіального шару та зрощення його з суглобовим хрящем.

Обговорення

Публікації останніх років свідчать про неоднозначність впливу препаратів опіоїдної групи на клітинному, тканинному та органному рівнях [8–12]. Але серед джерел вітчизняної та зарубіжної фахової літератури майже не виявили робіт, що висвітлюють вплив препаратів опіоїдної групи на структурну дестабілізацію клітинних шарів хрящового покриття колінного суглоба. Встановлено, що в експериментальних щурів визначається порушення цілісності покривного синовіального шару суглобового хряща. Це призводить до деструкції матриксу й базальної пластинки покривного синовіального шару, що, своєю чергою, відкриває доступ синовіальній рідині до хондроцитів суглобового хряща. Спостерігали розволокнення та стоншення покривного синовіального шару суглобового хряща, його інфільтрація лімфоцитами. Потовщення стінки венозних і лімфатичних судин суглобової капсули призводить до розвитку тканинної гіпоксії капсули, її набряку внаслідок порушення відтоку. Збільшення рівня гіпоксії призводить до активації ендотеліального судинного фактора росту, що ще більше посилює

процес деструкції [14]. Отримані дані щодо морфологічних змін тканин колінного суглоба на тлі тривалого впливу опіатів збігаються з результатами, які отримали під час вивчення реактивності колінного суглоба при експериментальному остеоартрозі [15]. Структурні зміни епіфізарного хряща експериментальних тварин відповідають даним, що отримані М. Ezzatabadipour et al. (2011), який описував потоншення епіфізарного хряща статевозрілих щурів після тривалого введення морфіну [13]. В результаті опіоїдного впливу виникали деструктивно-дегенеративні зміни суглобового хряща, що супроводжувались появою узур і початком формування фіброзного паннуса. Морфологічні зміни структур колінного суглоба, ймовірно, пов'язані зі зменшенням рівня тестостерону [13]. Описано, що в хондроцитах і синовіоцитах відбувається експресія рецепторів до опіатів [16], що може обґрунтувати можливість прямого токсичного впливу опіатів на суглобовий хрящ.

Отже, патоморфологічні зміни у тканинах різних органів при впливі опіоїдного анальгетика, як відзначено в результатах названих досліджень, мають мозаїчні прояви різної інтенсивності. Саме це зумовило актуальність здійснення експериментального дослідження патоморфологічних проявів опіоїдного впливу на порушення стратифікації клітинних елементів у шарах хрящового покриття колінного суглоба.

Висновки

1. Встановлено, що в експериментальних тварин після дії опіатів порушується архітектоніка суглобового хряща, відбувається потоншення покривного синовіального шару суглобового хряща порівняно з контрольними тваринами ($12,33 \pm 0,26$ мкм та $16,94 \pm 0,45$ мкм відповідно).

2. В епіфізарному хрящі експериментальних тварин спостерігали тенденцію до зменшення кількості хондроцитів у зоні проліферації, а також до загального стоншення хряща.

Перспективи подальших досліджень. Встановлені морфологічні зміни колінного суглоба після експериментального опіоїдного впливу можуть бути морфологічним підґрунтям для вивчення надалі проявів опіоїдної хондропатії в динаміці перебігу експериментальної опіоїдної інтоксикації.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про автора:

Войценко К. І., аспірант каф. нормальної анатомії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.

Сведения об авторе:

Войценко К. И., аспирант каф. нормальной анатомии, Львовский медицинский университет имени Даниила Галицкого, Украина.

Information about author:

Voitsenko K. I., Postgraduate Student of the Department of Normal Anatomy, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 26.09.2018

Після доопрацювання / Revised: 11.10.2018

Прийнято до друку / Accepted: 31.10.2018

Список літератури

- [1] Дудіна О.О. Ситуаційний аналіз стану здоров'я дитячого населення / О.О. Дудіна, А.В. Терещенков // Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. – 2014. – №2. – С. 49–57.
- [2] Роль серцево-судинної системи в танатогенезі у опійних наркоманов другої стадії / А.П. Адрашкин, И.В. Саломатин, Б.Ф. Мурашов и др. – М., 2003. – С. 18.
- [3] Раецька Л.В. Тенденції поширення наркоманії в Україні / Л.В. Раецька // Боротьба з організованою злочинністю і корупцією (теорія і практика). – 2008. – №18. – С. 67–76.
- [4] Dynamics of the onset of pathological changes in the retinal layers at the end of the first week of opioid exposure / Y. Paltov, Y. Kryvko, V. Fik, et al. // Deutscher Wissenschaftsherald. German Science Herald. – 2016. – №2. – P. 30–33.
- [5] Pathomorphological manifestations in the retina layers during one – week of opioid analgesic exposure / Y. Paltov, Y. Kryvko, V. Fik, et al. // Natural Science Readings abstracts booc (May 19 – 22, 2016, Bratislava). – Bratislava, 2016. – P. 25–27.
- [6] Декларацийний патент України на винахід №76564 2013 / Р. Онисько, С. Пальтов, В. Фік та ін.
- [7] Ромейс Б. Микроскопическая техника / Б. Ромейс. – М.: Медицина, 1953. – С. 71–72.
- [8] Бекесевич А.М. Особливості структурної організації ланок гемомікроциркуляторного русла кори мозочка щура за умов 2- та 4-тижневого введення опію / А.М. Бекесевич // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2016. – Т. 15. – №1. – С. 24–27.
- [9] Макар Б.Г. Морфологічні особливості мозочка білого щура в нормі та за умов двотижневого введення опію / Б.Г. Макар, А.М. Бекесевич // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина». – 2015. – Вип. 2(52). – С. 20–23.
- [10] Особливості будови міокарду та його судинного русла у білих щурів на ранніх термінах (7 – 14 доби) перебігу експериментальної опіоїдної інтоксикації / П.Б. Покотило, М.В. Логаш, В.Ю. Покотило, Ю.Я. Кривко // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т. 22. – №3(2). – С. 50–53.
- [11] Кривко Ю.Я. Мікроструктурні зміни стінок ободової кишки за умов тривалого впливу опію в експерименті / Ю.Я. Кривко, Н.І. Гресько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2017. – Т. 16. – №1. – С. 111–114.
- [12] Зінько А.В. Мікроструктурна організація мозолистого тіла кінцевого мозку за умов впливу опію в експерименті / А.В. Зінько, Г.Я. Костюк // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Вип. 2. – Т. 2(129). – С. 117–120.
- [13] The Effects of Morphine on Tissue Structure of the Growth Plate in Male Rats / M. Ezzatabadipour, M. Majidi, R. Malekpour-afshar, et al. // Iran J Basic Med Sci. – 2011. – Vol. 14. – Issue 6. – P. 514–520.
- [14] Zelzer E. VEGFA is necessary for chondrocyte survival during bone development / E. Zelzer, R. Mamluk, N. Ferrara // Development. – 2004. – Vol. 131. – Issue 9. – P. 2161–2171.
- [15] Григорьева Е.А. Лектингистохимические особенности суставного хряща крыс с моделированным остеоартрозом / Е.А. Григорьева, Н.А. волошин // Украинський морфологічний альманах. – 2010. – Т. 8. – №2. – С. 40–43.
- [16] Böhm M. Role of Proopiomelanocortin-Derived Peptides and Their Receptors in the Osteoarticular System: From Basic to Translational Research / M. Böhm, S. Grässel // Endocr Rev. – 2012. – Vol. 33. – Issue 4. – P. 623–651.
- [5] Paltov, Y., Kryvko, Y., Fik, V., Vilkhova, I., Ivasivka, Kh., Pankiv, M., & Voitsenko, K. (2016) Pathomorphological manifestation sin the retinal ayersduringone – week of opioid analgesic exposure. *Natural Science Readings abstracts booc*, (P. 25–27). Bratislava.
- [6] Onysko, R., Paltov, Y., Fik, V., Vilkhova, I., Kryvko, Y., Yakimiv, N., & Fitkalo, O. Deklaratsiyni patent Ukrainy na vynakhid №76564 2013. [in Ukrainian].
- [7] Romejs, B. (1953) *Mikroskopicheskaya tekhnika [Microscopic technique]*. Moscow: Medicina. [in Russian].
- [8] Bekesevych, A. M. (2016) Osoblyvosti strukturnoi orhanizatsii lanok hemomikrotsyrkuliatornoho rusla kory mozochka shchura za umov 2- ta 4-tyzhnevoho vvedennia opioidu [Structural organization features of hemomicrocirculation links in the cerebellar cortex of rats under conditions of 2- and 4-week injection of opioids]. *Klinichna anatomia ta operatyvna khirurgiia*, 15(1), 24–27. [in Ukrainian].
- [9] Makar, B. H., & Bekesevych, A. M. (2015) Morfolohichni osoblyvosti mozochka biloho shchura v normi ta za umov dvoityzhnevoho vvedennia opioidu [Morphological features of the white rat's cerebellum in norm and under the influence of opioid during 2 weeks]. *Naukoviy visnyk Uzhhorodskoho universytetu. Seria «Medytsyna»*, 2(52), 20–23. [in Ukrainian].
- [10] Pokotylo, P. B., Logash, M. V., Pokotylo, V. Yu., & Kryvko, Y. Ya. (2015) Osoblyvosti budovy miokardu ta yoho sudynnoho rusla u bilykh shchuriv na rannikh terminakh (7 – 14 doby) perebihu eksperymentalnoi opioidnoi intoksykatsii [Features of the Structure of the Myocardium and its Vascular Bed in Albino Rats within the Early Period (7–14 Days) of Experimental Opioid Intoxication]. *Halytskyi likarskyi visnyk*, 22, 3(2), 50–53. [in Ukrainian].
- [11] Kryvko, Yu. Ya., & Hresko, N. I. (2017) Mikrostrukturni zminy stinok obodovoi kyshky za umov tryvaloho vplyvu opioidu v eksperynti [Microstructural changes of the colon wall under prolonged opioids exposure in experiment]. *Klinichna anatomia ta operatyvna khirurgiia*, 16(1), 111–114. [in Ukrainian]. doi: 10.24061/1727-0847.16.1.2017.24.
- [12] Zinko, A. V., & Kostyuk, G. Y. (2016) Mikrostrukturna orhanizatsiia mozolystoho tila kintsevoho mozku za umov vplyvu opioidu v eksperynti [Microstructural organiyation of the corpus callosum of the forebrain under the influence of opioid in experiment]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, 2, 2(129), 117–120. [in Ukrainian].
- [13] Ezzatabadipour, M., Majidi, M., Malekpour-afshar, R., Eftekhavaghefi, S. H., & Nematollahi-mahani, S. N. (2011) The Effects of Morphine on Tissue Structure of the Growth Plate in Male Rats. *Iran J Basic Med Sci.*, 14(6), 514–520. doi: 10.22038/IJBMS.2011.5050.
- [14] Zelzer, E., Mamluk, R., Ferrara, N., Johnson, R. S., Schipani, E., & Olsen, B. R. (2004) VEGFA is necessary for chondrocyte survival during bone development. *Development*, 131(9), 2161–2171. doi: 10.1242/dev.01053.
- [15] Grygoryeva, E. A., & Voloshyn, M. A. (2010) Lektynghistokhimicheskie osobennosti sustavnogo hryashha krysa s modelirovannym osteoartrrozom [Lectinohistochemical peculiarities of osteoarthritis articular cartilage in rats]. *Ukrainskyi morfologichnyi almanakh*, 8(2), 40–43. [in Russian].
- [16] Böhm, M., & Grässel S. (2012) Role of Proopiomelanocortin-Derived Peptides and Their Receptors in the Osteoarticular System: From Basic to Translational Research. *Endocr Rev*, 33(4), 623–651. doi: 10.1210/er.2011-1016].

References

- [1] Dudina, O. O., & Tereshchenko, A. V. (2014) Sytuatsiyni analiz stanu zdorovia dytyachoho naselennia [Situational analysis of children's population health state]. *Visnyk sotsialnoi hihieny ta orhanizatsii okhorony zdorovia Ukrainy*, 2, 49–57. [in Ukrainian].
- [2] Adrashkin, A. P., Salomatyn, I. V., Murashov, B. F., et al. (2003) *Rol' serdechno-sosudistoy sistemy v tanatogeneze u opijnykh narkomanov vtoroy stadii [The role of the cardiovascular system in the ontogenesis of opiate addicts of the second stage]*. Moscow. [in Russian].
- [3] Raietska, L. V. (2008) Tendentsii poshyrennia narkomanii v Ukraini [Trends in the spread of drug addiction in Ukraine]. *Borotba z orhanizovanoi zlochynnisti i koruptsiiei (teoriia i praktyka)*, 18, 67–76. [in Ukrainian].
- [4] Paltov, Y. V., Kryvko, Y. Y., Fik, V. B., Vilkhova, I. V., Ivasivka, Kh. P., Pankiv, M. V., & Voitsenko, K. I. (2016) Dynamics of the onset of pathological changes in the retina layers at the end of the first week of opioid exposure. *Deutscher Wissenschaftsherald. German Science Herald*, 2, 30–33.

Право на евтаназію: за чи проти?

Р. О. Стефанчук¹, А. О. Янчук², М. М. Стефанчук³, М. О. Стефанчук⁴, Н. Є. Блажівська⁵

¹Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна, ²Міністерство охорони здоров'я України, м. Київ, ³ДВНЗ «Київський національний економічний університет імені Вадима Гетьмана», Україна, ⁴Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна, ⁵Вищий адміністративний суд України, м. Київ

Ключові слова:

евтаназія,
право на смерть,
правовий статус.

Патологія. – 2018. –
Т. 15, № 3(44). –
С. 390–395

DOI:
10.14739/2310-1237.
2018.3.151873

Мета роботи – на підставі аналізу світового досвіду визначити доцільність запровадження евтаназії в Україні.

Евтаназія – найбільш суперечлива та неоднозначна тема наукових досліджень, що перебуває на межі медицини та права. Під поняттям евтаназії розуміють вид поведінки медичного працівника (дія, бездіяльність чи рішення), який вчиняється свідомо та умисно, а також спрямований на припинення нестерпних страждань (фізичного, психічного, морального характеру тощо), здійснюється за неодноразовим та однозначним проханням пацієнта (а у випадках, що передбачені законом, його законного представника), за умови його повної, своєчасної та об'єктивної інформованості про наслідки такого втручання, що має результатом смерть.

У світі немає єдиного підходу до питань легалізації евтаназії. Нині формується тенденція щодо легалізації пасивної евтаназії у правових порядках окремих економічно розвинутих країн. Однак цьому передувала серйозна суспільна полеміка з найширшим залученням до неї крім юристів представників медицини, біоетики, філософії, соціології, інших наук.

Попри сформовані тренди, евтаназія в жодному своєму прояві, формі не може вважатись достатньою правовою підставою для позбавлення людини життя та відповідного припинення її права на життя. Пріоритетним напрямом розвитку повинна бути не легалізація евтаназії, а розвиток паліативної допомоги, котра має на меті усунення болю та всебічну підтримку пацієнтів, членів їхніх сімей, а також інших осіб.

Ключевые слова:

эвтаназия,
право на смерть,
правовой статус.

Патология. – 2018. –
Т. 15, № 3(44). –
С. 390–395

Право на евтаназію: за или против?

Р. А. Стефанчук, А. А. Янчук, М. Н. Стефанчук, Н. А. Стефанчук, Н. Е. Блаживская

Цель работы – на основании анализа мирового опыта определить целесообразность введения эвтаназии в Украине.

Эвтаназия – наиболее спорная и неоднозначная тема научных исследований, которая стоит на грани медицины и права. Под понятием эвтаназии понимают вид поведения медицинского работника (действие, бездействие или решение), который совершается сознательно и умышленно, а также направлен на прекращение невыносимых страданий (физического, психического, нравственного и иного характера), осуществляется по неоднократной и однозначной просьбе пациента (а в случаях, предусмотренных законом, его законного представителя), при условии его полной, своевременной и объективной информированности о последствиях такого вмешательства, которое в результате приводит к смерти.

В мире нет единого подхода к вопросам легализации эвтаназии. Сегодня формируется тенденция легализации пассивной эвтаназии в правовых порядках отдельных экономически развитых стран. Однако этому предшествовала серьезная общественная полемика с наиболее широким привлечением к ней кроме юристов представителей медицины, биоэтики, философии, социологии и иных наук.

Несмотря на сложившиеся тренды, эвтаназия ни в одном из своих проявлений и форм не может считаться достаточным основанием для лишения человека жизни и соответствующего прекращения его права на жизнь. Приоритетным направлением развития должна быть не легализация эвтаназии, а развитие паллиативной помощи, которая имеет целью устранение боли и всестороннюю поддержку пациентов, членов их семей, а также иных лиц.

Key words:

euthanasia,
right to die,
legal status.

Pathologia
2018; 15 (3), 390–395

The right to euthanasia: for or against?

R. O. Stefanchuk, A. O. Yanchuk, M. M. Stefanchuk, M. O. Stefanchuk, N. Ye. Blazhivska

The purpose of the research is to determine the feasibility of introducing euthanasia in Ukraine based on the analysis of world experience.

Euthanasia is the most controversial and ambiguous topic of scientific research, which is on the brink of medicine and law. Euthanasia is the type of behavior of the medical officer (action, inaction or decision) committed consciously and intentionally, and also aimed at ending the unbearable suffering (physical, mental, moral and other characters), carried out on a repeated and unambiguous request of the patient (and his legal representative), subject to his complete, timely and objective awareness of the consequences of such interference resulting from the death of the patient.

In the world there is no single approach to the issues of legalization of euthanasia. Today, the tendency towards legalization of passive euthanasia in the legal order of some economically developed countries is developing. However, this was preceded by a serious social controversy on this issue with the widest possible involvement of it, in the law, medicine, bioethics, philosophy, sociology and other sciences.

However, in spite of the established trends, euthanasia in none of its forms can be considered as a sufficient legal basis for depriving a person of his life and the corresponding termination of his right to life. The priority direction of development should be not the legalization of euthanasia, but the development of palliative care, which aims to eliminate pain and provide comprehensive support to patients, members of their families, and others.

Серед усіх можливих підстав, які претендують на визнання їх достатніми в контексті припинення права фізичної особи на життя, першість серед наукових досліджень у цій сфері належить евтаназії. Етимологія поняття «евтаназія» («евтаназія», «евтанасія», «ейтаназія») – від давньогрецьких слів «хороший» («ευ») і «смерть» («thanatos»), що разом може тлумачитись як «хороша смерть».

Перше використання цього терміну зафіксоване в XVI сторіччі англійським філософом Френсісом Беконем, який, досліджуючи це питання у праці «Про гідність та примноження наук» («Advancement of Learning»), відзначав, що обов'язком лікаря є не тільки відновлення здоров'я, але й полегшення страждань і мук, спричинених хворобою. Але таке полегшення болю має відбуватися не тільки в разі, коли воно призводить до одужання, але й коли сподівання на порятунок немає. У цьому разі, як відзначав вчений, потрібно зробити саму смерть легкою та умиротвореною, і з огляду на це евтаназія вже є щастям [1].

Поняття евтаназії полісемантичне, гармонійно поєднує медичний, біологічний, релігійний, правовий, морально-етичний та інші аспекти. Безумовно, підвищений інтерес до питання евтаназії можна пояснити стрімким прогресом у розвитку технологій і медицини, запровадженням робототехніки, методик життєзабезпечення тощо.

Аналізуючи усі «плюси» та «мінуси» наведених визначень, можемо виділити основні характерні риси поняття «евтаназія». По-перше, поняттям має бути охоплена певна діяльність. Під поняттям діяльності розуміємо поведінку у формі як активних дій, так і пасивної бездіяльності. Крім того, діяльність повинна здійснюватися спеціальним суб'єктом – медичним працівником. Розуміння цього суб'єкта є надзвичайно широким, оскільки ним може бути не тільки лікар, але й допоміжний медичний персонал (медична сестра, фельдшер і т. ін.). Ще однією ознакою евтаназії є те, що названа діяльність здійснюється медичним працівником свідомо, тобто у стані, в якому він міг розуміти значення своїх дій (інтелектуальний аспект) і керувати ними (вольовий аспект), а також умисно, тобто коли він передбачає її наслідки, а також бажає їх настання. Найважливішою ознакою, що характеризує цей вид діяльності, є те, що евтаназія спричиняє смерть пацієнта.

Крім ознак цієї діяльності треба виділяти певні умови:

1) в особи, яка підлягає евтаназії, має бути діагностована невеличкова хвороба;

2) ця хвороба повинна завдавати особі нестерпні страждання (фізичного, психічного, морального характеру тощо);

3) прохання щодо евтаназії повинне базуватися на проханні пацієнта, що є усвідомленим і таким, що має однозначне розуміння, а у випадках, котрі передбачені законом, – на такому самому проханні його законного представника;

4) діяльність медичних працівників щодо евтаназії має спрямовуватися тільки на припинення страждань пацієнта;

5) пацієнт, а у випадках, що передбачені законом, його законний представник, мають бути в повному обсязі, об'єктивно та своєчасно повідомлені про незворотність наслідків такої діяльності.

Враховуючи усе наведене, вважаємо, що під поняттям «евтаназії» слід розуміти вид поведінки медичного працівника (дія, бездіяльність чи рішення), який вчиняється свідомо та умисно, а також спрямований на припинення нестерпних страждань (фізичного, психічного, морального характеру тощо), здійснюється за неодноразовим та однозначним проханням пацієнта (а у випадках, що передбачені законом, його законного представника), за умови його повної, своєчасної та об'єктивної інформованості про наслідки такого втручання, що має результатом смерть.

Важливе значення для розуміння сутності евтаназії має її класифікація. Так, відповідно до характеру поведінки, що вчиняється медичним працівником, розрізняють активну та пасивну евтаназію.

Під поняттям активної евтаназії слід розуміти вчинення медичним працівником певної системи активних дій, зокрема введення лікарських засобів, що пришвидшують настання смерті. Цей різновид евтаназії має підвиди: вбивство з милосердя (коли лікар через медичні маніпуляції вводить понаднормову дозу, що призводить до смерті); асистоване лікарем самогубство (коли роль лікаря зводиться тільки до допомоги хворій людині покінчити з життям); власне, активна евтаназія (може відбуватись як за допомогою лікаря, так і без такої, у випадку, коли пацієнт сам включає пристрій, який спричиняє швидку та безболісну смерть).

Поняття пасивної евтаназії охоплює процедуру неактивної поведінки, що передбачає незастосування чи відмову від застосування, невиконання належних медичних маніпуляцій, котрі спрямовані на підтримання життя особи, яка піддається евтаназії.

Такий поділ евтаназії на активний і пасивний види дає підстави окремим науковцям вважати, що тільки активна евтаназія може бути розцінена як повноцінна, а пасивну евтаназію взагалі не можна розглядати як різновид евтаназії, оскільки за спрямованістю такі дії медичного працівника не мають прямого умислу умертвити невеличкову хвору особу, а тільки позбавити її від страждань [2].

Додаткові аргументи про те, що пасивну евтаназію не можна вважати різновидом евтаназії, все частіше висловлюють у зарубіжній, передусім польській науковій літературі. Так, науковці наголошують: «... у разі, коли йдеться про медичне втручання, що є безпосереднім і цілеспрямовано викликає смерть хворого, то це слід вважати евтаназією в повному розумінні значення цього слова. ... якщо воно не має на меті умисного зупинення лікування, що може мати наслідком смерть пацієнта, а лише призупинення процесу, що продовжував агонію,

то це не є евтаназією» [3]. Негативне ставлення до пасивної евтаназії висловлював і Т. Бжезінський, який зазначав: «Пасивна евтаназія – це необґрунтоване припинення лікування з метою прискорення смерті, що має за мотив співчуття до особи, яка страждає» [4].

Окремо в фаховій літературі класифікують евтаназію залежно від мотивації професійних рішень лікаря – пряма та непряма. Як пряму слід розуміти евтаназію, коли основною метою діяльності медичного працівника є вкоротити життя особи. Поняття непряма евтаназія визначає таку діяльність медичного працівника, коли смерть хворого є побічним наслідком [5].

Розглянувши основні питання щодо сутності евтаназії, необхідно показати становлення та генезис філософсько-правових поглядів на це явище, а також дати відповідь на можливість легального закріплення евтаназії в Україні на підставі компаративістського дослідження законодавства зарубіжних країн і практики його застосування.

Мета роботи

На підставі аналізу світового досвіду визначити доцільність запровадження евтаназії в Україні.

Сучасна переоцінка суспільних цінностей і пріоритетів змушує переосмислити питання співвідношення життя та смерті, а також місця людини та її внутрішніх духовних благ у системі соціальних цінностей. Внаслідок таких змін майже в усіх європейських країнах домінує філософія непорушності прав та основних свобод людини, а також недоторканості її життя. Однак, проаналізувавши висловлені в сучасній науковій літературі думки, робимо висновок, що остаточно позиція щодо евтаназії не сформована.

У зв'язку із цим, наведемо основні аргументи прихильників і противників легітимного закріплення евтаназії. Нині питома вага прихильників активної форми евтаназії є незначною. Найбільш серйозними варто вважати аргументи, якими оперують прихильники пасивної евтаназії. До таких аргументів належать:

1) мета застосування евтаназії гуманна, оскільки дає можливість допомогти невиліковно хворій людині звільнитися від страждань і гідно піти з життя;

2) евтаназія об'єктивно є в суспільстві, незалежно від того, чи передбачена вона законом, чи ні, і тому наявність спеціального закону дасть можливість державі взяти під контроль цей процес;

3) відмова невиліковно хворій людині в застосуванні евтаназії спричиняє для неї нестерпні страждання, що можна розглядати як застосування до людини тортури, насилля, жорсткого та такого, що принижує людську гідність, поводження;

4) евтаназія за своєю сутністю є іншою стороною права на життя та зводиться до можливості розпоряджатися цим правом на власний розсуд;

5) легалізація евтаназії дасть можливість гарантувати та закріпити юридичні можливості пацієнта щодо заповіту та інших посмертних розпоряджень.

Як заявляють окремі прихильники легалізації евтаназії, вона можлива, але за певних обставин. Ці обставини повинні зводитись до:

– матеріальних передумов (наявність хвороби; тривалість застосування методів і засобів лікування; невідворотність летального кінця; наявність моральних і фізичних страждань, котрі пацієнт оцінює як нестерпні, незважаючи на обрані методи та засоби лікування; відсутність ефективних засобів для полегшення страждань; наявність усвідомленого, інформованого та добровільного прохання хворого про евтаназію, якщо він перебуває у стані притомності);

– процесуальних гарантій (сприяють процесуально-процедурному захисту прав хворого та включають експертизу його психологічного стану; консультацію з незалежним експертом; процедуру надання згоди; процедуру сповіщення близьких родичів; санкціонування евтаназії судом тощо).

Аналіз світової практики легалізації евтаназії свідчить: першими її узаконили на державному рівні Нідерланди [6]. Саме там 02.04.2002 року ухвалено закон «Про припинення життя за бажанням чи допомогу в самогубстві».

Коли ж звернутись до історії, слід зазначити, що перший випадок евтаназії зареєстрований у Нідерландах у 1908 р. За історичними фактами, один чоловік був засуджений за спробу вбивства своєї приятельки, яка, за його свідченнями, просила його про це. Першою широко відомою справою щодо евтаназії, яка була здійснена медиком під час виконання своїх службових обов'язків, стало засудження в березні 1952 р. лікаря, який дав своєму брату, який хворів на туберкульоз, на його прохання смертельну дозу ліків. Суд засудив його за вбивство на прохання згідно зі ст. 293 Кримінального кодексу Нідерландів, винісши умовний вирок на 1 рік [7]. Цей випадок щодо евтаназії став прецедентом, відповідно до якого надалі вважали, що евтаназія є не частиною звичайної медичної практики, а радше кримінально каранним діянням.

Ситуація змінилась у березні 1967 р. після смерті, що викликана відключенням респіратору, Мії Верслуйс (Mia Versluis), яка перебувала у стані сну з повільним процесом відмирання кори головного мозку. В цей час з'явилася одна з перших умов легальності евтаназії – необхідності консультації з іншим лікарем під час ухвалення рішення щодо відключення від апаратури, що підтримує життя [8].

Наступні роки й чергові судові процеси щодо лікарів, обвинувачуваних у здійсненні евтаназії, ставили нові умови, за якими позбавлення пацієнта життя переставало бути кримінально переслідуваним. Так, медичний інспектор, виступаючи в суді під час розгляду справи, в якій була обвинувачена лікарка, котра подала своїй паралізованій матері смертельну дозу морфіну на її прохання, ствердив, що будь-який нідерландський лікар погодиться з думкою про відсутність необхідності підтримування життя пацієнта, якщо він сам більше не хоче страждати та благає про смерть. Він також уперше назвав умови, що виключають кримінальну караність евтаназії: невиліковна хвороба пацієнта, який сприймає свій біль як фізично або психічно незносний і бажає настання смерті; в медичному аспекті – пацієнт перебуває в «піковій» фазі своєї хвороби, і лікар тільки реалізує його прохання [9].

Саме ці критерії заклали підвалини умов, що затверджені в 1984 р. Королівською асоціацією лікарів, як такі, що дають можливість уникнути кримінальної відповідальності за вбивство. До них належали добровільне, добре обдумане, багаторазово повторюване пацієнтом прохання про евтаназію, який не може терпіти свого страждання, а також можливість схвалення евтаназії тільки за умови ухвалення рішення лікарями колегіально [7]. Ці ж умови склали основу названого законопроекту.

Наступною країною, де законодавчо закріплена евтаназія, стала Бельгія, де 23.09.2002 р. ухвалено закон «Про евтаназію» (Bill on Euthanasia), за яким була легалізована й евтаназія, і допомога в самогубстві. Умови, за яких ці діяння виключали з кримінально караних, майже збігаються з тими, що проголошені в нідерландському законі. Відповідно до цього закону, право на евтаназію мають особи, які досягли вісімнадцятирічного віку. У випадку, коли пацієнт не в змозі висловити своє прохання, то за його вибором прохання про евтаназію може бути здійснене іншою особою, яка досягла повноліття. В решті своїх процедур бельгійська процедура здійснення евтаназії тотожна тій, що передбачена в законодавстві Нідерландів.

Третя країна Європейського Союзу, де легалізувано евтаназію, – Люксембург, в якому на законодавчому рівні визнано право на смерть.

Доволі цікава в контексті легалізації евтаназії є практика США. Так, у законодавстві майже усіх штатів евтаназія та самогубство з допомогою мають характер кримінально караних діянь. Слід мати на увазі, що завдяки прецедентному праву вперше рішення, яке визнало законність евтаназії, ухвалено у 1976 р. Верховним Судом одного з штатів (Нью-Джерсі). Так, під час розгляду справи *In re Quinlan* суд ухвалив: лікар, зважаючи на те, що він не мав іншої можливості, мав право зупинити підтримання життя, якщо це рішення було схвалено етичною комісією [10].

Однак активну евтаназію, американське право розглядає як вбивство (homicide). Відзначають, що захист не може ґрунтуватися на тому, що вбивство базується на мотиві жалості. Штат Орегон (Oregon) став першим американським штатом, що легалізував пасивну евтаназію як допомогу в самогубстві. Парламент цього штату в 1994 р. ухвалив *Oregon Death with Dignity Act* (закон «Про гідну смерть»). За цим законом, жителі штату Орегон, які здатні розуміти значення своїх дій, а також керувати ними, і якщо вони є невиліковно хворими, мають право, двічі письмово звернувшись за наданням їм смертельних засобів, просити про допомогу в самогубстві. Лікар, який провадить таку операцію, повинен мати чинну ліцензію на медичну практику в цьому штаті та колегіально з іншим лікарем, враховуючи діагноз хворого, спільно дійти до висновку про можливість пацієнта свідомо ухвалити таке рішення.

Слід наголосити: прецеденти щодо узаконення евтаназії мають місце і в інших штатах. Наприклад, розглядаючи справу «*Cruzan by Cruzan v. Director, Missouri Department of Health...*» Верховний Суд США визнав конституційність пасивної евтаназії, яка регламентована у статуті штату Міссурі (Missouri). Ще одним

прикладом є ухвалення *Right to Die Bill* (закон «Про право людини на смерть») парламентом штату Каліфорнія (California). Відповідно до положень цього акта, особи, які є невиліковно хворими, мають право документально засвідчити своє бажання на відключення від апаратів, що здійснюють реанімаційні процедури.

Аналіз світового законодавства дає можливість назвати ще низку країн, які не визнають за евтаназією характер кримінально караного діяння: ФРН, Фінляндія, Швейцарія, Швеція (пасивна евтаназія не є злочином), Колумбія (закріплено право на умовну пасивну евтаназію), Японія (закріплена спеціальна процедура здійснення пасивної евтаназії) тощо. Окремо слід наголосити, що перші кроки до легалізації пасивної евтаназії зробили парламентарі Франції, Індії та інших країн, в яких розроблені та схвалені відповідні законопроекти.

Щодо України відзначимо, що на законодавчому рівні були певні спроби узаконення пасивної евтаназії. Так, при підготовці однієї з перших редакцій Цивільного кодексу України пропонували закріпити пасивну форму евтаназії. Але така пропозиція не була прийнята парламентарями, і в кінцевій редакції ч. 4 ст. 281 ЦК України зазначено, що в Україні заборонено задовольняти прохання фізичної особи припинити її життя. Таке формулювання свідчить, що Україна залишила себе серед країн, які на законодавчому рівні заборонили будь-які спроби евтаназії. Чіткіше така заборона окреслена в Основах законодавства України про охорону здоров'я, в ст. 52 яких зазначено: медичним працівникам забороняється здійснення евтаназії в будь-якій формі.

Позиції щодо неприпустимості легалізації евтаназії дотримується Європейський суд із прав людини. Цю позицію постульовано в рішенні у справі «*Претті проти Сполученого Королівства*» (*Pretty vs UK*). У своїй заяві жителя Сполученого Королівства, яка страждала на прогресуючі нейрогенеративні ураження рухових відділів центральної нервової системи, що призвело до паралізації рук, ніг і м'язів, які відповідають за процес дихання, просила суд надати імунітет від кримінального переслідування її чоловіку, який мав надати їй допомогу у здійсненні самогубства, що переслідується англійським правом, оскільки її стан паралічу не давав можливості здійснити таке самогубство самостійно. Заявниця висунула доводи, наче така допомога в самогубстві не суперечить ст. 2 ЄКЗПЛ, а захищає не тільки право на життя, але і право обирати продовжувати життя, чи ні. Суд наголосив, що у справах, які стосувалися права на життя, він робив акцент саме на обов'язку держави захищати життя. У зв'язку з цим, ст. 2 ЄКЗПЛ не може тлумачитись як така, що передбачає право на смерть, яке є діаметрально протилежним праву на життя. Отже, ЄСПЛ не визнав евтаназію невіддільним правом людини розпоряджатись своїм життям.

Розглядаючи проблему легітимації евтаназії, необхідно зупинитися на необхідності відмежування права на евтаназію від права пацієнта відмовитися від лікування чи будь-якого іншого медичного втручання (ч. 4 ст. 284 ЦК України, ст. 43 Основ законодавства України про охорону здоров'я тощо). Аналізуючи ці

норми, окремі автори відзначають: легітимована можливість відмовитися від лікування на будь-якій стадії є першою основною для здійснення пасивної евтаназії [11]. На нашу думку, ці поняття є близькими, однак не тотожними. Річ у тім, що відмова пацієнта від лікування за змістом не спрямована на припинення власного життя. Акцент у цьому випадку ставиться здебільшого на небажанні людини отримувати медичне втручання взагалі, що зумовлюється іншими чинниками. Не можемо також погодитися з думкою, що, відмовляючись від лікування, людина здійснює своє право розпоряджатися власним життям, оскільки цим повноваженням, як і правом на смерть, людина законодавчо не наділена. Також слід звернути увагу, що, відповідно до положень Венеціанської декларації про термінальний стан (World Medical Association Declaration on Terminal Illness, adopted by the 35th World Medical Assembly Venice, Italy, October 1983 and Revised by the WMA General Assembly, Pilanesberg, South Africa, October 2006), навіть у випадку відмови від лікування лікар зобов'язаний здійснювати паліативне лікування, тобто призначити пацієнту, який помирає, ліки, що полегшують страждання, для відстрочення смерті.

Про відмінність евтаназії від права на відмову в лікуванні йдеться і в Декларації про евтаназію, що була ухвалена в 1987 р. на 39 з'їзді Всесвітньої Медичної Асамблеї (Мадрид, Іспанія). Там наголошується, що «... евтаназія, як акт умисного позбавлення життя пацієнта, навіть на прохання самого пацієнта чи на підставі звернення з подібним проханням його близьких, не етична. Це не виключає необхідність шанобливого ставлення лікаря до бажання хворого не перешкоджати перебігу природного процесу помирання в термінальній фазі захворювання».

Висновки

1. Нині евтаназію в жодному прояві та формі не можна вважати достатньою правовою підставою для позбавлення людини життя та відповідного припинення її права на життя. Це зумовлено насамперед філософськими, етичними, релігійними, медичними, правовими та іншими світоглядними позиціями, що домінують. Як зазначають у фаховій літературі: «Евтаназія, яка буде одного разу легалізована, матиме за результат вбивство людини, яка навіть і не хотіла б помирати» [12]. Необхідно наголосити, що попри негативне загальноєвропейське ставлення до евтаназії, є чітка тенденція до легалізації пасивної евтаназії у правових порядках окремих економічно розвинутих країн. Зважаючи на це, варто зауважити, що у випадку, коли правова система України «визріє» до легалізації евтаназії, цьому повинна передувати серйозна суспільна полеміка щодо цього питання із якомога ширшим залученням крім юристів представників медицини, біоетики, філософії, соціології та інших наук.

2. Основну увагу слід сконцентрувати на підставах та умовах здійснення пасивної евтаназії, що унеможливило б зловживання нею та сприяло б зменшенню випадків звернення за цією процедурою. Радше погоджуємося з позицією, яка висловлена в рекомендаціях Парламентської Асамблеї Ради Європи від 25 червня

1999 р. № 14/8 (1999): пріоритетним напрямом розвитку має бути не легалізація евтаназії. На їхню думку, важливим має стати розвиток паліативної допомоги, що має на меті усунення болю та всебічну підтримку пацієнтів, членів їхніх сімей, а також інших осіб, які доглядають за термінальними хворими та хворими, які помирають.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Стефанчук Р. О., д-р юрид. наук, професор, чл.-кор. Національної академії правових наук України, професор каф. цивільно-правових дисциплін, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

Research ID: M-2450-2018. ORCID ID: 0000-0001-6385-0131

Янчук А. О., д-р юрид. наук, професор, Державний секретар, Міністерство охорони здоров'я України, м. Київ.

Стефанчук М. М., д-р юрид. наук, професор каф. правового регулювання економіки, ДВНЗ «Київський національний економічний університет імені Вадима Гетьмана», Україна.

Research ID: M-7224-2018. ORCID ID: 0000-0002-6239-9091

Стефанчук М. О., канд. юрид. наук, доцент, старший науковий співробітник, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна.

Research ID: Q-1540-2016. ORCID ID: 0000-0002-2983-2770

Блажівська Н. Є., канд. юрид. наук, суддя Вищого адміністративного суду України, м. Київ.

Сведения об авторах:

Стефанчук Р. А., д-р юрид. наук, чл.-кор. Национальной академии правовых наук, профессор каф. гражданско-правовых дисциплин, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Янчук А. А., д-р юрид. наук, профессор, Государственный секретарь, Министерство здравоохранения Украины, г. Киев.

Стефанчук М. Н., д-р юрид. наук, профессор каф. правового регулирования экономики, ГВУЗ «Киевский национальный экономический университет имени Вадима Гетьмана», Украина.

Стефанчук Н. А., канд. юрид. наук, доцент, старший научный сотрудник, Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Украина.

Блажневская Н. Е., канд. юрид. наук, судья Высшего административного суда Украины, г. Киев.

Information about authors:

Stefanchuk R. O., PhD, Doctor of Law, Corresponding Member of the National Academy of Legal Sciences, Professor of the Department of Civil Law Disciplines, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

Yanchuk A. O., PhD, Doctor of Law, Professor, State Secretary of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv.

Stefanchuk M. M., PhD, Doctor of Law, Professor of the Department of Legal Regulation of the Economics, State Higher Educational Establishment «Kyiv National Economic University named after Vadym Hetman», Ukraine.

Stefanchuk M. O., PhD, Associate Professor, Senior Researcher, Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine.

Blazhivska N. Ye., PhD, Judge of the Higher Administrative Court of Ukraine, Kyiv.

Надійшла до редакції / Received: 05.09.2018

Після доопрацювання / Revised: 28.09.2018

Прийнято до друку / Accepted: 08.10.2018

Список літератури

[1] Бэкон Ф. Сочинения : в 2 т. / Ф. Бэкон. – 2-е испр. и доп. изд. – М. : Мысль, 1977. – Т. 1. – 567 с.

- [2] Судо Ж. Эвтаназия [Электронный ресурс] / Ж. Судо. – Режим доступа: <http://euthanasia.at.ua/load/1-1-0-9>.
- [3] Leone S. *Smertelinnie chory* / S. Leone. – Kraków: WAM, 2000. – 108 s.
- [4] Brzeziński T. *Etyka lekarska* / T. Brzeziński. – Warszawa: Lekarskie PZWL, 2012. – 410 s.
- [5] Иванюшкин А.Я. Профессиональная этика в медицине (философские очерки) / А.Я. Иванюшкин. – М.: Медицина, 1990. – 220 с.
- [6] Trends in end-of-life practices before and after the enactment of the euthanasia law in the Netherlands from 1990 to 2010: a repeated cross-sectional survey / B.D. Onwuteaka-Philipsen, A. Brinkman-Stoppelenburg, C. Penning, et al. // *The Lancet*. – 2012. – Vol. 380. – Issue 9845. – P. 908-15.
- [7] Griffiths J. *Euthanasia and Law in the Netherlands* / J. Griffiths, A. Bood, H. Weyers. – Amsterdam: Amsterdam University Press, 1998. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.ssoar.info/ssoar/bitstream/handle/document/31731/ssoar-1998-griffiths_et_al-Euthanasia_and_law_in_the.pdf?sequence=1
- [8] Alfonsa H. *Euthanasie: het proces van rechtsverandering* / H. Alfonsa, M. Weyers. – Datum: Rijksuniversiteit Groningen, 2002. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.researchgate.net/profile/Heleen_Weyers/publication/30480257_Euthanasie_het_proces_van_rechtsverandering/links/5730290d08aee022975b72d6/Euthanasie-het-proces-van-rechtsverandering.pdf
- [9] Славкина Н.А. Эвтаназия: за и против (правовые аспекты) / Н.А. Славкина // *Современные проблемы права и государства: сборник научных трудов молодых ученых и аспирантов*. – М.: Изд-во МГИМО, 1999. – С. 156–157.
- [10] Murphy W.F. *Comparative Constitutional Law: Cases and Commentaries (Hardcover)* / W.F. Murphy, J. Tanenhaus. – N. Y.: Palgrave Macmillan, 1977. – 754 p.
- [11] Соловйов А.В. Право на життя: цивільно-правові аспекти : автореф. дис. ... канд. юрид. наук: 12.00.03 / А.В. Соловйов; Львівський нац. ун-т імені Івана Франка. – Ль., 2005. – 19 с.
- [12] Erimia C.-L. Ethical and Legislative Aspects on the Legislation of Euthanasia from the Patient Rights Perspective / C.-L. Erimia // *Journal of Law and Administrative*. – 2016. – Issue 5. – P. 49–62.

References

- [1] Bacon, F. (1977) *Sochineniya [Works]*. , Vol. 1, Moscow: Mysl'. [In Russian].
- [2] Sudo, Z. (1987) *Evtanaziya [Euthanasia]*. Retrieved from <http://euthanasia.at.ua/load/1-1-0-9>. [In Russian].
- [3] Leone, S. (2000) *Smertelinnie chory*. Cracow: WAM.
- [4] Brzhezinski, T. (2012) *Etyka lekarska*. Warsaw: Lekarskie PZWL.
- [5] Ivanyushkin, A. Ya. (1990) *Professional'naya e'tika v medicine (filosofskie ocherki) [Professional ethics in medicine (philosophical essays)]*. Moscow: Medicina. [In Russian].
- [6] Onwuteaka-Philipsen, B. D., Brinkman-Stoppelenburg, A., Penning, C., de Jong-Krul, G. J., van Delden, J. J., & van der Heide, A. (2012) Trends in end-of-life practices before and after the enactment of the euthanasia law in the Netherlands from 1990 to 2010: a repeated cross-sectional survey. *The Lancet*, 380(9845), 908–15. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61034-4.
- [7] Griffiths, J., Bood, A., & Weyers, H. (1998) *Euthanasia and Law in the Netherlands*. Amsterdam: Amsterdam University Press. Retrieved from https://www.ssoar.info/ssoar/bitstream/handle/document/31731/ssoar-1998-griffiths_et_al-Euthanasia_and_law_in_the.pdf?sequence=1.
- [8] Alfonsa, H., & Weyers, M. (2002) *Euthanasie: het proces van rechtsverandering*. – Datum: Rijksuniversiteit Groningen. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Heleen_Weyers/publication/30480257_Euthanasie_het_proces_van_rechtsverandering/links/5730290d08aee022975b72d6/Euthanasie-het-proces-van-rechtsverandering.pdf.
- [9] Slavakina, N. A. (1999) *E'vtanaziya: za i protiv (pravovye aspekty) [Euthanasia: Pros and Cons (legal aspects)]*. Moscow: MGIMO Publish. [In Russian].
- [10] Murphy, W. F., & Tanenhaus, J. (1977) *Comparative Constitutional Law: Cases and Commentaries (Hardcover)*. N.Y.: Palgrave Macmillan.
- [11] Soloviov, A. V. (2005) *Pravo na zhyttia: tsyvilno-pravovi aspekty [The right to life: civil-law aspects]*. Lviv. [in Ukrainian].
- [12] Erimia, C.-L. (2016) Ethical and Legislative Aspects on the Legislation of Euthanasia from the Patient Rights Perspective. *Journal of Law and Administrative*, 5, 49–62. Retrieved from <http://jolas.ro/wp-content/uploads/2016/05/jolas5a7.pdf>.

Сучасна діагностика гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби: реальні досягнення та перспективи

М. Б. Щербиніна^{A,C-F}, Т. М. Шевченко^{D-F}, В. М. Гладун^{A-D}

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, 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: гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба, шлунково-кишкова ендоскопія, рН-контроль стравоходу, манометрія високої роздільної здатності, акустична міографія.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 396–404

DOI:
10.14739/2310-1237.
2018.3.151877

E-mail:
scherbinina@ua.fm

За сучасними уявленнями, гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу (ГЕРХ) визначають як квазіендогенне захворювання. Визнано, що в основі захворювання є дискоординація моторно-евакуаторної функції верхніх відділів травного тракту, передусім, езофагогастрального переходу як антирефлюксного бар'єра. Зменшення кліренсу стравоходу з часом призводить до зміни структури його слизової оболонки – стравоходу Барретта та раку. З цих позицій для адекватного лікування ГЕРХ необхідне її своєчасне виявлення. Важливе розуміння можливостей сучасних клініко-інструментальних методів діагностики ГЕРХ у повсякденній практиці гастроентерологів.

В огляді наведені висновки Американського та Ліонського консенсусів щодо ГЕРХ. Показано, що критерії визначення ГЕРХ є специфічними для кожного методу її діагностики, тому додаткове дослідження не завжди може підтвердити діагноз. Основними методами діагностики ГЕРХ є верхня ендоскопія, добова рН-імпедансометрія стравоходу. Остання є золотим стандартом оцінювання наявності гастроєзофагеальних рефлюксів. Для ухвалення рішення про антирефлюксну хірургію рекомендована манометрія з високою роздільною здатністю (МВРЗ).

За показниками МВРЗ нині визнані 3 анатомо-морфологічні типи езофагогастрального переходу. Наступні дослідження пов'язані з використанням тривимірної манометрії високої роздільної здатності (3D-МВРЗ). МВРЗ та 3D-МВРЗ стравоходу – високотехнологічні методи діагностики моторної функції стравоходу з обнадійливою перспективою. Ці додаткові дослідження можуть підвищити точність діагнозу ГЕРХ, проте консенсуси з ГЕРХ підтверджують наявні обмеження доступних досліджень стравоходу та пропонують шукати нові напрями в діагностиці та підходах до лікування. У цьому зв'язку цікавим є аналіз звукових сигналів м'язових волокон. При скороченні м'язів виникає локальний м'язовий звук, який можна зареєструвати неінвазивно. Отриманий звукозапис називають акустичною міографією. Сучасні підсилювачі та цифровий звукозапис дають змогу реєструвати м'язові звуки з достатньою частотою дискретизації. Це одне з перспективних започаткувань у цьому напрямі. В огляді наведені дані про можливості сучасних клініко-інструментальних методів діагностики ГЕРХ у повсякденній практиці гастроентерологів та обговорення низки перспективних аспектів цього питання.

Ключевые слова: гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, желудочно-кишечная эндоскопия, рН-контроль пищевода, манометрия высокого разрешения, акустическая миография.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 396–404

Современная диагностика гастроэзофагеальной рефлюксной болезни: реальные достижения и перспективы

М. Б. Щербинина, Т. Н. Шевченко, В. Н. Гладун

По современным представлениям, гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь (ГЭРБ) относят к квазіэндогенным заболеваниям. Признано, что в основе заболевания лежит дискоординация моторно-евакуаторной функции верхних отделов пищеварительного тракта, прежде всего, эзофагогастрального перехода как антирефлюксного барьера. Уменьшение клиренса пищевода со временем приводит к изменению структуры его слизистой оболочки в виде пищевода Барретта и рака. С этих позиций для адекватного лечения ГЭРБ необходимо ее своевременное выявление. Важно понимание возможностей современных клинико-инструментальных методов диагностики ГЭРБ в повседневной практике гастроэнтерологов.

В обзоре представлены выводы Американского и Лионского консенсусов по ГЭРБ. Показано, что критерии определения ГЭРБ специфические для каждого метода ее диагностики, поэтому дополнительное исследование не всегда может подтвердить диагноз. Основными методами диагностики ГЭРБ признаны верхняя эндоскопия, суточная рН-импедансометрия пищевода. Последняя – золотой стандарт оценки наличия гастроэзофагеального рефлюкса. Для принятия решения о антирефлюксной хирургии рекомендована манометрия с высоким разрешением (МВРЗ).

По показателям МВРЗ сегодня признаны 3 анатомо-морфологических типа эзофагогастрального перехода. Дальнейшие исследования связаны с использованием трехмерной манометрии высокого разрешения (3D-МВРЗ). МВРЗ и 3D-МВРЗ пищевода – високотехнологические методы диагностики моторной функции пищевода с обнадёживающей перспективой. Эти дополнительные исследования могут повысить точность диагноза ГЭРБ, однако консенсусы по ГЭРБ подтверждают существующие ограничения доступных исследований пищевода и предлагают искать новые направления в диагностике и подходах к лечению. В этой связи интересен анализ звуковых сигналов мышечных волокон. При сокращении мышц возникает локальный мышечный звук, который можно зарегистрировать неинвазивным способом. Полученную звукозапись называют акустической миографией (АМГ). Современные усилители и цифровая звукозапись позволяют регистрировать мышечные звуки с достаточной частотой дискретизации. Это одно из перспективных начинаний в этом направлении. В обзоре представлены данные о возможностях современных клинико-инструментальных методов диагностики ГЭРБ в повседневной практике гастроэнтерологов и обсуждение ряда перспективных начинаний в этом направлении.

Modern diagnostics of gastroesophageal reflux disease: actual progress and prospects

M. B. Scherbynina, T. M. Shevchenko, V. M. Hladun

According to modern concepts, gastroesophageal reflux disease (GERD) is referred to quasi-endogenous diseases. It is recognized that the underlying cause of the disease is the discoordination of the motor and evacuation function of the upper digestive tract, primarily the oesophagogastric transition as an antireflux barrier. The decrease in clearance of the oesophagus with time leads to a change in the structure of its mucosa in the form of Barrett's oesophagus and cancer. From this perspective adequate treatment of GERD requires early detection. It is important to understand the possibilities of modern clinical and instrumental methods of diagnosing GERD in the everyday practice of gastroenterologists. The review presents the findings of the American and Lyon consensus about GERD. It is shown that the criteria for GERD determining are specific for each method of its diagnostics, so additional research may not always confirm the diagnosis. The main methods of diagnosing GERD are the upper endoscopy, the 24-hour pH-metry monitoring. The latter is the gold standard for assessing the presence of gastro-oesophageal reflux. To make a decision before invasive antireflux procedures and surgery, high-resolution manometry (HRM) is recommended. Further studies are related to the use of three-dimensional high-resolution manometry (3D-HRM). HRM and 3D-HRM of the esophagus are high-tech methods for diagnosing the oesophageal motor function, with an encouraging prospect. However, consensus on GERD confirmed there are no current limitations of available studies of the oesophagus and offer to look for new directions in diagnosis and treatment approaches. In this connection, it is interesting to analyze the sound signals of muscle fibers. The review presents data on the possibilities of modern clinical and instrumental methods for diagnosing GERD in the everyday practice of gastroenterologists and discussing a number of promising initiatives in this direction.

Key words:
gastroesophageal reflux disease, gastrointestinal, esophageal pH monitoring, high-resolution manometry, acoustic myography.

Pathologia
2018; 15 (3), 396–404

Гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу (ГЕРХ) представлено в жовтні 1997 р. на Генвальській конференції як «захворювання з розвитком характерних симптомів і/або запального ураження дистальної частини стравоходу внаслідок повторення закидання у стравохід шлункового та/або дуоденального вмісту» [7]. Дані про поширеність ГЕРХ мають чималі географічні відмінності: в Північній Америці – 18,1–27,8 %, Європі – 8,8–25,9 %, Східній Азії – 2,5–7,8 %, на Близькому Сході – 8,7–33,1 %, в Австралії – 11,6 %, Південній Америці – 23,0 % [9,28]. Але орієнтуючись навіть на найменші показники наведеного діапазону, очевидно, що ГЕРХ охоплює широкі верстви населення в усьому світі та, за прогнозами, кількість хворих може збільшуватися. Так, уже сьогодні витрати на діагностику та лікування захворювання (в основному шляхом застосування інгібіторів протонної помпи – ІПП) на території США оцінюються в 9–10 млрд US \$ за рік [19].

За сучасними уявленнями, ГЕРХ належить до квазіендогенних захворювань. Визнано, що в основі ГЕРХ є дискоординація моторно-евакуаторної функції верхніх відділів травного тракту, передусім езофага-гастрального переходу (ЕГП) як антирефлюксного бар'єра [15]. Це забезпечує доступ агресивних субстанцій шлункового вмісту з домішкою вмісту дванадцятипалої кишки в стравохід. Патологічно висока частота рефлюксів супроводжується уповільненням відновлення рН дистальної частини стравоходу після кожного такого епізоду. Зменшення кліренсу стравоходу з часом призводить до зміни структури його слизової оболонки – до стравоходу Барретта. Під цим патологічним феноменом розуміють заміщення багаточарового плоского епітелію слизової оболонки дистальних відділів стравоходу метапластичним циліндричним епітелієм. Саме епітелій, змінений за типом кишкової метаплазії, несе ризик розвитку аденокарциноми дистального відділу стравоходу. За рік спостереження серед 200–400 цих пацієнтів виявляють один випадок раку. З цих позицій зрозуміла необхідність раннього та адекватного лікування ГЕРХ. Але тут виникає низка питань. Які критерії діагнозу цього захворювання? Результати яких методів дослідження є вірогідними для підтвердження клінічної думки? Які

з цих методів доцільно використовувати за окремими показаннями? Чи доступні вони повсюдно? Чи є новини щодо розвитку підвищення якості діагностичного процесу при ГЕРХ?

Мета роботи

Визначення можливостей сучасних клініко-інструментальних методів діагностики ГЕРХ у повсякденній практиці гастроентерологів та обговорення низки перспективних зачатків у цьому напрямі.

Типовими симптомами ГЕРХ є диспептичні скарги пацієнтів: печія і/або відрижка кислим [3]. Ці прояви захворювання досі вважають провідними для початку роздумів щодо наявності ГЕРХ. Так, на думку експертів Ліонського консенсусу [11], названі симптоми, особливо якщо їхня інтенсивність змінюється на тлі лікування, є суттєвою причиною для встановлення діагнозу ГЕРХ. Вважають, що значення динаміки симптомів у цьому випадку є більш вагомим, ніж позитивна реакція на терапію, що проводиться, при можливих асоціаціях з позастравохідними проявами (легеневими, кардіальними, орофарингеальними тощо). Відомо, що діагностична цінність оцінювання симптомів навіть серед досвідчених гастроентерологів має чутливість 70 % і специфічність 67 % порівняно з об'єктивними доказами ГЕРХ за результатами інших досліджень, наприклад, рН-метрії або ендоскопії стравоходу. Аналогічну оцінку в експертів отримали й опитувальники, що стосуються діагностики ГЕРХ, серед яких анкета RDQ та анкета GERDQ [11].

Отже, клінічна картина не має високої чутливості та специфічності для об'єктивізації ГЕРХ. Але на практиці діагностика цієї хвороби, що заснована на її типових симптомах, є прагматичною та схвалюється з позиції соціальних принципів. При типових і атипичних проявах (біль у грудях, хронічний кашель, ларингіт тощо) висновок про ГЕРХ підтверджується позитивним результатом тесту з одним із препаратів групи ІПП [13]. Втім позитивний ІПП-тест не прирівнюється до діагнозу. Серед пацієнтів із печією як діагностичний ІПП-тест має чутливість 71 % і специфічність тільки

44 % порівняно з даними рН-метрії або ендоскопії стравоходу. При атипій ГЕРХ показники відповіді на ІПП набагато нижчі, ніж при печії, що зменшує можливості цього підходу до діагностики. На тлі застосування ІПП у середньому 69 % пацієнтів з езофагітом, 49 % пацієнтів із неерозивною рефлюксною хворобою (НЕРХ) і 35 % пацієнтів із нормальною ендоскопією вказують на полегшення симптомів, що зумовлено зміною кислотоутворення. Отже, основним обмеженням щодо застосування ІПП-тесту є чимала варіативність відповіді. Відомо також про залежність результатів терапії від дозування препарату та тривалості тесту [5]. Однак, незважаючи на низьку специфічність і високий ефект плацебо, емпіричний підхід до лікування ІПП загалом прийнятний, оскільки є менш дорогим, ніж інструментальні дослідження стравоходу. Експерти наголошують, що це може призводити до гіпердіагностики ГЕРХ і зловживання ІПП.

Анамнестичні дані, опитування та позитивний результат антисекреторної терапії можуть бути недостатні для остаточного визнання ГЕРХ, але є корисними для визначення необхідності обстеження пацієнта надалі. Припущення про наявність ГЕРХ у разі відсутності відповіді на лікування ІПП потребує виконання верхньої ендоскопії. Це дослідження дає змогу підтвердити діагноз ГЕРХ та її ускладнень чи виявити альтернативне захворювання. Виявлення езофагіту класу С або D (тут і далі наведено градацію езофагітів згідно з Лос-Анджелеською класифікацією), стравоходу Барретта та/або стриктур стравоходу належать до доказів наявності ГЕРХ [25]. Ерозивний езофагіт діагностують у 30 % пацієнтів із печією за відсутності ефекту від лікування та в 10 % на тлі постійного приймання ІПП. У більшості таких пацієнтів фіксується слабкий ступінь езофагіту, зокрема клас А. Такі зміни слизової оболонки стравоходу вважають неспецифічними, вони наявні також у 5,0–7,5 % випадків із групи контролю в осіб, які не мають жодних проявів [16]. Виявлення під час ендоскопії езофагіту класу В дає підстави для початку медикаментозного лікування ГЕРХ. Однак під час планування будь-якого варіанта антирефлюксної хірургії необхідні додаткові докази ГЕРХ, що отримані за допомогою рН-метрії [10]. Щодо стравоходу Барретта, цей феномен спостерігають у 5–15 % пацієнтів із хронічним перебігом ГЕРХ [30], гістологічне підтвердження зафіксоване тільки в 50 % випадків. Отже, результати ендоскопічного дослідження стравоходу можуть бути клінічно важливими та специфічними для ГЕРХ, але мають низьку чутливість для бездоганної діагностики.

IV Римським консенсусом для виключення еозинофільного ураження під час ендоскопії стравоходу рекомендоване взяття біоптатів його слизової оболонки [8]. При позитивній рН-метрії біопсія може також мати значення в диференціальній діагностики ГЕРХ від гіперчутливості стравоходу, функціональної печії та протокового морфологічного контролю з реєстрацією особливостей змін гістоструктури слизової оболонки стравоходу (подовження сосочків, гіперплазія базальних клітин, розширення міжклітинних просторів, межепітеліальні інфільтрації запальними клітинами, наявність зон некрозів та ерозій) [26]. Мор-

фологічний контроль важливий для реєстрації відновлення гістоструктури слизової оболонки стравоходу після адекватної терапії ГЕРХ. Однак гістологічні дані характеризуються чималою варіабельністю, і тому теж не можуть бути прийнятні як критерій остаточного діагнозу ГЕРХ. Найбільш характерним пошкодженням слизової оболонки стравоходу при рефлюксі вважають розширення міжклітинних просторів, яке ідентифікують за допомогою електронної мікроскопії [2,26], але клінічне застосування цього методу обмежене. Навіть звичайне гістологічне дослідження біоптатів зі стравоходу потребує багато зусиль через необхідність укладання протоколу чималою обсягу. Крім того, як правило, у клініках немає необхідної кількості висококваліфікованих фахівців, які змогли б виконати цей протокол.

За рекомендаціями доказової гастроентерології, наступним підтвердженням ГЕРХ може стати виявлене під час добової рН-метрії або рН-імпедансометрії стравоходу тривале закислення стравоходу (відсоток часу з рН <4 у стравоході на 5 см вище нижнього сфінктера стравоходу (НСС), так зване acid exposure time (AET) > 6 %). Нині рН-моніторинг стравоходу визнаний найнадійнішим методом діагностики, що дає змогу про наявність рефлюксу й оцінити його частоту та тривалість. Основним показанням для 24-годинної рН-метрії стравоходу є діагностика ГЕРХ. Амбулаторний рН-моніторинг може забезпечувати підтвердження даних про ГЕРХ у пацієнтів із нормальною ендоскопією, атипійними симптомами та/або під час планування антирефлюксної хірургії [23]. Метод має нюанси проведення, експерти наголошують: принципове значення для точного діагнозу має правильне розміщення електродів. Вимірювальний електрод рН-зонда повинний бути зафіксований чітко на 5 см вище, ніж НСС. Якщо кількість каналів (електродів) рН-зондів варіює від 1 до 3, то можна реєструвати рН одночасно на різних рівнях стравоходу (для встановлення висоти рефлюксу). Клінічно важливіша інформація може бути отримана під час встановлення кінцевого електроду в ділянці тіла шлунка. Зокрема, після приймання їжі в тілі шлунка спостерігають вираженіший підйом рН. Встановлено, що проведення у шлунок зонда діаметром 3 мм не впливає на частоту гастроєзофагеальних рефлюксів.

Рефлюкс-моніторинг демонструє наслідки патофізіологічних змін при ГЕРХ, що проявляються або як надмірний епізод кислотної експозиції у стравохід (AET), або як тривалий рефлюкс. Але це не показує механізм реалізації таких проявів. Для збільшення інформативності рН-моніторингу пропонують використовувати аналіз асоціації рефлюксів і симптомів, тобто використовувати прості співвідношення та статистичні тести, щоб визначити, чи поєднані рефлюксні епізоди з симптомами. Ряд дослідників показали, що продовження часу запису до 48 або 96 годин за допомогою безпроводної системи рН-моніторингу збільшує діагностичну точність методу. Особливо корисним стає такий підхід, коли трансназальний катетер не проходить до необхідної точки або дає негативний результат, незважаючи на високий ризик ГЕРХ [27]. Доступність беззондового рН-моніторингу обмежує його висока

вартість. Отже, добова рН-метрія може підтвердити або виключити ГЕРХ, хоча не завжди остаточно.

Іншим варіантом моніторингу рефлюксу є рН-імпедансометрія, що характеризує рефлюксні події як за допомогою рН-електроду, так й декількома імпедансними електродами. Оскільки рН-імпеданс визначає весь спектр рефлюксів (кислотний, газовий або змішаний) незалежно від кислотності та визначає напрям потоку, його вважають золотим стандартом у діагностиці ГЕРХ [23]. Але тест не є широко доступним, тлумачення результатів дослідження складне. У зв'язку з цим фахівці консенсусних груп визнають обмеженість цього методу.

Основним результатом 24-годинного дослідження рН-метрії визнано АЕТ. Нормальна ендоскопічна картина, у тому числі езофагіт ступеня А і В, не виключає ГЕРХ, але в поєднанні з відсутністю патологічного закислення стравоходу (АЕТ <4 %) та при кількості епізодів рефлюксу менше ніж 40 за добу при рН-імпедансометрії без приймання пацієнтом ІПП з високою ймовірністю вказує на відсутність захворювання. Експерти Ліонського консенсусу пропонують вважати АЕТ <4 % остаточно нормальним (фізіологічним), АЕТ >6 % остаточно ненормальним (патологічним) з проміжними значеннями між 4 % та 6 % [11]. Тобто значення АЕТ, що перебувають між 4 % та 6 %, розуміють як невизначений діагноз, котрий потребує додаткових досліджень. Це ще один факт, що робить добову рН-метрію і рН-імпедансометрію стравоходу непереконаливими методами, але ГЕРХ залишається складним захворюванням для діагностики.

Для уточнення діагнозу, коли не поліпшується клінічна симптоматика ГЕРХ на тлі терапії, для виявлення моторних розладів стравоходу та ухвалення рішення про антирефлюксну хірургію актуальною стає манометрія з високою роздільною здатністю (МВРЗ) [32]. Це дослідження дає змогу реєструвати рухову функцію стравоходу із застосуванням сенсорів, які знаходяться на так званому детекторі-рукаві (зонді), що встановлюється в просвіт зони дослідження. Технологічні успіхи значно покращили точність і клінічну корисність методу. Катетери високої роздільної здатності з близькими за розташуванням датчиками забезпечують майже безперервне подання активності тиску з порожнини рота до шлунка. Кількість датчиків на зонді може коливатися від 20 до 36, що в рази перевищує їхню кількість у детекторі звичайної манометрії (4–8). Проміжки між датчиками у звичайній манометрії становлять 3–4 см, що призводить до великої кількості «сліпих» зон і не дає змогу повноцінно оцінити функціональність органа. При МВРЗ сенсори розташовані на відстані від 0,8 см до 1 см, тому «сліпі» зони зводяться до мінімуму. Так досягають максимально детального оцінювання функціонального стану травного каналу. Отже, МВРЗ дає можливість детально дослідити інтегральні кількісні та якісні показники внутрішньо-порожнинного тиску, координацію моторики грудного відділу, стравохідних сфінктерів, тобто спостерігати в режимі реального часу за просуванням стравоходом перистальтичної хвилі. Сучасна МВРЗ пропонує також використання комбінованого імпеданс-манометричного зонду, який складається з 36 каналів вимірювання тиску та 15 ім-

педансних каналів, що дає змогу отримати додаткову інформацію [21].

В аспекті патогенезу ГЕРХ найбільш вагомою вважають некомпетентність ЕГП як антирефлюксного бар'єра. Важливим біомаркером вважають кількісне оцінювання його функціонування. Анатомічно ЕГП представлений комплексним сфінктером, що складений із НСС і ніжок діафрагми (НД). Домінування в патогенезі рефлюксу порушень спроможності тієї чи іншої частини залежить від обставин. Тиск ЕГП змінюється залежно від часу, дихання та ковтання; аналогічно макроморфологія ЕГП може також змінюватися з часом, переходячи між елементами НСС і НД [22]. Крім того, виділяють фізіологічну некомпетентність ЕГП, тобто явища перехідної релаксації НСС та/чи рефлексорної релаксації як НСС, так і НД, що полегшує видалення газу зі шлунка [24].

Зрозуміло, що кількісне оцінювання бар'єрної функції ЕГП доволі складне. Жодна одиниця вимірювання МВРЗ адекватно не може підсумувати його компетентність. У цьому зв'язку в останніх регламентувальних документах – Ліонському консенсусі та Американських рекомендаціях – для оцінювання стану ЕГП запропоновано 2 показники, один з них виражає анатомічну морфологію ЕГП, другий оцінює його силу скорочення. За показниками МВРЗ прийнята характеристика відношень між НД і НСС у структурі ЕГП як 3 анатомоморфологічні типи: тип 1 – єдина зона високого тиску, представлена НСС і НД, точка інверсії дихання (ТІД) розташована з проксимального краю НСС; тип 2 – дві зони високого тиску, представлені НСС і НД, поділ не більше 2 см, тиск між зонами вище, ніж у шлунку, ТІД на рівні НД; 3а, так звана «закрита» кила стравохідного отвору діафрагми – поділ НСС і НД понад 2 см, тиск між НСС і НД нижче, ніж тиск у шлунку або дорівнює йому, ТІД на рівні НД; 3б, так звана «відкрита» кила стравохідного отвору діафрагми – поділ НСС і НД понад 2 см, тиск між НСС і НД дорівнює тиску у шлунку, ТІД на рівні НСС. Анатомія останнього, 3 типу ЕГП пов'язана зі зменшенням тиску НСС, що корелює з тяжкістю рефлюксу, однак це співвідношення не є лінійним [25].

Силу скорочення ЕГП визначає другий показник МВРЗ – інтеграл скорочення (ІС) ЕГП, який дає змогу виявити підгрупу пацієнтів із важкою бар'єрною дисфункцією в поєднанні з ендоскопічним езофагітом. Але очевидна наявність методологічних розбіжностей під час розрахунку ІС ЕГП різними дослідниками. У спробі стандартизувати методологію запропоновано виключення показників НД у випадках ЕГП 3 типу та розрахунку ІС ЕГП над базовим тиском шлунка [20]. З огляду на це, Ліонський консенсус дійшов до висновку, що ІС ЕГП є перспективним маркером, але потребує наступних досліджень і низки уточнень перед широким впровадженням у клінічну практику.

Розуміння формування ІС ЕГП пов'язане з дослідженнями з використанням тривимірної манометрії високої роздільної здатності (3D-МВРЗ) [17], що дає змогу диференціювати анатомічні складові ЕГП. Відокремлення із сигналу ЕГП компонента НД під час запису 3D-МВРЗ дало можливість зробити висновок, що майже 85 % загальної сили скорочення ЕГП пов'я-

Таблиця 1. Показання до амбулаторного моніторингу рефлюксу [11,25] із нашою модифікацією

Спосіб діагностики	Показання	Нові показання [11, 25]
Добова рН-метрія або рН-імпедансометрія	<ul style="list-style-type: none"> Типові симптоми (печія, регургітація) зберігаються, незважаючи на ІПП терапію; Атипові симптоми (біль у грудях, кашель, симптоми гортані) для підтвердження або виключення ГЕРХ; Перед інвазивною антирефлюксною процедурою та операцією; Діагностика функціональної печії та гіперчутливого рефлюксу, супрагастричної відрижки (систолічний імпеданс) і синдрому запалення (в поєднанні з манометрією). 	<ul style="list-style-type: none"> Моніторинг навантаження рефлюксом після інвазивних антирефлюксних процедур та операції; Моніторинг навантаження рефлюксом після абляції при ахалазії.
Манометрія з високою роздільною здатністю	<ul style="list-style-type: none"> Локалізація НСС для правильного розміщення катетерів рН і рН-імпедансу; Виключення основних рухових порушень, особливо ахалазії; Оцінювання перистальтичної діяльності стравоходу перед інвазивними антирефлюксними процедурами та операціями; Діагностика синдрому запаморочення та супрагастричної відрижки (у поєднанні з рН-імпедансом); Оцінювання дисфагії після фундопластики; Діагностика функціональних стравохідних порушень унаслідок виключення основних рухових порушень. 	<ul style="list-style-type: none"> Оцінювання морфології та цілісності ГЕП; Вимірювання розміру хітальної грижі; Оцінювання перистальтичної діяльності стравоходу перед баріатричними процедурами.

зано з НД, тобто ІС ЕГП значною мірою забезпечується саме скороченням НД [18]. Ці дослідження підкреслюють роль ІС ЕГП як якісного стабільного підсумкового показника бар'єрної функції ЕГП, хоча з застереженням, що цей показник є більше індикатором стану НД.

Хоча численні дослідження продемонстрували зв'язок манометричних аномалій і ГЕРХ, користь МВРЗ у діагностичному аспекті обмежена проблемами чутливості та специфічності цього методу. Тому під час діагностики ГЕРХ низка авторів пропонують застосування кількох методів дослідження разом. Наприклад, для підвищення точності диференціальної діагностики типу відрижки чи румінації, виявлення аерофагії, при індивідуалізації порушень у конкретного пацієнта пропонують поєднане виконання МВРЗ та імпедансометрії [31]. Згідно з рекомендаціями Ліонського консенсусу, кожному МВРЗ треба виконувати з провокаційними тестами (тест швидких ковтків, тест із ковтками твердої їжі) для оцінювання резерву здатності скорочення м'язів грудного відділу стравоходу. При підготовці пацієнта з ГЕРХ до оперативного втручання рекомендована МВРЗ із виконанням тесту швидких ковтків, результат якого є прогностичним критерієм виникнення післяопераційної дисфагії [14]. Пацієнтам зі скаргами на утруднення при ковтанні та/або проходженні твердої їжі за відсутності скарг при проходженні рідкої їжі рекомендоване дослідження з ковтками твердої їжі. Такі провокаційні тести дають змогу виділити 3 основні групи змін рухової активності стравоходу: порушення прохідності ЕГП; істотні порушення перистальтики (діагностують тільки при захворюваннях стравоходу); незначні порушення перистальтики як у

хворих, так і в здорових добровольців. Результати цих тестів не можна описувати згідно з Чиказькою класифікацією, вони не рекомендовані Американськими рекомендаціями.

Отже, МВРЗ і 3D-МВРЗ стравоходу – це високотехнологічні методи діагностики рухливої функції стравоходу з обнадійливою перспективою. Нині лікарі мають унікальний спосіб визначення інтегральних кількісних та якісних характеристик скорочення стравоходу та його специфічних порушень. Ці методи дали змогу фахівцям удосконалити класифікацію первинних порушень моторної функції та виділити 4 морфологічні типи ЕГП. За Ліонським й Американським документами, МВРЗ і 3D-МВРЗ – додаткова діагностика ГЕРХ за наявності скарг на дисфагію, при некардіальному болев у грудях у пацієнтів із ГЕРХ та іншими захворюваннями. Також методи застосовують для оцінювання дефектів перистальтики грудного відділу стравоходу, перед фундоплацією для визначення резерву скорочення стравоходу та прогнозу виникнення післяопераційної дисфагії. Наявність додаткових імпедансних датчиків дає змогу розрахувати час об'ємного кліренсу стравоходу, виявити гастрозофагеальний рефлюкс, виконати диференційну діагностику типу відрижки, виявити аерофагію. Впровадження цієї методики у клінічну практику могло б розширити діагностичні можливості та дало б змогу індивідуалізувати лікування, підвищити якість надання медичної допомоги пацієнтам. Але впровадження в повсякденну клінічну практику цих способів діагностики суттєво обмежене через їхню високу вартість. В Україні такі дослідження не виконують через відсутність обладнання.

Отже, Американським і Ліонським консенсусами з діагностики ГЕРХ визначено сучасні уявлення про доцільність різних досліджень і критерії клінічного діагнозу при ГЕРХ. Основні методи діагностики ГЕРХ: верхня ендоскопія, добова рН-імпедансометрія стравоходу, яку вважають золотим стандартом для виявлення та оцінювання гастрозофагеальних рефлюксів. Для додаткових уточнень запропоновано МВРЗ. Останні консенсуси підтверджують обмеження та недоліки, які нині наявні для названих методів дослідження функції стравоходу та ЕГП при ГЕРХ. Запропоновано параметри, які остаточно визначають наявність ГЕРХ, а також характеристики, що виключають ГЕРХ (табл. 1, рис. 1).

Обмеження відомих методів визначення ГЕРХ, що нині наявні, спонукають шукати нові напрями в її діагностиці. Свого часу увага дослідників була прикута до методів, що дають змогу неінвазивно оцінювати стан рухової функції різних відділів шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Неінвазивні дослідження не змінюють вихідний функціональний стан гладких м'язів, оскільки не потребують розправлення складок слизової оболонки введенням повітря або чужорідного тіла в порожнину органа. Це дає змогу уникати подразнення рефлекторних дуг, що може призвести до стимуляції чи блокади моторики інших відділів ШКТ. Як неінвазивні методи діагностики моторних порушень органів верхнього відділу ШКТ раніше використовували периферичну електрогастроентерографію (ЕГЕГ), нашірну електроміографію (ЕМГ), рентгенологічне дослідження з

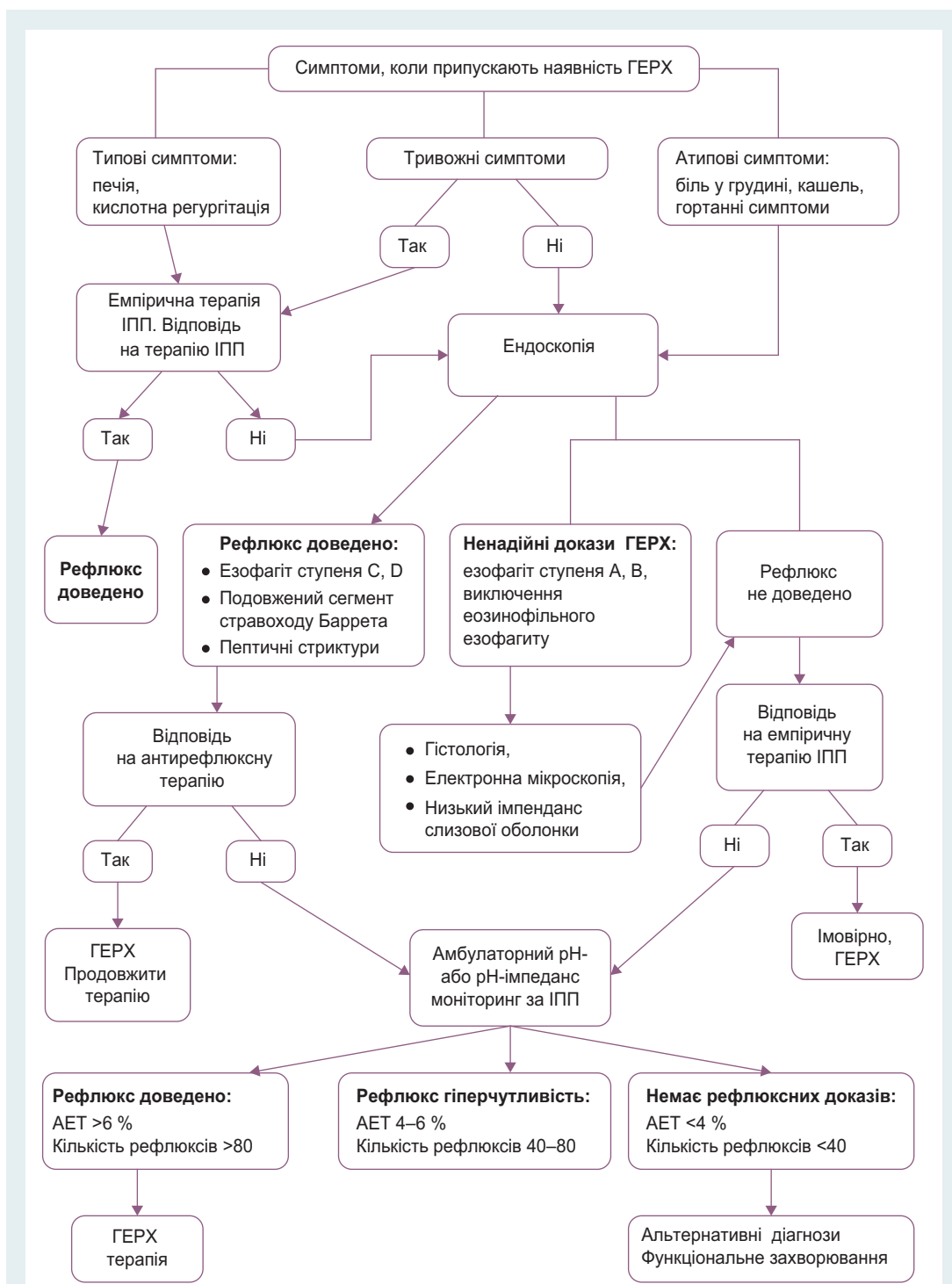


Рис. 1. Алгоритм діагностики ГЕРХ [11,25] із нашою модифікацією.

барієвою суспензією. Кожен із цих методів не має переконливої доказової бази щодо чутливості та специфічності, тому не входить до базових стандартів. Так, особливістю ЕГЕГ є низькочастотність інформативного сигналу, а загальною проблемою – сильний вплив сторонніх шумів на вимірювальні сигнали. Перевагою цього неінвазивного методу є тривале, багаторазове використання, а також одночасне оцінювання інтегральної електричної активності різних відділів ШКТ.

Рентгенологічне дослідження з барієвою суспензією дає змогу оцінити стан моторики органів травлення за швидкістю та напрямом проходження барієвої суспензії [1,29]. Перевагами методу є низька вартість і легка доступність, здатність діагностувати структурні зміни в органі та розлади його моторики; головний недолік методу полягає в неможливості багаторазового використання в пацієнта через вплив рентгеновського випромінювання. Крім того, рентгенограма не показує

саму біоелектричну активність і перистальтичні хвилі певного органа.

Є потреба в розробці нових підходів до дослідження функції гладких м'язів стравоходу та НСС для ранньої діагностики та прогнозування перебігу захворювання. З погляду нового підходу цікавим є аналіз звукових сигналів м'язових волокон. Під час скорочення м'язів виникає локальний м'язовий звук, який можна неінвазивно зареєструвати. Отриманий звукозапис називають акустичною міографією (АМГ). Сучасні підсилювачі та цифровий звукозапис дають змогу реєструвати м'язові звуки з достатньою частотою дискретизації. Вже опубліковані дані про розробку та використання приладу для оцінювання м'язового звуку скелетних м'язів. Метод АМГ має величезний потенціал у здатності вимірювати ефективність роботи м'язових волокон під час фактичної їх діяльності (в режимі реального часу). Для такого оцінювання застосовані параметри біоімпедансу: здатність волокон зберігати енергію, об'єм кисню волокон у спокої та, нарешті, життєздатність мембрани в результаті трансмембранного оберту [12].

Технологія АМГ безпосередньо вимірює скорочення м'язів на відміну від нашкірної електроміографії, що виявляє електричну активність у нервово-м'язовому з'єднанні, а також в активних волокнах [12]. Раніше записи акустичної міографії отримували, використовуючи п'єзоелектричні мікрофони з повітряною порожниною між шкірою та датчиком, конфігурацію, яка згодом була показана за допомогою акселерометрів, що не здатні виявити нижній частотний діапазон скорочень м'язів [12]. Ця частотна проблема вирішена за допомогою новітніх технологій датчиків системи CURO. Метод АМГ оцінює динамічні показники стану конкретного м'яза, що використовується для вимірювання тренувального ефекту у спортсменів [4,6]. Властивості АМГ щодо незалежності даних скорочення м'язів від електричних сигналів між нервом і м'язами можуть стати у пригоді для оцінювання функціональної здатності гладких м'язів, для яких характерний низький потенціал дії та наявність спонтанної активності та водіїв ритму (пейсмекерів). Можливо, спрямування наукового потенціалу на оцінювання акустичної міографії як методу аналізу функції гладких м'язів стравоходу та НСС дасть можливість отримати ефективний неінвазивний спосіб діагностики ГЕРХ.

Висновки

1. Розроблення та постійне вдосконалення методів діагностики моторних розладів при ГЕРХ покликані вдосконалити раннє виявлення захворювання та забезпечити своєчасне лікування. Сучасні уявлення про ГЕРХ ставлять її в низку захворювань із неоднорідним профілем симптомів і багатоплановою патогенною основою, до них неможливо застосувати простий діагностичний алгоритм або категоричну класифікацію. Аналіз джерел фахової літератури дав можливість визначити критерії діагнозу цього захворювання: доведеним рефлюкс вважають за наявності езофагіту ступеня С і D, подовженого сегмента стравоходу Барретта, пептичних стриктур. Вірогідними для підтвер-

дження клінічного припущення про ГЕРХ є результати верхньої ендоскопії, добового рН-моніторингу. За окремими показаннями доцільно використовувати МВРЗ і 3D-МВРЗ, які, на жаль, недоступні повсюдно.

2. Майбутній підхід до діагностики ГЕРХ повинен базуватися на фенотипізації пацієнтів із ГЕРХ, має зосереджуватися на оцінюванні важливих фізіологічних біомаркерів, результатах опитування пацієнтів, що дасть змогу класифікувати пацієнтів на підставі тяжкості рефлюксної експозиції, механізму рефлюксу, ефекторів кліренсу та патофізіології ЕГП. ГЕРХ – це галузь, де нові методи діагностики можуть виявитися перспективними та корисними.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 05.09.2018

Після доопрацювання / Revised: 24.09.2018

Прийнято до друку / Accepted: 28.09.2018

Відомості про авторів:

Щербиніна М. Б., д-р мед. наук, професор, декан факультету медичних технологій діагностики та реабілітації, Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-2358-5406

Шевченко Т. М., д-р біол. наук, професор, зав. каф. сучасних технологій діагностики лікувального процесу, факультет медичних технологій діагностики та реабілітації, Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-0947-0960

Гладун В. М., канд. мед. наук, доцент каф. сучасних технологій діагностики лікувального процесу, факультет медичних технологій діагностики та реабілітації, Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-3078-7433

Сведения об авторах:

Щербинина М. Б., д-р мед. наук, профессор, декан факультета медицинских технологий диагностики и реабилитации, Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, Украина.

Шевченко Т. Н., д-р биол. наук, профессор, зав. каф. современных технологий диагностики лечебного процесса, факультет медицинских технологий диагностики и реабилитации, Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, Украина.

Гладун В. Н., канд. мед. наук, доцент каф. современных технологий диагностики лечебного процесса, факультет медицинских технологий диагностики и реабилитации, Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, Украина.

Information about authors:

Scherbynina M. B., MD, PhD, DSc, Professor, Dean of the Faculty of Medical Technologies of Diagnostics and Rehabilitation, Oles Honchar Dniprovsky National University, Ukraine.

Shevchenko T. M., Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Modern Technologies of Diagnostic and Treatment Process, Faculty of Medical Technologies of Diagnostics and Rehabilitation, Oles Honchar Dniprovsky National University, Ukraine.

Hladun V. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Modern Technologies of Diagnostic and Treatment Process, Faculty of Medical Technologies of Diagnostics and Rehabilitation, Oles Honchar Dniprovsky National University, Ukraine.

Список літератури

[1] Передерій В.Г. Практична гастроентерологія. Сучасна тактика і алгоритм ведення хворих з основними гастроентерологічними за-

- хворюваннями і синдромами: посібник для лікарів / В.Г. Передерій, С.М. Ткач. – Вінниця : Нова книга, 2012. – 736 с.
- [2] Mucosal impedance discriminates GERD from non-GERD conditions / F. Ates, E.S. Yuksel, T. Higginbotham et al. // *Gastroenterology*. – 2015. – Vol. 148. – Issue 2. – С. 334–343.
- [3] Functional esophageal disorders / Q. Aziz, R. Fass, C.P. Gyawali et al. // *Gastroenterology*. – 2016. – Vol. 150. – Issue 6. – P. 1368–79.
- [4] The Use of Acoustic Myography as a Measure of Training Effects in Athletes- A 10 Month Case Study of a BMX Rider / E.M. Bartels, A. Harder, K.S. Heide, et al. // *Ann. Sports. Med. Res.* – 2017. – Bind 4. – №1. – P. 1101.
- [5] Limited ability of the proton-pump inhibitor test to identify patients with gastroesophageal reflux disease / P. Bytzer, R. Jones, N. Vakili et al. // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2012. – Vol. 10. – Issue 12. – P. 1360–6.
- [6] The relation between maximal voluntary force in m. palmaris longus and the temporal and spatial summation of muscle fiber recruitment in human subjects / G. Claudel Cecyl, A. Waqas, S.E. Vibeke, A.P. Harrison // *Physiological Reports*. – 2018. – Vol. 6. – Issue 1. – P. e13580.
- [7] An evidence-based appraisal of reflux disease management – the Genval Workshop report / J. Dent, J. Brun, A. Fendrick et al. // *Gut*. – 1999. – Vol. 44. – Suppl. 2. – P. 1–16.
- [8] Drossman D.A. Rome IV—Functional GI Disorders: Disorders of Gut-Brain Interaction / D.A. Drossman, W.L. Hasler // *Gastroenterology*. – 2016. – Vol. 150. – Issue 6. – P. 1257–1261.
- [9] Update on the epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review / H.B. El-Serag, S. Sweet, C.C. Winchester, J. Dent // *Gut*. – 2014. – Vol. 63. – Issue 6. – P. 871–80.
- [10] 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. // *Clin Gastroenterol Hepatol.* – 2016. – Vol. 14. – Issue 1. – P. 40–6.
- [11] Modern diagnosis of GERD: the Lyon Consensus / C.P. Gyawali, P.J. Kahrilas, E. Savarino et al. // *Gut*. – 2018. – Vol. 67. – Issue 7. – P. 1351–1362.
- [12] Harrison A.P. Portable acoustic myography – a realistic noninvasive method for assessment of muscle activity and coordination in human subjects in most home and sports settings / A.P. Harrison, E.B. Danneskiold-Samsøe, M. Bartels // *Physiological Reports*. – 2013. – Vol. 1. – Issue 2. – P. e00029.
- [13] Reflux-cough syndrome: assessment of temporal association between reflux episodes and cough bursts / T.V.K. Herregods, A. Pauwels, J. Tack et al. // *Neurogastroenterol. Motil.* – 2017. – Vol. 29. – Issue 12. – e13129.
- [14] Preoperative diagnostic workup before antireflux surgery: an evidence and experience-based consensus of the Esophageal Diagnostic Advisory Panel / B.A. Jobe, J.E. Richter, T. Hoppe et al. // *J. Am. Coll. Surg.* – 2013. – Vol. 217. – Issue 4. – P. 586–97.
- [15] The Chicago Classification of esophageal motility disorders, v3.0 / P.J. Kahrilas, A. J. Bredenoord, M. Fox et al. // *Neurogastroenterol. Motil.* – 2015. – Vol. 2. – Issue 2. – P. 160–74.
- [16] Histomorphological differentiation of non-erosive reflux disease and functional heartburn in patients with PPI-refractory heartburn / A. Kandulski, D. Jechorek, C. Caro et al. // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2013. – Vol. 38. – Issue 6. – P. 643–51.
- [17] Kwiatek M.A. 3D-high resolution manometry of the esophagogastric junction / M.A. Kwiatek, J.E. Pandolfino, P.J. Kahrilas // *Neurogastroenterol. Motil.* – 2011. – Vol. 23. – Issue 11. – P. 461–9.
- [18] Novel 3D high-resolution manometry metrics for quantifying esophagogastric junction contractility / Z. Lin, Y. Xiao, Y. Li et al. // *Neurogastroenterol. Motil.* – 2017. – Vol. 29. – Issue 8. – e13054.
- [19] Moayyedi P. Economic reflections on proton pump inhibitor therapy for non-erosive reflux disease / P. Moayyedi // *Digestion*. – 2008. – Vol. 78. – Suppl. 1. – P. 61–9.
- [20] Calculation of esophagogastric junction vector volume using three-dimensional high-resolution manometry / F. Nicodème, N.J. Soper, Z. Lin et al. // *Dis. Esophagus*. – 2015. – Vol. 28. – Issue 7. – P. 684–90.
- [21] High-resolution manometry improves the diagnosis of esophageal motility disorders in patients with dysphagia: A randomized multicenter study / S. Roman, L. Huot, F. Zerbib, et al. // *J. Gastroenterol.* – 2016. – Vol. 111. – Issue 3. – P. 372–380.
- [22] Validation of criteria for the definition of transient lower esophageal sphincter relaxations using high-resolution manometry / S. Roman, R. Holloway, J. Keller, et al. // *Neurogastroenterol. Motil.* – 2017. – Vol. 29. – Issue 2. – P. 12920.
- [23] Ambulatory reflux monitoring for diagnosis of gastro-esophageal reflux disease: update of the Porto consensus and recommendations from an international consensus group / S. Roman, C.P. Gyawali, E. Savarino et al. // *Neurogastroenterol. Motil.* – 2017. – Vol. 29. – Issue 10. – P. 1–15.
- [24] Practice guidelines on the use of esophageal manometry – A GISMAD-SIGE-AIGO medical position statement / E. Savarino, N. de Bortoli, M. Bellini, et al. // *Dig. Liver. Dis.* – 2016. – Vol. 48. – Issue 10. – P. 1124–35.
- [25] Advances in the physiological assessment and diagnosis of GERD / E. Savarino, A.J. Bredenoord, M. Fox, et al. // *Gastroenterology & Hepatology*. – 2017. – Vol. 14. – Issue 11. – P. 665–676.
- [26] Savarino E. NERD: an umbrella term including heterogeneous subpopulations / E. Savarino, P. Zentilin, V. Savarino // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2013. – Vol. 10. – Issue 6. – P. 371–80.
- [27] Inconsistency in the Diagnosis of Functional Heartburn: Usefulness of Prolonged Wireless pH Monitoring in Patients With Proton Pump Inhibitor Refractory Gastroesophageal Reflux Disease / R. Sweis, R. Penagini, A. Mauro, et al. // *J Neurogastroenterol Motil.* – 2015. – Vol. 21. – Issue 2. – P. 265–72.
- [28] Endoscopic reflux esophagitis and Helicobacter pylori infection in young healthy Japanese volunteers / T. Takashima, R. Iwakiri, Y. Sakata, et al. // *Digestion*. – 2012. – Vol. 86. – Issue 1. – P. 55–8.
- [29] Turco R. Barium Contrast Radiography and Scintigraphy / R. Turco, D. Ummarino, A. Staiano // *Esophageal and Gastric Disorders in Infancy and Childhood*. – 2017. – March. – P. 925–934.
- [30] Helicobacter pylori Infection Is Associated With Reduced Risk of Barrett's Esophagus: An Analysis of the Barrett's and Esophageal Adenocarcinoma Consortium / Z. Wang, N.J. Shaheen, D.C. Whiteman et al. // *The American Journal of Gastroenterology*. – 2018. – Vol. 113. – Issue 8. – P. 1148–1155.
- [31] Gastroesophageal flap valve reflected EGJ morphology and correlated to acid reflux / C. Xie, Y. Li, N. Zhang, et al. // *BMC Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 17. – Issue 1. – P. 118.
- [32] Esophagogastric junction contractility integral reflected the anti-reflux barrier dysfunction in GERD patients / C. Xie, J. Wang, Y. Li, et al. // *J. Neurogastroenterol. Motil.* – 2017. – Vol. 23. – Issue 1. – P. 27–33.

References

- [1] Perederii, V. H., & Tkach, S. M. (2012). *Praktychna gastroenterologhiia. Suchasna taktika i alhorytm vedennia khvorykh z osnovnymy gastroenterologichnymy zakhvoriuvanniamy i syndromamy* [Practical gastroenterology. Modern tactics and algorithm for patients with major gastroenterological diseases and syndromes]. Vinnytsia: Nova knyha. [in Ukrainian].
- [2] Ates, F., Yuksel, E. S., Higginbotham, T., Slaughter, J. C., Mabary, J., Kavitt, R. T., et al. (2015). Mucosal impedance discriminates GERD from non-GERD conditions. *Gastroenterology*, 148(2), 334–343. doi: 10.1053/j.gastro.2014.10.010.
- [3] Aziz, Q., Fass, R., Gyawali, C. P., Miwa, H., Pandolfino, J. E., & Zerbib, F. (2016) Functional esophageal disorders. *Gastroenterology*, 150(6), 1368–79. doi: 10.1053/j.gastro.2016.02.012.
- [4] Bartels E.M., Harder A., Heide K.S., Pingel J., Andersen I.T., Harrison, A. P., & Andersen, I. T. (2017). The Use of Acoustic Myography as a Measure of Training Effects in Athletes- A 10 Month Case Study of a BMX Rider. *Ann Sports Med Res*. 4(1), 1101.
- [5] Bytzer, P., Jones, R., Vakili, N., Junghard, O., Lind, T., Wernersson, B., & Dent, J. (2012). Limited ability of the proton-pump inhibitor test to identify patients with gastroesophageal reflux disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 10(12), 1360–6. doi: 10.1016/j.cgh.2012.06.030.
- [6] Claudel, C. G., Ahmed, W., Elbrond, V. S., & Harrison, A. P. (2018). The relation between maximal voluntary force in m. palmaris longus and the temporal and spatial summation of muscle fiber recruitment in human subjects. *Physiological Reports*, 6(1), e13580. doi: [10.14814/phy2.13580].
- [7] Dent, J., Brun, J., Fendrick, A., Fennerty, M., Janssens, J., Kahrilas, P., et al. (1999). An evidence-based appraisal of reflux disease management – the Genval Workshop report. *Gut*, 44(2), 1–16. doi: 10.1136/gut.44.2008.S1.
- [8] Drossman, D. A., & Hasler, W. L. (2016) Rome IV—Functional GI Disorders: Disorders of Gut-Brain Interaction. *Gastroenterology*, 150(6), 1257–1261. doi: 10.1053/j.gastro.2016.03.035.
- [9] El-Serag, H. B., Sweet, S., Winchester, C. C., & Dent, J. (2014). Update on the epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut*, 63(6), 871–80. doi: 10.1136/gutjnl-2012-304269.
- [10] Frazzoni, M., Savarino, E., de Bortoli, N., Martinucci, I., Furnari, M., Frazzoni, L., et al. (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. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 14(1), 40–6. doi: 10.1016/j.cgh.2015.06.026.
- [11] Gyawali, C. P., Kahrilas, P. J., Savarino, E., Zerbib, F., Mion, F., Smout, A. J. P. M., et al. (2018). Modern diagnosis of GERD: the Lyon Consensus. *Gut*, 67(7), 1351–1362. doi: 10.1136/gutjnl-2017-314722.
- [12] Harrison, A. P., Else Danneskiold-Samsøe, B., & Bartels, M. (2013). Portable acoustic myography – a realistic noninvasive method for assessment of muscle activity and coordination in human subjects in

- most home and sports settings. *Physiological Reports*, 1(2), e00029. doi: [10.1002/phy2.29].
- [13] Herregods, T. V. K., Pauwels, A., Tack, J., Smout, A. J. P. M., & Bredenoord, A. J. (2017). Reflux-cough syndrome: assessment of temporal association between reflux episodes and cough bursts. *Neurogastroenterol Motil*, 29(12), 13129. doi: 10.1111/nmo.13129.
- [14] Jobe, B. A., Richter, J. E., Hoppo, T., Peters, J. H., Bell, R., Dengler, W. C., et al. (2013). Preoperative diagnostic workup before antireflux surgery: an evidence and experience-based consensus of the Esophageal Diagnostic Advisory Panel. *J Am Coll Surg*, 2013, 217(4), 586–97. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2013.05.023.
- [15] Kahrilas, P. J., Bredenoord, A. J., Fox, M., Gyawali, C. P., Roman, S., Smout, A. J., et al. (2015). The Chicago Classification of esophageal motility disorders, v3.0. *Neurogastroenterol Motil*, 27(2), 160–74. doi:10.1111/nmo.12477.
- [16] Kandulski, A., Jechorek, D., Caro, C., Weigt, J., Wex, T., Mönkemüller, K., & Malferteiner, P. (2013). Histomorphological differentiation of non-erosive reflux disease and functional heartburn in patients with PPI-refractory heartburn. *Aliment Pharmacol Ther*, 38(6), 643–51. doi: 10.1111/apt.12428.
- [17] Kwiatek, M. A., Pandolfino, J. E., & Kahrilas, P. J. (2011). 3D-high resolution manometry of the esophagogastric junction. *Neurogastroenterol Motil*, 23(11), 461–9. doi: 10.1111/j.1365-2982.2011.01733.x.
- [18] Lin, Z., Xiao, Y., Li, Y., Pandolfino, J. E., Chen, M., & Kahrilas, P. J. (2017). Novel 3D high-resolution manometry metrics for quantifying esophagogastric junction contractility. *Neurogastroenterol Motil*, 29(8), e13054. doi: 10.1111/nmo.13054.
- [19] Moayyedi, P. (2008). Economic reflections on proton pump inhibitor therapy for non-erosive reflux disease. *Digestion*, 78(1), 61–9. doi: 10.1159/000151257.
- [20] Nicodème, F., Soper, N. J., Lin, Z., Pandolfino, J. E., & Kahrilas, P. J. (2015). Calculation of esophagogastric junction vector volume using three-dimensional high-resolution manometry. *Dis Esophagus*, 28(7), 684–90. doi: 10.1111/dote.12262.
- [21] Roman, S., Huot, L., Zerbib, F., Bruley des Varannes, S., Gourcerol, G., Coffin, B., et al. (2016). High-resolution manometry improves the diagnosis of esophageal motility disorders in patients with dysphagia: A randomized multicenter study. *Am J Gastroenterol*, 111(3), 372–80. doi: 10.1038/ajg.2016.1.
- [22] Roman, S., Holloway, R., Keller, J., Herbella, F., Zerbib, F., Xiao, Y., et al. (2017). Validation of criteria for the definition of transient lower esophageal sphincter relaxations using high-resolution manometry. *Neurogastroenterol Motil*, 29(2), 12920. doi: 10.1111/nmo.12920.
- [23] Roman, S., Gyawali, C. P., Savarino, E., Yadlapati, R., Zerbib, F., Wu, J., et al. (2017). Ambulatory reflux monitoring for diagnosis of gastro-esophageal reflux disease: update of the Porto consensus and recommendations from an international consensus group. *Neurogastroenterol Motil*, 29(10), 1–15. doi: 10.1111/nmo.13067.
- [24] Savarino, E., de Bortoli, N., Bellini, M., Galeazzi, F., Ribolsi, M., Salvador, R., et al. (2016). Practice guidelines on the use of esophageal manometry – A GISMAD-SIGE-ALGO medical position statement. *Dig Liver Dis*, 48(10), 1124–35. doi: 10.1016/j.dld.2016.06.021.
- [25] Savarino, E., Bredenoord, A. J., Fox, M., Pandolfino, J. E., Roman, S., & Gyawali, C. P. (2017). Advances in the physiological assessment and diagnosis of GERD. *Gastroenterology & Hepatology*, 14(11), 665–676. doi: 10.1038/nrgastro.2017.130.
- [26] Savarino, E., Zentilin, P., & Savarino, V. (2013). NERD: an umbrella term including heterogeneous subpopulations. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 10(6), 371–80. doi: 10.1038/nrgastro.2013.50.
- [27] Sweis, R., Penagini, R., Mauro, A., Domingues, G., Vales, A., & Sifrim, D. (2015). Inconsistency in the Diagnosis of Functional Heartburn: Usefulness of Prolonged Wireless pH Monitoring in Patients With Proton Pump Inhibitor Refractory Gastroesophageal Reflux Disease. *J Neurogastroenterol Motil*, 21(2), 265–72. doi: 10.5056/jnm14075.
- [28] Takashima, T., Iwakiri, R., Sakata, Y., Yamaguchi, D., Tsuruoka, N., Akutagawa, K., et al. (2012). Endoscopic reflux esophagitis and Helicobacter pylori infection in young healthy Japanese volunteers. *Digestion*, 86(1), 55–8. doi: 10.1159/000338849.
- [29] Turco, R., Ummarino, D., & Staiano, A. (2017). Barium Contrast Radiography and Scintigraphy. *Esophageal and Gastric Disorders in Infancy and Childhood*, 925–934. doi: 10.1007/978-3-642-11202-7_80.
- [30] Wang, Z., Shaheen, N. J., Whiteman, D. C., Anderson, L. A., Vaughan, T. L., Corley, D. A., et al. (2018). Helicobacter pylori Infection Is Associated With Reduced Risk of Barrett's Esophagus: An Analysis of the Barrett's and Esophageal Adenocarcinoma Consortium. *The American Journal of Gastroenterology*, 113(8), 1148–1155. doi: 10.1038/s41395-018-0070-3.
- [31] Xie, C., Li, Y., Zhang, N., Xiong, L., Chen, M., & Xiao, Y. (2017). Gastroesophageal flap valve reflected EGJ morphology and correlated to acid reflux. *BMC Gastroenterol*, 17(1), 118. doi: 10.1186/s12876-017-0693-7.
- [32] Xie, C., Wang, J., Li, Y., Tan, N., Cui, Y., Chen, M., & Xiao, Y. (2017). Esophagogastric junction contractility integral reflected the anti-reflux barrier dysfunction in GERD patients. *J Neurogastroenterol Motil*, 23(1), 27–33. doi: [10.5056/jnm16008].

Clinic morphological features of Goodpasture's syndrome manifested with respiratory disorders

Yu. M. Mostovoy^{1,A,E,F}, A. V. Demchuk^{1,A-D}, T. V. Konstantynovych^{1,A,B,C,E},
N. O. Pentiuk^{1,A,C,D}, L. V. Blazhevskaya^{2,B,C}

¹National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine, ²Vinnytsia City Clinical Hospital № 1, Ukraine

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

Goodpasture's syndrome is one of rare pathological conditions. It stipulates problem of timely diagnostics and prescription of early pathogenic therapy for cessation of progressive autoimmune inflammation and safe of patient's life. Presented clinical case demonstrates difficulties of recognizing Goodpasture's syndrome in case of its debut with dominating symptoms and signs of bacterial affection of the lungs and severe respiratory failure.

Case presentation. We described case of Goodpasture's syndrome in the middle-aged woman (54 years old) which began from symptoms of community-acquired pneumonia, hemoptysis and finished tragically with developing severe respiratory and renal failures.

Conclusions. Management of community-acquired pneumonia patient, who has recurrent hemoptysis, minimal changes of the urinary system, who does not give adequate answer to the antibiotic treatment, must include additional investigation for revealing immunological systemic genesis of pulmonary tissue injury. It improves prognosis by virtue of early use adequate pathogenic therapy.

Key words:

Goodpasture's syndrome, respiratory failure, hemoptysis.

Pathologia

2018; 15 (3), 405–410

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.3.151882

E-mail:

anna.demchuk@i.ua

Клініко-морфологічні особливості перебігу синдрому Гудпасчера, що маніфестував респіраторними розладами

Ю. М. Мостовой, А. В. Демчук, Т. В. Константинович, Н. О. Пентюк, Л. В. Блажевська

Синдром Гудпасчера є одним із рідкісних патологічних станів, що зумовлює проблему його вчасної діагностики та призначення ранньої патогенетичної терапії, яка здатна зупинити прогресування аутоімунного запалення та зберегти життя пацієнта. Наведений клінічний випадок демонструє складності розпізнавання синдрому Гудпасчера у разі його дебюту з домінуванням ознак бактеріального ураження легень і важкої легеневої недостатності.

Представлення випадку. Описали випадок синдрому Гудпасчера в жінки середнього віку (54 роки), який починався із симптомів негоспітальної пневмонії, кровохаркання та трагічно завершився розвитком важкої легеневої та ниркової недостатності.

Висновки. Курація пацієнта з негоспітальною пневмонією, який має рецидивуюче кровохаркання, мінімальні зміни сечовидільної системи та не дає адекватної відповіді на антибактеріальну терапію, має включати додаткові дослідження, що дадуть змогу виявити імунологічний системний генез ураження легеневої паренхіми. Це поліпшить прогноз завдяки ранньому призначенню адекватної патогенетичної терапії.

Ключові слова:

синдром Гудпасчера, легенева недостатність, кровохаркання.

Патология. – 2018. –

Т. 15, № 3(44). – С. 405–410

Клинико-морфологические особенности течения синдрома Гудпасчера, манифестировавшего респираторными расстройствами

Ю. М. Мостовой, А. В. Демчук, Т. В. Константинович, Н. А. Пентюк, Л. В. Блажевская

Синдром Гудпасчера – одно из редких патологических состояний, что обуславливает проблему его своевременной диагностики и назначения ранней патогенетической терапии, способной остановить прогрессирование аутоиммунного воспаления и сохранить жизнь пациента. Представленный клинический случай демонстрирует сложности распознавания синдрома Гудпасчера в случае его дебюта с преобладанием признаков бактериального поражения легких и тяжелой легочной недостаточности.

Представление случая. Описан случай синдрома Гудпасчера у женщины среднего возраста (54 года), который начинался симптомами внебольничной пневмонии, кровохарканьем и трагически завершился развитием тяжелой легочной и почечной недостаточности.

Выводы. Курация пациента с внебольничной пневмонией, который имеет рецидивирующее кровохарканье, минимальные изменения мочевыделительной системы и не дает адекватного ответа на антибактериальную терапию, должна включать дополнительные исследования, позволяющие установить иммунологический системный генез поражения легочной паренхимы. Это улучшит прогноз благодаря раннему назначению адекватной патогенетической терапии.

Ключевые слова:

синдром Гудпасчера, легочная недостаточность, кровохарканье.

Патология. – 2018. –

Т. 15, № 3(44). – С. 405–410

Diagnosis of autoimmune diseases of lung parenchyma remains one of the most difficult problems of modern pulmonology, due to their rare prevalence and the absence of specific clinical signs. One of these diseases that arises due to the production of antibodies to the basement membranes of the renal glomeruli and the pulmonary alveoli, is the Goodpasture's syndrome. It occurs in less than 1 case per million population per year [1] and usually develops in young people (20–30 years) or in elderly people (60–70 years), more often in men [2].

For the first time, this syndrome was described by Harvard pathologist E. Goodpasture during the management of a young man who had a bilateral infiltrative lung injury accompanied with hemoptysis and anemia after influenza. The patient died 6 weeks after the onset of the disease. Alveolar bleeding, diffuse necrosis of the alveoli and proliferative nephritis have been detected during the autopsy. Later, such cases were described by M. Stanton and J. Tange (1958). They proposed the term «Goodpasture's syndrome» [3]. In Ukraine, one of the brightest descriptions of the case of Goodpasture's syndrome was made by Y. M. Mostovoy et al. in 1984 [4].

Clinically Goodpasture's syndrome is manifested with symptoms of simultaneous lung and kidney damage (60–80 % of cases). Kidney damage preceded changes in the lungs in 20–40 % of patients, and in less than 10 % of cases, hemorrhagic vasculitis of the alveolar tissue is advanced, often without clinical signs of lesions of the glomerular apparatus [2,5,6].

The causes of this syndrome are unknown. Its connection with smoking, virus infection (influenza A virus), use of cocaine, inhalation of metal dust, sepsis, treatment with monoclonal antibodies has been revealed [7]. A number of convincing data regarding the genetically determined nature of this disease have been obtained. Patients with HLA-DR15 and DR4 mutations have an increased risk of Goodpasture's syndrome compared to DR1 and DR7 carriers. A specific molecular analysis of the DR β chains revealed a special sequence of six amino acids common for DRw15 and DR4, which may increase the risk of developing Goodpasture's syndrome. The indicated sequence is absent in the carriers of HLA-DRB1 [8–10].

The basis of the pathogenesis of Goodpasture's syndrome is the formation of anti-glomerular basement membrane (GBM) antibody to the capillaries of the kidneys and alveoli. These antibodies belong to the IgG class, they are directed against the non-collagen (NC-1) domain of the alpha-3 chain of the type IV collagen, which at the highest concentration is presented in the basement membranes of the pulmonary and renal capillaries [1]. Smoking, viral infections of the respiratory system, inhalation of hydrocarbanates activates the presentation of antigens of alveolar capillaries for circulating antibodies in people with hereditary predisposition. Circulating anti-GBM antibodies bind to basement membranes, fix the complement and cause the immune-inflammatory process in the renal glomeruli (glomerulonephritis) and alveoli (alveolitis). The main participating cells in immune inflammation are T-lymphocytes, monocytes, endothelial cells, polymorphonuclear leukocytes, and alveolar macrophages. Interaction between them is provided by molecular mediators, cytokines. Important role in

the development of immune inflammation is played by metabolites of arachidonic acid, free oxygen radicals, proteolytic enzymes, adhesion molecules [1,7,11,12].

The activation of alveolar macrophages, which produce about 40 cytokines, is extremely important in the development of alveolitis. Group I cytokines (chemotaxins, leukotrienes, interleukin-8) increase the migration of polymorphonuclear leukocytes in the lungs. Cytokines of II group (growth factors of platelet and macrophage) contribute to the transfer of fibroblasts in the lungs, which leads to the rapid development of proliferative-sclerotic processes. Alveolar macrophages also produce active forms of oxygen, proteases that destroy the tissue, causing alveolar hemorrhage [1,7].

The immuno-inflammatory process has a rapid progressive development and often presented with a nonspecific clinical symptoms and signs. Considering the rareness of the Goodpasture's syndrome, it raises the problem of early diagnosis. The timely recognition of anti-GBM antibodies disease, when the function of the kidneys and lungs is still preserved, is the key to the effectiveness of modern pathogenetic treatment, which allows recovery in the vast majority of patients. Otherwise, the fulminant development of respiratory and renal failure leads to a lethal outcome [7,11,12].

We present ourselves a clinical case of the Goodpasture's syndrome with dominating rapidly progressing respiratory symptoms, which made it difficult to diagnose.

Case presentation

Patient A., 54 years-old female, was admitted to the pulmonology department with complaints of cough with mucous-purulent sputum, hemoptysis, fever with body temperature up to 38.7 °C, shortness of breath during mild activity, decreased appetite, weight loss. The disease began acutely 18 days before hospitalization. Suddenly body temperature increased, dry cough arose. She received paracetamol for treatment. When hemoptysis appeared, the patient called "ambulance" and was taken to a hospital.

From the anamnesis it is known, the patient suffered from anemia during the last 17 years and its cause was not established. Treatment for anemia has not been received.

During an objective examination, the patient's condition was severe. Skin and mucous membranes were pale. Tachypnea was 32 per minute. Percussion determined the areas of small dull sound in the lower part of the both lungs. During auscultation rough vesicular breathing, fine moist rales were heard over the entire surface of the lungs. Pulse was 102 per minute, rhythmic, weak filling. Arterial pressure was 90/60 mm Hg. The heart sounds were rhythmic, weakened. Oxygen saturation was 90 %. Palpation of the stomach revealed painfulness in the right hypochondrium, the liver was 3 cm below the edge of the rib arc. The Pasternatsky's symptom was negative, peripheral edema was absent.

According to laboratory tests and instrumental investigations it was determined:

Anemia (hemoglobin 76 g/l, erythrocytes $2.1 \times 10^{12}/l$, hematocrit 23 %).

Urinalysis revealed a small proteinuria (protein – 0,066 g/l), erythrocytes 0–4 in field of view, single hyaline cylinders.

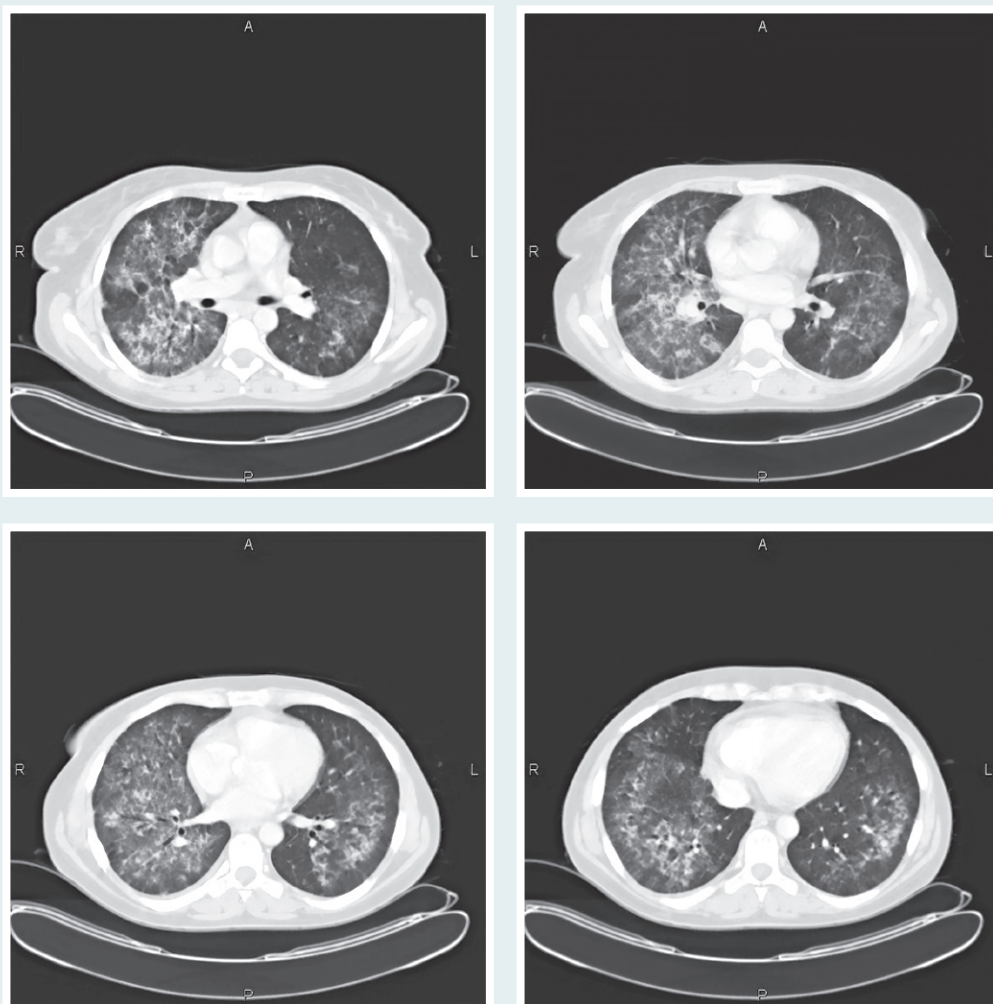


Fig. 1. CT scan of the patient A. Multiple focal of infiltration of the pulmonary tissue of round and irregular shape, thickening of the interstitial membranes, fibrinous changes, hollow structures, lymphadenopathy of the mediastinum.

Chest X-ray: there were parenchymal nodules and consolidation, more pronounced in the basal segments. The right hilum was not differentiated due to infiltration. The left hilum was non-structural. Heart was not changed. Conclusion: bilateral polysegmental pneumonia.

Chest CT scan: Lymphadenopathy of the mediastinum (enlargement of intrathoracic lymph nodes up to 20 × 11 mm), diffused decrease in the pneumatization of both lungs due to multiple infiltration of round and irregular shape, up to 25 mm in size. Uneven thickening of the intercellular membranes and fibrous changes with the formation of hollow structures up to 15 mm. Peripheral parts of the lungs were clear (Fig. 1).

In the sputum analysis – erythrocytes in large quantities, leukocytes 20–25 in the field of view, cocci.

Biochemical tests did not reveal pathological changes. ECG data, echocardiography were within the norm. Ultrasound examination of the abdominal cavity revealed signs of chronic pyelonephritis, and renal calculi.

Based on the obtained data, the diagnosis was established: Community-acquired pneumonia of the upper, middle and lower lobes of the right lung, upper and lower lobes of the left lung, severe course, IV group. Respiratory failure of III degree. Hemoptysis.

Taking into account severity of the patient's condition for the treatment of community-acquired pneumonia, she was given a combined antibiotic therapy: intravenous infusion of levofloxacin 500 mg once daily, ceftriaxone/sulbactamix 1.0 g twice daily, amikacin 1.0 g once a day. For symptomatic treatment of hemoptysis hemostatic drugs were prescribed (aminocaproic acid 5 %, 100 ml intravenously once a day, dicinone 2 ml intramuscularly once a day), for the correction of anemic syndrome – drugs that influence the synthesis of hemoglobin (vitamin B12 up to 500 units once a day intramuscularly, folic acid – 1 tablet, 3 times a day, inside), transfusion of erythrocyte mass (100 ml intravenously, once a week), oxygen therapy.

During a week, the patient's condition improved: body temperature was normalized, cough, shortness of breath, hemoptysis, sputum excretion decreased. According to the full blood test, anemia was stable. Control chest X-ray revealed a decrease in infiltrative changes of the lungs.

Taking into account the presence of hemoptysis in the patient and the peculiarities of lung infiltration during the hospital stay, a differential diagnostic search for a possible cause of hemoptysis was conducted.

To confirm or exclude lung cancer, tuberculosis, a cytological and bacteriological sputum examinations were performed. They did not detect malignant cells, mycobac-

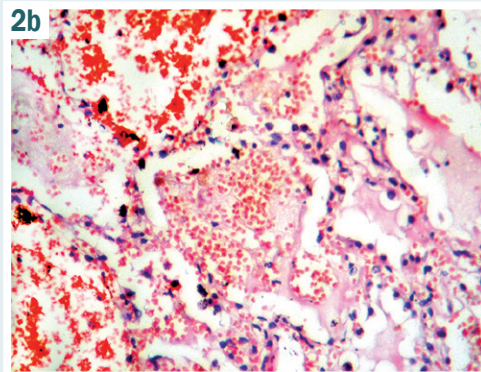
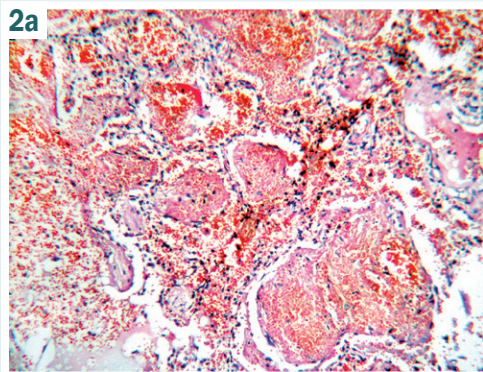


Fig. 2. Photomicrograph of histological preparations of lungs patient A.

Hematoxylin and eosin. Magnification $\times 100$ (a) and $\times 200$ (b).

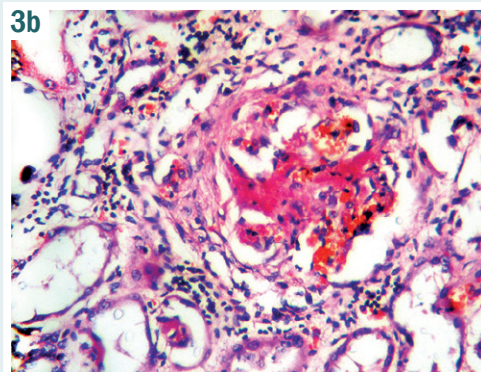
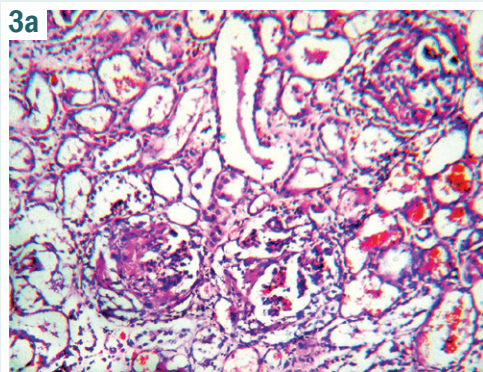


Fig. 3. Photomicrograph of histological preparations of kidney patient A.

Hematoxylin and eosin. Magnification $\times 100$ (a) and $\times 200$ (b).

terium tuberculosis and other morphological features of the tuberculosis process.

Biopsy of the pulmonary parenchyma would confirm bronchoalveolar cancer or interstitial lung disease (sarcoidosis, idiopathic pulmonary fibrosis), or rare lung syndromes (Goodpasture's syndrome, hemorrhagic vasculitis). The patient refused from transthoracic pulmonary biopsy.

However, two weeks after the onset of treatment, the patient's condition worsened again: body temperature increased to 38 °C, shortness of breath, weakness, cough increased. There was discomfort in the lumbar region. There was an episode of loss of consciousness, after which signs of respiratory failure increased – severe dyspnea, cyanosis, the oxygen saturation decreased to 77 %. In the full blood test signs of progression of anemia were found. In the urinalysis – macrohematuria (50–60 red blood cells in the field of view), leukocyturia, proteinuria of 0.15 g/l, which was evaluated as signs of chronic pyelonephritis exacerbation. According to ultrasound examination of the abdominal cavity, signs of splenomegaly, echocardiography – exudative pericarditis have been revealed.

It was assumed that a possible deterioration in the patient's condition was associated with the ineffectiveness of antibiotic therapy because the disease was caused either by resistant pathogens or non-bacterial infection. As a result, the antibacterial treatment of the patient was replaced. She was prescribed meropenem intravenously 1.0 g every 8 hours, linezolid 600 mg twice daily, fluconazole 150 mg once daily, moxifloxacin 400 mg once daily.

Progression of anemia, an episode of loss of consciousness, accompanied by a deterioration of respiratory

failure, gave reason to think about a possible occult pulmonary haemorrhage. Signs of the progressive inflammatory process against the background of antibiotic therapy have made it possible to assume the immunological or neoplastic pathogenesis of the disease.

Considering confirmation of these pathological changes in the pulmonary tissue can only be obtained by morphological study the patient was offered a transthoracic lung biopsy, but she refused the procedure.

On the other hand, an immunological study was performed to detect lung injury as a component of systemic connective tissue disease (vasculitis, systemic lupus erythematosus, Goodpasture's syndrome, etc.). It revealed an increase in IgG anti-GBM-antibodies (7.7 times) which was the confirmation of a rare systemic disease with combined lung and kidney damage – Goodpasture's syndrome or anti-GBM-antibodies disease.

The current treatment of this syndrome includes the immunosuppressive therapy using pulse therapy with systemic corticosteroids and cyclophosphamide in combination with plasmapheresis [10–12].

After diagnosis conformation, the patient received methylprednisolone in pulse therapy. Due to progression of respiratory failure, she was given artificial ventilation of the lungs with the help of the "Fabius" apparatus in the BiPAP mode. For the correction of anemic syndrome, an erythrocyte mass (100 ml) was re-administered. Parenteral nutrition was carried out using glucose and amino acids.

In spite of the treatment the patient's condition progressively deteriorated: signs of kidney damage increased – hematuria, proteinuria, cylindruria, renal failure. Despite the adequate artificial ventilation of the lungs,

the respiratory failure progressed and acute heart failure arose. The patient died on the 23rd day of hospitalization.

According to the results of the autopsy, the diagnosis of Goodpasture's syndrome was confirmed. Morphological signs of edema, hemorrhagic pulmonary syndrome and diffuse proliferative-productive glomerulonephritis were revealed (Fig. 2, 3).

In the lungs, alveolitis with a massive hemorrhagic exudate, eosinophilic deposits, the formation of hyaline membranes in the lumen of the alveoli, and hemosiderosis were observed. In the interstitial membranes there were signs of capillaritis with the phenomena of proliferation, hyalinosis, pneumofibrosis (Fig. 2).

In the kidney examination, extracapillar, focal, segmental, and necrotizing glomerulonephritis were determined with eosinophilic deposits on the basement membranes of the Shumlyansky–Bowman capsule, in places with total sclerosis of the glomeruli (Fig. 3).

The cause of the patient's death was progressive respiratory failure.

Discussion

The presented clinical case of Goodpasture's syndrome in a middle-aged female demonstrates the complexity of diagnosing rare systemic diseases affecting the alveolar parenchyma. During hospitalization of the patient signs of bacterial infection and respiratory failure were dominated on the background of chronic anemia of unknown origin.

The infiltrative changes in the lungs were interpreted as signs of severe community-acquired pneumonia and the patient received appropriate treatment. The absence of convincing signs of kidney damage in the present case caused the delay in diagnosing this syndrome.

During the stay in a hospital, the patient's condition was changed wavelikely. After a primary antibiotic therapy, a short-term improvement was noted. However, subsequently, signs of respiratory failure increased again, hyperthermia persisted, pulmonary bleeding developed, anemic syndrome, renal insufficiency increased. The immunological examination with the detection of high IgG titers of the anti-GBM-antibodies was decisive test for the correct diagnosis – the Goodpasture's syndrome. Despite the prescribed pathogenetic treatment, it was not possible to stop the development of the fatal outcome.

According to the data of different studies, the use of pathogenetic treatment in the absence of signs of respiratory and renal failure leads to the survival of 86.9 % of patients within one year; otherwise, the vast majority of patients die within several weeks or months after diagnosis [12,13]. Patient survival rates improved significantly after 2007, which are associated with the timely use of immunosuppressive therapy and plasmapheresis, however, dependence on hemodialysis, a decrease in the number of normal functioning nephrons and widened infiltrating changes in interstitial tissue considerably worsen the prognosis of patients [14]. There are few references to the effective use of rituximab, which is able to radically affect the key mechanisms of immunopathogenesis – to remove activated B-cells that produce anti-GBM-antibodies. The drug contributed to the positive change of the course of the disease, which was compli-

cated by severe respiratory and renal failure, resulting in a complete reversion of lung injury, saving the patient's life, but the function of the kidneys did not resume [15].

Conclusions

Management of the patient with acute onset of disease, recurrent hemoptysis, minimal urinary tract changes, progressive respiratory failure, and fever, who does not provide an adequate response to antibiotic therapy, should include additional investigations and tests to detect the immunological systemic genesis of lung parenchyma injury. This will positively affect the outcome due to the early prescription of adequate pathogenetic therapy.

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

Information about authors:

Mostovoy Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Propedeutics of Internal Medicine, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.
Demchuk A. V., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Professor of the Department of Propedeutics of Internal Medicine, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.
Konstantynovych T. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Propedeutics of Internal Medicine, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.
Pentiuk N. O., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Professor of the Department of Propedeutics of Internal Medicine, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.
Blazhevska L. V., Head of Pulmonology Department, Vinnytsia City Clinical Hospital #1, Ukraine.

Відомості про авторів:

Мостовой Ю. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. пропедевтики внутрішньої медицини, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.
Демчук А. В., д-р мед. наук, доцент, професор каф. пропедевтики внутрішньої медицини, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.
Константинович Т. В., д-р мед. наук, професор каф. пропедевтики внутрішньої медицини, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.
Пентюк Н. О., д-р мед. наук, доцент, професор каф. пропедевтики внутрішньої медицини, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.
Блажевська Л. В., зав. пульмонологічного відділення, КНП «Вінницька міська клінічна лікарня № 1», Україна.

Сведения об авторах:

Мостовой Ю. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. пропедевтики внутренней медицины, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.
Демчук А. В., д-р мед. наук, доцент, профессор каф. пропедевтики внутренней медицины, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.
Константинович Т. В., д-р мед. наук, профессор каф. пропедевтики внутренней медицины, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.
Пентюк Н. А., д-р мед. наук, доцент, профессор каф. пропедевтики внутренней медицины, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Блажевская Л. В., зав. пульмонологическим отделением, КНП «Винницкая городская клиническая больница № 1», Украина.

Надійшла до редакції / Received: 12.10.2018

Після доопрацювання / Revised: 24.10.2018

Прийнято до друку / Accepted: 05.11.2018

References

- [1] Lahmer, T., & Heemann, U. (2012) Anti-glomerular basement membrane antibody disease: a rare autoimmune disorder affecting the kidney and the lung. *Autoimmun Rev*, 12(2), 169–173. doi: 10.1016/j.autrev.2012.04.002.
- [2] Kathuria, P., Sanghera, P., Stevenson F. T., & Sharma S. (2017) Goodpasture Syndrome. *Medscape Reference: WebMD*. Retrieved from <https://emedicine.medscape.com/article/240556-overview>.
- [3] Stanton, M. C., & Tange, J. D. (1958) Goodpasture's syndrome (pulmonary haemorrhage associated with glomerulonephritis). *Australas Ann Med*, 7(2), 132–144.
- [4] Mostovoj, Y. M., & Demchuk, A. V. (2008) Sindrom Gudpaschera [Goodpasture Syndrome]. *Zdorovia Ukrainy*, 3/1, 56–57. Retrieved from <http://health-ua.com/article/16926-sindrom-gudpaschera>. [in Russian].
- [5] Pedchenko, V., Bondar, O., Fogo, A. B., Vanacore, R., Voziyani, P., Kitching, A. R., et al. (2010) Molecular architecture of the Goodpasture autoantigen in anti-GBM nephritis. *N Engl J Med*, 363(4), 343–354. doi: 10.1056/NEJMoa0910500.
- [6] Scollo, V., Zanolli, L., Russo, E., Distefano, G., & Rapisarda, F. A. (2017) Case of Rare Diffuse Alveolar Hemorrhage and Review of Literature *Clin Med Insights Case Rep*, 10, 1179547617726077. doi: 10.1177/1179547617726077.
- [7] Yang, R., Cui, Z., Zhao, J., & Zhao, M. H. (2009) The role of HLA-DRB1 alleles on susceptibility of Chinese patients with anti-GBM disease. *Clin Immunol*, 133(2), 245–250. doi: 10.1016/j.clim.2009.07.005.
- [8] Kitagawa, W., Imai, H., Komatsuda, A., Maki, N., Wakui, H., Hiki, Y., & Sugiyama, S. (2008) The HLA-DRB1*1501 allele is prevalent among Japanese patients with anti-glomerular basement membrane antibody-mediated disease. *Nephrol Dial Transplant*, 23(10), 3126–3129. doi: 10.1093/ndt/gfn179.
- [9] Fisher, M., Pusey, C. D., Vaughan, R. W., & Rees, A. J. (1997) Susceptibility to anti-glomerular basement membrane disease is strongly associated with HLA-DRB1 genes. *Kidney Int*, 51(1), 222–229. doi: <https://doi.org/10.1038/ki.1997.27>.
- [10] Dammacco, F., Battaglia, S., Gesualdo, L., & Rakanelli, V. (2013) Goodpasture's disease: a report of ten cases and a review of the literature. *Autoimmune Rev*, 12(11), 1101–1108. doi: 10.1016/j.autorev.2013.06.014.
- [11] Greco, A., Rizzo, M. I., De Virgilio, A., Gallo, A., Fusconi, M., Pagliuca, G., et al. (2015) Goodpasture's syndrome: a clinical update. *Autoimmune Rev*, 14(3), 246–253. doi: 10.1016/j.autrev.2014.11.006.
- [12] Stojkovic, J., Zejnel, S., Gerasimovska, B., Gerasimovska, V., Stojkovic, D., Trajkovski, M., et al. (2016) Goodpasture syndrome diagnosed one year and a half after the appearance of the first symptoms (case report). *Open Access Maced J Med Sci*, 4(4), 683–687. doi: 10.3889/oamjms.2016.127.
- [13] Huat, A., Josse, A. G., Chauveau, D., Korach, J. M., Heshmati, F., Bauvin, E., et al. (2016) Outcomes of patients with Goodpasture syndrome: a nationwide cohort-based study from the French Society of Hemapheresis. *J Autoimmun.*, 73, 24–29. doi: 10.1016/j.jaut.2016.05.015.
- [14] Van Daalen, E. E., Jennette, J. C., McAdoo, S. P., Pusey, C. D., Alba, M. A., Poulton, C. J., et al. (2018) Predicting outcome in patients with anti-GBM glomerulonephritis. *Clin J Am Soc Nephrol*, 13(1), 63–72. doi: 10.2215/CJN.04290417.
- [15] Iaromenko, O. B., Golovach, I. Yu., Stelmashchuk, V. P., Myasnyi, I. S., Mikhalchenko, E. M., Matijko, V. N., & Petrenko, L. V. (2018) Blagopriyatnyj iskhod gemorragicheskogo al'veolita, obuslovlennogo boleznyu antitel k bazal'noj membrane pochechnykh klubochkov, pri lechenii rituksimabom [A favorable outcome of hemorrhagic alveolitis caused by antibodies to glomerular basement membrane, in the treatment with rituximab]. *Ukrainskyi pulmonologichnyi zhurnal*, 2, 39–46. [in Russian]. doi: 10.31215/2306-4927-2018-100-2-39-46.