

Патологія



Том 17, № 1(48), січень – квітень 2020 р.

Редакційна колегія

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

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

Editorial Board

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

Науково-практичний медичний журнал Запорізького державного медичного університету

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

Атестований

як наукове фахове видання України категорії «А», в якому можуть публікуватися результати дисертаційних робіт доктора філософії, доктора та кандидата наук. Галузь знань – охорона здоров'я (22); спеціальності: медицина – 222, педіатрія – 228, стоматологія – 221, технології медичної діагностики та лікування – 224 (наказ МОН України № 1301 від 15.10.2019 р.)

Журнал включений до WEB OF SCIENCE™

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

Ліцензія Creative Commons



Рекомендовано до друку

Вченою радою ЗДМУ
протокол № 8 від 10.03.2020 р.
Підписано до друку
07.05.2020 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 60x84/8. Папір крейдяний, безкислотний, Умов. друк. арк. 6. Тираж 200 прим. Зам. № 4/20.

Pathologia

Volume 17 No. 1 January – April 2020

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

Submit papers are peer-reviewed

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

Оригінальні дослідження

**Поліщук М. Є., Виваль М. Б., Гончарук О. М.,
Муравський А. В., Обливач А. А.**

Фактори ризику клінічного погіршення при забоях
головного мозку

**Матковська Н. Р., Вірстюк Н. Г., Герич П. Р., Балан У. В.,
Перцович Ю. В.**

Зміни показників фіброзу у хворих на алкогольний цироз печінки
у поєднанні з неалкогольною жировою хворобою печінки
залежно від стадії цирозу

Колеснік О. П., Кузьменко В. О.

ERCC1 як маркер прогнозу та чутливості до платиновмісної
хіміотерапії в пацієнтів із III–IV стадіями недрібноклітинного раку
легені

Кривенко В. І., Світлицька О. А.

Дослідження маркера міокардіального стресу ST2 у хворих
на обструктивне апное сну та гастроєзофагеальну рефлюксну
хворобу

Леженко Г. О., Погрибна А. О.

Роль Toll-подібних рецепторів-4 в патогенезі розвитку анемії
запалення в дітей раннього віку

Гайдаш І. С., Бурцев О. В.

Балан прозапальних і протизапальних цитокінів у рідині
радикулярних кіст щелеп у дорослих при асимптоматичному та
клінічно маніфестному перебігу хвороби

Гармаш О. В., Рябоконь Є. М.

Доцільність дослідження однонуклеотидних поліморфізмів генів
ESR1 [rs2234693], CYP19A1 [rs2414096] та IL10 [rs1800896]
як можливих маркерів ризику розвитку зубощелепних порушень
в осіб, які народилися макросомами

Авраменко Ю. Н.

Иммуногистохимическая характеристика процессов ангиогенеза
в ткани головного мозга при сахарном диабете 2 типа

**Мавров Г. І., Осінська Т. В.,
Федорич П. В.**

Клініко-епідеміологічні характеристики і морфологічні особливості
сучасного сечостатевого трихомоніозу

Шулятникова Т. В., Шаврин В. А.

Ультраструктурные особенности состояния астроглиальной
эндосомальной системы при сепсис-ассоциированной
энцефалопатии

Ясінський Р. М., Разнатовська О. М.

Зміни рівнів прогормона вітаміну D 25(OH)D у хворих на
неефективно лікований уперше діагностований туберкульоз легень

Шарікадзе О. В., Охотнікова О. М.

Можливості сублінгвальної алерген-специфічної імунотерапії
в дітей дошкільного віку з сенсibiliзацією до алергенів цвілевих
грибів

Original research

**4 Polishchuk M. Ye., Vyval M. B., Honcharuk O. M.,
Muravskyi A. V., Oblyvach A. A.**

Risk factors of clinical deterioration in cerebral contusions

**10 Matkovska N. R., Virstiuk N. H., Herych P. R., Balan U. V.,
Pertsovych Yu. V.**

Changes in indicators of fibrosis in patients with alcoholic
liver cirrhosis associated with non-alcoholic fatty liver disease
depending on the stage of cirrhosis

15 Kolesnik O. P., Kuzmenko V. O.

ERCC1 as a marker of prognosis and sensitivity to platinum-
based chemotherapy in patients with stage III–IV non-small
cell lung cancer

21 Kryvenko V. I., Svitlytska O. A.

ST2 myocardial stress marker research in patients with
obstructive sleep apnea and gastroesophageal reflux disease

26 Lezhenko H. O., Pogribna A. O.

The role of Toll-like receptors-4 in the pathogenesis of
development of anemia of inflammation in young children

32 Haidash I. S., Burtsev O. V.

The balance of pro-inflammatory and anti-inflammatory
cytokines in the fluid of the radicular cysts of the jaws in adults
in asymptomatic and clinically manifest course of the disease

37 Garmash O. V., Riabokon Ye. M.

Expediency of the study of the ESR1 [rs 2234693], CYP19A1
[rs2414096], and IL10 [rs1800896] single nucleotide
polymorphisms as feasible markers of risk that malocclusion
develops in persons born macrosomic

46 Avramenko Yu. M.

Immunohistochemical characteristics of the angiogenesis
processes in brain tissue in diabetes mellitus type 2

**52 Mavrov H. I., Osinska T. V.,
Fedorych P. V.**

Clinical and epidemiological characteristics and morphological
peculiarities of urogenital trichomoniasis nowadays

60 Shuliatnikova T. V., Shavrin V. O.

Ultrastructural features of astroglial endosomal system state
in sepsis-associated encephalopathy

68 Yasynskyi R. M., Raznatovska O. M.

Changes of the pro-hormone levels of vitamin D 25(OH)D
in patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis
treatment failure

75 Sharikadze O. V., Okhotnikova O. M.

Possibilities of sublingual allergen-specific immunotherapy
in preschool children with sensitization to mold fungus
allergens

Оригінальні дослідження

Хоміцький М. Є.

Алгоритм діагностичної диференціації шизоафективного розладу від інших ендогенних психозів з епізодичним перебігом (шизофренія та афективні розлади)

Пашкова О. Є., Лисенко К. П.

Стан рухливості хребта в дітей, які хворі на цукровий діабет, та фактори, що на нього впливають

Огляди

Зупанець І. А., Шебеко С. К., Безугла Н. П., Отрішко І. А.

Патофізіологічне обґрунтування ефективності застосування кверцетину в терапії коронавірусної хвороби (COVID-19)

Туманський В. А., Туманская Л. М.

Клинико-патоморфологические параметры смерти мозга: от истоков концепции до ее применения при трансплантации органов

Сизова Л. М., Коваль Т. І., Ільченко В. І., Звягольська І. М., Ізюмська О. М.

Сучасний погляд на роль Toll-подібних рецепторів у функціонуванні імунної системи та імунопатогенезі хронічного гепатиту С (огляд літератури)

Клінічний випадок

Говсєєв Д. О., Крижановська О. І., Берестовий В. О.

Псевдоперитоніт на тлі кетоацидотичного стану у вагітної (клінічний випадок)

Разнатовська О. М., Сюсюка В. Г., Федорець А. В., Пирог А. І., Макуріна Г. І.

Клінічні випадки ведення та лікування жінок, які хворі на хіміорезистентний туберкульоз під час вагітності

Original research

80 Khomitskyi M. Ye.

An algorithm for the diagnostic differentiation of schizoaffective disorder and other endogenous psychoses with episodic course (schizophrenia and affective disorders)

86 Pashkova O. Ye., Lysenko K. P.

Spinal mobility in children with diabetes and factors, which influence it

Review

93 Zupanets I. A., Shebeko S. K., Bezugla N. P., Otrishko I. A.

Pathophysiological substantiation of the effectiveness of quercetine use in coronavirus disease (COVID-19) therapy

102 Tumanskyi V. O., Tumanska L. M.

Clinical and pathomorphological parameters of brain death: from the origins of the concept to its use in organ transplantation

114 Syzova L. M., Koval T. I., Ilchenko V. I., Zviahol'ska I. M., Izium'ska O. M.

The impact of Toll-like receptors on the immune system functioning and on the immunopathogenesis of chronic hepatitis C: a modern view (literature review)

Case report

122 Hovsieiev D. O., Kryzhanovska O. I., Berestovyi V. O.

Pseudoperitonitis on the background of a ketoacidotic state in a pregnant woman (clinical case)

127 Raznatovska O. M., Siusiuka V. H., Fedorec A. V., Pyroh A. I., Makurina H. I.

Clinical cases of management and treatment of women with chemoresistant tuberculosis during pregnancy

Міжнародна індексація журналу / Indexing

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

Ulrich's Periodicals Directory (CША)

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

The National Library of Medicine (CША): http://locatorplus.gov/cgi-bin/Pwebrecon.cgi?v1=1&ti=1,1&SearchArg=Pathologia&Search_Code=JALL&SL=None&CNT=25&PID=gATyrKW75IFCFltxUc1ajaR9n&SEQ=20141105025042&SID=3

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

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

getCITED (CША): <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=dcresde&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 (CША): http://www.citefactor.org/journal/index/10492/pathologia#.VDJGUWd_smg

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

Фактори ризику клінічного погіршення при забоях головного мозку

М. Є. Поліщук^{*1,A,F}, М. Б. Виваль^{1,B,C}, О. М. Гончарук^{1,D}, А. В. Муравський^{1,B,C},
А. А. Обливач^{2,B,C}

¹Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна, ²Київська міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги, 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:
черепно-мозкова травма, забій головного мозку, клінічне погіршення.

Патологія. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 4-9

*E-mail:
neuroprofessor@gmail.com

Визначення взаємозв'язку між радіологічним збільшенням забою головного мозку та клінічною картиною – предмет багатьох досліджень.

Мета роботи – виявити чинники, які асоціюються з клінічним погіршенням у пацієнтів із забоями головного мозку.

Матеріали та методи. У дослідження залучили 148 пацієнтів із забоями головного мозку, які перебували на лікуванні в Київській міській клінічній лікарні швидкої медичної допомоги у 2016–2017 рр.

Результати. В ясній свідомості або приглушенні перебували 43,9 % пацієнтів, у сопорі – 31,8 %, у комі – 24,3 %. Середній час до КТ-обстеження – $4,3 \pm 3,3$ години. Ушкодження мозку за класифікацією Marshall: II тип – 60,8 %, III – 26,4 %, IV – 8,8 %, VI – 4,1 % пацієнтів; I і V типи належали до критеріїв виключення. В перші 24 години клінічне погіршення визначили в 18,9 %, поліпшення – у 16,2 %, стабільний неврологічний статус – у 64,8 % хворих. Стан 5,4 % пацієнтів погіршився після першої доби (на 2–8 добу). Причиною клінічного погіршення була геморагічна прогресія забоїв, збільшення розмірів епі-субдуральної гематоми, набряку головного мозку. Аналіз результатів лікування пацієнтів з клінічним погіршенням показав більший ризик несприятливого результату (1–3 бали за шкалою наслідків Глазго на час виписування) порівняно із пацієнтами без клінічного погіршення.

Висновки. Коматозний стан хворого, розмір забою понад 25 см³, зміщення серединних структур, компресія базальних цистерн та епідуральні нашарування крові є факторами ризику клінічного погіршення. Раннє визначення геморагічної прогресії забоїв та клінічного погіршення зі своєчасною корекцією лікувальної тактики є важливими в лікуванні пацієнтів із забоями мозку.

Key words:
traumatic brain injury, brain contusion, clinical deterioration.

Pathologia
2020; 17 (1), 4-9

Risk factors of clinical deterioration in cerebral contusions

M. Ye. Polishchuk, M. B. Vyval, O. M. Honcharuk, A. V. Muravskiy, A. A. Oblyvach

Evaluation of the relationship between radiological progression of cerebral contusion and clinical course is the object of many recent studies.

The aim of the study is to identify factors that are associated with clinical deterioration in patients with brain contusions.

Materials and methods. The study included 148 patients with brain injuries, who were treated at the Kiev City Clinical Emergency Hospital in 2016–2017.

Results. 43.9 % patients were in conscious or obtunded, 31.8 % were in stupor and 24.3 % in a coma. The average time to computed tomography was 4.3 ± 3.3 hours. Brain damage according to Marshall classification: type II – 60.8 %, type III – 26.4 %, IV – 8.8 %, type VI – 4.1 % patients, types I and V belonged to exclusion criteria. In the first 24 hours, clinical deterioration was found in 18.9 %, improvement in 16.2 % and stable neurological status in 64.8 % patients. Another 5.4 % patients worsened after the first day (on days 2–8). The cause of the clinical deterioration was the hemorrhagic progression of contusion, the increase of the epi-subdural hematoma, and brain edema. An analysis of treatment outcomes in patients with clinical deterioration revealed a higher risk of adverse outcome (1–3 points on the Glasgow outcome scale at discharge) compared to patients without clinical deterioration.

Conclusions. Low Glasgow coma scale score at admission, the size of the contusion more than 25 ml, midline shift, basal cisterns compression and epidural hematoma were the risk factors of the clinical deterioration. The early determination of secondary hemorrhagic progression of contusion and clinical deterioration with modification of treatment strategy are important in improving the prognosis after traumatic brain injury.

Ключевые слова:
черепно-мозговая травма, ушиб головного мозга, клиническое ухудшение.

Патология. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 4-9

Факторы риска клинического ухудшения при ушибах головного мозга

Н. Е. Полищук, Н. Б. Виваль, О. Н. Гончарук, А. В. Муравский, А. А. Обливач

Определение взаимосвязи между радиологическим увеличением ушиба головного мозга и клинической картиной – предмет многих исследований.

Цель работы – установить факторы, которые ассоциируются с клиническим ухудшением у пациентов с ушибами головного мозга.

Матеріали і методи. В дослідження включено 148 пацієнтів з ушибами головного мозку, які були на лікуванні в Київській міській клінічній лікарні швидкої медичної допомоги в 2016–2017 рр.

Результати. В ясному свідомості або приглушенні знаходилися 43,9 % пацієнтів, в сопорі – 31,8 %, в комі – 24,3 %. Середнє час до КТ-обстеження – $4,3 \pm 3,3$ год. Пошкодження мозку за класифікацією Marshall: II тип – 60,8 %, III – 26,4 %, IV – 8,8 %, VI – 4,1 % пацієнтів; I і V типи належали критеріям виключення. В перші 24 год клінічне погіршення відзначено у 18,9 % хворих, покращення – у 16,2 %, стабільний неврологічний статус – у 64,8 % хворих. Стан 5,4 % пацієнтів погіршився після перших сутки (на 2–8 сутки). Причини клінічного погіршення: геморагічна прогресія ушибів, збільшення розмірів епі-субдуральної гематоми, набряток головного мозку. Аналіз результатів лікування пацієнтів з клінічним погіршенням показав великий ризик несприятливого результату (1–3 бали за шкалою результатів Глазго при виписці) порівняно з пацієнтами без клінічного погіршення.

Висновки. Коматозний стан хворого, розмір ушиба більше 25 см³, зміщення середніх структур, компресія базальних цистерн і епідуральні набльшки крові – фактори ризику клінічного погіршення. Раннє визначення геморагічної прогресії ушибів і клінічного погіршення з своєчасною корекцією лікувальної тактики важливі в лікуванні пацієнтів з ушибами мозку.

Черепно-мозкова травма (ЧМТ) поширена у всьому світі – щороку у 64–74 млн осіб діагностують важкі, неврологічні розлади, що інвалідизують [1]. Забій головного мозку (ЗГМ) є тяжким ушкодженням, що виникає у 8,2 % випадків травм голови, при важкій черепно-мозковій травмі – у 13–35 %, є причиною 20 % нейрохірургічних втручань, які виконують із приводу ЧМТ [2]. Результати лікування ЧМТ значно зумовлені місцем ЗГМ, об'ємом і тяжкістю ушкодження. Первинна ЧМТ продовжує пошкоджувати мозок через механізми вторинної травми, і вторинна геморагічна прогресія є одним із таких руйнівних процесів при забоях головного мозку [3]. Важливим наслідком вторинних змін при забоях головного мозку є їхній зв'язок із клінічним погіршенням, що часто відіграє визначальну роль у клінічному перебігу ЧМТ та суттєво погіршує результати лікування. Визначення терміну клінічне погіршення варіює у фаховій літературі, але зазвичай його трактують як зниження рівня свідомості за Шкалою ком Глазго (ШКГ) на 2 бали або появу нових неврологічних порушень під час стаціонарного лікування пацієнта [4].

Клінічне погіршення в пацієнтів із ЗГМ пов'язане з еволюцією гематоми, так званою вторинною геморагічною прогресією забой (ВГПЗ), збільшенням набряку, появою або збільшенням зміщення середніх структур і компресією базальних цистерн. Але не в усіх пацієнтів із прогресуванням забой визначають клінічне погіршення [5]. Ці спостереження мають чіткий зв'язок із хірургічними показаннями в пацієнтів із ЗГМ. Фактори, котрі використовують нині як керівництва, зазвичай включають клінічне погіршення, прогресування розмірів забой, підвищений внутрішньочерепний тиск (у коматозних пацієнтів) [2]. Кореляція між радіологічним збільшенням і клінічною картиною залишається дискусійною [6].

Мета роботи

Виявити чинники, які асоціюються з клінічним погіршенням у пацієнтів із забоями головного мозку.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали в нейрохірургічному відділенні № 1 багатопрофільної Київської міської клінічної лікарні швидкої медичної допомоги із цілодобовою ургентною нейрохірургічною службою. У дослідження

залучили пацієнтів із забоями головного мозку, які були госпіталізовані протягом 2016–2017 рр.

Критерії залучення в дослідження: ЗГМ на комп'ютерній томографії (КТ) при первинній госпіталізації; ЗГМ – головне посттравматичне внутрішньочерепне ушкодження; госпіталізація на 1 день після травми; об'єм забой понад 1 мл; клінічні дані динамічного неврологічного дослідження протягом 1 доби госпіталізації; обов'язковий КТ-контроль під час госпіталізації та в динаміці.

Критерії виключення із дослідження: наявність гострої внутрішньочерепної гематоми із вираженим компресійно-дислокаційним синдромом та ургентним хірургічним втручанням після першого КТ; пацієнти із коагулопатією, яка визначена за відхиленням будь-якого критерію від норми за даними коагулограми; застосування антиагрегантів, антикоагулянтів; відсутність контрольних КТ у динаміці лікування; неповні записи в історії хвороби.

Проаналізували механізм травми та класифікували як дорожньо-транспортну пригоду (водії та пасажирів транспортних засобів, пішоходи), падіння (з власного зросту, кататравма), прямий вплив предмета на череп, невідома причина; визначили рівень свідомості за ШКГ на момент госпіталізації, динаміку рівня свідомості під час лікування, наявність алкогольного сп'яніння та клінічного погіршення (зниження рівня свідомості за ШКГ на 2 бали або поява будь-яких нових неврологічних порушень).

КТ-зображення описані в історії хвороби радіологами та повторно переглянуті авторами. Зображення збережені в цифровому форматі DICOM (Medicine) і проаналізовані на персональному комп'ютері. Використали програмне забезпечення для обробки зображень OsiriX (OsiriX 6.5, Pixmeo, Швейцарія). КТ-ознаки травми головного мозку класифікували за Marshall (1992) [7]. Врахували такі радіологічні ознаки: травматичний субарахноїдальний крововилив за даними КТ або люмбальної пункції, внутрішньочерепні крововиливи; стан базальних цистерн, зміщення середньої лінії більше або менше ніж 5 мм, наявність переломів скеліття та основи черепа.

ЗГМ класифіковані за Fukamuchi: забої I типу – ділянки контузійного ушкодження за наявності чітко обмеженої зони пониженої щільності мозкової речовини із гіперденсними включеннями («salt and pepper appearance»); забої II типу – гіперденсні ділянки із

Таблиця 1. Локалізація та об'єм ЗГМ

	Лобна 93 (62,8 %)	Скронева 83 (56,1 %)	Потилична 4 (2,7 %)	Тім'яна 8 (5,4 %)	Задня черепна ямка 6 (4,1 %)	Загалом (хворі) 148 (100,0 %)
Fukamuchi I тип	8 (8,6 %)	9 (10,8 %)	0	0	0	17 (11,5 %)
Fukamuchi II тип	14 (15,1 %)	13 (15,7 %)	0	0	0	26 (17,6 %)
Fukamuchi III тип	61 (73,5 %)	61 (73,5 %)	4 (100 %)	8 (100 %)	6 (100 %)	105 (70,9 %)
Загальний об'єм забою менше ніж 10 см ³	54 (58,1 %)	45 (54,2 %)	1 (25,0 %)	1 (12,5 %)	0	91 (61,5 %)
Загальний об'єм забою 10–25 см ³	30 (32,3 %)	27 (32,5 %)	1 (25,0 %)	3 (37,5 %)	3 (50,0 %)	44 (29,7 %)
Загальний об'єм забою понад 25 см ³	9 (9,7 %)	11 (13,3 %)	2 (50,0 %)	4 (50,0 %)	3 (50,0 %)	13 (8,8 %)

зонами різної щільності, які можуть зливатися; забої III типу – контузійні гіперденсні ушкодження ударного та протиударного походження із солідним геморагічним компонентом [8]. Ділянку ЗГМ класифікували за локалізацією: забої лобної, скроневої, тім'яної, потиличної ділянок та забої задньої черепної ямки (мозочок і стовбур головного мозку). Об'єм забоїв головного мозку встановлювали за алгоритмом визначення об'єму еліпсоїда:

Крок 1: на осьових КТ-зображеннях визначали розріз із найбільшою площею крововиливу – «Зріз 1»;

Крок 2: на зрізі 1 вимірювали найбільший діаметр – «А» (в сантиметрах);

Крок 3: на зрізі 1 вимірювали найбільший діаметр, ортогональний до діаметра А – «Б» (в сантиметрах).

Крок 4: на сагітальному зрізі вимірювали найбільший розмір забою (в сантиметрах) – третє вимірювання забою, діаметр «С».

Об'єм гематоми розраховували за наближеною формулою: $V = (ABC) / 2$ (см³). Розміри забоїв головного мозку підраховували та класифікували на категорії залежно від початкового об'єму, виміряного в см³, на групи: 1–10 см³, 10–25 см³, понад 25 см³. У випадку множинних забоїв визначали суму об'ємів кожного окремого забою.

Статистичне опрацювання результатів виконали за допомогою ліцензійного статистичного пакету Stata 12 (№ 40120578442). Порівняння між групами здійснили, використовуючи t-тест із попереднім визначенням нормальності розподілу за критерієм Шапіро–Уїлка, непараметричні методи, критерій хі-квадрат (χ^2) для якісних параметрів. Результати наведені як $M \pm SD$, де M – вибіркове середнє, SD – середньоквадратичне відхилення. Для аналізу вірогідності клінічного погіршення в групах пацієнтів за наявності окремих клінічних характеристик (однофакторний аналіз) визначали співвідношення шансів (OR) та 95 % довірчі інтервали. Граничний рівень похибки – на рівні не більше ніж 5 % ($p < 0,05$).

Результати

Критеріям залученням у дослідження відповідали 478 пацієнтів, з-поміж яких у дослідження обрали 148 (30,9 %) хворих (після виключення пацієнтів із неповними медичними записами, політравмою та коагулопатією). У дослідження залучені 120 (81,1 %) чоловіків і 28 (18,9 %) жінок, середній вік – $34,0 \pm 5,2$ року ($M \pm SD$). В ясній свідомості або приглушенні серед госпіталізованих були 65 (43,9 %) пацієнтів, в стані сопору – 47 (31,8 %), у коматозному стані на момент госпіталізації були 36 (24,3 %) хворих із ЧМТ. Найчасті-

ша причина травм голови – 62 абс., 41,9 % випадків – ДТП; 42 (67,7 %) – пасажери транспортних засобів, 20 (23,3 %) – пішоходи. Найменше було хворих після кататравми – 16 (10,8 %) пацієнтів. Обставини травми не відомі у 8 випадках. У 66 із 148 (44,6 %) хворих із ЗГМ під час дослідження крові виявлена алкогольна інтоксикація (вміст алкоголю понад 0,4 ‰). Термін між моментом отримання травми та КТ значно варіював – від 1 до 24 годин. У 74 (50 %) пацієнтів КТ виконали в перші 3 години після травми, у 49 (33,1%) випадках КТ виконали у перші 3–6 годин. Відсутня статистично значуща різниця за поділом хворих за часом до КТ залежно від виду травми $P(\chi^2) = 0,901$. Середній час від отримання травми до КТ становив $4,3 \pm 3,3$ години. У пацієнтів, які залучені у дослідження, переважала дифузна травма II та III типів – 90 (60,8 %) і 39 (26,4 %) випадків відповідно; пацієнти з дифузною травмою I та V типів відповідали критеріям виключення; 13 (8,8 %) пацієнтів мали дифузну травму IV типу, 6 (4,1 %) пацієнтів класифіковані у групу ушкоджень не для хірургічного видалення VI типу, оскільки сума об'ємів множинних забоїв перевищувала 25 см³.

Поділ пацієнтів за локалізацією та об'ємом ЗГМ наведено в таблиці 1.

Першу контрольну КТ головного мозку частіше виконували в перші 12 годин у 133 (89,9 %) пацієнтів, у 14 (9,5 %) хворих перша повторна КТ здійснена в проміжку 13–24 години, в 1 хворого – в період 24–48 годин. Терміни виконання контрольної КТ залежали від важкості клінічного перебігу травми. У 36 (24,3 %) випадках контрольна КТ головного мозку виконана у зв'язку з погіршенням неврологічного стану, у всіх інших випадках (78 (52,7 %) хворих) – для контролю, корекції медикаментозної терапії.

У перші 24 години після травми неврологічні дослідження показали клінічне погіршення у 28 (18,9 %) хворих, поліпшення – у 24 (16,2 %) хворих, стабільний неврологічний статус – у 96 (64,9 %) хворих; у 8 (5,4 %) пацієнтів стан погіршився після першої доби (на 2–8 добу).

У 66 (44,6 %) пацієнтів збільшення ЗГМ визначили як ВГПЗ, тобто об'єм досягнув збільшення понад 30 % між першою і контрольною КТ [3] (рис. 1), із них у 58 (87,9 %) це відбулося між першою та другою КТ, у решти – після повторних томографій.

Клінічне погіршення визначили у 36 (24,3%) хворих. Серед пацієнтів із клінічним погіршенням у 22 (61,1%) діагностували ВГПЗ, у 4 (11,1 %) його причиною стало збільшення розмірів епі-субдуральної гематоми, у 10 (27,8 %) збільшився набряк головного мозку без значущої динаміки геморагічного компонента. Це частіше відбувалося в перші 24 години після

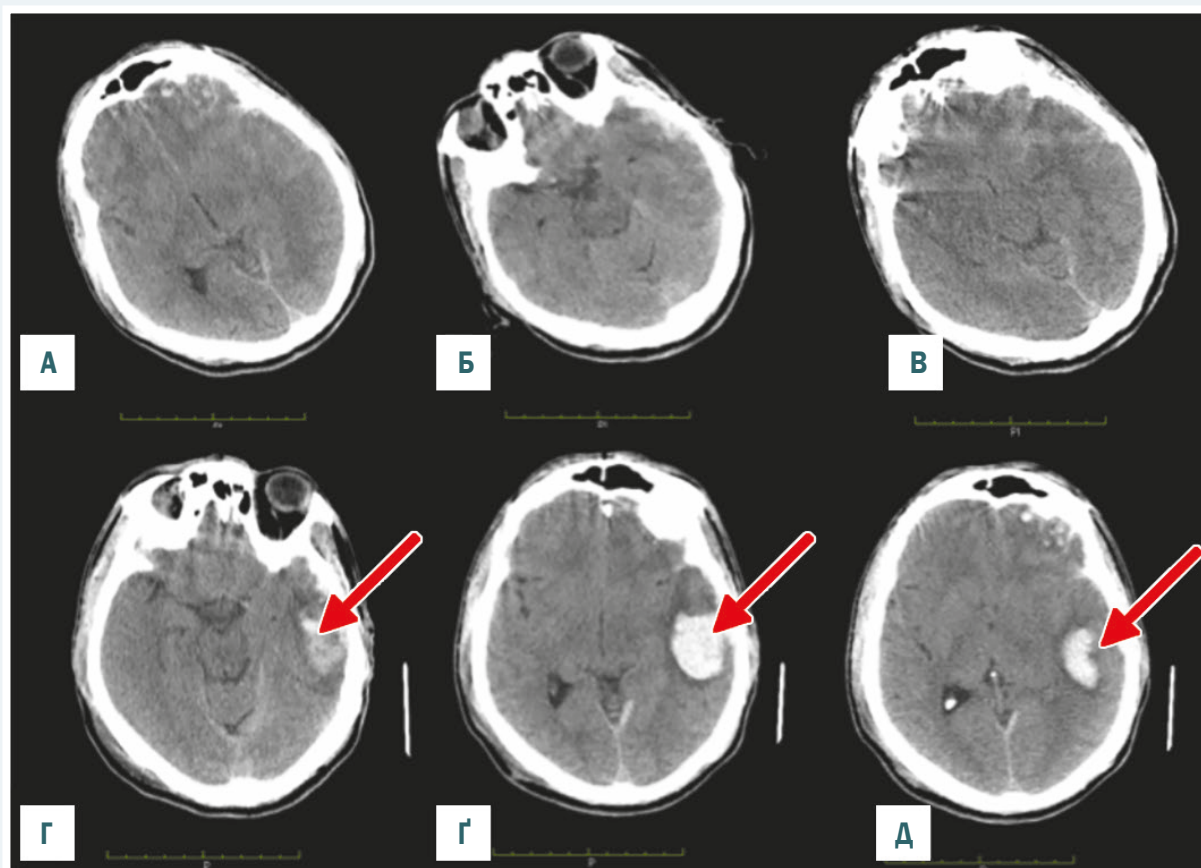


Рис. 1. Серія комп'ютерних томографій пацієнта К., 32 років. А, Б, В – КТ під час госпіталізації виявила ділянки ЗГМ у лівій лобній і скроневій долях. На момент надходження свідомість порушена за типом поверхневого приглушення, 13 балів за ШКГ. Г, Г, Д – контрольна КТ після клінічного погіршення через 4 години після госпіталізації, рівень свідомості 8 балів за ШКГ. Масивна ВГПЗ і формування внутрішньомозкової травматичної гематоми (стрілка).

Таблиця 2. Аналіз впливу клінічних і радіологічних параметрів на розвиток клінічного погіршення

Ознаки	Групи	Пацієнти з клінічним погіршенням	Пацієнти без клінічного погіршення	OR (95 % CI)	p
Рівень свідомості за ШКГ (бали)	13–15	5 (13,9 %)	60 (53,6 %)	0,1 (0,05–0,40)	0,001*
	9–12	14 (38,9 %)	33 (29,5 %)	1,5 (0,7–3,3)	0,291
	3–8	17 (47,2 %)	19 (17,0 %)	4,4 (1,93–9,90)	0,001*
Вид травми	ДТП	18 (50,0 %)	44 (39,3 %)	1,5 (0,73–3,30)	0,257
	Кататравма	4 (11,1 %)	13 (11,6 %)	1,0 (0,29–3,10)	0,935
	Падіння з висоти власного зросту	10 (27,8 %)	28 (25,0 %)	1,2 (0,5–2,7)	0,740
	Удар по голові тупим предметом	4 (11,1 %)	27 (24,1 %)	0,4 (0,13–1,20)	0,096
Тип забою	I типу	3 (8,3 %)	14 (12,5 %)	0,6 (0,17–2,40)	0,495
	II типу	5 (13,9 %)	21 (18,8 %)	0,7 (0,24–2,00)	0,505
	III типу	28 (77,8 %)	77 (68,8 %)	1,6 (0,66–3,80)	0,299
Алкогольна інтоксикація	наявність	13 (36,1 %)	51 (45,5 %)	0,7 (0,31–1,50)	0,321
Об'єм забою	менше ніж 10 см ³	8 (22,2 %)	84 (75,0 %)	0,1 (0,04–0,20)	0,001*
	10–25 см ³	25 (69,4 %)	20 (17,9 %)	10,5 (4,43–24,70)	0,001*
	понад 25 см ³	3 (8,3 %)	9 (8,0 %)	1,0 (0,27–4,10)	0,955
Зміщення серединних структур 1–5 мм	наявність	8 (22,2 %)	9 (8,0 %)	3,3 (1,16–9,30)	0,020*
Базальні цистерни піддавлені або відсутні	наявність	27 (75,0 %)	22 (19,6 %)	12,3 (5,06–29,80)	0,001*
Субарахноїдальний крововилив	наявність	20 (55,6 %)	50 (44,6 %)	1,6 (0,73–3,30)	0,254
Епідуральні нашарування крові	наявність	8 (22,2 %)	5 (4,5 %)	6,1 (1,86–20,10)	0,001*
Субдуральні нашарування крові	наявність	10 (27,8 %)	19 (17,0 %)	1,9 (0,78–4,50)	0,155
Інтравентрикулярна кровотеча	наявність	2 (5,6 %)	6 (5,4 %)	1,0 (0,2–5,4)	0,963
Переломи черепа	наявність	13 (36,1 %)	34 (30,4 %)	1,3 (0,59–2,90)	0,519

Співвідношення шансів (OR) і 95 % довірчі інтервали (CI) для відповідних груп пацієнтів порівняно з контролем (пацієнти, які не мали відповідного досліджуваного фактора, наявність – відсутність певної ознаки); *: статистично значуща оцінка ($p < 0,05$).

госпіталізації, але траплялося і на 3–4 добу. Клінічні характеристики пацієнтів, стан яких клінічно погіршився, наведені в *таблиці 2*.

Відтерміновані операції виконані у 25 (16,9 %) пацієнтів: у 22 (88 %) випадках визначена негативна клінічна динаміка, у 3 (12 %) хворих операція виконана через наростання компресійно-дислокаційного синдрому, і з великою ймовірністю клінічне погіршення було тільки питанням часу. У 19 (76 %) випадках виконана декомпресивна трепанація черепа, у 6 (24 %) – кістково-пластична трепанація.

Аналіз результатів лікування пацієнтів із клінічним погіршенням показав несприятливий результат (1–3 бали за шкалою наслідків Глазго під час виписування) у 21 (58,3 %) хворого, з-поміж яких померли 11 (30,6 %); задовільний результат лікування (4–5 балів) мали 15 (41,7 %) пацієнтів. Серед пацієнтів без клінічного погіршення несприятливий результат виявлено у 15 (13,4 %), з-поміж яких померли 4 (3,5 %); задовільний результат – у 97 (86,6 %) хворих.

Обговорення

Виявили катастрофічний ефект клінічного погіршення на перебіг ЧМТ у пацієнтів із клінічним погіршенням, яких необхідно було оперувати за ургентними показаннями. Особлива група – пацієнти, стан яких погіршився та які на момент госпіталізації мали 13–15 балів за ШКГ. У 5 (13,9 %) хворих із рівнем свідомості 13–15 балів відбулося клінічне погіршення – 3 із них були прооперовані за ургентними показаннями. Клінічне погіршення в пацієнтів із рівнем свідомості 13–15 балів у 4 випадках відбувалося в перші 6–12 годин і в усіх випадках було наслідком збільшення геморагічного компонента забою; в одному випадку – на 3 добу в пацієнта із масивними забоями обох лобних часток. У 2 випадках причиною клінічного погіршення було збільшення епі-субдуральної гематоми, у 3 – ВГПЗ. Стан свідомості та динаміка її порушення є одними з основних прогностичних показників клінічного перебігу ЧМТ. Не виявили випадків клінічного погіршення в пацієнтів, які швидко поверталися до ясної свідомості (15 балів за ШКГ) після госпіталізації.

Протягом аналізу ризиків виявили, що такі радіологічні параметри, як розмір забою понад 25–50 мл на первинній КТ (OR 18,3 (95 % CI, 3,74–89,80)) ($p = 0,001$), коматозний стан хворого за ШКГ (OR 4,4 (95 % CI, 1,93–9,9)) ($p = 0,001$), зміщення серединних структур 1–5 мм на первинній КТ (OR = 3,3 (95 % CI, 1,16–9,30)) ($p = 0,020$), компресія базальних цистерн (OR 12,3 (95 % CI, 5,06–29,80)) ($p = 0,010$) та епідуральні нашарування крові (OR 6,1 (95 % CI, 1,86–20,10)) ($p = 0,001$) на первинній КТ характеризуються вірогідно вищим ризиком клінічного погіршення у перебігу захворювання. Не виявили вірогідний ризик механізму травми чи локалізації забою, які були б асоційовані з клінічним погіршенням.

У хворих із ЗГМ ВГПЗ часто є визначальним фактором, який впливає на результат лікування. Зв'язок між ВГПЗ та клінічним погіршення є не завжди причинно-наслідковим, і навіть при мінімальному збільшенні вогнища забою можлива негативна клінічна динаміка, а при масивному збільшенні клінічна картина зали-

шається стабільною [9,10]. Результати дослідження підтверджують, що вторинні ушкодження мозку після ЧМТ є динамічним процесом, а отже часто необхідні відтерміновані втручання при ЗГМ.

Дослідження свідчать про необхідність ретельного контролю неврологічного стану пацієнтів, особливо в перші 2 доби, враховуючи ризики пізнього клінічного погіршення внаслідок наростання дислокаційного синдрому через набряк мозку. Важливо відзначити: у всіх хворих, стан яких клінічно погіршився, на контрольній КТ виявили збільшення або наростання дислокації. Незважаючи на першопричину, ВГПЗ, набряк, збільшення оболонкової гематоми, дислокаційний синдром є важливими елементами клінічного погіршення та потребує швидкої корекції.

Висновки

1. Коматозний стан хворого за ШКГ, розмір забою понад 25–50 мл, зміщення серединних структур 1–5 мм, компресія базальних цистерн та епідуральні нашарування крові на первинній КТ є факторами клінічного погіршення.

2. Приблизно половина ЗГМ у госпіталізованих хворих радіологічно прогресує. Однак стан не всіх таких пацієнтів клінічно погіршується, і не всі вони потребують хірургічного втручання. Раннє визначення ВГПЗ і клінічного погіршення і своєчасна корекція лікувальної тактики є важливими для поліпшення прогнозу у пацієнтів із ЧМТ.

Перспективи подальших досліджень. Аналізу потребує вивчення кореляції між клінічними і рентгенологічними параметрами, а також пошук групи пацієнтів із високим ризиком погіршення для оптимізації лікувальної тактики.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 25.09.2019

Після доопрацювання / Revised: 19.02.2019

Прийнято до друку / Accepted: 02.03.2020

Відомості про авторів:

Поліщук М. Є., д-р мед. наук, професор, зав. каф. нейрохірургії, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Виваль М. Б., аспірант каф. нейрохірургії, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-9428-4678

Гончарук О. М., д-р мед. наук, професор каф. нейрохірургії, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Муравський А. В., д-р мед. наук, доцент каф. нейрохірургії, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Обливач А. А., канд. мед. наук, лікар-нейрохірург, Київська міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги, Україна.

Information about authors:

Polishchuk M. Ye., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Neurosurgery, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Vyval M. B., MD, PhD student of the Department of Neurosurgery, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Honcharuk O. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Neurosurgery, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Muravskiy A. B., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Neurosurgery, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Oblyvach A. A., MD, PhD, Neurosurgeon, Kyiv City Clinical Emergency Hospital, Ukraine.

Сведения об авторах:

Полищук Н. Е., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. нейрохирургии, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украины.

Виваль Н. Б., аспирант каф. нейрохирургии, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украины.

Гончарук О. Н., д-р мед. наук, профессор каф. нейрохирургии, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украины.

Муравский А. В., д-р мед. наук, доцент каф. нейрохирургии, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украины.

Обливач А. А., канд. мед. наук, врач-нейрохирург, Киевская городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Украина.

Список літератури

- [1] Estimating the global incidence of traumatic brain injury / M. C. Dewan, A. Rattani, S. Gupta et al. *Journal of Neurosurgery*. 2019. Vol. 130, Iss. 4. P. 1080-1097. <https://doi.org/10.3171/2017.10.jns17352>
- [2] Surgical management of traumatic parenchymal lesions / M. R. Bullock, R. Chesnut, J. Ghajar et al. *Neurosurgery*. 2006. Vol. 58, Suppl. 3. P. S25-S46. <https://doi.org/10.1227/01.NEU.0000210365.36914.E3>
- [3] Radiological Parameters to Predict Hemorrhagic Progression of Traumatic Contusional Brain Injury / L. Rehman, A. Afzal, H. F. Aziz et al. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*. 2019. Vol. 10, Iss. 2. P. 212-217. https://doi.org/10.4103/jnnp.jnnp_335_18
- [4] Low rate of delayed deterioration requiring surgical treatment in patients transferred to a tertiary care center for mild traumatic brain injury / A. P. Carlson, P. Ramirez, G. Kennedy et al. *Neurosurgical Focus*. Vol. 29, Iss. 5. P. Article E3. <https://doi.org/10.3171/2010.8.focus10182>
- [5] Traumatic Intracerebral Hemorrhage: Risk Factors Associated with Progression / S. Cepeda, P. A. Gomez, A. M. Castano-Leon et al. *Journal of Neurotrauma*. 2015. Vol. 32, Iss. 16. P. 1246-1253. <https://doi.org/10.1089/neu.2014.3808>
- [6] Patients with brain contusions: predictors of outcome and relationship between radiological and clinical evolution / C. Iaccarino, P. Schiavi, E. Picetti et al. *Journal of Neurosurgery*. 2014. Vol. 120, Iss. 4. P. 908-918. <https://doi.org/10.3171/2013.12.jns131090>
- [7] The diagnosis of head injury requires a classification based on computed axial tomography / L. F. Marshall, S. B. Marshall, M. R. Klauber et al. *Journal of Neurotrauma*. 1992. Vol. 9. P. 287-292.
- [8] The incidence and developmental process of delayed traumatic intracerebral haematomas / A. Fukamachi, Y. Nagaseki, K. Kohno, T. Wakao. *Acta Neurochirurgica*. 1985. Vol. 74, Iss. 1-2. P. 35-39. <https://doi.org/10.1007/BF01413274>
- [9] Early Hemorrhagic Progression of Traumatic Brain Contusions: Frequency, Correlation with Coagulation Disorders, and Patient Outcome: A Prospective Study / T. A. Juratli, B. Zang, R. J. Litz et al. *Journal of Neurotrauma*. 2014. Vol. 31, Iss. 17. P. 1521-1527. <https://doi.org/10.1089/neu.2013.3241>
- [10] Blossoming contusions: identifying factors contributing to the expansion of traumatic intracerebral hemorrhage / J. A. Carnevale, D. J. Segar, A. Y. Powers et al. *Journal of Neurosurgery*. 2018. Vol. 129, Iss. 5. P. 1305-1316. <https://doi.org/10.3171/2017.7.jns17988>

References

- [1] Dewan, M. C., Rattani, A., Gupta, S., Baticulon, R. E., Hung, Y. C., Pun-chak, M., Agrawal, A., Adeleye, A. O., Shrivastava, M. G., Rubiano, A. M., Rosenfeld, J. V., & Park, K. B. (2019). Estimating the global incidence of traumatic brain injury. *Journal of Neurosurgery*, 130(4), 1080-1097. <https://doi.org/10.3171/2017.10.jns17352>
- [2] Bullock, M. R., Chesnut, R., Ghajar, J., Gordon, D., Hartl, R., Newell, D. W., Servadei, F., Walters, B., & Wilberger, J. (2006). Surgical

- management of traumatic parenchymal lesions. *Neurosurgery*, 58(3 Suppl), S25-46. <https://doi.org/10.1227/01.NEU.0000210365.36914.E3>
- [3] Rehman, L., Afzal, A., Aziz, H. F., Akbar, S., Abbas, A., & Rizvi, R. (2019). Radiological Parameters to Predict Hemorrhagic Progression of Traumatic Contusional Brain Injury. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*, 10(2), 212-217. https://doi.org/10.4103/jnnp.jnnp_335_18
- [4] Carlson, A. P., Ramirez, P., Kennedy, G., McLean, A. R., Murray-Krezan, C., & Stippeler, M. (2010). Low rate of delayed deterioration requiring surgical treatment in patients transferred to a tertiary care center for mild traumatic brain injury. *Neurosurgical Focus*, 29(5), Article E3. <https://doi.org/10.3171/2010.8.focus10182>
- [5] Cepeda, S., Gomez, P. A., Castano-Leon, A. M., Martinez-Perez, R., Munarriz, P. M., & Lagares, A. (2015). Traumatic Intracerebral Hemorrhage: Risk Factors Associated with Progression. *Journal of Neurotrauma*, 32(16), 1246-1253. <https://doi.org/10.1089/neu.2014.3808>
- [6] Iaccarino, C., Schiavi, P., Picetti, E., Goldoni, M., Cerasti, D., Caspani, M., & Servadei, F. (2014). Patients with brain contusions: predictors of outcome and relationship between radiological and clinical evolution. *Journal of Neurosurgery*, 120(4), 908-918. <https://doi.org/10.3171/2013.12.jns131090>
- [7] Marshall, L. F., Marshall, S. B., Klauber, M. R., Clark, M. V., Eisenberg, H., Jane, J. A., Luerssen, T. G., Marmarou, A., & Foulkes, M. A. (1992). The diagnosis of head injury requires a classification based on computed axial tomography. *Journal of Neurotrauma*, 9, S287-S292.
- [8] Fukamachi, A., Nagaseki, Y., Kohno, K., & Wakao, T. (1985). The incidence and developmental process of delayed traumatic intracerebral haematomas. *Acta Neurochirurgica*, 74(1-2), 35-39. <https://doi.org/10.1007/BF01413274>
- [9] Juratli, T. A., Zang, B., Litz, R. J., Sitoci, K. H., Aschenbrenner, U., Gottschlich, B., Daubner, D., Schackert, G., & Sobottka, S. B. (2014). Early Hemorrhagic Progression of Traumatic Brain Contusions: Frequency, Correlation with Coagulation Disorders, and Patient Outcome: A Prospective Study. *Journal of Neurotrauma*, 31(17), 1521-1527. <https://doi.org/10.1089/neu.2013.3241>
- [10] Carnevale, J. A., Segar, D. J., Powers, A. Y., Shah, M., Doberstein, C., Drapcho, B., Morrison, J. F., Williams, J. R., Collins, S., Monteiro, K., & Asaad, W. F. (2018). Blossoming contusions: identifying factors contributing to the expansion of traumatic intracerebral hemorrhage. *Journal of Neurosurgery*, 129(5), 1305-1316. <https://doi.org/10.3171/2017.7.jns17988>

Changes in indicators of fibrosis in patients with alcoholic liver cirrhosis associated with non-alcoholic fatty liver disease depending on the stage of cirrhosis

N. R. Matkovska¹*, N. H. Virstiuk^{1,A,E,F}, P. R. Herych^{1,B,C}, U. V. Balan^{1,2,B,D},
Yu. V. Pertsovych^{2,B}

¹Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine, ²Regional Clinical Hospital, Ivano-Frankivsk, Ukraine

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

Key words:

alcoholic liver disease, non-alcoholic fatty liver disease, liver cirrhosis.

Pathologia

2020; 17 (1), 10-14

*E-mail:

nmail4you@gmail.com

Objective was to study changes in liver parenchyma fibrosis in patients with alcoholic liver cirrhosis associated with non-alcoholic fatty liver disease depending on decompensation using shear wave elastography and FIB-4 index.

Material and methods. The study included 204 patients. Among them, 78 patients (Group I) had alcoholic liver cirrhosis (ALC) and 126 patients (Group II) had a combination of ALC with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Patients were subgrouped according to compensation classes by the Child-Pugh score (A, B, C). The degree of liver parenchyma fibrosis was assessed by calculating the FIB-4 (FibroIndex-4) and the liver parenchyma elasticity (kPa) determined by the shear wave elastography method.

Results. Values of liver parenchyma elasticity in patients of group II of classes A, B, and C were higher compared to group I same classes ($P < 0.05$). FIB-4 indicators in patients of group II were higher than classes A, B, and C compared to group I ($P < 0.05$). In patients with ALC in combination with NAFLD, direct correlations were established between the value of Child-Pugh score and the elasticity of the liver parenchyma, the value of the MELD index and the elasticity of the liver parenchyma, the value of Child-Pugh score and FIB-4 index, the value of MELD index and FIB-4 index, FIB-4 index and liver parenchyma elasticity.

Conclusions. In patients with ALC according to elastography and FIB-4 index, fibrosis indicators increase depending on the stage of decompensation. According to elastography and FIB-4 index in patients with ALC, fibrosis indicators were higher in combination with NAFLD at all stages of liver cirrhosis. The magnitude of fibrosis in patients with ALC in combination with NAFLD according to elastography and the FIB-4 index correlates with the severity of liver cirrhosis by Child-Pugh and MELD prognostic index. The combination of shear wave elastography and FIB-4 index are important diagnostic indicators for assessing the degree of fibrosis in the liver.

Ключові слова:

алкогольна хвороба печінки, неалкогольна жирова хвороба печінки, цирроз печінки.

Патологія. 2020.

Т. 17, № 1(48).

С. 10-14

Зміни показників фіброзу у хворих на алкогольний цирроз печінки у поєднанні з неалкогольною жировою хворобою печінки залежно від стадії циррозу

Н. Р. Матковська, Н. Г. Вірстюк, П. Р. Герич, У. В. Балан, Ю. В. Перцович

Мета роботи – вивчення змін показників фіброзу паренхіми печінки у хворих на алкогольний цирроз печінки при поєднанні з неалкогольною жировою хворобою печінки залежно від декомпенсації хвороби, використовуючи зсувнохвильову еластографію та індекс FIB-4.

Матеріали та методи. Обстежили 204 пацієнти: у 78 осіб (I група) діагностували алкогольний цирроз печінки (АЦП), у 126 (II група) – поєднання АЦП і неалкогольної жирової хвороби печінки (НАЖХП). Пацієнтів поділили на підгрупи залежно від класів компенсації за критерієм Чайлд–П'ю (A, B, C). Ступінь фіброзу паренхіми печінки оцінювали за допомогою розрахунку індексу фіброзу FIB-4 (FibroIndex-4) та за величиною еластичності (kPa) паренхіми печінки, яку визначали методом зсувнохвильової еластографії.

Результати. Показник еластичності паренхіми печінки у пацієнтів II групи класів A, B та C був вищим порівняно з пацієнтами I групи ($p < 0,05$). Показники FIB-4 у пацієнтів II групи класів A, B та C були вищі порівняно з такими у I групі ($p < 0,05$). У хворих на АЦП за наявності НАЖХП визначили прямі кореляції між величиною показника Чайлд–П'ю та еластичністю паренхіми печінки, величиною індексу MELD та еластичністю паренхіми печінки, величиною показника Чайлд–П'ю та індексом FIB-4, індексом MELD та індексом FIB-4, індексом FIB-4 та еластичністю паренхіми печінки.

Висновки. У хворих на АЦП, за даними еластографії та за індексом FIB-4, показники фіброзу збільшуються залежно від стадії декомпенсації. За результатами еластографії та за індексом FIB-4, у хворих на АЦП показники фіброзу були більшими за наявності НАЖХП на всіх стадіях циррозу печінки. Величина фіброзу у хворих на АЦП за наявності НАЖХП, за даними еластографії та за індексом FIB-4, корелює з показником тяжкості циррозу печінки Чайлд–П'ю та прогностичним індексом MELD. Поєднання зсувнохвильової еластографії та індексу FIB-4 – важливі діагностичні показники для оцінювання ступеня фіброзоутворення у печінці.

Изменения показателей фиброза у больных алкогольным циррозом печени при сочетании с неалкогольной жировой болезнью печени в зависимости от стадии цирроза

Н. Р. Матковская, Н. Г. Вирстюк, П. Р. Герич, У. В. Балан, Ю. В. Перцович

Цель работы – изучение изменений показателей фиброза паренхимы печени у больных алкогольным циррозом печени при сочетании с неалкогольной жировой болезнью печени в зависимости от декомпенсации болезни с использованием эластографии сдвиговой волны и индекса FIB-4.

Материалы и методы. Обследовали 204 пациента: у 78 человек (I группа) диагностирован алкогольный цирроз печени (АЦП), у 126 (II группа) – сочетание АЦП с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП). Пациентов поделили на подгруппы в зависимости от классов компенсации по критерию Чайльд–Пью (А, В, С). Степень фиброза паренхимы печени оценивали с помощью расчета индекса фиброза FIB-4 (FibroIndex-4) и по величине эластичности (кПа) паренхимы печени, которую определяли методом эластографии сдвиговой волны.

Результаты. Показатель эластичности паренхимы печени у пациентов II группы классов А, В и С был выше по сравнению с пациентами I группы ($p < 0,05$). Показатели FIB-4 у пациентов II группы классов А, В и С были выше по сравнению с такими показателями I группы ($p < 0,05$). У больных АЦП при наличии НАЖБП установлены прямые корреляции между величиной показателя Чайльд–Пью и эластичностью паренхимы печени, величиной индекса MELD и эластичностью паренхимы печени, величиной показателя Чайльд–Пью и индексом FIB-4, индексом MELD и индексом FIB-4, индексом FIB-4 и эластичностью паренхимы печени.

Выводы. У больных АЦП, по данным эластографии и FIB-4, показатели фиброза увеличиваются в зависимости от стадии декомпенсации. По данным эластографии и FIB-4, у больных АЦП показатели фиброза были выше при наличии НАЖБП на всех стадиях цирроза печени. Величина фиброза у больных АЦП при наличии НАЖБП, по данным эластографии и FIB-4, коррелирует с показателем тяжести цирроза печени Чайльд–Пью и прогностическим индексом MELD. Сочетание эластографии сдвиговой волны и индекса FIB-4 – важные диагностические показатели для оценки степени фиброобразования в печени.

Ключевые слова:
алкогольная
болезнь печени,
неалкогольная
жировая болезнь
печени, цирроз
печени.

Патология. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 10-14

According to the World Health Organization, alcohol abuse causes about 3.3 million deaths each year, which is 5.9 % of the total mortality rate. Almost 5 % of overall morbidity and disability are alcohol related. Alcoholic liver cirrhosis (ALC) is the most common disorder of all gastrointestinal tract diseases. In developed countries, alcohol, along with hepatitis C virus and metabolic syndrome are among the leading causes of hepatocellular carcinoma (HCC) [4].

Recently, it has been revealed that non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most prevalent liver disease in Europe, the USA and Asia and is associated with increased mortality. According to Charlton et al, NAFLD is the third most popular indication for liver transplantation in the United States and the only indication that is steadily increasing in frequency [3,7]. The prevalence of NAFLD reaches more than 90 % among people suffering from obesity and diabetes [1,2,9,11].

Liver cirrhosis (LC) is considered to be a precursor to the HCC, and its frequency has been constantly increasing [4].

At present, it is important to develop and implement methods for the assessment of fibrosis, and these methods should be convenient-to-use and economically feasible to prevent the progression of prognostically adverse events.

Aim

Objective was to study changes in liver parenchyma fibrosis in patients with alcoholic liver cirrhosis associated with non-alcoholic fatty liver disease depending on decompensation using shear wave elastography and FIB-4 index.

Material and methods of research

The study involved 204 patients with diagnosed LC who were hospitalized in the gastroenterology department of the Ivano-Frankivsk Regional Clinical Hospital. Among them, 78 people were diagnosed with ALD at the stage of LC (group I) and 126 people had a combination of alcoholic liver cirrhosis (ALC) with NAFLD (group II). Among the patients of group I there were 24 women and 54 men (mean age 53.2 ± 11.4 years) and average duration of the disease 5.9 ± 2.1 years; among patients of group II there were 22 women and 104 men aged 47.8 ± 9.4 years and average duration of the disease 4.2 ± 2.7 years. Patients of groups I and II were subdivided depending on the Child-Pugh classes of LC compensation: IA ($n = 17$), IB ($n = 38$), IC ($n = 23$); IIA ($n = 44$), IIB ($n = 48$), IIC ($n = 34$).

ALC was diagnosed according to the Adapted Clinical Guideline "Alcoholic Liver Disease" (the Ministry of Health of Ukraine, 2014). NAFLD was diagnosed according to the Adapted Clinical Guideline "Non-Alcoholic Fatty Liver Disease" (the Ministry of Health of Ukraine, 2014). The severity of LC was evaluated by Child-Pugh score. MELD index (Mayo Endstage Liver Disease, 2001) was calculated with electronic calculator:

$$\text{MELD index} = 3.8 \times \log_e \text{ serum bilirubin level (mg/dL)} + 11.2 \times \log_e \text{ serum creatinine level (mg/dL)}.$$

General clinical, instrumental and laboratory examinations. The degree of liver parenchyma fibrosis was assessed by calculating the FIB-4 (FibroIndex-4) and the liver parenchyma elasticity (kPa) determined by the shear wave elastography method on the GE Logiq E8 with assessment of the degree of fibrosis on METAVIR scale. The confirmation of the degree of F4 fibrosis by the method of elastography was the value of the elasticity of the liver parenchyma more than 11.9 kPa. The

FIB-4 index was calculated by the formula: (patient age [years] × ASAT level [U/L]: platelet level [$\times 10^9/L$] × ALAT $\sqrt{\text{level [U/L]}}$).

To determine the aetiology of the disease, more than 2 doses of alcohol (1 standard dose = 10 g of ethyl alcohol) per day for women and more than 4 doses for men were considered according to the recommendations of the World Health Organization, CAGE (Cut, Annoyed, Guilty, Eye-opener), AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test, 1989), PAS questionnaire (post-alcohol syndrome, developed by P. P. Ogurtsov, A. B. Pokrovsky, A. E. Uspensky), LeGo grid (P. M. LeGo (1976) in modification by O. B. Zharkov, 2000), ANI index (Alcoholic liver disease/nonalcoholic fatty liver disease index, 2006), assessment of fat and carbohydrate metabolism (the presence of insulin resistance), NAFLD fibrosis score. The control group consisted of 20 healthy individuals, who were age and gender matched. The study was conducted in accordance with the ethical principles of scientific research, the principles of the Declaration of Helsinki.

Statistical processing of the obtained results was carried out using the software package Statistica v. 12.0 (StatSoft, USA, trial) and Microsoft Excel. The data were checked using the Shapiro-Wilk test. Since the data correspond to the normal type of distribution ($P > 0.05$), the interval ($M \pm m$) was chosen as a measure of central tendency. The Student's t-test was used to test the null hypothesis of establishing the difference between the comparison groups; the Newman-Keuls test was used to test the statistical significance of the difference in indicators. For quantitative data, the correlation was estimated using the Pearson parametric method of paired correlation. Statistically significant differences were considered at $P < 0.05$. The difference was statistically significant.

Results

Analyzing the clinical examination data it was found that the signs of astheno-vegetative, pain, dyspeptic, hepatorenal, hepatopulmonary syndromes, jaundice, medicamentally uncontrolled ascites, and manifestations of liver encephalopathy were more frequent in group II patients of the corresponding classes, which was accompanied by a more severe ALC by Child-Pugh severity score and MELD index, that is prognostic index for liver diseases taking into account bilirubin, international normalized ratio (INR) and serum creatinine.

In patients of both groups, they increased with ALC decompensation increasing. However, in patients of group II they were higher than those of group I by 22.74 % and 31.18 %, 21.06 % and 17.78 %, 13.72 % and 15.98 % of classes A, B, C, respectively ($P < 0.05$). Such results indicate a more severe clinical course and more pronounced rates of progression of hepatic failure in individuals with combination of ALC and NAFLD, which is caused by a more pronounced increase of inflammatory-necrotic process and the process of fibrosis in the liver and is accompanied by pronounced systemic changes in the blood flow, resulting in eventually to the development of multiple organ failure with adverse lethal consequences.

According to the results of the shear wave elastography, the elasticity of the liver parenchyma in all patients

corresponded to stage F4 according to the METAVIR classification (Table 1). In both groups, this indicator increased with increasing decompensation of the disease. In particular, in group I elasticity of liver parenchyma in class B exceeded that in class A patients by 1.34 times, and in class C exceeded that in class B persons by 1.24 times ($P < 0.05$). In group II persons, the class B liver parenchyma elasticity index exceeded that in class A by 1.37 times and in class C exceeded that in class B by 1.29 times ($P < 0.05$). Values of liver parenchyma elasticity were higher in group II patients compared to group I patients. In particular, in IIA, IIB and IIC persons, they were higher than the indicators of IA, IB and IC patients by 1.25, 1.27 and 1.32 times, respectively ($P < 0.05$).

The FIB-4 index in patients in both groups increased depending on the stage of decompensation. This indicator was higher in patients of group IB compared to group IA indicator by 14.69 %, in the group IC patients compared with group IB – by 7.14 %, in group IIB patients compared to group IIA indicator – by 15.36 %, in group IIC patients compared to group IIB indicator – by 8.13 % ($P < 0.05$). FIB-4 indicators in patients of group II were higher than classes A, B, and C compared to group I by 7.26 %, 9.11 %, and 10.11 %, respectively ($P < 0.05$).

Higher values of liver parenchyma elasticity index and FIB-4 index in group II patients compared with group I patients show more pronounced fibrogenesis processes in patients with combination of ALC and NAFLD. These results indicate the effect of the combination of ALC and NAFLD on the increase in the intensity of fibrogenesis in the liver.

In patients with ALC in combination with NAFLD, direct correlations were established between the value of Child-Pugh score and the elasticity of the liver parenchyma ($r = +0.69$; $P = 0.0006$), the value of the MELD index and the elasticity of the liver parenchyma ($r = +0.61$; $P = 0.0003$), the value of Child-Pugh score and FIB-4 index ($r = +0.67$; $P = 0.0005$), the value of MELD index and FIB-4 index ($r = +0.58$; $P = 0.0008$), FIB-4 index and liver parenchyma elasticity ($r = +0.72$; $P = 0.0005$). Such correlations indicate a direct relationship of fibrosis (according to elastography and FIB-4 index) and Child-Pugh severity score and MELD prognostic index in patients with combination of ALC and NAFLD.

Discussion

Liver biopsy is considered to be the “gold standard” for the diagnosis of diffuse liver diseases. However, this method is invasive and carries considerable risks and costs [14]. Non-invasive techniques are alternative solution, which will allow evaluating the condition of the liver as a whole but not the particular samples of liver tissue [15].

Non-invasive methods for assessing the degree of liver fibrosis include ultrasound liver elastography and laboratory panels that are widely used in practical medicine. FIB-4 is a laboratory panel comprising four indicators (age, platelet count, alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase levels); they are available at primary and secondary medical care and not expensive [5,6]. According to many studies, the use of FIB-4 index is recommended for assessment of the degree of liver

Table 1. Parameters of fibrosis and severity of alcoholic liver cirrhosis depending on the presence of concomitant non-alcoholic fatty liver disease and Child-Pugh class, M ± m

Parameters, units	Class A		Class B		Class C	
	Group I, n = 17	Group II, n = 44	Group I, n = 38	Group II, n = 48	Group I, n = 23	Group II, n = 34
Elasticity of liver parenchyma, kPa	15.34 ± 1.13	19.26 ± 1.23*	20.63 ± 1.35 ³	26.31 ± 1.27 ^{1,6}	25.71 ± 1.13 ^{4,5}	33.96 ± 1.20 ^{2,7,8}
Index FIB-4	3.58 ± 0.11	3.84 ± 0.09*	4.06 ± 0.11 ³	4.43 ± 0.08 ^{1,6}	4.35 ± 0.07 ^{4,5}	4.79 ± 0.06 ^{2,7,8}
Child-Pugh score	5.32 ± 0.48	6.53 ± 0.38*	7.69 ± 0.52 ³	9.31 ± 0.54 ^{1,6}	12.61 ± 0.64 ^{4,5}	14.34 ± 0.73 ^{2,7,8}
Index MELD	10.23 ± 0.86	13.42 ± 0.98*	16.76 ± 0.83 ³	19.74 ± 0.72 ^{1,6}	23.65 ± 1.02 ^{4,5}	27.43 ± 0.79 ^{2,7,8}

*: significance of difference of indicators between groups IA i IIA (P < 0.05); ¹: significance of difference of indicators between groups IB i IIB (P < 0.05); ²: significance of difference of indicators between groups IC i IIC (P < 0.05); ³: significance of difference of indicators between groups IA i IB (P < 0.05); ⁴: significance of difference of indicators between groups IB i IC (P < 0.05); ⁵: significance of difference of indicators between groups IA i IC (P < 0.05); ⁶: significance of difference of indicators between groups IIA i IIB (P < 0.05); ⁷: significance of difference of indicators between groups IIB i IIC (P < 0.05); ⁸: significance of difference of indicators between groups IIA i IIC (P < 0.05). Indicators of liver parenchyma elasticity according to the results of shear wave elastography and indicators of the FIB-4 index in patients with combination of ALC and NAFLD were higher in classes A, B and C compared to those in patients with ALC without NAFLD. In ALC patients the combination with NAFLD was accompanied by a more severe ALC according to the Child-Pugh score and the MELD prognosis.

fibrosis. Given its noninvasiveness and simplicity, the FIB-4 index has the advantage.

However, its use as a single method does not provide sufficient reason to replace the need for a liver biopsy [10,12,14]. Ultrasound elastography shows a fairly accurate assessment of the degree of fibrosis and is recommended as an alternative to liver biopsy in patients who cannot undergo invasive procedures [8,13].

In our work, to assess the degree of fibrosis in patients with combination of ALC and NAFLD, we used indicators of liver parenchyma elasticity according to the results of shear wave elastography and FIB-4 index. The fibrosis indicators in patients with combination of ALC and NAFLD were higher in A, B, and C classes in comparison with those in ALC patients without NAFLD.

According to our results, in patients with ALC the combination with NAFLD accompanied by a more severe clinical course according to the Child-Pugh score and the MELD index. In patients with combination of ALC and NAFLD we have found a direct correlation of fibrosis (according to elastography indicators and FIB-4 index) with Child-Pugh severity score and MELD index.

As the shear wave elastography and laboratory panel FIB-4, according to the literature [12], show fairly accurate results in the study of liver fibrosis and correlate with the indicators of Child-Pugh and MELD scales, a combination of these methods may, in our opinion, be an alternative to liver biopsy for the assessment of the degree of liver fibrosis and the prediction of the subsequent course of the disease in patients with combination of ALC and NAFLD.

Conclusions

1. In patients with ALC according to elastography and FIB-4 index, fibrosis indicators increase depending on the stage of decompensation.

2. According to elastography and FIB-4 index in patients with ALC, fibrosis indicators were higher in combination with NAFLD at all stages of liver cirrhosis.

3. The values of fibrosis in patients with ALC in combination with NAFLD according to elastography and the FIB-4 index correlates with the severity of LC by Child-Pugh and MELD prognostic index.

4. The combination of shear wave elastography and FIB-4 index are important diagnostic indicators for

assessing the degree of fibrosis in the liver in patients with ALC in combination with NAFLD.

The perspective for the further scientific research is to study the treatment of alcoholic liver disease at the stage of cirrhosis associated with non-alcoholic fatty liver disease, depending on the compensation of the disease.

Funding

The study is carried out according to the plan of scientific works of SHEE "Ivano-Frankivsk National Medical University" and is a fragment of research work: "Diseases of internal organs in modern conditions, with combined pathology and lesions of target organs: features of the course, diagnosis and treatment", number of state registration: 0115U000995.

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

Надійшла до редакції / Received: 16.10.2019

Після доопрацювання / Revised: 14.01.2020

Прийнято до друку / Accepted: 15.01.2020

Information about authors:

Matkovska N. R., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Therapy and Family Medicine of Postgraduate Education Faculty, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-9924-2127

Virstiuk N. H., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Internal Medicine of Stomatological Faculty named after professor M.M. Berezhnyskyi, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

Herych P. R., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Internal Medicine No. 1, Immunopathology and Allergology named after academician Ye. M. Neiko, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

Balan U. V., MD, PhD, Assistant of the Department of Internal Medicine No. 1, Immunopathology and Allergology named after academician Ye. M. Neiko, Ivano-Frankivsk National Medical University, Head of Clinical and Diagnostic Laboratory of the Regional Clinical Hospital, Ivano-Frankivsk, Ukraine.

Pertsovych Yu. V., MD, Doctor of Functional Diagnostics of the Regional Clinical Hospital, Ivano-Frankivsk, Ukraine.

Відомості про авторів:

Матковська Н. Р., канд. мед. наук, доцент каф. терапії і сімейної медицини післядипломної освіти, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.

Вірснюк Н. Г., д-р мед. наук, професор, зав. каф. внутрішньої медицини стоматологічного факультету імені професора М. М. Бережницького, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.
 Герич П. Р., д-р мед. наук, професор каф. внутрішньої медицини № 1, клінічної імунології та алергології імені академіка Є. М. Нейка, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.
 Балан У. В., канд. мед. наук, асистент каф. внутрішньої медицини № 1, клінічної імунології та алергології імені академіка Є. М. Нейка, Івано-Франківський національний медичний університет, зав. клініко-діагностичної лабораторії, Івано-Франківська обласна клінічна лікарня, Україна.
 Перцович Ю. В., лікар функціональної діагностики, Івано-Франківська обласна клінічна лікарня, Україна.

Сведения об авторах:

Матковская Н. Р., канд. мед. наук, доцент каф. терапии и семейной медицины последипломного образования, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.
 Вирстюк Н. Г., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. внутренней медицины стоматологического факультета имени профессора М. М. Бережницкого, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.
 Герич П. Р., д-р мед. наук, профессор каф. внутренней медицины № 1, клинической иммунологии и алергологии имени академика Е. М. Нейко, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.
 Балан В. В., канд. мед. наук, ассистент каф. внутренней медицины № 1, клинической иммунологии и алергологии имени академика Е. М. Нейко, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, зав. клинико-диагностической лабораторией, Ивано-Франковская областная клиническая больница, Украина.
 Перцович Ю. В., врач функциональной диагностики, Ивано-Франковская областная клиническая больница, Украина.

the Heart JACC State-of-the-Art Review. *Journal of the American college of cardiology*, 73(8), 948-963. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.11.050>

- [10] Sonneveld, M. J., Brouwer, W. P., Chan, H. L.-Y., Piratvisuth, T., Jia, J.-D., Zeuzem, S., Liaw, Y.-F., Hansen, B. E., Choi, H., Wat, C., Pavlovic, V., Gaggar, A., Xie, Q., Buti, M., de Knegt, R. J., & Janssen, H. L. A. (2019). Optimisation of the use of APRI and FIB-4 to rule out cirrhosis in patients with chronic hepatitis B: results from the SONIC-B study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 4(7), 538-544. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(19\)30087-1](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(19)30087-1)
- [11] Potze, W., Siddiqui, M. S., & Sanyal, A. J. (2015). Vascular Disease in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 41(5), 488-493. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1550433>
- [12] Papadopoulos, N., Vasileiadi, S., Michalea, S., Antonakaki, P., Papavdi, M., Dellaporta, E., Koullias, E., Koutli, E., Manolakopoulos, S., Koskinas, I. G., & Deutsch, M. (2019). The use of APRI and FIB-4 scores versus transient elastography for the assessment of liver fibrosis stage in patients with chronic hepatitis C: Is it possible to reduce the need for elastography? *Journal of Hepatology*, 70(1), E191-E191. [https://doi.org/10.1016/s0168-8278\(19\)30354-8](https://doi.org/10.1016/s0168-8278(19)30354-8)
- [13] Tsai, E., & Lee, T.-P. (2018). Diagnosis and Evaluation of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis, Including Noninvasive Biomarkers and Transient Elastography. *Clinics in Liver Disease*, 22(1), 73-92. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2017.08.004>
- [14] Cantero, I., Elorz, M., Abete, I., Marin, B. A., Herrero, J. I., Monreal, J. I., Benito, A., Quiroga, J., Martínez, A., Huarte, M. P., & Isidro, J. (2019). Ultrasound/Elastography techniques, lipidomic and blood markers compared to Magnetic Resonance Imaging in non-alcoholic fatty liver disease adults. *International Journal of Medical Sciences*, 16(1), 75-83. <https://doi.org/10.7150/ijms.28044>
- [15] Vilar-Gomez, E., & Chalasani, N. (2018). Non-invasive assessment of non-alcoholic fatty liver disease: Clinical prediction rules and blood-based biomarkers. *Journal of Hepatology*, 68(2), 305-315. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.11.013>

References

- [1] Anstee, Q. M., Targher, G., & Day, C. P. (2013). Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 10(6), 330-344. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.41>
- [2] Wu, S. Q., Wu, F. Q., Ding, Y. Y., Hou, J., Bi, J. F., & Zhang, Z. (2016). Association of non-alcoholic fatty liver disease with major adverse cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep33386>
- [3] Bellentani, S. (2017). The epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver International*, 37, 81-84. <https://doi.org/10.1111/liv.13299>
- [4] O'Rourke, J. M., Sagar, V. M., Shah, T., & Shetty, S. (2018). Carcinogenesis on the background of liver fibrosis: Implications for the management of hepatocellular cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 24(39), 4436-4447. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i39.4436>
- [5] Castera, L. (2018). Diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis: Non-invasive tests are enough. *Liver International*, 38, 67-70. <https://doi.org/10.1111/liv.13658>
- [6] Ampuero, J., Pais, R., Aller, R., Gallego-Durán, R., Crespo, J., García-Monzón, C., Boursier, J., Vilar, E., Petta, S., Ming-Hua, Z., Escudero, D., Calleja, J. L., Aspichueta, P., Diago, M., Rosales, J. M., Caballería, J., Gómez-Camarero, J., Iacono, O. L., Benlloch, S., Albillos, A., Turnes, J., Banales, J. M., Ratzl, V., & Romero-Gómez, M. (2019). Development and Validation of Hepamet Fibrosis Scoring System – a Simple, Non-invasive Test to Identify Patients With Nonalcoholic Fatty liver Disease With Advanced Fibrosis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 10, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2019.05.051>
- [7] Charlton, M. R., Burns, J. M., Pedersen, R. A., Watt, K. D., Heimbach, J. K., & Dierkhising, R. A. (2011). Frequency and Outcomes of Liver Transplantation for Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology*, 141(4), 1249-1253. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.06.061>
- [8] Hashemi, S. A., Alavian, S. M., & Gholami-Fesharaki, M. (2016). Assessment of transient elastography (FibroScan) for diagnosis of fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Caspian Journal of Internal Medicine*, 7(4), 242-252.
- [9] Stahl, E. P., Dhindsa, D. S., Lee, S. K., Sandesara, P. B., Chalasani, N. P., & Sperling, L. S. (2019). Nonalcoholic Fatty Liver Disease and

ERCC1 як маркер прогнозу та чутливості до платиновмісної хіміотерапії в пацієнтів із III–IV стадіями недрібноклітинного раку легені

О. П. Колеснік^{ID}*, А,С,Е,Ф, В. О. Кузьменко^{ID} А,В,С,Д

Запорізький державний медичний університет, Україна

А – концепція та дизайн дослідження; В – збір даних; С – аналіз та інтерпретація даних; Д – написання статті; Е – редагування статті; Ф – остаточне затвердження статті

Рак легені – одна з найактуальніших проблем сучасної онкології. У Запорізькій області III–IV стадії захворювання виявляють у 75 % пацієнтів із недрібноклітинним раком легені (НДКРЛ). Основним методом лікування таких пацієнтів є хіміотерапія. Однак результати лікування залишаються незадовільними, що пов'язано з резистентністю пухлин до терапії. Тому актуальним є пошук нових молекулярних пухлинних маркерів із предиктивним і прогностичним значеннями.

Мета роботи – оцінити експресію ERCC1, p53 в пацієнтів на пізніх стадіях НДКРЛ, вивчити зв'язок експресії маркерів із різними клініко-морфологічними факторами, а також оцінити прогностичне та предикативне значення ERCC1 у пацієнтів на пізніх стадіях НДКРЛ.

Матеріали та методи. У дослідження залучили 45 пацієнтів із IIIA, IIIB і IV стадіями НДКРЛ. Експресію ERCC1 і p53 оцінювали імуногістохімічним методом. За результатами, які отримали, оцінювали зв'язок експресії маркерів із клініко-морфологічними характеристиками пацієнтів, а також клінічне значення фактора.

Результати. Виявили статистично значущий зв'язок експресії ERCC1 зі стадією захворювання та експресією p53. У пацієнтів із високою експресією фактора визначили кращі показники виживаності, ніж у пацієнтів із низькою експресією (106,5 проти 38,0 тижня, $p = 0,002$). З'ясували також, що в разі використання платиновмісних схем хіміотерапії у групі пацієнтів із високою експресією ERCC1 суттєво поліпшувалась виживаність хворих. Під час мультиваріантного аналізу в групі пацієнтів, які отримували хіміотерапію, ERCC1, p53 і стадія захворювання визначені як незалежні прогностичні фактори.

Висновки. ERCC1 – важливий прогностичний фактор і може бути використаний для прогнозування ефективності платиновмісних схем хіміотерапії в пацієнтів із IIIA–IV стадіями НДКРЛ.

Ключові слова:
недрібноклітинний рак легені, прогностичні фактори, предикативні маркери, ERCC1, p53, виживаність.

Патологія. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 15-20

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

ERCC1 as a marker of prognosis and sensitivity to platinum-based chemotherapy in patients with stage III–IV non-small cell lung cancer

O. P. Kolesnik, V. O. Kuzmenko

Lung cancer is one of most actual problem of modern oncology. The III–IV stages of non-small cell lung cancer (NSCLC) in Zaporizhzhia region are diagnosed in more than 75 % of patients. Chemotherapy is a standard of advanced NSCLC treatment. But results of such treatment are still unsatisfactory due to tumoral chemoresistance. So, it's very important question to search for new clinical factors with significant prognostic and predictive value.

Aim. To evaluate the expression of ERCC1, p53 in patients at advanced stages of NSCLC, to examine the association of marker expression with various clinical and morphological factors, and to evaluate the prognostic and predictive value of ERCC1 in patients at advanced stages of NSCLC.

Materials and methods. 45 patients with IIIA, IIIB, IV stages of NSCLC were included in this study. ERCC1 was assessed by immunohistochemistry. According to received data relationship of ERCC1 expression with clinico-morphological factors and ERCC1 clinical significance were assessed.

Results. Clinically significant relation of ERCC1 expression with stage and p53 expression was observed in our study. It was revealed that patients with high ERCC1 expression had better survival than patients with low ERCC1 expression (106.5 vs 38 weeks, $P = 0.002$). It was also mentioned that using of platinum-based chemotherapy greatly improved patients' survival. ERCC1, p53 and stage disease were proved to be as independent prognostic factors in patients which received chemotherapy.

Conclusions. ERCC1 is important prognostic factor and could be used to determine efficacy of platinum-based chemotherapy in patients with the IIIA–IV stages of NSCLC.

Key words:
non-small cell lung cancer, prognostic factors, predictive markers, ERCC1, survival.

Pathologia
2020; 17 (1), 15-20

ERCC1 как маркер прогноза и чувствительности к платиносодержащей химиотерапии у пациентов с III–IV стадиями немелкоклеточного рака легкого

А. П. Колесник, В. А. Кузьменко

Рак легкого – одна из наиболее актуальных проблем современной онкологии. В Запорожской области III–IV стадии диагностируют у 75 % пациентов с немелкоклеточным раком легкого (НМКРЛ). Основной метод лечения таких паци-

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, прогностические факторы, предикативные маркеры, ERCC1, p53, выживаемость.

Патология. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 15-20

ентов – химиотерапия. Однако результаты лечения остаются неудовлетворительными, что связано с устойчивостью опухолей к терапии. Поэтому актуальным является поиск новых молекулярных опухолевых маркеров, обладающих предиктивным и прогностическим значениями.

Цель работы – оценить экспрессию ERCC1, p53 у пациентов на поздних стадиях НМКРЛ, изучить связь экспрессии маркеров с разными клинико-морфологическими факторами, а также оценить прогностическое и предикативное значение ERCC1 у пациентов на поздних стадиях НМКРЛ.

Материалы и методы. В исследование включили 45 пациентов с IIIA, IIIB и IV стадиями НМКРЛ. Экспрессию ERCC1 оценивали иммуногистохимическим методом. По полученным результатам оценивали связь экспрессии маркеров с клинико-морфологическими характеристиками пациентов, а также клиническую значимость фактора.

Результаты. Обнаружена статистически значимая связь экспрессии ERCC1 со стадией заболевания и экспрессией p53. У пациентов с высокой экспрессией фактора отмечены более высокие показатели выживаемости, чем у пациентов с низкой экспрессией (106,5 против 38,0 недель, $p = 0,002$). Установлено также, что использование платиносодержащей химиотерапии в группе пациентов с высокой экспрессией ERCC1 значительно улучшало выживаемость больных. В ходе мультивариантного анализа в группе пациентов, получавших химиотерапию, ERCC1, p53 и стадия заболевания определены как независимые прогностические факторы.

Выводы. ERCC1 – важный прогностический фактор, который может быть использован для прогнозирования эффективности платиносодержащей химиотерапии у пациентов с IIIA–IV стадиями НМКРЛ.

Рак легені (РЛ) – одна з найактуальніших проблем сучасної онкології. За даними Національного канцер-реєстру, РЛ посідає перші позиції у структурі захворюваності та смертності від злоякісних новоутворень серед чоловіків. У 2015 р. у Запорізькій області занедбані стадії (III–IV) діагностовані в 75 % пацієнтів із РЛ ($n = 595$) [1]. Основний метод лікування пацієнтів на пізніх стадіях недрібноклітинного раку легені (НДКРЛ) – хіміотерапія. За рекомендаціями Європейського товариства медичних онкологів (ESMO) 2018 р., стандартом хіміотерапевтичного лікування НДКРЛ на занедбаних стадіях за відсутності експресії драйверних мутацій (EGFR, ALK, ROS тощо) є комбінація препаратів платини з паклітакселом, гемцитабіном, пеметрекседом або вінорельбіном [2]. Однак відповідь пухлини на лікування в пацієнтів з однаковим гістологічним варіантом пухлини й ідентичним лікуванням може суттєво відрізнятись. Це пов'язано з молекулярною гетерогенністю пухлин і наявністю факторів хіміорезистентності. Тому актуальним є пошук нових молекулярних пухлинних маркерів, що мають предиктивне і прогностичне значення.

p53 – багатофункціональний білок, який має ключове значення в регуляції клітинного циклу, апоптозу, транскрипції генів, відповіді на стресові фактори та репарацію ДНК. Прогностичне значення фактора доведено в багатьох дослідженнях, але, незважаючи на це, предиктивне значення фактора з'ясоване не до кінця [3].

Платиновмісні препарати реалізують свою цитотоксичну дію за допомогою зв'язування молекул ДНК з утворенням ДНК-аддуктів, блокуючи в такий спосіб процеси реплікації ДНК і, відповідно, поділ пухлинної клітини [4,5]. Однак є внутрішньоклітинні механізми, за допомогою яких відбувається репарація платино-індукованих пошкоджень ДНК. Одним із таких механізмів є NER-комплекс. Його ключовим елементом вважають білок ERCC1 (Excision repair cross-complementation group 1 protein), який відновлює поперечні зв'язки і подвійні розриви ДНК-ланцюгів [6,7]. Клінічне значення цього маркера останнім часом активно обговорюють [8–11]. Незважаючи на велику кількість досліджень, предиктивне і прогностичне значення цього маркера

залишається не визначеним і потребує продовження вивчення.

Мета роботи

Оцінити експресію ERCC1, p53 в пацієнтів на пізніх стадіях НДКРЛ, вивчити зв'язок експресії маркерів із різними клініко-морфологічними факторами, а також оцінити прогностичне та предикативне значення ERCC1 у пацієнтів на пізніх стадіях НДКРЛ.

Матеріали і методи дослідження

Робота виконана на базі Запорізького обласного клінічного онкологічного диспансеру. Дослідження здійснили, дотримуючись міжнародних етичних норм. Перед початком дослідження кожний пацієнт підписав 2 екземпляри форми інформованої згоди.

У дослідження залучили 45 пацієнтів із IIIA, IIIB і IV стадіями НДКРЛ (40,0 %, 51,1 % і 8,9 % відповідно) з червня 2011 до лютого 2014 р. Усі залучені пацієнти раніше не отримували лікування з приводу НДКРЛ і не мали в анамнезі онкологічних захворювань. У дослідженні взяли участь 4 (8,9 %) жінки та 41 (91,1 %) чоловік. Середній вік пацієнтів – 61 рік (від 49 до 76 років). У всіх пацієнтів отримали гістологічну верифікацію процесу. Гістологічні зразки отримали під час фібробронхоскопії або трансторакальної трепан-біопсії первинного та метастатичного вогнища. Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження виконали усім пацієнтам для оцінювання рівнів експресії ERCC1, p53. Визначення експресії маркерів, які обрали, виконали, використовуючи специфічні антитіла: моноклональне ERCC1 антитіло, клон 8F1 (0,2 мг/мл) виробник ThermoFisher; моноклональне Anti-p53 антитіло, клон PAb 240, виробник Abcam. Експресію ІГХ-маркерів оцінювали напівкількісним методом. У кожному полі оцінювали інтенсивність забарвлення та загальну кількість забарвлених клітин у зрізі. Інтенсивність забарвлення оцінювали як «0» (немає забарвлення), «1» (світло-жовте), «2» (світло-коричневе), «3» (темно-коричневе). Загальну кількість забарвлених клітин у кожному полі оцінювали як «0» (≤ 5 % забарвлених клітин), «1» (6–25 % клітин), «2» (26–50 %), «3» (51–75 %), «4» (> 75 %). Остаточне

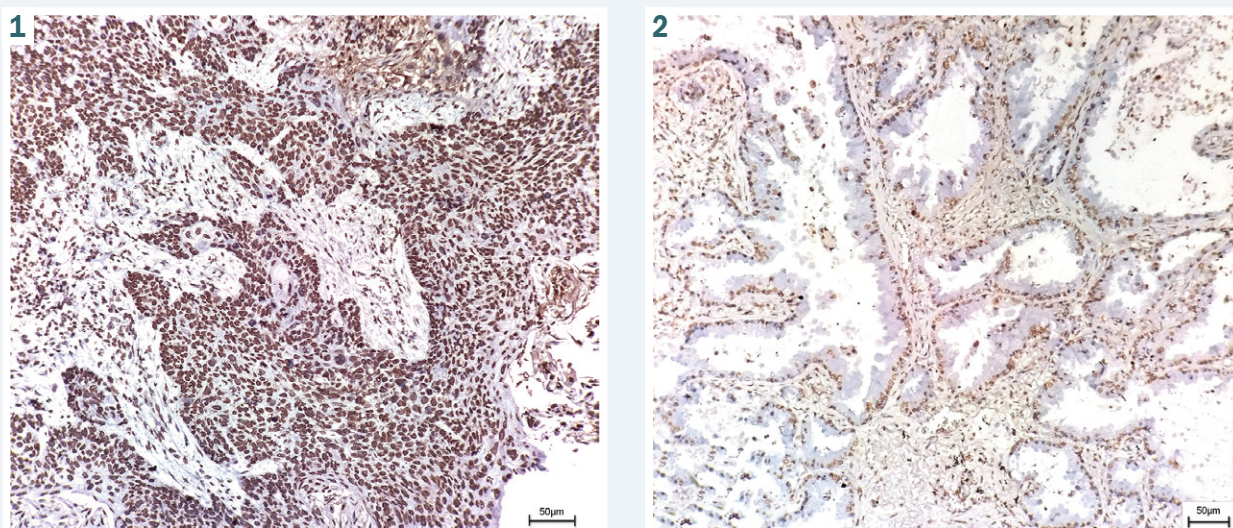


Рис. 1. Плоскоклітинна незроговіла карцинома легені з вираженою експресією ERCC1.

Рис. 2. Високодиференційована аденокарцинома легені зі слабкою експресією ERCC1.

оцінювання експресії ERCC1 розраховували шляхом обрахунку суми балів двох шкал. Результати: експресія відсутня – «-» (0–1 бал), «1+» (2–3 бали), «++» (4–5 балів), «+++» (6–7 балів).

Усіх пацієнтів поділили на 2 групи: в першу включили хворих із високою експресією ERCC1 (+++), у другу – з низьким рівнем експресії фактора (0–2+). Експресію p53 вважали високою при забарвленні зразків 3+.

Основним методом лікування хворих, котрі залучені в дослідження, була хіміотерапія, яку отримували 38 (84,4 %) осіб, 3 пацієнти не отримали спеціальне лікування через незадовільний ECOG статус (2 і більше балів), 2 пацієнтам хіміотерапія протипоказана через важку супутню патологію, 2 хворих відмовилися від запропонованого лікування. Схему цисплатин 80 мг/м² + етопозид 120 мг/м² отримали 22 (48,9 %) пацієнти; 11 хворим призначено схему цисплатин 80 мг/м² + паклітаксел 175 мг/м² внутрішньовенно в 1 день (24,4 %); 2 пацієнти отримували лікування за схемою цисплатин 80 мг/м² + гемцитабін 1000 мг/м² (4,4 %).

Статистичне опрацювання даних виконали в програмі Statistica for Windows 13.0 (ліц. № JPZ8041382130ARCN10-J). Для оцінювання зв'язку між експресією ERCC1 і клініко-морфологічними факторами (стать, вік, локалізація та розмір пухлини, наявність віддалених метастазів, ураження регіональних лімфатичних вузлів, інвазія магістральних судин, ступінь диференціювання пухлини, експресія p53, схема поліхіміотерапії (ПХТ)) використовували метод Спірмена. Виживаність пацієнтів оцінювали за методом Каплана–Майєра, порівняння виживаності у двох групах здійснювали шляхом побудови моделі пропорційних ризиків Кокса. Статистично значущими вважали результати при $p < 0,05$.

Результати

Експресію ERCC1 спостерігали у 27 (60,0 %) пацієнтів. Високу експресію фактора встановили в 14 (31,1 %)

Таблиця 1. Зв'язок експресії ERCC1 і p53 з клініко-морфологічними факторами

Характеристика	n	Про- цент	ERCC1				p, r
			Низька експресія (0–2+)		Висока експресія (3+)		
			n	%	n	%	
Стадія							
3А	18	40,0 %	9	29,0 %	9	64,3 %	p = 0,04 r = -0,3
3Б	23	51,1 %	19	61,3 %	4	28,6 %	
4	4	8,9 %	3	9,7 %	1	7,1 %	
Експресія p53							
Низька (0–50 %)	12	26,7 %	11	35,5 %	1	7,1 %	p = 0,0003 r = 0,5
Висока (51–100 %)	33	73,3 %	20	64,5 %	13	92,9 %	
Не проводили	5	11,0 %	29	93,5 %	11	78,6 %	

пацієнтів (рис. 1), низьку (1+, 2+) (рис. 2) – у 13 пацієнтів (28,9 %) відповідно. Білок p53 виявлений у гістологічних зразках 42 (93,3 %) осіб, високу експресію фактора спостерігали у 33 (73,3 %) хворих.

Оцінюючи зв'язок експресії ERCC1 із клініко-морфологічними факторами, не визначили статистично значущий зв'язок із віком, локалізацією та розмірами пухлини, T і N-статусом, ступенем диференціювання G і лікуванням (ПХТ, операція). Однак визначили слабкий, але статистично вірогідний зворотний кореляційний зв'язок зі стадією захворювання ($p = 0,04$, $r = -0,3$), прямий середньої сили зв'язок з експресією p53 ($p = 0,0003$, $r = 0,5$). Під час оцінювання зв'язку експресії p53 з клініко-морфологічними факторами виявили статистично значущий прямий зв'язок з віком пацієнтів ($p = 0,01$, $r = 0,35$), зворотний зв'язок – зі стадією захворювання ($p = 0,008$, $r = -0,38$) (табл. 1).

Прогностичне значення молекулярного фактора визначає його вплив на виживаність пацієнтів. Тривалість життя пацієнтів із високою експресією ERCC1 була більшою, ніж у пацієнтів із низькою експресією фактора. Медіана загальної виживаності пацієнтів із високою експресією ERCC1 становила 106,5 тижня, а в пацієнтів із низькою експресією цей показник дорівнював 38 тижнів ($p = 0,002$). Порівняння виживаності

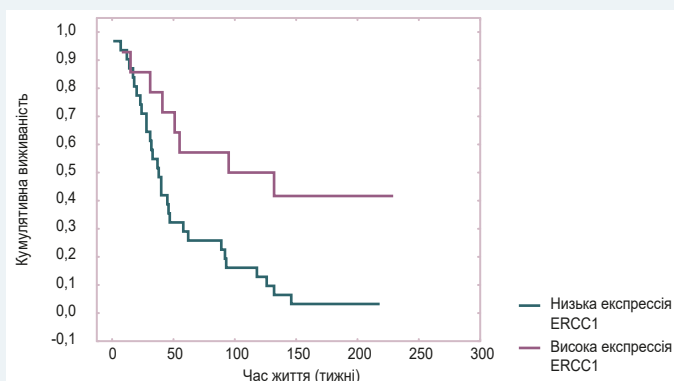


Рис. 3. Вживаність пацієнтів із різними рівнями експресії ERCC1.

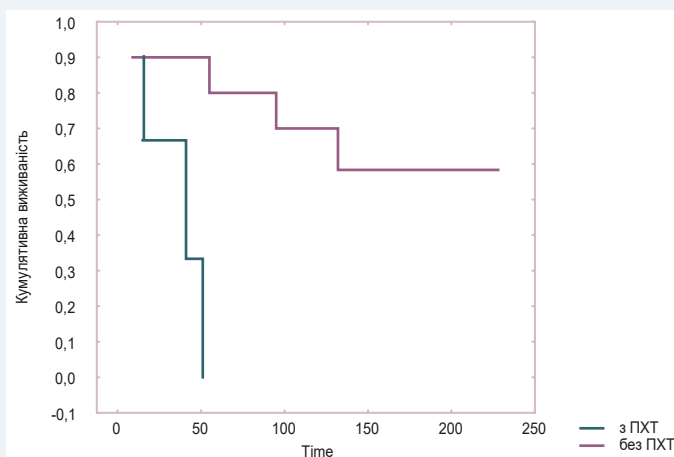


Рис. 4. Вплив ПХТ на виживаність пацієнтів із високою експресією ERCC1.

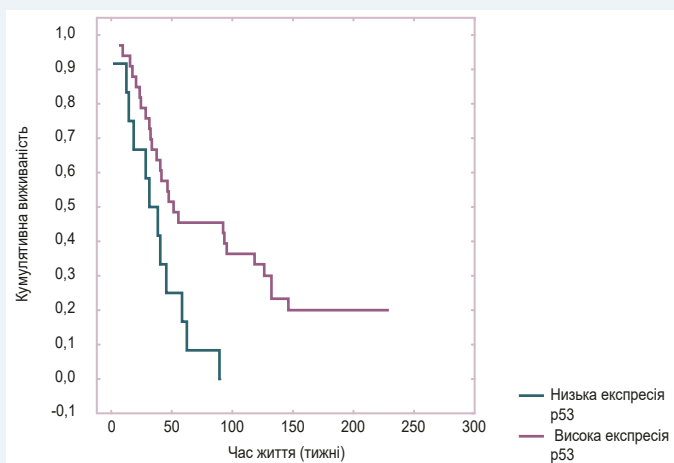


Рис. 5. Вплив експресії p53 на виживаність пацієнтів.

Таблиця 2. Визначення незалежних прогностичних факторів у пацієнтів на III–IV стадіях недрібноклітинного раку легенів, які отримували поліхіміотерапію

Фактор	Beta	Категорія	Значення p
ERCC1	-1,28817	Висока експресія (3+) Низька експресія (0, 1+, 2+)	0,01
p53	-0,84088	Висока експресія (3+) Низька експресія (0, 1+, 2+)	0,04
Стадія захворювання	1,18185	IIIА стадія, IIIB стадія, IV стадія	0,01

пацієнтів залежно від експресії ERCC1 наведені на рис. 3.

У загальній когорті пацієнтів призначення ПХТ вірогідно не впливало на тривалість життя ($p = 0,37$), як і у групі пацієнтів із низькою експресією ERCC1 ПХТ не поліпшує виживаність ($p = 0,45$).

У групі пацієнтів із високою експресією ERCC1 у разі проведення ПХТ спостерігали статистично значуще збільшення виживаності. Середня тривалість життя пацієнтів із високою експресією ERCC1, які не отримували ПХТ, становила 41 тиждень, а пацієнтів, які отримували хіміотерапію, медіана виживаності не досягнута ($p = 0,01$) (рис. 4).

Оцінюючи прогностичну роль p53, з'ясували: пацієнти з високою експресією p53 живуть довше, ніж хворі з низькою експресією фактора (43,5 проти 34,5 тижня) ($p = 0,02$) (рис. 5).

У групі пацієнтів із високою експресією p53 медіана виживаності пацієнтів, які отримували хіміотерапію, становила 93,5 тижня, що статистично вірогідно довше, ніж хворих, які не отримували ПХТ, – 33,0 тижня ($p = 0,04$).

Під час мультифакторного аналізу з'ясували: ERCC1, p53 і стадія захворювання є незалежними прогностичними факторами в пацієнтів на пізніх стадіях НДКРЛ, які отримували ПХТ (табл. 2).

Обговорення

Останнім часом дослідження маркера ERCC1 викликає чималий науковий інтерес [6–10]. Прогностичне та предиктивне значення цього маркера залишається невизначеним. У роботі Lord et al. (2002) доведено, що в пацієнтів із низькою експресією ERCC1 медіана виживаності була істотно більшою, ніж у пацієнтів із високою експресією фактора (61,6 проти 20,4 тижня) [12].

У дослідженні Olausson et al. (2016) показано, що призначення платиновмісних схем хіміотерапії в пацієнтів без експресії ERCC1 істотно поліпшувало виживаність хворих, що не спостерігали у групі пацієнтів із високою експресією фактора [13]. Однак у дослідженні Simon et al. (2005) визначена більша тривалість життя в пацієнтів із високою експресією РНК ERCC1, ніж у хворих із низькою експресією ($p = 0,01$) [14].

Незважаючи на велику кількість досліджень, що доводять прогностичне значення білка p53, кількість досліджень, в яких показана предиктивна роль цього маркера, вкрай обмежена. У роботі Tsaao et al. у пацієнтів з операбельним НДКРЛ із високою експресією фактора спостерігали кращий ефект від ад'ювантної ПХТ ($p = 0,02$), а у групі з низькою експресією післяопераційне лікування не покращувало результати лікування ($p = 0,26$). Протягом мультиваріантного аналізу висока експресія p53 визначена як незалежний предиктивний маркер ефективності ад'ювантної ПХТ ($p = 0,05$) [15].

Результати, що отримали, підтверджують клінічне значення високої експресії ERCC1 і p53 як маркерів прогнозу ефективності платиновмісної хіміотерапії в пацієнтів на занедбаних стадіях НДКРЛ. Необхідно продовжити дослідження з визначення показань до призначення ПХТ у хворих на III–IV стадії НДКРЛ.

Висновки

1. Експресія ERCC1, p53 і стадія захворювання – незалежні прогностичні фактори в пацієнтів на пізніх стадіях НДКРЛ, які отримують ПХТ.

2. Призначення ПХТ у пацієнтів із високою експресією ERCC1 і p53 суттєво поліпшує виживаність.

3. Визначення цих маркерів – необхідне під час прогнозування ефективності лікування в пацієнтів на пізніх стадіях НДКРЛ.

Перспективи подальших досліджень. Планується вивчення експресії маркера ERCC1 та інших маркерів хіміорезистентності (RRM1, TOP2α, β-тубуліну III класу) в пацієнтів з операбельним НДКРЛ (IA–IIIA стадій), а також дослідження впливу експресії цих маркерів на виживаність пацієнтів і можливість вибору схеми ад'ювантної ПХТ, враховуючи експресію маркерів хіміорезистентності.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 27.11.2019

Після доопрацювання / Revised: 07.02.2020

Прийнято до друку / Accepted: 16.02.2020

Відомості про авторів:

Колеснік О. П., д-р мед. наук, професор каф. онкології та онкохірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-7084-6720

Кузьменко В. О., очний аспірант і асистент каф. онкології та онкохірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-7243-2476

Information about authors:

Kolesnik O. P., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Oncology and Surgical Oncology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kuzmenko V. O., MD, PhD student and Assistant Professor of the Department of Oncology and Surgical Oncology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Сведения об авторах:

Колесник О. П., д-р мед. наук, профессор каф. онкологии и онкохирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Кузьменко В. А., очный аспирант и ассистент каф. онкологии и онкохирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Список літератури

- [1] Рак в Україні, 2014-2015. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. *Бюлетень Національного канцер-реєстру України*. 2016. № 17.
- [2] Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up / D. Planchard, S. Popat, K. Kerr et al. *Annals of Oncology*. 2018. Vol. 29. P. 192-237. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy275>
- [3] Mutated p53 Promotes the Symmetric Self-Renewal of Cisplatin-Resistant Lung Cancer Stem-Like Cells and Inhibits the Recruitment of Macrophages / Y. Xu, Z. Xu, Q. Li et al. *Journal of Immunology Research*. 2019. Vol. 2019. P. 1-9. <https://doi.org/10.1155/2019/7478538>
- [4] Contribution of genetic factors to platinum-based chemotherapy sensitivity and prognosis of non-small cell lung cancer / C. Perez-Ramirez, M. Canadas-Garre, M. A. Molina et al. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research*. 2017. Vol. 771. P. 32-58. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.11.003>

- [5] Drug Resistance in Non-Small Cell Lung Cancer: A Potential for NOTCH Targeting? / V. S. Iglesias, L. Giuranno, L. J. Dubois et al. *Frontiers in Oncology*. Vol. 8. P. 1-23. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00267>
- [6] A Significant Statistical Advancement on the Predictive Values of ERCC1 Polymorphisms for Clinical Outcomes of Platinum-Based Chemotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer: An Updated Meta-Analysis / Y. L. Han, J. Liu, M. L. Sun et al. *Disease Markers*. 2016. Vol. 2016. P. 1-13. <https://doi.org/10.1155/2016/7643981>
- [7] Can the response to a platinum-based therapy be predicted by the DNA repair status in non-small cell lung cancer? / M. Macerelli, M. Ganzinelli, C. Gouedard et al. *Cancer Treatment Reviews*. 2016. Vol. 48. P. 8-19. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2016.05.004>
- [8] The Evolving Biomarker Landscape for Treatment Selection in Metastatic Colorectal Cancer / J. Taieb, A. Jung, A. Sartore-Bianchi et al. *Drugs*. 2019. Vol. 79, Iss. 13. P. 1375-1394. <https://doi.org/10.1007/s40265-019-01165-2>
- [9] Sacco J. J., Al-Akhrass H., Wilson C. M. Challenges and Strategies in Precision Medicine for Non-Small-Cell Lung Cancer. *Current Pharmaceutical Design*. 2016. Vol. 22, Iss. 28. P. 4374-4385. <https://doi.org/10.2174/1381612822666160603014932>
- [10] Predictive Value of Ercc1 and Xpd Polymorphisms for Clinical Outcomes of Patients Receiving Neoadjuvant Therapy A Prisma-Compliant Meta-Analysis / Q. X. Mao, G. C. Dong, W. J. Xia et al. *Medicine*. 2015. Vol. 94, Iss. 39. P. 1-8. <https://doi.org/10.1097/md.0000000000001593>
- [11] Ras p21 Expression in the progression of breast cancer / F. B. Fromowitz, M. V. Viola, S. Chao et al. *Human Pathology*. 1987. Vol. 18, Iss. 12. P. 1268-1275. [https://doi.org/10.1016/s0046-8177\(87\)80412-4](https://doi.org/10.1016/s0046-8177(87)80412-4)
- [12] Low ERCC1 expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer / R. V. N. Lord, J. Brabender, D. Gandara et al. *Clinical Cancer Research*. 2002. Vol. 8, Iss. 7. P. 2286-2291.
- [13] Olaussen K. A., Postel-Vinay S. Predictors of chemotherapy efficacy in non-small-cell lung cancer: a challenging landscape. *Annals of Oncology*. 2016. Vol. 27, Iss. 11. P. 2004-2016. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw321>
- [14] ERCC1 expression is a predictor of survival in resected patients with non-small cell lung cancer / G. R. Simon, S. Sharma, A. Cantor et al. *Chest*. 2005. Vol. 127, Iss. 3. P. 978-983. <https://doi.org/10.1378/chest.127.3.978>
- [15] Prognostic and predictive importance of p53 and RAS for adjuvant chemotherapy in non-small-cell lung cancer / M. S. Tsao, S. Aviel-Ronen, K. Ding et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2007. Vol. 25, Iss. 33. P. 5240-5247. <https://doi.org/10.1200/jco.2007.12.6953>

References

- [1] Ukrainian cancer registry statistics. (2016). Rak v Ukraini, 2014-2015. Zakhvoriuvaniist, smertnist, pokaznyky diialnosti onkologichnoi sluzhby [Cancer in Ukraine, 2014-2015. Occupation, death, demonstration of oncological service]. *Bulletin of National Cancer Registry of Ukraine*, 17, [in Ukrainian].
- [2] Planchard, D., Popat, S., Kerr, K., Novello, S., Smit, E. F., Fairweather, C., Mok, T. S., Reck, M., Van Schil, P. E., Hellmann, M. D., Peters, S., & Comm, E. G. (2018). Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 29, 192-237. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy275>
- [3] Xu, Y., Xu, Z., Li, Q., Guo, L., Wang, Y., Zhou, J. C., Wang, G. S., & Liu, Y. L. (2019). Mutated p53 Promotes the Symmetric Self-Renewal of Cisplatin-Resistant Lung Cancer Stem-Like Cells and Inhibits the Recruitment of Macrophages. *Journal of Immunology Research*, 2019, Article 7478538. <https://doi.org/10.1155/2019/7478538>
- [4] Perez-Ramirez, C., Canadas-Garre, M., Molina, M. A., Robles, A. I., Faus-Dader, M. J., & Calleja-Hernandez, M. A. (2017). Contribution of genetic factors to platinum-based chemotherapy sensitivity and prognosis of non-small cell lung cancer. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research*, 771, 32-58. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.11.003>
- [5] Iglesias, V. S., Giuranno, L., Dubois, L. J., Theys, J., & Vooijs, M. (2018). Drug Resistance in Non-Small Cell Lung Cancer: A Potential for NOTCH Targeting? *Frontiers in Oncology*, 8, Article 267. <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.00267>
- [6] Han, Y. L., Liu, J., Sun, M. L., Zhang, Z. P., Liu, C. Y., & Sun, Y. P. (2016). A Significant Statistical Advancement on the Predictive Values of ERCC1 Polymorphisms for Clinical Outcomes of Platinum-Based Chemotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer: An Updated Meta-Analysis. *Disease Markers*, Article 7643981. <https://doi.org/10.1155/2016/7643981>
- [7] Macerelli, M., Ganzinelli, M., Gouedard, C., Broggin, M., Garasino, M. C., Linardou, H., Damia, G., & Wiesmuller, L. (2016). Can the response to a platinum-based therapy be predicted by the DNA repair status in non-small cell lung cancer? *Cancer Treatment Reviews*, 48, 8-19. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2016.05.004>

- [8] Taieb, J., Jung, A., Sartore-Bianchi, A., Peeters, M., Seligmann, J., Zaanen, A., Burdon, P., Montagut, C., & Laurent-Puig, P. (2019). The Evolving Biomarker Landscape for Treatment Selection in Metastatic Colorectal Cancer. *Drugs*, 79(13), 1375-1394. <https://doi.org/10.1007/s40265-019-01165-2>
- [9] Sacco, J. J., Al-Akhrass, H., & Wilson, C. M. (2016). Challenges and Strategies in Precision Medicine for Non-Small-Cell Lung Cancer. *Current Pharmaceutical Design*, 22(28), 4374-4385. <https://doi.org/10.2174/1381612822666160603014932>
- [10] Mao, Q. X., Dong, G. C., Xia, W. J., Yin, R., Jiang, F., Xu, L., Qiu, M. T., & Chen, Q. (2015). Predictive Value of Ercc1 and Xpd Polymorphisms for Clinical Outcomes of Patients Receiving Neoadjuvant Therapy A Prisma-Compliant Meta-Analysis. *Medicine*, 94(39), Article e1593. <https://doi.org/10.1097/md.0000000000001593>
- [11] Fromowitz, F. B., Viola, M. V., Chao, S., Oravez, S., Mishriki, Y., Finkel, G., Grimson, R., & Lundy, J. (1987). Ras p21 Expression in the progression of breast cancer. *Human Pathology*, 18(12), 1268-1275. [https://doi.org/10.1016/s0046-8177\(87\)80412-4](https://doi.org/10.1016/s0046-8177(87)80412-4)
- [12] Lord, R. V. N., Brabender, J., Gandara, D., Alberola, V., Camps, C., Domine, M., Cardenal, F., Sanchez, J. M., Gumerlock, P. H., Taron, M., Sanchez, J. J., Danenberg, K. D., Danenberg, P. V., & Rosell, R. (2002). Low ERCC1 expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research*, 8(7), 2286-2291.
- [13] Olaussen, K. A., & Postel-Vinay, S. (2016). Predictors of chemotherapy efficacy in non-small-cell lung cancer: a challenging landscape. *Annals of Oncology*, 27(11), 2004-2016. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw321>
- [14] Simon, G. R., Sharma, S., Cantor, A., Smith, P., & Bepler, G. (2005). ERCC1 expression is a predictor of survival in resected patients with non-small cell lung cancer. *Chest*, 127(3), 978-983. <https://doi.org/10.1378/chest.127.3.978>
- [15] Tsao, M. S., Aviel-Ronen, S., Ding, K., Lau, D., Liu, N., Sakurada, A., Whitehead, M., Zhu, C. Q., Livingston, R., Johnson, D. H., Rigas, J., Seymour, L., Winton, T., & Shepherd, F. A. (2007). Prognostic and predictive importance of p53 and RAS for adjuvant chemotherapy in non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 25(33), 5240-5247. <https://doi.org/10.1200/jco.2007.12.6953>

Дослідження маркера міокардіального стресу ST2 у хворих на обструктивне апное сну та гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу

В. І. Кривенко^{A,E,F}, О. А. Світлицька^{B,C,D}

Запорізький державний медичний університет, Україна

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

Мета роботи – дослідити динаміку маркера ST2 в сироватці крові хворих із поєднаним перебігом обструктивного апное сну (ОАС) і гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби (ГЕРХ), проаналізувати його взаємозв'язок із показниками дисфункції міокарда.

Матеріали та методи. На базі навчально-наукового медичного центру «Університетська клініка» ЗДМУ обстежили 135 хворих: I група – 31 пацієнт із ГЕРХ, II група – 32 особи, які хворі на ОАС, III група – 72 пацієнти з ОАС і ГЕРХ. Контрольна група – 30 практично здорових осіб. Середній вік пацієнтів – 48 (36; 58) років. Групи зіставні за віком, статтю хворих. У всіх пацієнтів визначали сироватковий рівень маркера міокардіального стресу ST2. Оцінювали результати дисперсійного картування ЕКГ, добового моніторування ЕКГ та АТ, ехокардіоскопії.

Результати. У пацієнтів із поєднаним перебігом ОАС і ГЕРХ визначили збільшення маркера ST2 порівняно з пацієнтами контрольної групи вдвічі, з хворими I групи – в 1,66 раза, з пацієнтами II групи – в 1,36 раза ($p < 0,05$). Виявили вірогідні кореляційні зв'язки рівня ST2 з індексом апное-гіпноє (АНІ), з параметрами варіабельності серцевого ритму, індексом Міокард за даними дисперсійного картування ЕКГ і параметрами діастолічної функції лівого шлуночка за даними ЕХОКС.

Висновки. Хворим із коморбідним перебігом обструктивного апное сну та гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби притаманний вищий рівень маркера ST2. Сироваткова концентрація ST2 корелює з кардіоваскулярними порушеннями у хворих із поєднаним перебігом ОАС і ГЕРХ.

Ключові слова:

обструктивне апное сну, гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба, маркер міокардіального стресу ST2, дисфункція міокарда.

Патологія. 2020.

Т. 17, № 1(48).

С. 21-25

*E-mail:

svitlytska.ok@gmail.com

ST2 myocardial stress marker research in patients with obstructive sleep apnea and gastroesophageal reflux disease

V. I. Kryvenko, O. A. Svitlytska

Aim. To investigate the ST2 marker dynamics in the serum in patients with combined obstructive sleep apnea (OSA) and gastroesophageal reflux disease (GERD) and analyze its relationship with myocardial dysfunction.

Materials and methods. 135 patients were examined at the Educational and Scientific Medical Center of ZSMU "University Clinic": group I – 31 patients with GERD, group II – 32 patients with OSA, group III – 72 patients with OSA and GERD. The control group consisted of 30 healthy individuals. The patients' average age was 48 (36; 58) years. The groups were comparable by age, gender composition. The myocardial stress marker ST2 serum level was examined in all patients. The results of dispersive ECG mapping, daily monitoring of ECG and blood pressure, and echocardiography were evaluated.

Results. In patients with OSA and GERD combined course, 2-fold increase in the ST2 marker was detected compared with patients in the control group, with patients in group I – by 1.66 times, with patients in group II – by 1.36 times ($P < 0.05$). Significant correlation between ST2 level and the apnea-hypopnea index (ANI), heart rate variability parameters, the "Myocardium" index according to the dispersive ECG mapping and the left ventricular diastolic function parameters according to echocardiography was revealed.

Conclusions. Patients with a comorbid course of obstructive sleep apnea and gastroesophageal reflux disease have higher level of the ST2 marker. Serum ST2 concentration correlates with cardiovascular disorders in patients with combined OAS and GERD.

Key words:

obstructive sleep apnea, gastroesophageal reflux disease, ST2 marker of myocardial stress, myocardial dysfunction.

Pathologia

2020; 17 (1), 21-25

Исследование маркера миокардиального стресса ST2 у больных обструктивным апноэ сна и гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью

В. И. Кривенко, О. А. Светлицкая

Цель работы – исследовать динамику маркера ST2 в сыворотке крови больных с сочетанным течением обструктивного апноэ сна (ОАС) и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ), проанализировать его взаимосвязь с показателями дисфункции миокарда.

Материалы и методы. На базе учебно-научного медицинского центра «Университетская клиника» ЗГМУ обследовали 135 больных: I группа – 31 пациент с ГЭРБ, II группа – 32 больных ОАС, III группа – 72 пациента с ОАС и ГЭРБ. Контрольная группа – 30 практически здоровых лиц. Средний возраст пациентов составил 48 (36; 58) лет. Группы

Ключевые слова:

обструктивное апноэ сна, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, маркер миокардиального стресса ST2, дисфункция миокарда.

Патология. 2020.

Т. 17, № 1(48).

С. 21-25

сопоставимы по возрасту и полу больных. У всех пациентов определяли сывороточный уровень маркера миокардиального стресса ST2. Оценивали результаты дисперсионного картирования ЭКГ, суточного мониторирования ЭКГ и АД, эхокардиоскопии.

Результаты. У пациентов с сочетанным течением ОАС и ГЭРБ установлен рост маркера ST2 по сравнению с пациентами контрольной группы в 2 раза, с больными I группы – в 1,66 раза, с пациентами II группы – в 1,36 раза ($p < 0,05$). Установлены достоверные корреляционные связи ST2 с индексом апноэ-гиппноэ (АНИ), с параметрами вариабельности сердечного ритма, индексом Миокард по данным дисперсионного картирования ЭКГ и параметрами диастолической функции левого желудочка по данным ЭХОКС.

Выводы. Больным с коморбидным течением обструктивного апноэ сна и гастроэзофагеальной рефлюксной болезни присущ более высокий уровень маркера ST2. Сывороточная концентрация ST2 коррелирует с кардиоваскулярными нарушениями у больных с сочетанным течением ОАС и ГЭРБ.

У 2002 р. Weinberg et al. уперше встановили, що інтерлейкіновий розчинний рецептор ST2 експресується серцевими клітинами у відповідь на міокардіальний стрес [1]. Це дослідження поклало початок вивченню ролі ST2 як прогностичного маркера несприятливих серцево-судинних подій. Нині відомо, що підвищення рівня ST2 спостерігають під час розвитку гострої, хронічної серцевої недостатності [3,4], інфаркту міокарда [1], при ремоделюванні шлуночків серця, формуванні фіброзу кардіоміоцитів [3] та при інших захворюваннях, які асоціюються з високим ризиком кардіоваскулярної смерті в пацієнтів із дисфункцією міокарда [2].

Із фахової наукової літератури відомо, що поєднаний перебіг обструктивного апноє сну (ОАС) і гастро-езофагеальної рефлюксної хвороби (ГЕРХ) нерідко супроводжується серцево-судинними порушеннями та розвитком фатальних кардіоваскулярних подій (інфаркт міокарда, раптова серцева смерть). Аналізуючи наукові джерела, виявили поодинокі дані про вивчення рівня маркера ST2 у хворих на ізольований перебіг ОАС, ГЕРХ, які є неоднозначними та суперечливими [3,5,6]. Публікацій щодо досліджень маркера ST2 у хворих із коморбідним перебігом ОАС і ГЕРХ у доступній фаховій літературі не виявили.

Мета роботи

Дослідити динаміку маркера ST2 в сироватці крові хворих із поєднаним перебігом обструктивного апноє сну та гастро-езофагеальної рефлюксної хвороби, проаналізувати його взаємозв'язок із показниками дисфункції міокарда.

Матеріали і методи дослідження

У дослідження, що виконали в умовах навчально-наукового медичного центру «Університетська клініка» Запорізького державного медичного університету, залучили 135 хворих. Пацієнтів поділили на 3 групи спостереження: I – 31 хворий на ГЕРХ, II – 32 особи з ізольованим перебігом ОАС, III група – 72 особи з коморбідним перебігом ОАС і ГЕРХ. У контрольну групу ввійшли 30 практично здорових осіб. Критерій залучення в дослідження – наявність ГЕРХ, ОАС або поєднання ОАС і ГЕРХ. Критерії виключення: ішемічна хвороба серця, гостра або хронічна серцева недостатність, запальні захворювання міокарда, інфаркт міокарда в анамнезі, гострі або загострення хронічних інфекційних, аутоімунних захворювань,

злоякісні утворення, печінкова та ниркова недостатність; із дослідження виключили хворих, які приймали β -адреноблокатори, адреноміметичні засоби, снодійні препарати, курців; відмова пацієнта від участі в обстеженні. Середній вік пацієнтів становив 48 (36; 58) років. У дослідженні взяли участь 76 (46 %) жінок і 89 (54 %) чоловіків. Групи дослідження зіставні за віком, статтю хворих, рівнем системного артеріального тиску, тривалістю перебігу ГЕРХ ($p > 0,05$).

Для виявлення ОАС виконали кардіореспіраторне дослідження з використанням апарату SOMNOcheck micro cardio (Weinmann, ФРН). Параметри реєстрували з 22.00 до 06.00 наступного дня, що в дослідженні визначили як нічний час. Наявність ОАС діагностували, коли індекс апноє-гіпноє (АНИ) становив понад 5 подій за годину. За ступенем важкості ОАС розрізняли 3 ступені: I – АНИ 5,0–14,9 подій за годину, II – 15,0–29,9 подій за годину, III ступінь – 30 і більше подій за годину [7]. Також аналізували індекс обструктивного апноє сну (оАНИ), індекс десатурації (ІД).

Пацієнтам I та III груп виконали езофагогастроудоденоскопію цифровою відеоендоскопічною системою експертного класу FUJINON EPX-4450HD (Японія). Діагноз ГЕРХ визначали за вимогами Лос-Анджелеської класифікації [8].

Для визначення особливостей вегетативного статусу в нічний період пацієнтам виконували добове моніторування ЕКГ та артеріального тиску (АТ). Під час добового моніторування ЕКГ («Кардіосенс АТ», ХАІ-МЕДІКА, Україна) оцінювали параметри варіабельності серцевого ритму (BCP) в нічний період з 22.00 години до 06.00 ранку наступної доби. Аналізували часові параметри BCP: RMSSD – квадратний корінь із середнього значення квадратів різниць величин послідовних інтервалів R-R; SDNNi – середнє зі стандартних відхилень інтервалів N-N за кожні 5 хвилин; рNN50 – відсоток кардіо-інтервалів, що відрізнялися від сусідніх на понад 50 мс, від загальної кількості кардіоінтервалів. У частотній (спектральній) ділянці аналізували HF, LF (потужність височастотних і низькочастотних коливань спектра), LF/HF (коефіцієнт, який показує симпатто-парасимпатичний баланс), TP (загальна потужність спектра) [9].

Для дефініції порушень де- і реполяризаційних властивостей кардіоміоцитів визначали інтегральний індекс Міокард на апараті «Кардіовізор» ЕКСЦ-02-КАРДи2/4 [10]. Усім хворим виконали ехокардіоскопію (ЕХОКС) на ультразвуковому сканері MyLab 50 (Італія). Аналіз результатів виконали за рекомендаціями ASA/EAS (2015) [11].

Кров для визначення концентрації ST2 в сироватці крові брали натще. Дослідження виконували у клініко-діагностичній лабораторії університетської клініки Запорізького державного медичного університету методом імунофлуоресценції (імуноферментний аналізатор «ImmunoChem 2100», НТІ, США), використовуючи набір реактивів Critical Diagnostics (США).

Статистичне опрацювання даних здійснили за допомогою програми Statistica 13.0 for Windows (StatSoft Inc., № JPZ8041382130ARCN10-J). Гіпотезу про нормальність розподілу показників, які вивчали, перевіряли з використанням критерію Шапіро–Уїлка. Враховуючи, що більшість параметрів мала асиметричний розподіл, значення наведені як Ме (Q25 %; Q75 %), групи порівнювали, використовуючи критерій Манна–Уїтні, Краскела–Уоліса та χ^2 . Для оцінювання взаємозв'язку між ознаками використовували кореляційний аналіз із розрахунком коефіцієнта рангової кореляції Спірмена (r), коефіцієнта γ . Статистично значущими відмінності вважали при $p < 0,05$.

Під час дослідження 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 виконання наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2000 рр.) та наказу МОЗ України № 281 від 01.11.2000 р. Усі пацієнти дали інформовану письмову згоду на збір та опрацювання інформації.

Результати

За даними, що наведені на *рис. 1*, у пацієнтів із поєднаним перебігом ОАС і ГЕРХ концентрація маркера ST2 в сироватці крові була збільшеною порівняно з практично здоровими особами в 1,96 раза, з хворими на ГЕРХ – в 1,66 раза, з пацієнтами, які мали тільки ОАС, – в 1,36 раза ($p < 0,001$). У хворих III групи виявили вплив важкості обструктивного апное на рівень маркера ST2 ($\chi^2 = 14,83$, $df = 2$, $p < 0,05$), а також позитивний взаємозв'язок величини маркера ST2 з показниками кардіореспіраторного моніторингу: АНІ ($r = +0,66$, $p < 0,05$), оАНІ ($r = +0,62$, $p < 0,05$), ІД ($r = +0,36$, $p < 0,05$). У пацієнтів із синхронним перебігом ОАС і ГЕРХ виявили вірогідний взаємозв'язок між маркером ST2 та індексом Міокард дисперсійного картування ЕКГ ($r = +0,51$, $p < 0,05$).

Під час аналізу морфофункціональних показників ехокардіографії встановили, що у хворих із поєднаним перебігом ОАС і ГЕРХ наявна діастолічна дисфункція міокарда (*табл. 1*). Так, в обстежених III групи щодо пацієнтів, які включені в I та II групи, вірогідно зменшене співвідношення максимальної швидкості раннього і пізнього діастолічного наповнення лівого шлуночка (Е/А) (на $-45,03$ % та на $-8,18$ % відповідно, $p < 0,05$); вірогідно збільшене співвідношення трансмітральної швидкості раннього діастолічного наповнення до швидкості раннього діастолічного руху мітрального кільця (Е/е') (на $+24,62$ % та $+8,58$ % відповідно, $p < 0,05$). У III групі порівняно з хворими I групи зареєстрували також збільшення тривалості сповільнення піка раннього діастолічного наповнення

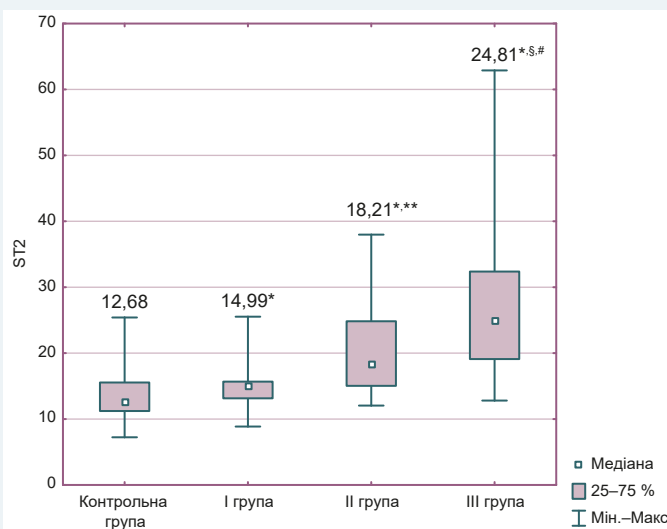


Рис. 1. Вміст маркера ST2 в сироватці крові пацієнтів, яких обстежили, нг/мл.

*: вірогідна різниця порівняно з контрольною групою; **: вірогідна різниця між I та II групами; #: вірогідна різниця між I та III групами; *: вірогідна різниця між II та III групами ($p < 0,05$).

Таблиця 1. Показники діастолічної функції міокарда лівого шлуночка в обстежених

Показники, одиниці вимірювання	I група ГЕРХ (n = 31)	II група ОАС (n = 32)	III група ОАС + ГЕРХ (n = 72)
E/A, ум. од.	1,240 (0,930; 1,460)	0,925 (0,810; 1,255)*	0,855 (0,685; 1,095)**#
DT, мс	165,0 (148,0; 191,0)	174,0 (150,5; 215,0)	191,0 (162,0; 223,5)**
E/E', ум. од.	5,89 (4,87; 6,61)	6,76 (5,78; 7,31)*	7,34 (6,29; 8,98)**#

*: вірогідна різниця між I та II групами; **: вірогідна різниця між I та III групами; #: вірогідна різниця між II та III групами ($p < 0,05$).

лівого шлуночка (DT) на $+15,8$ % ($p < 0,05$). У пацієнтів III групи визначили позитивний кореляційний зв'язок рівня маркера ST2 в сироватці крові з величиною E/e' ($r = +0,29$, $p < 0,05$), тривалістю DT ($r = +0,34$, $p < 0,05$) і негативний взаємозв'язок з E/A ($r = -0,43$). Визначили, що у хворих із поєднаним перебігом ОАС і ГЕРХ при формуванні діастолічної дисфункції лівого шлуночка зростає сироватковий рівень ST2 ($\chi^2 = 3,84$, $df = 1$, $p < 0,05$).

Розвиток у хворих із поєднаним перебігом ОАС і ГЕРХ діастолічної дисфункції лівого шлуночка, порушення де- і реполяризаційних властивостей кардіоміоцитів (збільшення індексу Міокард) супроводжувалось істотними патологічними змінами часових і частотних параметрів варіабельності серцевого ритму. Під час аналізу кореляційних зв'язків показників ВСР у цих хворих виявили позитивний взаємозв'язок рівня маркера ST2 із величиною SDNNi ($r = +0,49$, $p < 0,05$), TP ($r = +0,54$, $p < 0,05$), RMSSD ($r = +0,33$, $p < 0,05$), pNN50 ($r = +0,31$, $p < 0,05$), LF ($r = +0,45$, $p < 0,05$), HF ($r = +0,49$, $p < 0,05$), негативний зв'язок із LF/HF ($r = -0,33$, $p < 0,05$).

Обговорення

Вірогідне збільшення сироваткового рівня маркера ST2 у хворих із поєднаним перебігом ОАС і ГЕРХ

свідчить про загрозу несприятливих кардіоваскулярних подій у цих пацієнтів. Підвищення рівня маркера ST2 при обструктивному апное сну відзначають й інші автори [12, 13]. Так, Н. К. Khattak et al. (2018) виявили у хворих на ОАС збільшення сироваткової концентрації ST2 за наявності болю у грудній клітці [12]. У нашому дослідженні кардіалгії визначили у 8,2 % хворих, у 17,5 % пацієнтів зареєстрували серцеві аритмії. Варто зазначити, що у III групі рефлюксні болі у грудях і виразну печію (симптоми, які можуть маскувати прояви болю в ділянці серця) зафіксували у 31,9 % та у 81,9 % обстежених відповідно.

Протягом дослідження встановили вірогідний взаємозв'язок сироваткового рівня ST2 та величини індексу Міокард. Зв'язок цих показників, на наш погляд, має надзвичайно важливе діагностичне значення для виявлення у хворих із поєднаним перебігом ОАС і ГЕРХ серцевої патології з високим ризиком раптової смерті. Як відомо, збільшення індексу Міокард свідчить про порушення де- і реполяризаційних властивостей кардіоміоцитів, що може бути виявлене при перенапруженні міокарда шлуночків, порушенні послідовності деполяризації, розвитку електролітного дисбалансу, тобто станів, які можуть призвести до фатальних серцевих подій і потребують виконання додаткових обстежень. За даними Framingham Heart Study (2012), підвищення сироваткового рівня ST2 в пацієнтів без ознак серцево-судинних захворювань демонструє сильну асоціацію зі смертю від усіх причин протягом наступного року [13]. Враховуючи позитивний взаємозв'язок сироваткового рівня ST2 і величини індексу Міокард, дисперсійне картування ЕКГ (простий у виконанні та недорогий метод) доцільно використовувати для скринінгу серцево-судинних розладів у хворих із поєднаним перебігом ОАС і ГЕРХ.

Під час обстеження хворих на інфаркт міокарда, гіпертонічну хворобу, серцеву недостатність дослідники виявили, що між зростанням сироваткової концентрації маркера ST2 і показниками дисфункції міокарда лівого шлуночка наявна вірогідна кореляція [6, 7, 14, 15]. Вивчення аналогічних показників у пацієнтів із поєднаним перебігом ОАС і ГЕРХ також показало наявність вірогідного зв'язку між величиною ST2 і тривалістю сповільнення піка раннього діастолічного наповнення лівого шлуночка, співвідношеннями максимальної швидкості раннього і пізнього діастолічного наповнення лівого шлуночка, трансмітральної швидкості раннього діастолічного наповнення до швидкості раннього діастолічного руху мітрального кільця. Як свідчать наведені дані, збільшення концентрації ST2 у сироватці крові пов'язано з розвитком у хворих із коморбідним перебігом ОАС і ГЕРХ діастолічної дисфункції міокарда. Аналогічні результати отримали A. D. Farcaş et al. (2017), які під час обстеження пацієнтів з ОАС також виявили позитивну кореляцію маркера ST2 із параметрами діастолічної функції лівого шлуночка [16].

Отже, в пацієнтів із поєднаним перебігом ОАС і ГЕРХ наявне підвищення рівня в сироватці крові маркера міокардального стресу ST2, яке в цих хворих асоційоване з порушеннями де- і реполяризаційних властивостей кардіоміоцитів і розвитком діастолічної дисфункції міокарда лівого шлуночка.

Висновки

1. Поєднаний перебіг обструктивного апное сну та гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби супроводжується збільшенням ризику розвитку серцево-судинних подій. Це підтверджується вірогідним зростанням величини маркера міокардального стресу ST2 в сироватці крові порівняно з практично здоровими особами в 1,98 раза, хворими на ГЕРХ – в 1,65 раза, пацієнтами, які мали апное, – в 1,36 раза ($p < 0,05$).

2. У хворих із коморбідним перебігом ОАС і ГЕРХ виявлена взаємодія маркера ST2 і ступеня важкості обструктивного апное сну ($\chi^2 = 14,83$, $df = 2$, $p < 0,05$).

3. Підвищення рівня маркера міокардального стресу ST2 при синхронному перебігу ОАС і ГЕРХ асоційоване з порушеннями де- і реполяризаційних властивостей кардіоміоцитів і розвитком діастолічної дисфункції міокарда лівого шлуночка.

Перспективи подальших досліджень: оцінити вміст параметрів оксидативного стресу для вдосконалення алгоритмів діагностики та методів корекції метаболічних порушень у хворих із поєднаним перебігом обструктивного апное сну та гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 23.12.2019

Після доопрацювання / Revised: 30.01.2020

Прийнято до друку / Accepted: 04.02.2020

Відомості про авторів:

Кривенко В. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. сімейної медицини, терапії, кардіології та неврології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-2050-3954

Світлицька О. А., аспірант каф. сімейної медицини, терапії, кардіології та неврології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-4987-8458

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.

Svityltyska O. A., MD, Postgraduate Student of the Department of Family Medicine, Therapy, Cardiology and Neurology, Faculty of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

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.

Светлицкая О. А., аспирант каф. семейной медицины, терапии, кардиологии и неврологии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Список літератури

- [1] Expression and regulation of ST2, an interleukin-1 receptor family member, in cardiomyocytes and myocardial infarction / E. O. Weinberg, M. Shimp, G. W. De Keulenaer et al. *Circulation*. 2002. Vol. 106, Iss. 23. P. 2961-2966. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000038705.69871.d9>

- [2] The confounding effects of non-cardiac pathologies on the interpretation of cardiac biomarkers / M. Nishimura, A. Brann, K.-W. Chang, A. S. Maisel. *Current Heart Failure Reports*. 2018. Vol. 15, Iss. 4. P. 239-249. <https://doi.org/10.1007/s11897-018-0398-4>
- [3] Cardiac Biomarkers in the Emergency Department: The Role of Soluble ST2 (sST2) in Acute Heart Failure and Acute Coronary Syndrome-There is Meat on the Bone / A. Aleksova, A. Paldino, A. P. Beltrami et al. *Journal of Clinical Medicine*. 2019. Vol. 8, Iss. 2. P. 270. <https://doi.org/10.3390/jcm8020270>
- [4] McCarthy C. P., Januzzi J. L. Soluble ST2 in Heart Failure. *Heart Failure Clinics*. 2018. Vol. 14, Iss. 1. P. 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.hfc.2017.08.005>
- [5] Changes in inflammatory mediators as a result of intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea syndrome / V. Sozer, M. Kutnu, E. Atahan et al. *Clinical Respiratory Journal*. 2018. Vol. 12, Iss. 4. P. 1615-1622. <https://doi.org/10.1111/crj.12718>
- [6] Epithelial-derived nuclear IL-33 aggravates inflammation in the pathogenesis of reflux esophagitis / J. Shan, T. Oshima, T. Muto et al. *Journal of Gastroenterology*. 2015. Vol. 50, Iss. 4. P. 414-423. <https://doi.org/10.1007/s00535-014-0988-1>
- [7] Sateia M. J. International Classification of Sleep Disorders-Third Edition Highlights and Modifications. *Chest*. 2014. Vol. 146, Iss. 5. P. 1387-1394. <https://doi.org/10.1378/chest.14-0970>
- [8] Relationship between esophageal motility and severity of gastroesophageal reflux disease according to the Los Angeles classification / L. Liu, S. Li, K. X. Zhu et al. *Medicine*. 2019. Vol. 98, Iss. 19. P. e15543. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000015543>
- [9] Функціональна діагностика : підруч. для лікарів-інтернів і лікарів-слухачів закл. (ф-тів) післядиплом. освіти МОЗ України / О. Й. Жарінов та ін.; за ред. О. Й. Жарінова, Ю. А. Іваніва, В. О. Куця. Київ : Четверта хвиля, 2018. 732 с.
- [10] Иванов Г. Г. Сула А. С. Анализ микроальтераций ЭКГ методом дисперсионного картирования в клинической практике. Москва : Техносфера, 2014. 104 с.
- [11] Recommendations for Cardiac Chamber Quantification by Echocardiography in Adults: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging / R. M. Lang, L. P. Badano, V. Mor-Avi et al. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2015. Vol. 28, Iss. 1. P. 1-U170. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2014.10.003>
- [12] Obstructive Sleep Apnea in Heart Failure: Review of Prevalence, Treatment with Continuous Positive Airway Pressure, and Prognosis / H. K. Khattak, F. Hayat, S. V. Pamboukian et al. *Texas Heart Institute Journal*. 2018. Vol. 45, Iss. 3. P. 151-161. <https://doi.org/10.14503/thij-15-5678>
- [13] ST2 elevation in heart failure, predictive of a high early mortality / J. J. Dalal, A. Digrajk, B. Das et al. *Indian Heart Journal*. 2018. Vol. 70, Iss. 6. P. 822-827. <https://doi.org/10.1016/j.ihj.2018.08.019>
- [14] Symptoms of Obstructive Sleep Apnea, Gastroesophageal Reflux and the Risk of Barrett's Esophagus in a Population-Based Case-Control Study / A. Lindam, B. J. Kendall, A. P. Thrift et al. *Plos One*. 2015. Vol. 10, Iss. 6. P. e0129836. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129836>
- [15] Mandal S., Kent B. D. Obstructive sleep apnoea and coronary artery disease. *Journal of Thoracic Disease*. 2018. Vol. 10. P. S4212-S4220. <https://doi.org/10.21037/jtd.2018.12.75>
- [16] Serum Soluble ST2 and Diastolic Dysfunction in Hypertensive Patients / A. D. Farcas, F. P. Anton, C. M. Goidescu et al. *Disease Markers*. 2017. P. 2714095. <https://doi.org/10.1155/2017/2714095>
- [6] Shan, J., Oshima, T., Muto, T., Yasuda, K., Fukui, H., Watari, J., Nakanishi, K., & Miwa, H. (2015). Epithelial-derived nuclear IL-33 aggravates inflammation in the pathogenesis of reflux esophagitis. *Journal of Gastroenterology*, 50(4), 414-423. <https://doi.org/10.1007/s00535-014-0988-1>
- [7] Sateia, M. J. (2014). International Classification of Sleep Disorders-Third Edition Highlights and Modifications. *Chest*, 146(5), 1387-1394. <https://doi.org/10.1378/chest.14-0970>
- [8] Liu, L., Li, S., Zhu, K. X., Yu, W. H., Wang, H. J., Guo, J. Q., & Gao, H. W. (2019). Relationship between esophageal motility and severity of gastroesophageal reflux disease according to the Los Angeles classification. *Medicine*, 98(19), Article e15543. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000015543>
- [9] Zharinov, O. Y., Ivaniv, Yu. A., & Kuts, V. O. (Eds.). (2018). *Функціональна діагностика* [Functional diagnostics]. Kyiv, Ukraine. [in Ukrainian].
- [10] Ivanov, G. G., Sula, A. S. (2014) Analiz mikroal'teratsii EKG metodom dispersionnogo kartirovaniya v klinicheskoi praktike [Analysis of ECG microalterations by the method of dispersion mapping in clinical practice]. Moscow, Russia: *Tekhnosfera*. [in Russian].
- [11] Lang, R. M., Badano, L. P., Mor-Avi, V., Afalalo, J., Armstrong, A., Ernande, L., Flachskampf, F. A., Foster, E., Goldstein, S. A., Kuznetsova, T., Lancellotti, P., Muraru, D., Picard, M. H., Rietzschel, E. R., Rudski, L., Spencer, K. T., Tsang, W., & Voigt, J. U. (2015). Recommendations for Cardiac Chamber Quantification by Echocardiography in Adults: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 28(1), 1-U170. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2014.10.003>
- [12] Khattak, H. K., Hayat, F., Pamboukian, S. V., Hahn, H. S., Schwartz, B. P., & Stein, P. K. (2018). Obstructive Sleep Apnea in Heart Failure: Review of Prevalence, Treatment with Continuous Positive Airway Pressure, and Prognosis. *Texas Heart Institute Journal*, 45(3), 151-161. <https://doi.org/10.14503/thij-15-5678>
- [13] Dalal, J. J., Digrajk, A., Das, B., Bansal, M., Toomua, A., & Maisel, A. S. (2018). ST2 elevation in heart failure, predictive of a high early mortality. *Indian Heart Journal*, 70(6), 822-827. <https://doi.org/10.1016/j.ihj.2018.08.019>
- [14] Lindam, A., Kendall, B. J., Thrift, A. P., Macdonald, G. A., O'Brien, S., Lagergren, J., & Whiteman, D. C. (2015). Symptoms of Obstructive Sleep Apnea, Gastroesophageal Reflux and the Risk of Barrett's Esophagus in a Population-Based Case-Control Study. *Plos One*, 10(6), Article e0129836. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129836>
- [15] Mandal, S., & Kent, B. D. (2018). Obstructive sleep apnoea and coronary artery disease. *Journal of Thoracic Disease*, 10, S4212-S4220. <https://doi.org/10.21037/jtd.2018.12.75>
- [16] Farcas, A. D., Anton, F. P., Goidescu, C. M., Gavrilă, I. L., Vida-Simiti, L. A., & Stoia, M. A. (2017). Serum Soluble ST2 and Diastolic Dysfunction in Hypertensive Patients. *Disease Markers*, Article 2714095. <https://doi.org/10.1155/2017/2714095>

References

- [1] Weinberg, E. O., Shimp, M., De Keulenaer, G. W., MacGillivray, C., Tominaga, S., Solomon, S. D., Rouleau, J. L., & Lee, R. T. (2002). Expression and regulation of ST2, an interleukin-1 receptor family member, in cardiomyocytes and myocardial infarction. *Circulation*, 106(23), 2961-2966. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000038705.69871.d9>
- [2] Nishimura, M., Brann, A., Chang, K. -W., & Maisel, A. S. (2018). The confounding effects of non-cardiac pathologies on the interpretation of cardiac biomarkers. *Current Heart Failure Reports*, 15(4), 239-249. <https://doi.org/10.1007/s11897-018-0398-4>
- [3] Aleksova, A., Paldino, A., Beltrami, A. P., Padoan, L., Iacoviello, M., Sinagra, G., Emdin, M., & Maisel, A. S. (2019). Cardiac Biomarkers in the Emergency Department: The Role of Soluble ST2 (sST2) in Acute Heart Failure and Acute Coronary Syndrome-There is Meat on the Bone. *Journal of Clinical Medicine*, 8(2), Article 270. <https://doi.org/10.3390/jcm8020270>
- [4] McCarthy, C. P., & Januzzi, J. L. (2018). Soluble ST2 in Heart Failure. *Heart Failure Clinics*, 14(1), 41-48. <https://doi.org/10.1016/j.hfc.2017.08.005>
- [5] Sozer, V., Kutnu, M., Atahan, E., Ozturk, B. C., Hysi, E., Cabuk, C., Musellim, B., Simsek, G., & Uzun, H. (2018). Changes in inflammatory mediators as a result of intermittent hypoxia in obstructive sleep apnea syndrome. *Clinical Respiratory Journal*, 12(4), 1615-1622. <https://doi.org/10.1111/crj.12718>

The role of Toll-like receptors-4 in the pathogenesis of development of anemia of inflammation in young children

H. O. Lezhenko^{ID}*^{A,E,F}, A. O. Pogribna^{B-D}

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

Key words:

anemia,
inflammation,
Toll-like receptors-4,
young children.

Pathologia
2020; 17 (1), 26-31

*E-mail:
genalez@gmail.com

Aim. To determine the pathogenetic role of Toll-like receptors-4 (TLRs-4) in the development of anemia of inflammation (AI).

Materials and methods. The content of TLRs-4, ferritin and iron in blood serum of 78 children (1.5 ± 0.4 years old on the average) was studied by enzyme-linked immunosorbent assay. The main group included 46 children with acute inflammatory bacterial diseases of the respiratory system, which were divided into 2 subgroups: the first subgroup included 24 children with AI, the second – 22 children without anemia. Depending on the etiological factor, the main group was divided into subgroups: 1a – 12 patients with AI, *Streptococcus pneumoniae* was detected as the pathogen, 1b – 12 patients with AI, the pathogen – *Haemophilus influenzae*, 2a – 11 patients without AI, the pathogen – *Streptococcus pneumoniae*, 2b – 11 patients without AI, the pathogen – *Haemophilus influenzae*. The comparison group included 16 children with iron deficiency anemia without inflammatory manifestations. Control group included 16 conditionally healthy children. The observation groups were representative by age and sex of the children.

Results. It was determined that the content of TLRs-4 in children in the main group depended on the bacterial pathogen. The content of TLRs-4 in the subgroup where *Haemophilus influenzae* was the etiological factor exceeded more than 2 times the results of the control group ($P < 0.05$), 1.7 times the comparison group, and 2 times relative to their content in the group, where the disease was caused by *Streptococcus pneumoniae* ($P < 0.05$). There was a close correlation between the content of TLRs-4 in the group of patients whose disease was caused by gram-negative flora and the content of ferritin ($r = 0.8$, $P < 0.05$). The iron in the blood serum of children with anemia of inflammation was significantly lower than in the comparison and control groups by 1.6 times (8.78 (6.8215.30) ng/ml and 13.88 (12.74–16.52) ng/ml, respectively, $P < 0.05$).

Conclusions. The development of AI in young children is accompanied by an increase in TLRs-4, primarily in response to the intrusion of gram-negative microflora (*Haemophilus influenzae*). The content of ferritin is directly dependent on their level, which suggests the starting role in the protective mechanism of iron sequestration, which is an important link in the pathogenesis of the development of AI.

Ключові слова:
анемія запалення,
Toll-подібні
рецептори-4,
маленькі діти.

Патологія. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 26-31

Роль Toll-подібних рецепторів-4 в патогенезі розвитку анемії запалення в дітей раннього віку

Г. О. Леженко, А. О. Погрібна

Мета роботи – вивчення патогенетичної ролі Toll-подібних рецепторів-4 (ТПР-4) у розвитку анемії запалення.

Матеріали та методи. Вивчили вміст ТПР-4, феритину й заліза в сироватці крові 78 дітей (середній вік – 1,5 ± 0,4 року) методом імуноферментного аналізу. В основну групу включили 46 дітей, які мали гострі запальні бактеріальні захворювання органів дихання; групу поділили на 2 підгрупи: перша – 24 дитини з анемією запалення, друга – 22 дитини без анемії. Залежно від етіологічного чинника основну групу дослідження поділили на підгрупи: 1a – 12 пацієнтів з анемією запалення, збудник – *Streptococcus pneumoniae*, 1b – 12 дітей з анемією запалення, збудник – *Haemophilus influenzae*, 2a – 11 хворих без анемії запалення, збудник – *Streptococcus pneumoniae*, 2b – 11 осіб без анемії запалення, збудник – *Haemophilus influenzae*. У групу порівняння залучили 16 дітей із залізодефіцитною анемією без запальних проявів, у контрольну групу – 16 умовно здорових дітей. Групи спостереження репрезентативні за віком і статтю дітей.

Результати. Встановили, що вміст ТПР-4 в дітей основної групи залежав від бактеріального збудника. Вміст ТПР-4 в підгрупі, де етіологічним фактором була *Haemophilus influenzae*, більш ніж удвічі перевищував результати групи контролю ($p < 0,05$), в 1,7 раза – групи порівняння, вдвічі – щодо вмісту у групі, де захворювання зумовлено *Streptococcus pneumoniae* ($p < 0,05$).

Встановили тісний прямий кореляційний зв'язок між концентрацією ТПР-4 у групі пацієнтів, захворювання яких спричинене грамнегативною флорою, та вмістом феритину ($r = 0,8$, $p < 0,05$). Вміст заліза в сироватці крові дітей з анемією запалення був вірогідно нижчим, ніж показники груп порівняння та контролю в 1,6 раза (8,78 (6,82–15,30) нг/мл і 13,88 (12,74–16,52) нг/мл відповідно, $p < 0,05$).

Висновки. Розвиток анемії запалення в дітей раннього віку супроводжується підвищенням рівня ТПР-4, передусім у відповідь на грамнегативну мікрофлору (*Haemophilus influenzae*). Вміст феритину прямо залежить від їхнього рівня, що дає підстави для припущення щодо пускової ролі ТПР-4 в захисному механізмі секвестрації заліза, який є найважливішою ланкою в патогенезі розвитку анемії запалення.

Роль Toll-подобных рецепторов-4 в патогенезе развития анемии воспаления у детей раннего возраста

Г. А. Леженко, А. А. Погребная

Цель работы – изучение патогенетической роли Toll-подобных рецепторов-4 (ТПР-4) в развитии анемии воспаления.

Материалы и методы. Изучили содержание ТПР-4, ферритина и железа в сыворотке крови 78 детей (средний возраст – $1,5 \pm 0,4$ года) методом иммуноферментного анализа. В основную группу включили 46 детей с острыми воспалительными бактериальными заболеваниями органов дыхания, которых поделили на 2 подгруппы: первая – 24 ребенка с анемией воспаления, вторая – 22 ребенка без анемии. В зависимости от этиологического фактора основную группу исследования разделили на подгруппы: 1а – 12 пациентов с анемией воспаления, возбудитель – *Streptococcus pneumoniae*, 1b – 12 больных с анемией воспаления, возбудитель – *Haemophilus influenzae*, 2а – 11 детей без анемии воспаления, возбудитель – *Streptococcus pneumoniae*, 2b – 11 пациентов без анемии воспаления, возбудитель – *Haemophilus influenzae*. Группу сравнения составили 16 детей с железодефицитной анемией без воспалительных проявлений, контрольную группу – 16 условно здоровых детей. Группы наблюдения репрезентативны по возрасту и полу детей.

Результаты. Установлено, что содержание ТПР-4 у детей в основной группе зависело от бактериального возбудителя. Содержание ТПР-4 в подгруппе, где этиологическим фактором был *Haemophilus influenzae*, превышало более чем 2 раза результаты группы контроля ($p < 0,05$), в 1,7 раза – группы сравнения, в 2 раза больше относительно их содержания в группе, где заболевание было обусловлено *Streptococcus pneumoniae* ($p < 0,05$). Отмечена тесная прямая корреляционная связь между содержанием ТПР-4 в группе пациентов, заболевание которых вызвано грамотрицательной флорой, и содержанием ферритина ($r = 0,8$, $p < 0,05$). Содержание железа в сыворотке крови детей с анемией воспаления было достоверно ниже показателей групп сравнения и контроля в 1,6 раза ($8,78 (6,82-15,30)$ нг/мл и $13,88 (12,74-16,52)$ нг/мл соответственно, $p < 0,05$).

Выводы. Развитие анемии воспаления у детей раннего возраста сопровождается повышением уровня ТПР-4, прежде всего в ответ на внедрение грамотрицательной микрофлоры (*Haemophilus influenzae*). Содержание ферритина находится в прямой зависимости от их уровня, что позволяет предположить пусковую роль ТПР-4 в защитном механизме секвестрации железа, который является важнейшим звеном в патогенезе развития анемии воспаления.

Ключевые слова:
анемия
воспаления,
Toll-подобные
рецепторы-4,
дети младшего
возраста.

Патология. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 26-31

Toll-like receptors (TLRs) are important mediators of the inflammatory response and the corresponding activation of immune cells in response to the development of the infectious process and tissue damage. They are expressed on macrophages, neutrophils, natural killers, dendritic cells and recognize highly conserved type molecules characteristic for entire groups of microorganisms, the so-called "pathogen-associated microbial patterns". Components of bacterial walls can serve as examples of such structures: lipopolysaccharides of gram-negative bacteria, peptidoglycans and lipoteichoic acids of gram-positive bacteria, flagellin, viral nucleic acids [1]. However, despite the very wide variety of receptors in this family, it was found that TLRs-4 bind predominantly to bacterial antigens [2].

It is known that in response to the inflammatory process, an increase in hematopoiesis is observed, which is due to the satisfaction of a high need for an immune response. Signaling of Toll-like receptors is involved in the regulation of hematopoiesis by inducing proliferation and differentiation of cells of myeloid origin in response to the inflammatory process in the body [3], and its violation can lead to a disorder in normal hematopoiesis [4].

Hemoglobin released during erythrocyte lysis can initiate TLRs-4-dependent signaling and trigger NF- κ B activation in surrounding cells [5]. The role of TLRs-4 has been proven in the implementation of hemophagocytosis, which occurs in response to their recognition of bacterial pathogens, by inducing macrophages [6].

Given the study of anemia of inflammation (AI), of particular interest are the studies of Paula G. Fraenkel (2016), which demonstrate the activation of TLRs-4 signaling in response to the release of lipopolysaccharide due to bacterial infection, which, in turn, leads to increased production of pro-inflammatory cytokines

inducing the production of the main protein of iron depot in the reticuloendothelial system – ferritin [7–9].

Aim

To determine the pathogenetic role of Toll-like receptors-4 (TLRs-4) in the development of anemia of inflammation.

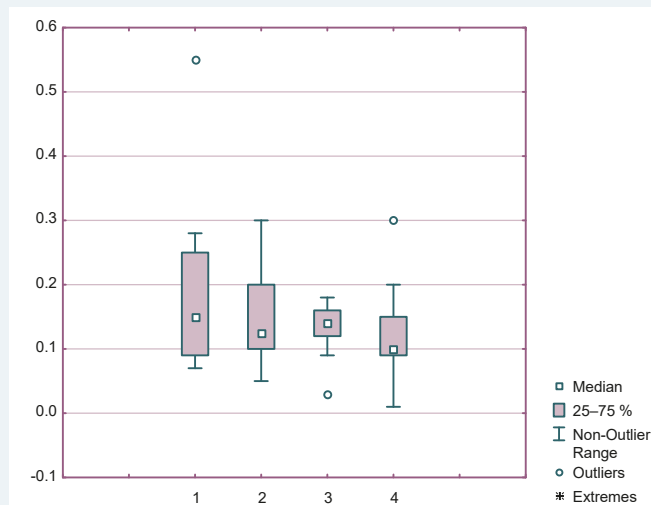
Materials and methods

We observed 78 young children: the average age of the patients was 1.5 ± 0.4 years. The main group included 46 children with acute inflammatory bacterial diseases of the respiratory organs: acute bronchitis was diagnosed in 35 patients, pneumonia – in 11 children. Taking into account the hematological picture, the patients of the main group were divided into two subgroups: the first subgroup consisted of 24 children with AI, which was diagnosed 4–5 days after the onset of the disease, the second – 22 children with acute bacterial diseases of the respiratory tract without manifestations of anemia. The dominant pathogens of acute bacterial bronchitis were identified: *Haemophilus influenzae* – in 18 (50 %) children, *Streptococcus pneumoniae* – in 16 (44 %); pneumonia – *Streptococcus pneumoniae* – in 7 (58.3 %) children, *Haemophilus influenzae* – in 5 (41.6 %). Depending on the etiological factor, the main group of the study was divided into four subgroups: subgroup 1a consisted of 12 patients with AI, *Streptococcus pneumoniae* was identified as a pathogen, subgroup 1b consisted of 12 patients with AI, the pathogen – *Haemophilus influenzae*, subgroup 2a included 11 patients without AI, the pathogen – *Streptococcus pneumoniae*, subgroup 2b included 11 patients without AI, the pathogen – *Haemophilus influenzae*.

Table 1. The TLRs-4 content in the blood serum of the observation groups (Me(Q25; Q75))

Indicator	Main group, n = 46		Comparison group, n = 16	Control group, n = 16
	Subgroup 1, n = 24	Subgroup 2, n = 22		
TLRs-4, ng/ml	0.16 (0.10; 0.25)*	0.14 (0.19; 0.20)*	0.14 (0.12; 0.16)	0.1 (0.09; 0.12)
Coefficient of variation (Cv), %	58.50	40.90	19.30	14.04

*: P < 0.05 the significance of differences compared with the control group indicators.

**Fig. 1.** Diagram of variation of TLRs-4 content in the blood serum of the observation groups.

1: the first subgroup; 2: the second subgroup; 3: comparison group; 4: control group.

The comparison group consisted of 16 children with iron deficiency anemia without manifestations of inflammatory diseases of the respiratory system. The control group was represented by 16 conditionally healthy children. The observation groups were representative by age and sex of the children.

The study of the microbial spectrum of biomaterial from the mucous membranes of the oropharynx was carried out before antibiotic therapy was prescribed on the VITEK 2 COMPACT bacteriological analyzer (BioMérieux, France) using AES software: Global CLSI-based + Phenotypic.

An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) determined the content of TLRs-4 and ferritin in the blood serum of children of the observation groups. For the study, the following kits were used: ELISA Kit for Toll-Like Receptor 4 (TLR4) (Cloud-Clone Corp., USA), Ferritin ELISA (ORGENTEC Diagnostika GmbH, Germany).

Statistical analysis of the data was performed using the statistical packages Excel and Statistica 13.0 (StatSoft Inc. No. JPZ8041382130ARCN10-J). The coefficient of variation Cv was calculated by the formula:

$$C_v = \frac{\sigma}{M} \times 100 \%, \text{ where}$$

σ – standard deviation, M – arithmetic mean.

With Cv over 20 %, it was considered that the variation series has a large variety, at 10–20 % it is average, and with a coefficient of less than 10 % the diversity is weak.

The normality check was carried out by the Shapiro–Wilk test. We used the method of correlation analysis with the calculation of the Spearman correlation coefficient. With an uneven distribution of characters and a non-linear character of the dependence, the median and quartiles were used (Me (Q25; Q75)). To assess the differences in indicators, the nonparametric Mann–Whitney U-test was calculated as a nonparametric analogue of the Student criterion. Differences were considered significant at P < 0.05.

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. Informed consent was obtained from all individual participants included in the study. The full data set by children, their parents, and physician that support the findings of this study are not publicly available due to the restrictions of the ethics approval originally obtained.

Results

The results of the study of the TLRs-4 content in the blood serum of children under observation are presented in Table 1.

Analyzing the results, we noted an increase in the content of TLRs-4 in children with AI. A significant difference between the content of TLRs-4 in the blood serum of children under observation was observed only between the main group and the control group (P < 0.05). A tendency to increase without a statistical difference (P > 0.05) was revealed between the main group and the comparison group. However, taking into account the high coefficient of variation in the main group, we determined a significant variation in the results in the main group of the study (Fig. 1).

As shown in Fig. 1 in children of the first and second subgroups a wide variability in the content of TLRs-4 (0.10–0.25 ng/ml and 0.10–0.20 ng/ml, respectively) in the blood serum was demonstrated. Despite the fact that there was no significant difference between the content of TLRs-4 in the blood serum of patients of the main group and the comparison group, in contrast to the main group, the scatter of results in children with iron deficiency anemia was not significant. The smallest variability in the results of the content of TLRs-4 was observed in the control group.

Taking into account the significant variability in the content of TLRs-4 in the blood serum of patients of the main group, which indicated its heterogeneity, we ranked the results depending on the etiological factor. The data obtained confirmed the logic of the assumption made. A statistically significant increase in the level of TLRs-4 in the blood serum of patients whose diseases are caused by gram-negative flora (*Haemophilus influenzae*) was established (Table 2).

The data obtained indicate that the development of AI that manifested against the background of a disease caused by *Haemophilus influenzae* was accompanied by a statistically significant increase in the level of TLRs-4 in the blood serum more than 2 times in comparison with

Table 2. The TLRs-4 content in the blood serum of the observation depending on the etiologic pathogen (Me(Q25; Q75))

Indicator	Main group, n = 46		Comparison group, n = 16	Control group, n = 16
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Subgroup 1a, n = 12	Subgroup 2a, n = 11	0.14 (0.12; 0.16)	0.10 (0.09; 0.12)
	0.10 (0.07; 0.10) [#]	0.10 (0.10; 0.10) [#]		
<i>Haemophilus influenzae</i>	Subgroup 1b, n = 12	Subgroup 2b, n = 11		
	0.24 (0.23; 0.25) ^{*,#1}	0.2 (0.18; 0.20) ^{*,#2}		

*; P < 0.05 the significance of differences compared with the control group indicators; #; P < 0.05 the significance of differences compared with the comparison group indicators; ¹; P < 0.05 the significance of differences compared with the subgroup 1a; ²; P < 0.05 the significance of differences compared with the subgroup 1b.

Table 3. Some indicators of iron metabolism in the observation groups (Me (Q25; Q75))

Indicator	Main group, n = 48		Comparison group, n = 15	Control group, n = 15
	Subgroup 1, n = 26	Subgroup 2, n = 22		
Hemoglobin, g/L	100 (97; 107)*	129 (119; 136.5) *	101 (95; 106)	125 (119; 132)
RBC, T/L	3.7(3.40; 4.01)*	4.49(3.94; 5.04)*	4.0 (3.50; 4.40)	4.7 (4.31; 5.10)
Ferritin, ng/mL	56.5 (48; 63)* [#]	52 (45; 78)* [#]	43.5 (23; 48)*	29 (16; 50)
Iron, mol/L	8.78 (6.82; 15.30)* [#]	9.85 (7.55; 12.50)* [#]	13.1 (9.74; 17.22)	13,88 (12.74; 16.52)

*; P < 0.05 the significance of differences compared with the control group indicators; #; P < 0.05 the significance of differences compared with the comparison group indicators.

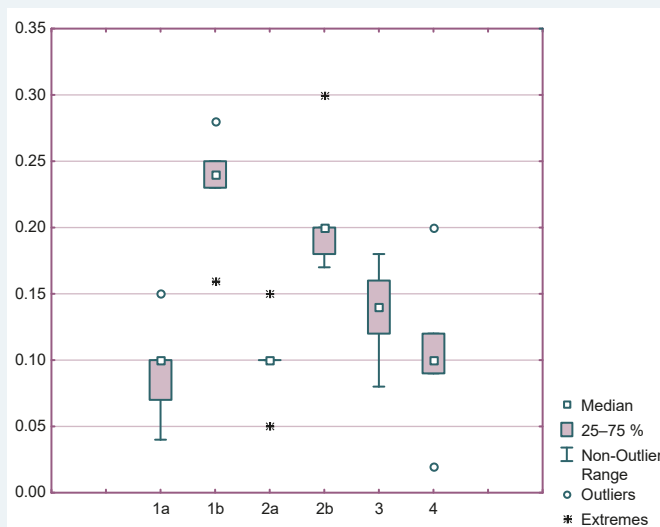
the control groups ($P < 0.05$), and 1.7 times relative to the comparison group ($P < 0.05$). The content of TLRs-4 in the group of children with acute bacterial inflammatory diseases without AI caused by *Haemophilus influenzae* was 2 times higher than in the control group ($P < 0.05$) and 1.5 times higher than the results in the comparison group ($P < 0.05$). In the group of children where *Haemophilus influenzae* was the etiological bacterial pathogen, the level of TLRs-4 was 2.4 times higher in the 1b subgroup and 2 times in the 2b subgroup compared with the indicators of the subgroups 1a and 2a, in which the infection was caused by *Streptococcus pneumoniae*. The content of Toll-like receptors-4 in the blood serum of the main group, the main disease in which was caused by *Streptococcus pneumoniae*, did not differ from that in the control group, and was 1.4 times lower than in the comparison group (Table 2, Fig. 2).

Diagram of variation of the content of TLRs-4 in the blood serum showed no scatter in subgroup 2a. The smallest range of results was noted in both subgroups of the main group, where *Haemophilus influenzae* was the etiological factor.

We observed a direct correlation between the content of TLRs-4 in the group of patients whose disease was caused by gram-negative bacterial flora and the serum ferritin content in the children under observation ($r = 0.8$, $P < 0.05$). It was noted that the content of ferritin slightly varied between subgroups of the main group, exceeding that in the control group ($P < 0.05$) and comparison ($P < 0.05$) (Table 3). The serum ferritin content in children with iron deficiency anemia exceeded that in the control group by 1.5 times ($P > 0.05$).

Hemoglobin content in the blood serum of the first subgroup of the main study group showed a characteristic laboratory picture for anemia, and corresponded to the parameters of the comparison group ($P < 0.05$).

The iron content in the blood serum of children of the main study group was significantly lower when compared with the indicators of the comparison and control group ($P < 0.05$), however, its value did not differ between the subgroups of the main study group, demonstrating the developing latent iron deficiency in the second subgroup of the main group. The level of iron in the blood

**Fig. 2.** Diagram of variation of TLRs-4 content in the blood serum of the observation groups depending on the etiologic pathogen.

1a: the first subgroup, the pathogen – *Streptococcus pneumoniae*; 1b: the second subgroup, the pathogen – *Haemophilus influenzae*; 2a: the first subgroup, the pathogen – *Streptococcus pneumoniae*; 2b: the second subgroup, the pathogen – *Haemophilus influenzae*; 3: comparison group; 4: control group.

serum did not differ between the comparison and control groups ($P > 0.05$), which is explained by the planned administration of iron-containing drugs in children undergoing inpatient treatment for iron deficiency anemia. Our study demonstrates a pronounced negative correlation between the content of ferritin and the level of iron in the blood serum of children who were under observation ($r = -0.8$, $P < 0.05$), which looks logical, taking into account the pathogenesis of AI, the main link which is represented by sequestration of iron in the depot.

Discussion

Summarizing the data obtained, it can be said that the development of AI in young children with bacterial diseases of the respiratory system proceeds against

the background of a high level of TLRs-4. Additionally, it was found that the content of TLRs-4 varied significantly and was statistically significantly increased in cases where *Haemophilus influenzae* was the etiological factor of the disease. The obtained data can be explained by the structural features of bacterial pathogens. The walls of gram-negative bacteria contain lipopolysaccharide endotoxin, which is responsible for the activation of innate defense mechanisms through TLRs-4. In turn, lipoteichoic acid, peptidoglycan, and lipoproteins are located on the walls of gram-positive bacteria, which induce inflammatory reactions mainly through TLRs-2 [9].

The results of our study also demonstrate the difference between high levels of ferritin and the iron content in the blood serum of children with iron deficiency anemia compared with a group of relatively healthy children. We suggest that the administration of iron-containing medicines to inpatient children was a compensating factor for iron deficiency in the blood. The studies of F. Dumler (2003) [5,10] support our assumption. In turn, the revealed direct correlation between TLRs-4 and ferritin against the background of a reliably low iron level in children of the first subgroup and latent iron deficiency in children of the second subgroup probably indicates immuno-sequestered iron sequestration in children from the first subgroup, which is a leading pathogenetic link in the development of AI. Taking into account the literature data, we can assume that iron sequestration is the result of activation of a number of its redistribution mechanisms by proinflammatory cytokines in case of AI, in particular, induction of ferritin expression [6,10,12]. The high content of Toll-like receptors-4 in serum with inflammation anemia, proportional to the level of ferritin, suggests their protective role, aimed at inhibiting the transport of iron in the body. Our assumption is consistent with studies by Carole Peyssonnaud et al. (2006), in which the direct role of TLRs-4 in the inhibition of ferroportin is indicated, which leads to disruption of the transport of cellular iron into blood plasma [3,8,14]. These data indicate a coordinated innate immune response of macrophages in response to TLRs-4 signals to a decrease in iron export by ferroportin at both transcriptional and post-translational levels [3,15].

Conclusions

1. The development of AI in young children is accompanied by an increase in the level of TLRs-4, primarily in response to the intrusion of gram-negative microflora (*Haemophilus influenzae*).

2. The content of the protein complex of ferritin iron deposition is directly dependent on the level of TLRs-4, which suggests the role of the latter in the protective mechanism of iron sequestration, which is an important link in the pathogenesis of the development of inflammation anemia.

Funding

The research was funded by Zaporizhzhia State Medical University.

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

Надійшла до редакції / Received: 02.02.2020
Після доопрацювання / Revised: 17.02.2020
Прийнято до друку / Accepted: 26.02.2020

Information about authors:

Lezhenko H. O., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Hospital Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0003-0851-4586

Pogribna A. O., PhD Student of the Department of Hospital Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Леженко Г. О., д-р мед. наук, професор, зав. каф. госпітальної педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Погрібна А. О., PhD аспірант каф. госпітальної педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Леженко Г. А., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. госпитальной педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Погребная А. А., PhD аспирант каф. госпитальной педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- [1] Herbst-Kralovetz, M. M., Quayle, A. J., Ficarra, M., Greene, S., Rose, W. A., Chesson, R., Spagnuolo, R. A., & Pyles, R. B. (2008). Quantification and comparison of toll-like receptor expression and responsiveness in primary and immortalized human female lower genital tract epithelia. *American Journal of Reproductive Immunology*, 59(3), 212-224. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2007.00566.x>
- [2] Jin, R. R., Liu, L., Zhu, W. C., Li, D. Y., Yang, L., Duan, J. M., Cai, Z. Y., Nie, Y., Zhang, Y. J., Gong, Q. Y., Song, B., Wen, L. P., Anderson, J. M., & Ai, H. (2019). Iron oxide nanoparticles promote macrophage autophagy and inflammatory response through activation of toll-like Receptor-4 signaling. *Biomaterials*, 203, 23-30. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.02.026>
- [3] Peyssonnaud, C., Zinkernagel, A. S., Datta, V., Lauth, X., Johnson, R. S., & Nizet, V. (2006). TLR4-dependent hepcidin expression by myeloid cells in response to bacterial pathogens. *Blood*, 107(9), 3727-3732. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-06-2259>
- [4] Fraenkel, P. G. (2017). Anemia of Inflammation A Review. *Medical Clinics of North America*, 101(2), 285-+. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2016.09.005>
- [5] Dumler, F. (2003). Long term iron therapy increases serum ferritin values in hemo (HD) and peritoneal dialysis (PD) patients. *ASAIO*, 49(2), 188. <https://doi.org/10.1097/00002480-200303000-00190>
- [6] Weiss, G., Ganz, T., & Goodnough, L. T. (2019). Anemia of inflammation. *Blood*, 133(1), 40-50. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-06-856500>
- [7] Gnana-Prakasam, J. P., Martin, P. M., Mysona, B. A., Roon, P., Smith, S. B., & Ganapathy, V. (2008). Hepcidin expression in mouse retina and its regulation via lipopolysaccharide/Toll-like receptor-4 pathway independent of Hfe. *Biochemical Journal*, 411, 79-88. <https://doi.org/10.1042/bj20071377>
- [8] Ramey, G., Deschemin, J. C., Durel, B., Canonne-Hergaux, F., Nicolas, G., & Vaulont, S. (2010). Hepcidin targets ferroportin for degradation in hepatocytes. *Haematologica-the Hematology Journal*, 95(3), 501-504. <https://doi.org/10.3324/haematol.2009.014399>
- [9] Branger, J., Knapp, S., Weijer, S., Leemans, J. C., Pater, J. M., Speelman, P., Florquin, S. R., & van der Poll, T. (2004). Role of toll-like receptor 4 in gram-positive and gram-negative pneumonia in mice. *Infection and Immunity*, 72(2), 788-794. <https://doi.org/10.1128/iai.72.2.788-794.2004>
- [10] Nemeth, E., Tuttle, M. S., Powelson, J., Vaughn, M. B., Donovan, A., Ward, D. M., Ganz, T., & Kaplan, J. (2004). Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*, 306(5704), 2090-2093. <https://doi.org/10.1126/science.1104742>

- [11] Roy, C. N., Custodio, A. O., de Graaf, J., Schneider, S., Akpan, I., Montross, L. K., Sanchez, M., Gaudino, A., Hentze, M. W., Andrews, N. C., & Muckenthaler, M. U. (2004). An Hfe-dependent pathway mediates hyposideremia in response to lipopolysaccharide-induced inflammation in mice. *Nature Genetics*, 36(5), 481-485. <https://doi.org/10.1038/ng1350>
- [12] Maratheftis, C. I., Andreacos, E., Moutsopoulos, H. M., & Voulgarelis, M. (2007). Toll-like receptor-4 is up-regulated in hematopoietic progenitor cells and contributes to increased apoptosis in myelodysplastic syndromes. *Clinical Cancer Research*, 13(4), 1154-1160. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-06-2108>
- [13] Sharma, J., Boyd, T., Alvarado, C., Gunn, E., Adams, J., Ness, T., Dunwoody, R., Lamb, J., House, B., Knapp, J., & Garner, R. (2019). Reporter Cell Assessment of TLR4-Induced NF-kappa B Responses to Cell-Free Hemoglobin and the Influence of Biliverdin. *Biomedicines*, 7(2), Article 41. <https://doi.org/10.3390/biomedicines7020041>
- [14] Huggins, T., Haught, J. C., Xie, S., Tansky, C. S., Klukowska, M., Miner, M. C., & White, D. J. (2016). Quantitation of endotoxin and lipoteichoic acid virulence using toll receptor reporter gene. *American Journal of Dentistry*, 29(6), 321-327.
- [15] Kim, A., Fung, E., Parikh, S. G., Valore, E. V., Gabayan, V., Nemeth, E., & Ganz, T. (2014). A mouse model of anemia of inflammation: complex pathogenesis with partial dependence on hepcidin. *Blood*, 123(8), 1129-1136. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-08-521419>.

Баланс прозапальних і протизапальних цитокінів у рідині радикулярних кіст щелеп у дорослих при асимптоматичному та клінічно маніфестному перебігу хвороби

І. С. Гайдаш^{id}*, A, D, E, F, О. В. Бурцев^{id} B, C

Луганський державний медичний університет, м. Рубіжне, Україна

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

Ключові слова:
радикулярні кісти щелеп, інтерлейкіни, фактор некрозу пухлин, запалення.

Патологія. 2020. Т. 17, № 1(48). С. 32-36

*E-mail:
igor.gaidasch@ukr.net

Мета роботи – вивчити баланс прозапальних і протизапальних цитокінів у рідині радикулярних кіст щелеп у дорослих при асимптоматичному та клінічно маніфестному перебігу хвороби.

Матеріали та методи. Дослідили кістозну рідину 28 дорослих чоловіків віком 35–43 роки, які хворі на радикулярні кісти щелеп: в 11 осіб був асимптоматичний перебіг хвороби, у 17 – клінічно маніфестний перебіг. Концентрації IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 і TNF- α визначили твердофазним методом на автоматичному імуноферментному комплексі «GBG Star Fax 2100» виробництва фірми «Awareness Technology Inc.» (USA), використовуючи комерційні стандартні тест-системи фірми «Gen-Probe Diaclone» (Франція). Статистичне оцінювання результатів здійснили, використовуючи сформовану базу даних у програмі Statistica v. 10.0 (StatSoft. Inc., USA), № STA999K347156-W.

Результати. Встановили, що при асимптоматичному перебігу радикулярних кіст щелеп концентрації прозапальних цитокінів (IL-1 β , IL-6, IL-8 і TNF- α) у кістозній рідині були істотно меншими, ніж концентрації протизапальних цитокінів (IL-4, IL-10). Концентрація IL-4 щодо концентрації IL-1 β була більшою у 2,27 раза, щодо IL-6 – в 3,03 раза, щодо IL-8 і TNF- α – в 2,81 і 2,51 раза відповідно. Концентрація IL-10 перевищувала таку для IL-1 β у 1,56 раза, для IL-6 – у 2,09 раза, для IL-8 і TNF- α – в 1,95 і 1,73 раза відповідно. Усі співвідношення між прозапальними і протизапальними цитокінами, які характеризують баланс в їхніх системах, були менше ніж 1, що свідчило про переважання протизапальних цитокінів над прозапальними. При клінічно маніфестному перебігу радикулярних кіст щелеп із наявністю симптомів запалення концентрації прозапальних цитокінів у кістозній рідині значущо збільшувались, а зростання концентрацій цитокінів із протизапальною дією було відносно незначним; отже, спостерігали переважання прозапальних цитокінів над протизапальними.

Висновки. Асимптоматичний і клінічно маніфестний перебіги радикулярних кіст щелеп відрізняються за концентраціями і балансом прозапальних і протизапальних цитокінів у складі кістозної рідини. При асимптоматичному перебігу радикулярних кіст щелеп без симптомів запалення в кістозній рідині концентрації прозапальних цитокінів (IL-1 β , IL-6, IL-8 і TNF- α) істотно менші, ніж концентрації протизапальних цитокінів (IL-4, IL-10). При клінічно маніфестному перебігу радикулярних кіст щелеп із наявністю симптомів запалення в кістозній рідині концентрації прозапальних цитокінів істотно збільшуються й переважають над концентраціями цитокінів із протизапальною дією.

Key words:
radicular cysts, interleukins, tumor necrosis factor, inflammation.

Pathologia 2020; 17 (1), 32-36

The balance of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the fluid of the radicular cysts of the jaws in adults in asymptomatic and clinically manifest course of the disease

I. S. Haidash, O. V. Burtsev

Aim. The aim of the work is to study the balance of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the fluid of radicular jaw cysts in adults with asymptomatic and clinically manifest course of the disease.

Materials and methods. Cystic fluid was studied in 28 adult men aged 35–43 years with radicular cysts of the jaws, of which 11 patients had asymptomatic course of the disease, and 17 patients had clinically manifest course. The concentrations of IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, and TNF- α were determined by the enzyme-linked immunosorbent assay using the automatic enzyme-linked immunosorbent assay “GBG Star Fax 2100” from “Awareness Technology Inc.” (USA) with the help of commercial standard test systems of company “Gen-Probe Diaclone” (France). Statistical evaluation of the obtained results was carried out using formed database in the program Statistica v. 10.0 (StatSoft. Inc., USA), No. STA999K347156-W.

Results. It was found that in the asymptomatic course of the radicular jaw cysts, the concentrations of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-8 and TNF- α) in the cystic fluid were significantly lower than the concentrations of anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10). The concentration of IL-4 was 2.27 times higher than the concentration of IL-1 β , 3.03 times higher than IL-6, and 2.81 and 2.51 times higher than IL-8 and TNF- α respectively. The concentration of IL-10 exceeded that for IL-1 β by 1.56 times, for IL-6 – by 2.09 times, for IL-8 and TNF- α – by 1.95 and 1.73 times, respectively. All ratios between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, which characterized the balance in their systems, were less than 1, which indicated the predominance of anti-inflammatory cytokines over pro-inflammatory. In the clinically manifest course of radicular cysts of the jaw, with the presence of symptoms of inflammation, the concentrations of pro-inflammatory cytokines in the cystic fluid increased significantly, while the increase in the concentrations of cytokines with anti-inflammatory action was relatively insignificant, and therefore there was a predominance of pro-inflammatory cytokines over anti-inflammatory.

Conclusions. Asymptomatic and clinical manifest course of the radicular cysts of the jaw have differences in the concentrations and balance of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the composition of the cystic fluid. In the asymptomatic course of radicular cysts of the jaw, in the absence of symptoms of inflammation, the concentration of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-8 and TNF- α) in the cystic fluid is significantly lower than the concentrations of anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10). In the clinically manifest course of radicular cysts of the jaw, with the presence of symptoms of inflammation, in the cystic fluid, the concentrations of pro-inflammatory cytokines significantly increase and prevail over the concentrations of cytokines with anti-inflammatory effects.

Баланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в жидкости радикулярных кист челюстей при асимптоматичном и клинически манифестном течении болезни

И. С. Гайдаш, А. В. Бурцев

Цель работы – изучить баланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в жидкости радикулярных кист челюстей у взрослых при асимптоматическом и клинически манифестном течении болезни.

Материалы и методы. Исследовали кистозную жидкость 28 взрослых мужчин возрастом 35–43 года, больных радикулярными кистами челюстей: у 11 пациентов было асимптоматическое течение болезни, у 17 – клинически манифестное течение. Определение концентраций IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 и TNF- α провели твердофазным иммуноферментным методом на автоматическом иммуноферментном комплексе «GBG Star Fax 2100» производства фирмы «Awareness Technology Inc.» (USA) с использованием коммерческих стандартных тест-систем фирмы «Gen-Probe Diacore» (Франция). Статистическую обработку результатов провели с использованием сформированной базы данных в программе Statistica v. 10.0 (StatSoft. Inc., USA), № STA999K347156-W.

Результаты. Установили, что при асимптоматическом течении радикулярных кист челюстей концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-8 и TNF- α) в кистозной жидкости были значительно ниже концентраций противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10). Концентрация IL-4 относительно концентрации IL-1 β была выше в 2,27 раза, относительно IL-6 – в 3,03 раза, относительно IL-8 и TNF- α – в 2,81 и в 2,51 раза соответственно. Концентрация IL-10 превышала такую для IL-1 β в 1,56 раза, для IL-6 – в 2,09 раза, для IL-8 и TNF- α – в 1,95 и 1,73 раза соответственно. Все соотношения между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами, которые характеризуют баланс в их системах, были ниже единицы, что свидетельствовало о преобладании противовоспалительных цитокинов над провоспалительными. При клинически манифестном течении радикулярных кист челюстей с наличием симптомов воспаления концентрации провоспалительных цитокинов в кистозной жидкости значительно увеличивались, а увеличение концентраций цитокинов с противовоспалительным действием было относительно незначительным; значит, имело место преобладание провоспалительных цитокинов над противовоспалительными.

Выводы. Асимптоматическое и клинически манифестное течение радикулярных кист челюстей отличаются по концентрациям и балансу провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в составе кистозной жидкости. При асимптоматическом течении радикулярных кист челюстей при отсутствии симптомов воспаления в кистозной жидкости концентрации провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-8 и TNF- α) значительно ниже концентраций противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10). При клинически манифестном течении радикулярных кист челюстей с наличием симптомов воспаления в кистозной жидкости концентрации провоспалительных цитокинов значительно увеличиваются и преобладают над концентрациями цитокинов с противовоспалительным действием.

Ключевые слова:

радикулярные кисты челюстей, интерлейкины, фактор некроза опухолей, воспаление.

Патология. 2020.

Т. 17, № 1(48).

С. 32-36

Радикулярні кісти щелеп (РКЩ) – доволі поширена стоматологічна патологія, яку діагностують у дорослих у 22–60 % випадків [1,2].

РКЩ складаються зі сполучнотканинної оболонки, що безпосередньо прилягає до навколишньої кістки, зсередини оболонка вистлана багаточисельним плоским незроговілим епітелієм, який за наявності запалення може некротизуватися частково або повністю. Внутрішній вміст РКЩ – рідина, тиск якої більший, ніж навколишньої кісткової тканини. Якщо немає запалення кістки, рідина прозора, солом'яно-жовтого кольору [3].

РКЩ можуть мати асимптоматичний перебіг, їх виявляють випадково під час рентгенологічного дослідження з приводу різноманітних стоматологічних патологій [4–6].

У випадку інфікування одонтогенною мікрофлорою у РКЩ виникає запалення, а отже клінічний перебіг РКЩ має клінічно маніфестний характер і супроводжується симптомами запалення [7–9].

Відомо, що в формуванні РКЩ, а також в інтимних механізмах виникнення запалення беруть участь численні цитокини, в тому числі інтерлейкіни, серед яких вирізняють групу прозапальних (IL-1 β , IL-6, IL-8) і протизапальних (IL-4, IL-10) інтерлейкінів [10–12]. До прозапальних цитокинів належить також фактор некрозу пухлин – TNF- α [13].

Вивчення у тканині кіст концентрацій прозапальних і протизапальних інтерлейкінів залежно від клінічного (асимптоматичного чи клінічно маніфестного) перебігу РКЩ має чималий практичний інтерес. У наукових працях такий аспект проблеми досліджено недостатньо.

Мета роботи

Вивчити баланс прозапальних і протизапальних цитокинів у рідині радикулярних кіст щелеп у дорослих при асимптоматичному та клінічно маніфестному перебігу хвороби.

Таблиця 1. Концентрації цитокінів та їхнє співвідношення в екстракті тканини радікулярних кіст щелеп у дорослих при асимптоматичному та клінічно маніфестному перебігу хвороби

Показник, одиниці вимірювання	Асимптоматичний перебіг РКЩ (n = 11)	Клінічно маніфестний перебіг РКЩ (n = 17)	Рівень значущості (p)*
IL-1 β , пг/мл	8,20 $\pm$ 0,36	39,48 $\pm$ 0,85	<0,0000001
IL-6, пг/мл	6,13 $\pm$ 0,33	22,38 $\pm$ 0,75	<0,0000001
IL-8, пг/мл	6,59 $\pm$ 0,35	28,15 $\pm$ 1,09	<0,0000001
TNF- α , пг/мл	7,40 $\pm$ 0,41	24,32 $\pm$ 0,78	<0,0000001
IL-4, пг/мл	18,58 $\pm$ 0,78	24,13 $\pm$ 0,76	=0,000029
IL-10, пг/мл	12,83 $\pm$ 0,66	14,04 $\pm$ 0,64	=0,200064
IL-1 β /IL-4, у.о.	0,44 $\pm$ 0,01	1,65 $\pm$ 0,02	<0,0000001
IL-6/IL-4, у.о.	0,33 $\pm$ 0,01	0,93 $\pm$ 0,01	<0,0000001
IL-8/IL-4, у.о.	0,36 $\pm$ 0,01	1,16 $\pm$ 0,01	<0,0000001
TNF- α /IL-4, у.о.	0,40 $\pm$ 0,01	1,01 $\pm$ 0,01	<0,0000001
IL-1 β /IL-10, у.о.	0,64 $\pm$ 0,01	2,86 $\pm$ 0,07	<0,0000001
IL-6/IL-10, у.о.	0,48 $\pm$ 0,01	1,61 $\pm$ 0,02	<0,0000001
IL-8/IL-10, у.о.	0,51 $\pm$ 0,01	2,02 $\pm$ 0,02	<0,0000001
TNF- α /IL-10, у.о.	0,58 $\pm$ 0,09	1,75 $\pm$ 0,03	<0,0000001

*: рівень значущості (p) розраховували між групами зіставлення за двовибірковим критерієм Ст'юдента для незв'язаних сукупностей.

Матеріали і методи дослідження

Кістозну рідину отримали під час цистектомії у 28 хворих на РКЩ чоловіків віком 35–43 роки. Пацієнтів поділили на 2 групи залежно від клінічного перебігу РКЩ: перша – 11 осіб з асимптоматичним перебігом РКЩ, кісти виявлені випадково під час рентгенологічного обстеження щелеп; друга група – 17 осіб, в яких РКЩ (крім рентгенологічного виявлення) мали клінічно маніфестний перебіг з ознаками запалення (субфебрильна лихоманка, гіперемія, біль і набряк у межах причинних зубів).

Видалення РКЩ у пацієнтів обох груп виконали під час зубозберігальної цистектомії без скорочення верхівок причинних зубів, кістковий дефект заповнили кістково-пластичним матеріалом Колапан ЛМ за методикою, яку розробили (патент України №137268).

Матеріал для дослідження – кістозна рідина, що отримали шприцом під час виконання цистектомії. Рідину збирали у пластикові стерильні пробірки і зберігали у криостаті при -20 °C. Перед визначенням концентрацій цитокінів рідину кісти розморожували.

Концентрації IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 і TNF- α визначали твердофазним імуноферментним методом на автоматичному імуноферментному комплексі «GBG Star Fax 2100» виробництва фірми «Awareness Technology Inc.» (USA), використовуючи комерційні стандартні тест-системи фірми «Gen-Probe Diacolor» (Франція).

Статистично результати дослідження опрацювали параметричними методами, використовуючи програму STATISTICA v. 10.0 (StatSoft. Inc., USA), ліцензійний № STA999K347156-W. Тип розподілу в сукупностях – нормальний. Статистичний аналіз виконали за двовибірковим критерієм Ст'юдента для незв'язаних сукупностей. Відмінності вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Результати

У хворих з асимптоматичним і клінічно маніфестним перебігом РКЩ в екстрактах кістозної тканини встановили відмінності концентрацій прозапальних і протизапальних інтерлейкінів та їхніх співвідношень (табл. 1).

При асимптоматичному перебігу РКЩ концентрації прозапальних цитокінів (IL-1 β , IL-6, IL-8 і TNF- α) в кістозній рідині були істотно меншими за концентрації протизапальних цитокінів (IL-4, IL-10). Концентрація IL-4 щодо концентрації IL-1 β була більшою у 2,27 раза, щодо IL-6 – у 3,03 раза, щодо IL-8 і TNF- α – у 2,81 і 2,51 раза відповідно. Концентрація IL-10 перевищувала таку для IL-1 β в 1,56 раза, для IL-6 – у 2,09 раза, для IL-8 і TNF- α – в 1,95 і 1,73 раза відповідно. Усі співвідношення між прозапальними і протизапальними цитокінами, які характеризують баланс у їхніх системах, були меншими за 1; це свідчило про переважання протизапальних цитокінів над прозапальними.

При клінічно маніфестному перебігу РКЩ із наявністю симптомів запалення концентрації прозапальних цитокінів у кістозній рідині значущо збільшувались, а зростання концентрацій цитокінів із протизапальною дією відносно незначне; отже, спостерігали переважання прозапальних цитокінів над протизапальними.

При клінічно маніфестному перебігу РКЩ концентрація IL-1 β у кістозних екстрактах була більшою за таку при асимптоматичному перебігу РКЩ у 4,81 раза, концентрація IL-6 вища у 3,65 раза, а IL-8 і TNF- α – більше в 4,27 і у 3,28 раза відповідно. Ступінь збільшення концентрацій IL-4 і IL-10 при клінічно маніфестному перебігу РКЩ дорівнював 1,30 і 1,09 раза відповідно щодо аналогічних концентрацій у пацієнтів з асимптоматичним перебігом хвороби.

Суттєве накопичення прозапальних цитокінів у тканині РКЩ змінювало баланс у системі прозапальні/протизапальні цитокіни в бік прозапальних. Це виявилось в збільшенні коефіцієнтів понад 1 у співвідношеннях між прозапальними і протизапальними цитокінами.

Концентрація IL-4 у кістозній рідині при клінічно маніфестному перебігу РКЩ була меншою за таку для IL-1 β в 1,65 раза, проти концентрацій IL-8 – меншою в 1,16 раза. Баланс у системі TNF- α /IL-4 дорівнював 1, а в системі IL-6/IL-4 становив 0,93 $\pm$ 0,005 у.о. (це у 2,53 і 2,82 раза відповідно більше за аналогічні коефіцієнти при асимптоматичному перебігу РКЩ).

У кістозній рідині від пацієнтів із клінічно маніфестним перебігом РКЩ концентрація IL-10 була у 2,86 раза меншою за таку для IL-1 β , нижчою в 1,61, 2,02 і 1,75 раза відповідно за концентрації IL-6, IL-8 і TNF- α .

Обговорення

Цитокіни беруть участь не тільки в механізмах запалення, але й у відновленні тканин і резорбції кістки [14].

Незалежно від характеру перебігу радікулярних кіст щелеп, джерелом цитокінів у кістах є клітини кістозних капсул: макрофаги, гладкі клітини, фібробласти, епітеліальні клітини. Так, секреторна відповідь макрофагів залежно від особливостей чинника, що стимулює, може відбуватися шляхом Th1 або Th2 відповідей [14,15].

Аналіз імунореактивності в радикальних кістах без уточнення характеру їхнього перебігу показав суттєву експресію IL-1 α , IL-10 та TNF α в епітелії та мезенхімі радикальних кіст при співвідношенні IL-1 α < IL-10 ($p < 0,01$) [10].

У досліджах [11] оцінювали експресію прозапальних (IL-1 β , IL-6, IFN γ і TNF- α) і протизапальних (IL-4 і TGF- β) цитокінів у гранульомах та апікальних кістах. Виявили, що IL-4 був найбільш вираженим медіатором і в кістах, і в гранульомах. У кістах експресія IL-6 була істотно меншою, ніж IL-4 ($p = 0,001$) і IFN γ ($p = 0,004$). Характер перебігу апікальних кіст дослідники не описали.

Стверджуючи, що інтерлейкін-1 бере участь у резорбції кісткової тканини [12], в періапикальних гранульомах і кістах дослідили рівні експресії IL-1 α і IL-1 β . Результати імуноферментного аналізу показали, що рівні IL-1 α і IL-1 β більші в групі періапикальної гранульоми, ніж у радикальній кісті та нормальних контрольних групах ($p < 0,05$). Встановили позитивну кореляцію між рівнями експресії IL-1 α , IL-1 β і ступенем запалення при періапикальних гранульомах з первинних зубів ($p < 0,05$).

Імуногістохімічний аналіз циклооксигенази-2 і TNF- α в зразках періапикальних гранульом і кореневих кіст [13] показав подібну експресію цих медіаторів запалення, хоча секреція TNF- α макрофагами і циклооксигенази-2 була дещо вищою в періапикальних гранульомах, що вказувало на більшу запальну відповідь у цих ураженнях.

За даними [14], середня кількість гладких клітин і макрофагів у глибоких і поверхневих ділянках фіброзної капсули радикальної кісти статистично значущої різниці не мала. Але середня кількість гладких клітин у поверхневих ділянках фіброзної капсули була в кістах, які показали інтенсивне поверхнєве запалення і екзоцитоз. Макрофаги найчастіше виявляли в ділянках, які показали експресію IL-6, а IL-6 був найменше експресований у глибоких ділянках фіброзної капсули кіст. Дослідники припускають, що IL-6 не є основним медіатором резорбції кісткової тканини при великих періапикальних кістах.

У дослідженні [15] оцінювали участь як Th1, так і Th2 відповідей у періапикальних кістах шляхом наявності макрофагів M2, а також гострих цитокінів IL-1 β , TNF- α і IL-6. Імуноекспресію IL-1 β , IL-6, TNF- α і CD163 аналізували в капсулах кіст у поверхневих і глибоких ділянках. Найбільша експресія IL-1 β , IL-6, TNF- α і M2-макрофагів виявлена в поверхневих ділянках кістозних капсул. Усі гострі цитокіни мали значущі позитивні кореляції між собою незалежно від ділянки кістозної капсули, а CD163 мали позитивну кореляцію тільки з TNF- α і IL-6 у поверхневих ділянках кістозної капсули. Результати дослідження свідчили про активну участь макрофагів M2 у запальній реакції періапикальних кіст і корелювали з експресією деяких гострих Th1-споріднених цитокінів. Зробили висновок, що хоча макрофаги M2 сприяють процесу загоєння, їхньої наявності недостатньо для регресії періапикальної кісти, коли гостра активна відповідь відбулася внаслідок інфекційних стимулів.

Вивчаючи експресію IL-1 β у періапикальних ураженнях [16], виявили істотно більшу експресію IL-1 β у радикальних кістах, ніж у нормальній тканині. Це

пов'язано з гіпоксією та аутофагією білків у тканинах періапикальних уражень.

Позитивна експресія IL-1 β , TNF- α в радикальних кістах визначена також у роботі [17]. Порівнюючи зразки тканини, що отримані після хірургічної декомпресії і повного хірургічного видалення кіст, імуногістохімічний аналіз не показав зниження в них прозапальних цитокінів залежно від способу хірургічного лікування.

Результати узгоджуються з результатами інших досліджень і свідчать, що кількісний склад і баланс у системі прозапальних/протизапальних цитокінів змінюється залежно від перебігу радикальних кіст щелеп. Без інфікування та запалення в радикальних кістах щелеп їхній перебіг є асимптоматичним і характеризується домінуванням у кістозній рідині протизапальних цитокінів. У разі інфікування радикальних кіст щелеп одонтогенною мікрофлорою, внаслідок чого бактерійні ендотоксини (ліпополісахариди, пептидоглікани) стимулюють секреторну активність цитокін-продукувальних клітин, склад і баланс прозапальних і протизапальних цитокінів у рідині радикальних кіст змінюється в бік домінування прозапальних цитокінів, виникає запалення, і хвороба набуває клінічно маніфестного перебігу.

Висновки

1. Асимптоматичний і клінічно маніфестний перебіг радикальних кіст щелеп відрізняються за концентраціями і балансом прозапальних і протизапальних цитокінів у складі кістозної рідини.

2. При асимптоматичному перебігу РКЩ без симптомів запалення у кістозній рідині концентрації прозапальних цитокінів (IL-1 β , IL-6, IL-8 і TNF- α) значно нижчі за концентрації протизапальних цитокінів (IL-4, IL-10).

3. При клінічно маніфестному перебігу РКЩ із наявністю симптомів запалення в кістозній рідині концентрації прозапальних цитокінів значно збільшуються і переважають над концентраціями цитокінів із протизапальною дією.

Перспективи подальших досліджень. Заплановане дослідження в тканині радикальних кіст щелеп концентрацій фактора росту пухлин (TGF- β) і гамма-інтерферону (IFN γ).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 02.02.2020

Після доопрацювання / Revised: 16.02.2020

Прийнято до друку / Accepted: 29.02.2020

Відомості про авторів:

Гайдаш І. С., д-р мед. наук, професор, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна, заслужений діяч науки і техніки України.

ORCID ID: 0000-0002-1502-4422

Бурцев О. В., асистент каф. стоматології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», м. Рубіжне, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-5395-847X

Information about authors:

Haidash I. S., MD, PhD, DSc, Professor, Honored Worker of Science and Technology of Ukraine, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, State Institution "Lugansk State Medical University", Rubizhne, Ukraine.
Burtsev O. V., Assistant of the Department of Dentistry, State Institution "Lugansk State Medical University", Rubizhne, Ukraine.

Сведения об авторах:

Гайдаш И. С., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. микробиологии, гигиены и экологии, ГЗ «Луганский государственный медицинский университет», г. Рубежное, Украина, заслуженный деятель науки и техники Украины.
Бурцев А. В., ассистент каф. стоматологии, ГЗ «Луганский государственный медицинский университет», г. Рубежное, Украина.

Список літератури

- [1] Modi T. G., Chalisahar M., Kumar M. Expression of Ki-67 in odontogenic cysts: A comparative study between odontogenic keratocysts, radicular cysts and dentigerous cysts. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 2018. Vol. 22, Iss. 1. P. 146. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_94_16
- [2] The effectiveness of decompression as initial treatment for jaw cysts: A 10-year retrospective study / S. Marin, B. Kimbauer, P. Rugani et al. *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal*. 2019. Vol. 24, Iss. 1. P. e47-e52. <https://doi.org/10.4317/medoral.22526>
- [3] Clinicopathological analysis of 232 radicular cysts of the jawbone in a population of southern Taiwanese patients / J. H. Chen, C. H. Tseng, W. C. Wang et al. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*. 2018. Vol. 34, Iss. 4. P. 249-254. <https://doi.org/10.1016/j.kjms.2018.01.011>
- [4] Bilateral radicular cyst in mandible: an unusual case report / F. A. Bava, D. Umar, B. Bahseer, K. Baroudi. *Journal of International Oral Health : JIOH*. 2015. Vol. 7, Iss. 2. P. 61-63.
- [5] The dentigerous cyst: two different treatment options illustrated by two cases / M. A. Bassetti, J. Kuttnerberger, J. Novak, R. G. Bassetti. *Swiss Dental Journal*. 2019. Vol. 129, Iss. 3. P. 193-203.
- [6] Evaluation of spontaneous bone healing after enucleation of large residual cyst in maxilla without graft material utilization: case report / F. Perjuci, R. Ademi-Abdyli, Y. Abdyli et al. *Acta Stomatologica Croatica*. 2018. Vol. 52, Iss. 1. P. 53-60. <https://doi.org/10.15644/asc52/1/8>
- [7] Actinomycosis is not frequent in the periapex but is a persistent lesion / L. S. Esteves, A. C. G. Henriques, C. A. V. de Moraes e Silva et al. *Brazilian Dental Journal*. 2017. Vol. 28, Iss. 6. P. 688-693. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201701449>
- [8] Actinomyces israelii in radicular cysts: a molecular study / N. R. Gomes, M. G. Diniz, T. dos S. F. Pereira et al. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. 2017. Vol. 123, Iss. 5. P. 586-590. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2017.02.006>
- [9] Multilocular Radicular Cyst – A Common Pathology with Uncommon Radiological Appearance / P. Shivhare, A. Singh, N. Haidry et al. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2016. Vol. 10, Iss. 3. P. ZD13-ZD15. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2016/16031.7486>
- [10] Immunorexpression of tumour necrosis factor- α , interleukin-1 α and interleukin-10 on odontogenic cysts and tumours / M. C. Sa, F. R. de Matos, T. S. Conceicao et al. *International Endodontic Journal*. 2017. Vol. 50, Iss. 5. P. 437-445. <https://doi.org/10.1111/iej.12640>
- [11] Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine expression in post-treatment apical periodontitis / N. D. Neto, M. T. M. Porpino, H. D. Antunes et al. *Journal of Applied Oral Science*. 2018. Vol. 26. P. e20170455. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2017-0455>
- [12] Increased interleukin 1 α and interleukin 1 β expression is involved in the progression of periapical lesions in primary teeth / N. Y. Yang, Y. Zhou, H. Y. Zhao et al. *BMC Oral Health*. 2018. Vol. 18, Iss. 1. P. 124. <https://doi.org/10.1186/s12903-018-0586-3>
- [13] Immunohistochemical Analysis of Cyclooxygenase-2 and Tumor Necrosis Factor Alpha in Periapical Lesions / P. R. Alvares, J. A. A. de Arruda, L. V. Oliveira Silva et al. *Journal of Endodontics*. 2018. Vol. 44, Iss. 12. P. 1783-1787. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.09.002>
- [14] Distribution of mast cells and macrophages and expression of interleukin-6 in periapical cysts / I. V. Bracks, L. Armada, L. S. Goncalves, F. R. Pires. *Journal Endodontics*. 2014. Vol. 40, Iss. 1. P. 63-68. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.09.037>
- [15] M2 macrophages coexist with a Th1-driven profile in periapical cysts / C. M. Ribeiro, M. L. de Carli, S. Nonogaki et al. *International Endodontic Journal*. 2018. Vol. 51. P. e87-e93. <https://doi.org/10.1111/iej.12849>
- [16] The roles of autophagy and hypoxia in human inflammatory periapical lesions / H. Y. Huang, W. C. Wang, P. Y. Lin et al. *International Endodontic Journal*. 2018. Vol. 51. P. e125- e145. <https://doi.org/10.1111/iej.12782>
- [17] Influence of surgical decompression on the expression of inflammatory and tissue repair biomarkers in periapical cysts / J. T. Rodrigues, H. dos Santos Antunes, L. Armada, F. R. Pires. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. 2017. Vol. 124, Iss. 6. P. 561-567. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2017.06.121>

References

- [1] Modi T. G., Chalisahar M., & Kumar M. (2018). Expression of Ki-67 in odontogenic cysts: A comparative study between odontogenic keratocysts, radicular cysts and dentigerous cysts. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 22(1), 146. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_94_16
- [2] Marin, S., Kimbauer, B., Rugani, P., Mellacher, A., Payer, M., & Jakse, N. (2019). The effectiveness of decompression as initial treatment for jaw cysts: A 10-year retrospective study. *Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal*, 24(1), e47-e52. <https://doi.org/10.4317/medoral.22526>
- [3] Chen, J. H., Tseng, C. H., Wang, W. C., Chen, C. Y., Chuang, F. H., & Chen, Y. K. (2018). Clinicopathological analysis of 232 radicular cysts of the jawbone in a population of southern Taiwanese patients. *Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 34(4), 249-254. <https://doi.org/10.1016/j.kjms.2018.01.011>
- [4] Bava, F. A., Umar, D., Bahseer, B., & Baroudi, K. (2015). Bilateral radicular cyst in mandible: an unusual case report. *Journal of International Oral Health : JIOH*, 7(2), 61-63.
- [5] Bassetti, M. A., Kuttnerberger, J., Novak, J., Bassetti, R. G. (2019). The dentigerous cyst: two different treatment options illustrated by two cases. *Swiss Dental Journal*, 129(3), 193-203.
- [6] Perjuci, F., Ademi-Abdyli, R., Abdyli, Y., Morina, E., Gashi, A., Agani, Z., & Ahmedi, J. (2018). Evaluation of Spontaneous Bone Healing After Enucleation of Large Residual Cyst in Maxilla without Graft Material Utilization: Case Report. *Acta Stomatologica Croatica*, 52(1), 53-60. <https://doi.org/10.15644/asc52/1/8>
- [7] Esteves, L. S., Henriques, A. C. G., de Moraes e Silva, C. A. V., Cangus-su, M. C. T., Ramos, E. A. G., Estrela, C., & dos Santos, J. N. (2017). Actinomycosis is not frequent in the periapex but is a persistent lesion. *Brazilian Dental Journal*, 28(6), 688-693. <https://doi.org/10.1590/0103-6440201701449>
- [8] Gomes, N. R., Diniz, M. G., Pereira, T. dos S. F., Estrela, C., de Macedo Farias, L., de Andrade, B. A. B., Gomes, C. C., & Gomez, R. S. (2017). Actinomyces israelii in radicular cysts: a molecular study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 123(5), 586-590. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2017.02.006>
- [9] Shivhare, P., Singh, A., Haidry, N., Yadav, M., & Shankar-narayan, L. (2016). Multilocular Radicular Cyst – A Common Pathology with Uncommon Radiological Appearance. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(3), ZD13-ZD15. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2016/16031.7486>
- [10] Sa, M. C., de Matos, F. R., Conceicao, T. S., Leitao, A., & Freitas, R. A. (2017). Immunorexpression of tumour necrosis factor-alpha interleukin-1 alpha and interleukin-10 on odontogenic cysts and tumours. *International Endodontic Journal*, 50(5), 437-445. <https://doi.org/10.1111/iej.12640>
- [11] Neto, N. D., Porpino, M. T. M., Antunes, H. D., Rodrigues, R. C. V., Perez, A. R., Pires, F. R., Siqueira, J. F., & Armada, L. (2018). Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine expression in post-treatment apical periodontitis. *Journal of Applied Oral Science*, 26, Article e20170455. <https://doi.org/10.1590/1678-7757-2017-0455>
- [12] Yang, N. Y., Zhou, Y., Zhao, H. Y., Liu, X. Y., Sun, Z., & Shang, J. J. (2018). Increased interleukin 1 α and interleukin 1 β expression is involved in the progression of periapical lesions in primary teeth. *BMC Oral Health*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12903-018-0586-3>
- [13] Alvares, P. R., de Arruda, J. A. A., Oliveira Silva, L. V., da Silva, L. P., do Nascimento, G. J. F., da Silveira, M. M. F., & Sobral, A. P. V. (2018). Immunohistochemical Analysis of Cyclooxygenase-2 and Tumor Necrosis Factor Alpha in Periapical Lesions. *Journal of Endodontics*, 44(12), 1783-1787. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.09.002>
- [14] Bracks, I. V., Armada, L., Gonçalves, L. S., & Pires, F. R. (2014). Distribution of mast cells and macrophages and expression of interleukin-6 in periapical cysts. *Journal of Endodontics*, 40(1), 63-68. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.09.037>
- [15] Ribeiro, C. M., de Carli, M. L., Nonogaki, S., Nogueira, D. A., Pereira, A. A. C., Sperandio, F. F., & Hanemann, J. A. C. (2018). M2 macrophages coexist with a Th1-driven profile in periapical cysts. *International Endodontic Journal*, 51, e87-e93. <https://doi.org/10.1111/iej.12849>
- [16] Huang, H. Y., Wang, W. C., Lin, P. Y., Huang, C. P., Chen, C. Y., & Chen, Y. K. (2018). The roles of autophagy and hypoxia in human inflammatory periapical lesions. *International Endodontic Journal*, 51, e125-e145. <https://doi.org/10.1111/iej.12782>
- [17] Rodrigues, J. T., dos Santos Antunes, H., Armada, L., & Pires, F. R. (2017). Influence of surgical decompression on the expression of inflammatory and tissue repair biomarkers in periapical cysts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 124(6), 561-567. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2017.06.121>

Доцільність дослідження одонуклеотидних поліморфізмів генів ESR1 [rs2234693], CYP19A1 [rs2414096] та IL10 [rs1800896] як можливих маркерів ризику розвитку зубощелепних порушень в осіб, які народилися макросомами

О. В. Гармаш  *A-D,F, Є. М. Рябоконь  E

Харківський національний медичний університет, Україна

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

Наведено аналіз впливу поліморфних варіантів CYP19A1 [rs2414096, rs936306], ESR1 [rs2234693, rs9340799], RANKL [rs9594738, rs9594759], IL1 [rs1143627], IL6 [rs1800796] та IL10 [rs1800896] генів на формування порушень зубощелепної системи в осіб, які народилися макросомами.

Мета роботи – дослідити вплив поліморфних варіантів CYP19A1 [rs2414096, rs936306], ESR1 [rs2234693, rs9340799], RANKL [rs9594738, rs9594759], IL1 [rs1143627], IL6 [rs1800796] та IL10 [rs1800896] генів на розвиток зубощелепних порушень в осіб популяції Харківської та прилеглих областей, які народилися макросомами.

Матеріали та методи. У багатоступеневе дослідження залучили 161 особу (144 особи, макросоми при народженні, 17 осіб, які народились нормосомами). Учасників дослідження поділили на групи за значенням їхнього дентального естетичного індексу (DAI), який характеризує тяжкість зубощелепних порушень і визначає потреби в ортодонтичному лікуванні.

Результати. Помірні порушення прикусу (значення DAI 26–30 балів) в обстежених були асоційовані з варіантами генів ESR1 ([rs 2234693], наддомінантна модель успадкування), CYP19A1 ([rs2414096], адитивна, домінуюча та мультиплікативна моделі успадкування) та IL10 ([rs1800896], наддомінантна модель успадкування). Поліморфізм гена IL10 [rs1800896] значущо пов'язаний із розвитком і помірних, і суттєвих порушень прикусу (наддомінантна модель успадкування). Протекція від істотних порушень прикусу (значення DAI 31–35 балів) асоційована з варіантом гена IL10 ([rs1800896], наддомінантна модель успадкування). За наявності гетерозиготного генотипу GA ризик розвитку порушень зменшувався у 6,7 раза. Аналіз варіантів генів ESR1 [rs 2234693], CYP19A1 [rs2414096] та IL10 [rs1800896], виконаний у дитячому віці, може бути основою для виявлення осіб групи ризику щодо формування порушень стоматогнатичної системи, а також для розроблення персоналізованих профілактичних заходів.

Висновки. В осіб, які народилися макросомами, виявлена залежність стану стоматогнатичної системи від варіантів генів CYP19A1: A > G [rs2414096], ESR1: -397 T > C [PvuII], IL10: -1082 G > A [rs1800896].

Ключові слова:

макросомія плода, порушення прикусу, одонуклеотидний поліморфізм.

Патологія. 2020.

Т. 17, № 1(48).

С. 37-45

*E-mail:

o.v.garmash@gmail.com

Expediency of the study of the ESR1 [rs 2234693], CYP19A1 [rs2414096], and IL10 [rs1800896] single nucleotide polymorphisms as feasible markers of risk that malocclusion develops in persons born macrosomic

O. V. Garmash, Ye. M. Riabokon

The article deals with analyzing the influence of polymorphic variants of CYP19A1 [rs2414096, rs936306], ESR1 [rs2234693, rs9340799], RANKL [rs9594738, rs9594759], IL1 [rs1143627], IL6 [rs1800796] and IL10 [rs1800896] genes on malocclusion development in individuals born macrosomic.

The purpose of this study is to investigate the influence of the polymorphic variants of the CYP19A1 [rs2414096, rs936306], ESR1 [rs2234693, rs9340799], RANKL [rs9594738, rs9594759], IL1 [rs1143627], IL6 [rs1800796] and IL10 [rs1800896] genes on malocclusion development in individuals of the Kharkiv Region and adjacent area population born macrosomic.

Material and methods. In total, one hundred and sixty-one individuals participated in this multi-stage study (144 macrosomic-at-birth individuals and 17 normosomic-at-birth persons). The study participants were divided into groups according to the value of their Dental Aesthetic Index (DAI), which characterizes the severity of dental disorders and defines the need for orthodontic treatment.

Results. Moderate malocclusion (DAI values in the 26–30 point range) in the surveyed persons were associated with the ESR1 gene variants ([rs 2234693], an over-dominant model of inheritance), CYP19A1 ([rs2414096], an additive, dominant, and multiplicative model of inheritance), and IL10 ([rs1800896], dominant model of inheritance). The polymorphism of the IL10 [rs1800896] gene was significantly associated with the development of both the moderate and significant malocclusion (a dominant model of inheritance). Protection against significant malocclusion (DAI values of 31–35 points) was associated with the IL10 variant gene ([rs1800896], the dominant model of inheritance). In the presence of the heterozygous GA genotype, the risk of developing disorders decreased by 6.7 times. Analysis of ESR1 gene variants [rs 2234693], CYP19A1 [rs2414096],

Key words:

fetal macrosomia, malocclusion, single nucleotide polymorphism.

Pathologia

2020; 17 (1), 37-45

and IL10 [rs1800896], performed back in childhood, may be the basis for identifying at-risk individuals to developing dental disorders and for developing personalized preventive measures.

Conclusion. In individuals born macrosomic, the dependence of the dentoalveolar system state on the variants of CYP19A1 genes: A> G [rs2414096], ESR1: -397 T> C [PvuII], and IL10: -1082 G> A [rs1800896] has been revealed.

Ключевые слова:
макросомия
плода, нарушения
прикуса,
однонуклеотидный
полиморфизм.

Патология. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 37-45

Целесообразность исследования однонуклеотидных полиморфизмов генов ESR1 [rs 2234693], CYP19A1 [rs2414096] и IL10 [rs1800896] как возможных маркеров риска развития зубочелюстных нарушений у лиц, родившихся макросомами

О. В. Гармаш, Е. Н. Рябоконь

Проведен анализ влияния полиморфных вариантов CYP19A1 [rs2414096, rs936306], ESR1 [rs2234693, rs9340799], RANKL [rs9594738, rs9594759], IL1 [rs1143627], IL6 [rs1800796] и IL10 [rs1800896] генов на формирование нарушений зубочелюстной системы у лиц, рожденных макросомами.

Цель работы – исследовать влияние полиморфных вариантов CYP19A1 [rs2414096, rs936306], ESR1 [rs2234693, rs9340799], RANKL [rs9594738, rs9594759], IL1 [rs1143627], IL6 [rs1800796] и IL10 [rs1800896] генов на развитие зубочелюстных нарушений у лиц популяции Харьковской области и прилегающих областей, которые родились макросомами.

Материалы и методы. В многоступенчатое исследование включили 161 человека (144 человека, макросомы при рождении; 17 участников, родившихся нормосомами).

Участников исследования поделили на группы по значению их дентального эстетического индекса (DAI), который характеризует тяжесть зубочелюстных нарушений и определяет потребности в ортодонтическом лечении.

Результаты. Умеренные нарушения прикуса (значение DAI 26–30 баллов) у обследованных ассоциированы с вариантами генов ESR1 ([rs 2234693], наддоминантная модель наследования), CYP19A1 ([rs2414096], аддитивная, доминантная и мультипликативная модели наследования) и IL10 ([rs1800896], наддоминантная модель наследования). Полиморфизм гена IL10 [rs1800896] был значимо связан с развитием и умеренных, и значительных нарушений прикуса (наддоминантная модель наследования). Протекция от значительных нарушений прикуса (значение DAI 31–35 баллов) ассоциирована с вариантом гена IL10 ([rs1800896], наддоминантная модель наследования). При наличии гетерозиготного генотипа GA риск развития нарушений уменьшался в 6,7 раза. Анализ вариантов генов ESR1 [rs 2234693], CYP19A1 [rs2414096] и IL10 [rs1800896], проведенный еще в детском возрасте, может служить основой для установлений группы риска по формированию нарушений стоматогнатической системы, а также для разработки персонализированных профилактических мероприятий.

Выводы. У лиц, родившихся макросомами, установлена зависимость состояния стоматогнатической системы от вариантов генов CYP19A1: A > G [rs2414096], ESR1: -397 T > C [PvuII], IL10: -1082 G > A [rs1800896].

Останнім часом науковці приділяють увагу особливостям перебігу внутрішньоутробного періоду для пояснення станів чи хвороб, що виникають в онтогенезі. Макросомія плоду (маса тіла, яка на момент народження є більшою або дорівнює 4 кг [1]), має численні безпосередні та віддалені наслідки. Так, макросомам при народженні притаманна висока поширеність стоматологічних порушень [2,3]. Ця стаття є продовженням багатоетапного дослідження стану стоматогнатичної системи в осіб, чиї параметри при народженні були вищими за норму.

У таких осіб у період постійного прикусу порівняно з особами, чиї параметри при народженні відповідали нормі, виявили вірогідно більший процент аномальних видів прикусу [2]. Навіть під час стоматологічного огляду дітей дошкільного віку, які народжені макросомами [3], зафіксований більший відсоток порушень прикусу, ніж у дітей із нормальною масою тіла при народженні. Відомо, що для формування більшості порушень потрібен певний проміжок часу, виникає питання, які фактори спричиняють настільки швидке формування порушень прикусу в осіб, які народжені макросомами.

Формування та розвиток стоматогнатичної системи залежить не тільки від зовнішніх факторів (як-от шкідливих звичок), але й від генетичної складової [4]. Тому пошук генетичних предикторів формування пору-

шень стоматогнатичної системи в осіб, які народилися із макросомією, становить науковий інтерес. На основі аналізу джерел фахової літератури як оптимальні гени-кандидати обрали варіанти генів CYP19A1, ESR1, RANKL, IL1, IL6 та IL10, що у взаємодії регулюють зростання кісткової тканини.

Вплив статевих гормонів на метаболізм кісткової тканини і жінок, і чоловіків вивчено добре [5]. Від впливу цих гормонів, зокрема ароматази, залежить не тільки щільність та якість кісткової тканини [6]. Ген CYP19A1 (*Cytochrome P450 family 19 subfamily A member 1*) кодує ензим ароматазу. Ароматаза починає діяти під час внутрішньоутробного періоду, у клітині вона знаходиться в ендоплазматичному ретикулумі та відповідає за біосинтез білка, зокрема за етап процесингу та транспорту. Цей ензим перетворює андрогени на різні форми естрогену.

Естрогени регулюють зростання та ремоделювання кісткової тканини [7], а поліморфні варіанти гена ESR1 (*Estrogen receptor 1*), змінюючи транскрипційну активність гена, є факторами виникнення естроген-залежних захворювань (як-от остеопороз). Варіанти цього гена асоційовані з мінеральною щільністю кісткової тканини [8], ESR1 залучений в амелогенезі [9] та пов'язаний із формуванням некаріозних уражень твердих тканин зубів [10]. Дефіцит естрогенів у жінок

спричиняє формування нестійкості тканин зубів до впливу карієсогенних факторів [11]. У дослідженні О. С. Барила та співавт. [12] доведено, що при дефіциті естрогену спостерігають значну втрату кісткової тканини щелеп. Крім того, за результатами наших попередніх досліджень [13], мутацію в гені ароматази можна використати як маркер раннього дитячого карієсу в осіб, які були народжені макросомами.

Ремодельовання кісткової тканини відбувається також із залученням багатьох цитокінів. У продукуванні остеокластів поряд з іншими цитокінами беруть участь IL1B (Interleukin 1B) та IL6 (Interleukin IL6), до анти-остеокластогенних цитокінів належить IL10 (Interleukin 10). Узагальнено ця проблема викладена в роботі [7].

IL10-білок, кодований однойменним геном, – цитокін, який впливає на імунорегуляцію та відповідає за «придушення» запального процесу. В статті Qian Zhang et al. [14] узагальнено показано протективну роль цього протизапального цитокіна при хворобах тканин пародонта. IL10 бере участь в інгібуванні продукції прозапальних цитокінів, як-от IL1B та IL6.

RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand) – цитокін із родини фактора некрозу пухлин. RANKL відіграє важливу роль у ремодельованні кісткової тканини, сприяючи остеокластогенезу [15]. До утворення остеокластів може бути причетним і IL1 [15]. У регулювання секреції RANKL залучені статеві гормони [16] та інтерлейкіни, як-от IL1 [17].

Мета роботи

Дослідити вплив поліморфних варіантів CYP19A1 [rs2414096, rs936306], ESR1 [rs2234693, rs9340799], RANKL [rs9594738, rs9594759], IL1 [rs1143627], IL6 [rs1800796] та IL10 [rs1800896] генів на розвиток зубощелепних порушень в осіб популяції Харківської та прилеглих областей, які народилися макросомами.

Матеріали і методи дослідження

Молекулярно-генетичним методом обстежили 161 особу різного віку (від 4 до 55 років) і статі (співвідношення чоловіків – 3 : 2), які проживають у Харківській і прилеглих областях (Україна). Зауважимо, що через обмежений об'єм взятого букального епітелію не вдалося виконати випробування за обраними генами для всіх осіб. Тому в таблицях, що наведені, кількість варіантів для різних генів дещо відрізняється.

Учасників дослідження поділили на групи за значенням їхнього дентального естетичного індексу (DAI), який характеризує тяжкість зубощелепних порушень і визначає потреби в ортодонтичному лікуванні. Вважали, що при значеннях DAI, які дорівнюють або менші за 25 балів, порушення прикусу незначні, а лікування або не потрібне, або пацієнт потребує незначного втручання. При значеннях DAI 26–30 балів наявні очевидні порушення прикусу та потреба в лікуванні. При значеннях індексу 31–35 балів є нагальна потреба в лікуванні, а при значеннях понад 36 балів лікування є обов'язковим.

Кількість осіб, які народилися з макросомією та в яких DAI оцінений 26–30 балами, дорівнювала 79.

Цю групу умовно назвали групою з помірними порушеннями прикусу (ГПП 26–30). Група макросомів при народженні, чий DAI був у межах 31–35 балів складалася з 14 осіб, умовна названа групою зі значними порушеннями прикусу (ГЗП 31–35). У рамках цього дослідження осіб, чий DAI був понад 35 балів, не виявили. Макросоми при народженні (51 особа), в яких значення DAI було меншим або дорівнювало 25 (умовна норма), утворили групу порівняння 1 (ГП I). Група порівняння 2 (ГП II) складалася з 17 осіб, які народжені нормосомами, їхній DAI також дорівнював або був меншим за 25 балів.

Оскільки цей індекс розроблений для оцінювання тяжкості зубощелепних порушень в осіб у період постійного та змінного прикусу, його не можна використовувати для оцінювання порушень у дітей в період тимчасового прикусу. Дітей-макросомів при народженні з фізіологічними видами прикусу класифікували в ГП I, а дітей-макросомів при народженні, які мали зубо-щелепні порушення, – в ГПП 26–30. Оскільки значення індексу понад 30 передбачають значущі порушення зубо-щелепної системи, які в тимчасовому прикусі ще не встигають сформуватися, дітей у групу ГЗП 31–35 не включали. Значущі порушення можуть бути виявлені, наприклад, у дітей із уродженою патологією, але таких дітей не залучали в дослідження. Діти, які народжені нормосомами і в період тимчасового прикусу не мали зубо-щелепних порушень, класифіковані в ГП II.

Особи, які залучені в дослідження, або їхні законні представники (щодо дітей віком до 18 років), надали інформовану письмову згоду на участь. Комітет з етики та біоетики Харківського національного медичного університету (протокол № 5 від 10 травня 2016 р.) підтвердив: методики, які використані, застосовували, враховуючи права людини відповідно до чинного законодавства України; методики відповідають вимогам міжнародних етичних стандартів і не порушують етичні норми в науці та стандарти здійснення біомедичних досліджень.

Відомості про масо-ростові параметри при народженні в учасників дослідження отримали з історій розвитку дітей, медичних карт стаціонарного хворого або іншої документації, яка зберігалася в архівах медичних закладів, або безпосередньо в учасників дослідження.

Критерії виключення з дослідження: наявність вад та аномалій розвитку, наявність системних захворювань чи патологічних станів (ожиріння, метаболічного синдрому, цукрового діабету, туберкульозу, синдрому Кушинга, гіперпаратиреозу чи генералізованого остеопорозу), які можуть впливати на кістковий метаболізм, наявність інших хвороб у стадії декомпенсації; відсутність відомостей про масо-ростові параметри при народженні; передчасне народження, маса тіла при народженні 2700 г чи менше.

Критерії залучення в дослідження: вік від 4 до 55 років; наявність згоди на участь у дослідженні; відсутність критеріїв виключення.

Дослідження складалося з кількох етапів: взяття матеріалу, виділення нуклеїнових кислот із біологічного матеріалу, ампліфікація, аналіз результатів.

Таблиця 1. Програма ампліфікації фрагментів ДНК для детектувального ампліфікатора

№ блоку	Температура, °C	Хв	Сек	Кількість циклів	Режим оптичних вимірювань	Δt , °C	Тип блоку
1	80,0	02	00	1			Цикл
	94,0	05	00				
2	94,0	00	30	5			Цикл
	67,0	00	15		✓		
3	94,0	00	05	45			Цикл
	67,0	00	15		✓		
4	25,0	00	30	1			Цикл
5	25,0	00	15	50	✓	1,0°C	«Крива плавлення», $\Delta t = 1^\circ\text{C}$; $T_{\text{кон}} = 75^\circ\text{C}$
6	10,0			Зберігання			Зберігання

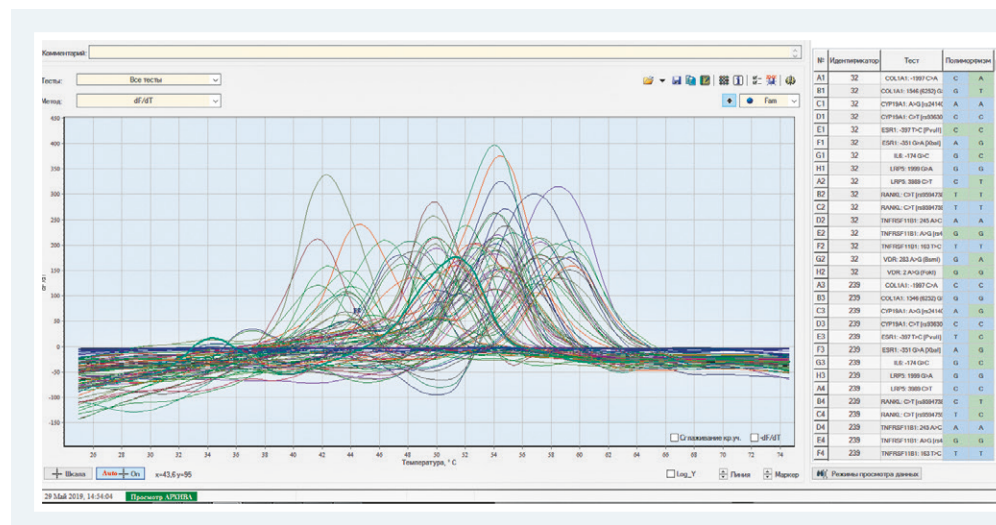


Рис. 1. Графік залежності флуоресценції геномної ДНК від температури плавлення зразків (набір «Остеопороз» НВО «ДНК-технологія»).

Зішкріб епітеліальних клітин, що взятий за допомогою одноразового стерильного зонда з внутрішньої поверхні щок, перенесли у пластикову пробірку з 0,5 мл стерильного фізіологічного розчину. Після цього, дотримуючись вимог холодового ланцюга, препарат передавали в Медичну лабораторію «Аналітика» (договір про науково-практичне співробітництво між Харківським національним медичним університетом і приватним підприємством Медична лабораторія «Аналітика» № 64/0318н, від 26 березня 2018 р). Зішкріб епітеліальних клітин одразу брали в роботу. ДНК виділяли набором «Проба-НК» НПО ДНК-технологія (РФ) із букального епітелію за рекомендаціями фірми-виробника.

Безпосередньо після виділення ДНК виконували генотипування одонуклеотидних поліморфізмів (SNP), використовуючи набори «Остеопороз» (серійні номери: C0409U-2, D1104U-2) НПО ДНК-технологія (РФ) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі (Real-Time PCR).

У дослідженні використовували такі засоби вимірювальної техніки: термостат «Гном» (ДНК-технологія) № T1ZN18; центрифуга лабораторна «MiniSpin» (Eppendorf) №5452BK-465439; центрифуга Вортекс «Microspin FV-2400» №010201-1004-0106; ампліфікатор «ДТ-96» № A5Y201; ампліфікатор «ДТлайт» № A7A905; дозатор одноканальний «Колор» 5-50 мкл № BK 52843; дозатор одноканальний «Колор» 20-200 мкл № BN 40793; дозатор одноканальний «Колор» 100-1000 мкл № BN 86162.

Реєстрацію сигналів та інтерпретацію результатів флуоресценції ампліфікованих фрагментів геномної ДНК виконано ампліфікатором автоматично за допомогою вбудованого програмного забезпечення. Режими ампліфікації наведені в таблиці 1.

Набір «Остеопороз» включає 16 поліморфізмів: COL1A1: -1997 C > A; COL1A1: 1546 (6252) G > T; CYP19A1: A > G [rs2414096]; (CYP19A1: C > T [rs936306]; ESR1: -397 T > C [PvuII]; ESR1: -351 G > A [XbaI]; IL6: -174 G > C; LRP5: 1999 G>A; LRP5: 3989 C > T; RANKL: C > T [rs9594738]; RANKL: C > T [rs9594759]; TNFRSF11B1: 245 A > C; TNFRSF11B1: A > G [rs4355801]; TNFRSF11B1: 163 T > C; VDR: 283 A > G (BsmI) та VDR: 2 A > G (FokI). Виконана одночасна детекція двох алельних варіантів поліморфізму. Наявність внутрішнього контролю кількості ДНК в ампліфікаційній пробірці знижує ймовірність помилок генотипування. На рис. 1 наведені результати флуоресцентної детекції продуктів ПЛР.

Молекулярно-генетичний аналіз поліморфних варіантів *IL10*, [rs1800896] та *IL1b*, [rs1143627] виконали тим самим методом, використовуючи набори реагентів для аналізу одонуклеотидних поліморфізмів «G: -1082 A в гені IL10» (серійні номери: 02/S186/18) та «T-31 C в гені IL1b» (серійні номери: 07/S277/17, 03/S277/18) НВО «Літех» «SNP-ЕКС-ПРЕСС-РВ» (РФ).

Статистичне опрацювання результатів здійснили за допомогою програми Microsoft Excel 2016 (ліцензійний номер 67844311, 2016) та пакету STATISTICA 13

(тріал-версія, URL: <http://statsoft.ru/products/trial/>, дата звернення 18.06.2019).

Частоти генотипів для кожного варіанта генів перевірені на відповідність рівновазі Харді-Вайнберга за критерієм χ^2 при ймовірності помилки $p < 0,05$ (<https://www.icalculator.info/health/hardy-weinberg-equilibrium-for-two-alleles-calculator.html>). Вибір найкращої моделі успадкування обґрунтований порівнянням показників χ^2 . Для оцінювання ризиків використовували показник OR – «відношення шансів» і його 95 % довірчий інтервал (ДІ).

Результати

Перед початком порівнянь частот розподілу генотипів у різних парах груп та аналізом результатів оцінили поділ генотипів за генами *CYP19A1*, *ESR1*, *IL1*, *IL6*, *IL10* та *RANKL* у групах (табл. 2).

У таблиці 3 наведені значущі відмінності, які встановили під час порівняння ГП I та ГП II. Серед осіб ГП I значущо підвищеною була частота поширення генотипів GG і AG за геном *CYP19A1* [rs2414096] на відміну від осіб ГП II, а під час розрахунку моделей ризику значущими були адитивна, рецесивна, домінантна й мультиплікативна моделі успадкування, серед яких найбільшу цінність мали домінантна й мультиплікативна моделі. Отже, підтвердили відомості, що отримані протягом попередніх досліджень [18]: наявність алелю G за геном *CYP19A1* є фактором ризику розвитку макросомії плода. Але в попередній роботі йшлося про терміни прорізування тимчасових зубів, і групи порівняння ГП I і ГП II склалися з осіб, які не мали порушень у термінах їх прорізування. У цьому дослідженні наявність алелю G за геном *CYP19A1* (табл. 3) також визначена як фактор ризику народження з великою масою тіла до гестаційного віку (макромомія плода), але тепер серед осіб зі збереженням у межах норми станом стоматогнатичної системи.

Порівнюючи ГПП 26–30 та ГП I (табл. 4), з'ясували: наявність гетерозиготного варіанта гена *ESR1*: -397 T > C [PvuII] [rs2414096] (наддомінантна модель успадкування) вірогідно ($p < 0,05$) зменшує ризик розвитку помірних порушень зубо-щелепної системи в осіб, які народжені макросомами, в 2,7 раза.

Порівнюючи ГПП 26–30 і групою нормосомів при народженні без порушень прикусу (ГП II), виявили: генотип AA гена *CYP19A1*: A > G [rs2414096] (адитивна та домінантна модель успадкування) забезпечує зменшення ризику виникнення порушень зубощелепної системи майже у 8 разів (табл. 5). Протективні властивості має також алель A цього гена (мультиплікативна модель успадкування). Наявність цього алелю зменшує ризик виникнення порушень зубо-щелепної системи в 5,2 раза порівняно з наявним алелем G.

Вірогідні відмінності визначили також для гена *IL10*: -1082 G > A [rs1800896]. У носіїв гетерозиготного варіанта цього гена (наддомінантна модель успадкування) серед макросомів при народженні зменшений ризик виникнення порушень в 4,6 раза порівняно з нормосомами при народженні.

Таблиця 2. Частоти поділу генотипів для різних груп учасників дослідження

Ген	Поліморфні варіанти	ГПП 26–30		ГЗП 31–35		ГП I		ГП II	
		n	%	n	%	n	%	N	%
<i>CYP19A1</i> : A > G [rs2414096]	AA	17	21,52	5	35,71	10	19,61	12	70,59
	AG	42	53,16	7	50,00	26	50,98	5	29,41
	GG	20	25,32	2	14,29	15	29,41	0	0,00
<i>CYP19A1</i> : C > T [rs936306]	CC	57	72,15	13	92,86	37	74,00	14	82,35
	CT	20	25,32	1	7,14	12	24,00	2	11,76
	TT	2	2,53	0	0,00	1	2,00	1	5,89
<i>ESR1</i> : -397 T > C (PvuII) [rs 2234693]	TT	24	31,58	4	28,57	9	18,00	1	5,88
	TC	32	42,11	9	64,29	33	66,00	11	64,71
	CC	20	26,32	1	7,14	8	16,00	5	29,41
<i>ESR1</i> : -351 G > A (XbaI) [rs 9340799]	GG	7	9,21	0	0,00	4	8,16	3	17,65
	GA	36	47,37	9	69,23	29	59,19	9	52,94
	AA	33	43,42	4	30,77	16	32,65	5	29,41
<i>IL6</i> : -174 G > C [rs1800795]	GG	28	35,44	4	28,57	14	27,45	5	29,41
	GC	34	43,04	6	42,86	30	58,82	9	52,94
	CC	17	21,52	4	28,57	7	13,73	3	17,65
<i>RANKL</i> : C > T [rs9594738]	CC	28	35,44	5	35,71	16	31,37	7	41,18
	CT	30	37,97	5	35,71	22	43,14	5	29,41
	TT	21	26,58	4	28,58	13	25,49	5	29,41
<i>RANKL</i> : C > T [rs9594759]	CC	21	26,58	4	28,58	19	38,00	5	29,42
	CT	36	45,57	5	35,71	19	38,00	6	35,29
	TT	22	27,85	5	35,71	12	24,00	6	35,29
<i>IL1b</i> : -31 T > C [rs1143627]	TT	25	35,71	2	53,85	20	42,55	10	62,50
	TC	30	42,86	4	30,77	19	40,43	4	25,00
	CC	15	21,43	7	15,38	8	17,02	2	12,50
<i>IL10</i> : -1082 G > A [rs1800896]	GG	25	37,31	6	42,86	17	34,69	3	18,75
	GA	30	44,78	5	35,71	27	55,10	13	81,25
	AA	12	17,91	3	21,43	5	10,21	0	0,00

Таблиця 3. Порівняння частот поділу генотипів між ГП I і ГП II

Ген	Поліморфні варіанти	Результати статистичного аналізу			
		χ² (Йєтс)	OR	95 % ДІ	p
CYP19A1: A > G [rs2414096]	Адитивна модель				
	AA	12,226*	0,112*	0,033–0,380*	0,002*
	AG		2,600	0,804–8,406	
	GG		14,167	0,798–251,388	
	Рецесивна модель				
	AA+AG	3,841*	0,071	0,004–1,253	0,050*
	GG		14,167	0,798–251,388	
	Домінантна модель				
	AA	12,170*	0,112*	0,033–0,380*	<0,0005*
	AG+GG		8,945*	2,632–30,400*	
	Наддомінантна модель				
	AA+GG	1,814	0,385	0,119–1,244	0,178
AG		2,600	0,804–8,406		
Мультиплікативна модель					
A	14,996*	0,170*	0,065–0,445*	<0,0005*	
G		5,884*	2,249–15,393*		

Значення ймовірності помилки p гіпотези про значущість відмінностей між частотами поширення генотипів у групах для кожної моделі відповідають значенню χ^2 , що розраховане для відповідної таблиці спряженості; значення 95 % довірчих інтервалів (95 % ДІ) наведені для розрахованих за цими таблицями відношень шансів OR; *: вірогідні значення.

На відміну від ГПП 26–30, у ГЗП 31–35 порівняно з ГП I не виявили значущі відмінності за поширеністю генотипів. Під час порівняння ГЗП 31–35 і ГП II також виявили, що гетерозиготний варіант гена *IL10*: -1082 G > A [rs1800896] (наддомінантна модель успадкування) зменшує ризик виникнення значних порушень прикусу в 6,7 раза (табл. 6).

Таблиця 4. Поділ поліморфних варіантів за генами ESR1: -397 T > C (Pvull) [rs 2234693] у осіб ГПП 26–30 і ГП І

Ген	Поліморфні варіанти	Результати статистичного аналізу			
		χ ² (Йєтс)	OR	95 % ДІ	p
ESR1: -397 T > C (Pvull) [rs 2234693]	Адитивна модель				
	TT	5,545	2,103	0,882–5,012	0,063
	TC		0,375*	0,178–0,786*	
	CC		1,875	0,753–4,669	
	Рецесивна модель				
	TT+TC	1,308	0,533	0,214–1,328	0,253
	CC		1,875	0,753–4,669	
	Домінантна модель				
	TT	2,217	2,103	0,882–5,012	0,136
	TC+CC		0,476	0,200–1,134	
	Наддомінантна модель				
	TT+CC	6,895*	2,669*	1,272–5,602*	0,009*
	TC		0,375*	0,178–0,786*	
	Мультиплікативна модель				
	T	0,064	1,068	0,644–1,769	0,800
	C		0,937	0,565–1,552	

Значення ймовірності помилки p гіпотези про значущість відмінностей між частотами поширення генотипів у групах для кожної моделі відповідають значенню χ^2 , що розраховане для відповідної таблиці спряженості; значення 95 % довірчих інтервалів (95 % ДІ) наведені для розрахованих за цими таблицями відношень шансів OR; *: вірогідні значення.

Таблиця 5. Розподіл поліморфних варіантів за генами CYP19A1: A > G [rs2414096] та IL10: -1082 G > A [rs1800896] у осіб ГПП 26–30 та ГП ІІ

Ген	Поліморфні варіанти	Результати статистичного аналізу			
		χ^2 (Йєтс)	OR	95 % ДІ	p
CYP19A1: A > G [rs2414096]	Адитивна модель				
	AA	12,783*	0,126*	0,040–0,394*	0,002*
	AG		2,838	0,919–8,762	
	GG		11,525	0,662–200,786	
	Рецесивна модель				
	AA+AG	3,081	0,087	0,005–1,512	0,079
	GG		11,525	0,662–200,786	
	Домінантна модель				
	AA	12,933*	0,126*	0,040–0,394*	<0,0005*
	AG+GG		7,957*	2,537–24,956*	
	Наддомінантна модель				
	AA+GG	2,554	0,352	0,114–1,088	0,110
AG		2,838	0,919–8,762		
Мультиплікативна модель					
A	13,953*	0,192*	0,075–0,487*	<0,0005	
G		5,215*	2,052–13,254*		
IL10: –1082 G > A [rs1800896]	Адитивна модель				
	GG	4,372	2,679	0,698–10,285	0,112
	GA		0,218*	0,061–0,781*	
	AA		6,982	0,391–124,784	
	Рецесивна модель				
	GG+GA	1,282	0,143	0,008–2,560	0,257
	AA		6,982	0,391–124,784	
	Домінантна модель				
	GG	1,401	2,679	0,698–10,285	0,237
	GA+AA		0,373	0,097–1,434	
	Наддомінантна модель				
	GG +AA	4,846*	4,581*	1,280–16,390*	0,028*
	GA		0,218*	0,061–0,781*	
	Мультиплікативна модель				
	G	0,050	1,092	0,504–2,362	0,824
	A		0,916	0,423–1,982	

Значення ймовірності помилки p гіпотези про значущість відмінностей між частотами поширення генотипів у групах для кожної моделі відповідають значенню χ^2 , що розраховане для відповідної таблиці спряженості; значення 95 % довірчих інтервалів (95 % ДІ) наведені для розрахованих за цими таблицями відношень шансів OR; *: вірогідні значення.

Обговорення

Є відомості, що ген ESR1 залучений у формування аномалій прикусу у вертикальному та сагітальному напрямках [19]. Це підтверджує адекватність результатів, що одержали.

Виявили, що частота гетерозиготного варіанта гена ESR1: -397 T > C (Pvull) [rs2234693] у групі ГПП 26–30 в 1,5 раза менша, ніж у групах ГП І та ГП ІІ. В осіб із зубо-щелепними порушеннями спостерігали тенденцію до збільшення частоти поширення генотипу TT, але відмінності невірогідні (табл. 2).

Відомо, що гомозиготний варіант CC цього гена пов'язаний із підвищеною мінеральною щільністю кісткової тканини у пізньому пубертаті [20]. Інформація про те, що генотип CC гена ESR1 (Pvull) пов'язаний із більшою мінеральною щільністю шийки стегна, викладена в роботі T. D. Sowers et al. [21]. Алеель T гена ESR1 Pvull [rs2234693] (C > T) пов'язаний зі зниженням мінеральної щільності кісткової тканини у жінок у післяменопаузальному періоді [22,23].

Гетерозиготний варіант CT гена ESR1 (Pvull) пов'язаний зі збільшеною мінеральною щільністю та мінеральним складом кісткової тканини в іранських дітей і підлітків [20]. Про підвищену щільність кісткової тканини у носіїв CT варіанта цього гена серед жінок у післяменопаузальному періоді повідомили H. Zhu et al. [21]. Алеель T гена ESR1 Pvull [rs2234693] (C > T) пов'язаний зі зниженням мінеральної щільності кісткової тканини в жінок у післяменопаузальному періоді [22,23].

Жінки японської та афроамериканської популяції, які були носіями генотипу CC гена ESR1 (Pvull), мали вірогідно більшу щільність кісткової тканини поперекового відділу хребта, ніж їхні однолітки з генотипом TT [24]. Відомості про те, що генотип CC названого гена пов'язаний із більшою мінеральною щільністю шийки стегна, викладені в роботі T. D. Sowers et al. [25]. Отже, тенденція до зменшення частоти поширення генотипу CC в осіб із ГЗП 31–35, що виявлена в нашому дослідженні, може впливати на порушення морфогенезу кісткової тканини та формування порушень прикусу за умови народження з макросомією.

Виявили, що поліморфізм гена CYP19A1: A > G [rs2414096] асоційований із помірними порушеннями прикусу в осіб, які народилися макросомами. Цікавими є відомості, вигляді викладені в [26]. Автори показали, що варіанти гена ароматази [rs2470144] впливають на зростання нижньої та верхньої щелеп. Доведено також, що ген ароматази CYP19A1 пов'язаний із темпами зростання і верхньої, і нижньої щелепи в сагітальній площині. Генотипи [rs2470144], [rs2445761] і галотипи вірогідно асоційовані із середньорічними темпами зростання щелеп у хлопців пубертатного віку.

У попередніх дослідженнях [2,3], оцінюючи стан стоматогнатичної системи осіб популяції Харківської та прилеглих областей (тобто під час обстеження тих самих учасників дослідження, про яких йдеться в цій статті), виявили вірогідно більший процент аномалій прикусу, сформованих саме у сагітальній площині в осіб, які народилися макросомами, порівняно з нормосомами при народженні відповідного віку.

Результати свідчать, що за наявності гетерозиготного варіанта гена IL10 [rs1800896] в осіб із макросомією при народженні ризик розвитку зубо-щелепних порушень значущо зменшувався. Так, ризик розвитку помірних зубо-щелепних порушень зменшувався в 4,6 раза, а значущих порушень – у 6,7 раза. Із підвищенням рівня тяжкості зубо-щелепних порушень спостерігали невідповідне збільшення частоти поширення мутантного гомозиготного варіанта цього гена (табл. 2).

У роботі [27] показано, що вплив алелю G у гені IL10 -1082 A/G на розвиток хронічного пародонтиту позитивний або сприятливий, що відповідає нашим результатам.

Спроба проаналізувати результати щодо особливостей генетичної складової метаболізму кісткової тканини в осіб, які народжені макросомами, та пов'язати їх із попередніми [2,3] відомостями про формування зубо-щелепних порушень у дослідженого контингенту дала позитивні результати. В осіб, які народилися макросомами, виявлена залежність стану стоматогнатичної системи від варіантів генів CYP19A1: A > G [rs2414096], ESR1: -397 T > C [PvuII] та IL10: -1082 G > A [rs1800896].

Результати дослідження можуть бути використані для передбачення формування порушень прикусу та зубних рядів у осіб, які народжені макросомами, а також допоможуть під час розроблення персоналізованих профілактичних заходів і планування ортодонтичного лікування.

Висновки

1. Помірні порушення прикусу (значення DAI 26–30 балів) в обстежених осіб асоційовані з варіантами генів ESR1 [rs 2234693], наддомінантна модель успадкування), CYP19A1 [rs2414096], адитивна, домінантна й мультиплікативна моделі успадкування) та IL10 [rs1800896], наддомінантна модель успадкування).

2. Поліморфізм гена IL10 [rs1800896] значущо пов'язаний із розвитком і помірних, і значних порушень прикусу (наддомінантна модель успадкування).

3. Протекція від значних порушень прикусу (значення DAI 31–35 балів) асоційована з варіантом гена IL10 [rs1800896], наддомінантна модель успадкування). За наявності гетерозиготного генотипу GA ризик розвитку порушень зменшувався у 6,7 раза.

4. Аналіз варіантів генів ESR1 [rs 2234693], CYP19A1 [rs2414096] та IL10 [rs1800896], виконаний у дитячому віці, може бути основою для виявлення осіб групи ризику щодо формування порушень стоматогнатичної системи, а також для розроблення персоналізованих профілактичних заходів.

Фінансування

Дослідження виконали в рамках НДР Харківського національного медичного університету МОЗ України за темою: «Характер, структура та лікування основних стоматологічних захворювань», № держреєстрації 0116U004975.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Таблиця 6. Поділ поліморфних варіантів за геном IL10: -1082 G > A [rs1800896] в осіб ГЗП 31–35 і ГП II

Ген	Поліморфні варіанти	Результати статистичного аналізу			
		χ² (Йтс)	OR	95 % ДІ	p
IL 10: −1082 G > A [rs1800896]	Адитивна модель				
	GG	3.464	3.375	0.655–17.377	0.177
	GA		0.150*	0.030–0.747*	
	AA		8.727	0.397–191.954	
	Рецесивна модель				
	GG +GA	1.038	0.115	0.005–2.520	0.308
	AA		8.727	0.397–191.954	
	Домінантна модель				
	GG	1.189	3.375	0.655–17.377	0.275
	GA+AA		0.296	0.058–1.526	
	Наддомінантна модель				
	GG +AA	4.165*	6.686*	1.338–33.408*	0.041*
	GA		0.150*	0.030–0.747*	
	Мультиплікативна модель				
	G	0.062	1.139	0.408–3.176	0.804
	A		0.878	0.315–2.449	

Значення ймовірності помилки p гіпотези про значущість відмінностей між частотами поширення генотипів у групах для кожної моделі відповідають значенню χ^2 , що розраховане для відповідної таблиці спряженості; значення 95 % довірчих інтервалів (95 % ДІ) наведені для розрахованих за цими таблицями відношень шансів OR; *: вірогідні значення.

Надійшла до редакції / Received: 12.01.2020

Після доопрацювання / Revised: 03.02.2020

Прийнято до друку / Accepted: 07.02.2020

Відомості про авторів:

Гармаш О. В., канд. мед. наук, доцент каф. терапевтичної стоматології, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-7935-9371

Рябоконь Є. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. терапевтичної стоматології, Харківський національний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-3961-4782

Information about authors:

Garmash O. V., MD, PhD, Associate Professor of the Therapeutic Dentistry Department, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Riabokon Ye. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Therapeutic Dentistry Department, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Сведения об авторах:

Гармаш О. В., канд. мед. наук, доцент каф. терапевтической стоматологии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Рябоконь Е. Н., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. терапевтической стоматологии, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Список літератури

- [1] Macrosomia: ACOG Practice Bulletin, N 216. *Obstetrics and Gynecology*. 2020. Vol. 135, Iss. 1. P. e18-e35. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003606>
- [2] Гармаш О. В. Стан стоматогнатичної системи осіб популяції Харківської області та прилеглих областей, які народилися макросомами. *Вісник проблем біології і медицини*. 2019. Вип. 3. С. 347-359. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2019-3-152-347-359>
- [3] Гармаш О. В. Особливості стоматологічного статусу дітей, які народилися з макросомією, у період тимчасового прикусу. *Вісник проблем біології і медицини*. 2018. Вип. 4. С. 246-253. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2018-4-1-146-246-253>

- [4] General and craniofacial development are complex adaptive processes influenced by diversity / A. H. Brook, M. B. O'Donnell, A. Hone et al. *Australian Dental Journal*. 2014. Vol. 59, P. 13-22. <https://doi.org/10.1111/adj.12158>
- [5] Narla R. R., Ott S. M. Bones and the sex hormones. *Kidney International*. 2018. Vol. 94, Iss. 2. P. 239-242. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.03.021>
- [6] Long-term effect of aromatase inhibitors on bone microarchitecture and macroarchitecture in non-osteoporotic postmenopausal women with breast cancer / A. R. Hong, J. H. Kim, K. H. Lee et al. *Osteoporosis International*. 2017. Vol. 28, Iss. 4. P. 1413-1422. <https://doi.org/10.1007/s00198-016-3899-6>
- [7] Regulation of Osteoclast Differentiation by Cytokine Networks / D. S. Amarasekara, H. Yun, S. Kim et al. *Immune Network*. 2018. Vol. 18, Iss. 1. P. e8. <https://doi.org/10.4110/in.2018.18.e8>
- [8] Bone mineral density is associated with vitamin D related rs6013897 and estrogen receptor polymorphism rs4870044: The Tromso study / I. Martinaityte, R. Jorde, N. Emaus et al. *Plos One*. 2017. Vol. 12, Iss. 3. P. e0173045. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173045>
- [9] Estrogen and Bisphenol A Affect Male Rat Enamel Formation and Promote Ameloblast Proliferation / S. Loiodice, C. Marciano, A. Vinel et al. *Endocrinology*. 2014. Vol. 155, Iss. 9. P. 3365-3375. <https://doi.org/10.1210/en.2013-2161>
- [10] Oestrogen receptor alpha, growth hormone receptor, and developmental defect of enamel / J. Arid, D. B. Oliveira, S. S. Evangelista et al. *International Journal of Paediatric Dentistry*. 2019. Vol. 29, Iss. 1. P. 29-35. <https://doi.org/10.1111/ipd.12434>
- [11] Карієс зубів, хронічний генералізований пародонтит і дефіцит естрогенів та електролітів у жінок / Е. І. Александров, Г. Ю. Агафонова, І. Н. Александров та др. *Медико-соціальні проблеми сім'ї*. 2013. Т. 18, № 3. С. 81-85.
- [12] Баріло О. С., Агафонов К. В., Фурман Р. Л. Рівень мінералізації щелеп у хворих з дисбалансом естрогенів за даними комп'ютерної томографії. *Сучасна стоматологія*. 2019. № 4. С. 24-28. <https://doi.org/10.33295/1992-576X-2019-4-24>
- [13] Гармаш О. В. Обґрунтування доцільності дослідження одонуклеотидного поліморфізму в гені ароматази як можливого маркера ризику розвитку раннього дитячого карієсу у осіб, які народились із макросомією. *Сучасні питання молекулярно-біохімічних досліджень та лабораторного скринінгу у клінічній та експериментальній медицині*: зб. тез всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 11-12 квітня. Запоріжжя, 2019. С. 15-16.
- [14] Interleukin-10 Inhibits Bone Resorption: A Potential Therapeutic Strategy in Periodontitis and Other Bone Loss Diseases / Q. Zhang, B. Chen, F. H. Yan et al. *Biomed Research International*. 2014. Vol. 2014. P. 284836. <https://doi.org/10.1155/2014/284836>
- [15] Feng W., Guo J., Li M. Q. RANKL-independent modulation of osteoclastogenesis *Journal of Oral Biosciences*. 2019. Vol. 61, Iss. 1. P. 16-21. <https://doi.org/10.1016/j.job.2019.01.001>
- [16] Estrogen Regulates Bone Turnover by Targeting RANKL Expression in Bone Lining Cells / C. Streicher, A. Heyny, O. Andrukhova et al. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. P. 6460. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06614-0>
- [17] Walsh J. S. Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. *Surgery*. 2015. Vol. 33, Iss. 1. P. 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2014.10.010>
- [18] Garmash O. V., Rossokha Z. I., Gorovenko N. G. Association between rankl [RS9594759] and IL10 [RS1800896] genes polymorphism and deciduous tooth eruption terms in ukrainians born macrosomic. *Wiadomosci lekarskie*. 2020. Vol. 73, Iss. 2. P. 342-351.
- [19] ENPP1 and ESR1 genotypes influence temporomandibular disorders development and surgical treatment response in dentofacial deformities / R. Nicot, A. R. Vieira, G. Raoul et al. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2016. Vol. 44, Iss. 9. P. 1226-1237. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2016.07.010>
- [20] Influence of Estrogen Receptor Alpha Polymorphism on Bone Mineral Density in Iranian Children / N. Montazeri-Najafabadi, M. H. Dabbaghmanesh, R. M. Amiri et al. *Human Heredity*. 2019. Vol. 84, Iss. 2. P. 82-89. <https://doi.org/10.1159/000502230>
- [21] Associations between ERα/β gene polymorphisms and osteoporosis susceptibility and bone mineral density in postmenopausal women: A systematic review and meta-analysis / H. Zhu, J. Jiang, Q. Wang et al. *BMC Endocrine Disorders*. 2018. Vol. 18, Iss. 1. <https://doi.org/10.1186/s12902-018-0230-x>
- [22] The estrogen receptor 1 gene affects bone mineral density and osteoporosis treatment efficiency in Slovak postmenopausal women / V. Mondockova, M. Adamkovicova, M. Lukacova et al. *BMC Medical Genetics*. 2018. Vol. 19, Iss. 1. P. 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12881-018-0684-8>
- [23] Estrogen receptor alpha gene polymorphisms contribute to fragility fracture susceptibility in elderly postmenopausal women with heart failure / Y. Zhu, J. Chen, H. Cheng et al. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2017. Vol. 10, Iss. 2. P. 3435-3444.
- [24] The Association of Bone Mineral Density with Estrogen Receptor Gene Polymorphisms / G. A. Greendale, J. Chu, R. Ferrell et al. *American Journal of Medicine*. 2006. Vol. 119, Iss. 9, suppl. 1. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.07.011>
- [25] Estrogen Receptor Genotypes and Their Association with the 10-Year Changes in Bone Mineral Density and Osteocalcin Concentrations / M. Sowers, M. L. Jannausch, W. Liang, M. Willing. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2004. Vol. 89, Iss. 2. P. 733-739. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030691>
- [26] Orthodontics: Current Principles and Techniques / L. W. Graber, R. L. Vanarsdall, K. W. L. Vig, G. J. Huang. 6th ed. St. Louis: Elsevier, 2017. 928 p.
- [27] Analysis of interleukin 10 gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis and healthy controls / B. Moudi, Z. Heidari, H. Mahmoudzadeh sagheb, M. Moudi. *Dental Research Journal*. 2018. Vol. 15, Iss. 1. P. 71-79. <https://doi.org/10.4103/1735-3327.223614>

References

- [1] Macrosomia: ACOG Practice Bulletin, Number 216. (2020). *Obstetrics and Gynecology*. Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000003606>
- [2] Garmash, O. V. (2019). Stan stomatohnatychnoi systemy osib populatsii Kharkivskoi oblasti ta prylyehkh oblastei, yaki narodylysia makrosomamy [State of the stomatognathic system in the Kharkiv region and the adjacent areas population, born macrosomic]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, (3), 347-359. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2019-3-152-347-359> [in Ukrainian].
- [3] Garmash, O. V. (2018). Osoblyvosti stomatolohichnoho statusu ditei, yaki narodylysia z makrosomieiu, u period tymchasovoho prykusu [Features of the dental status of children with fetal macrosomia in the period of the temporary dentition]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, (4), 246-253. <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2018-4-1-146-246-253> [in Ukrainian].
- [4] Brook, A. H., O'Donnell, M. B., Hone, A., Hart, E., Hughes, T. E., Smith, R. N., & Townsend, G. C. (2014). General and craniofacial development are complex adaptive processes influenced by diversity. *Australian Dental Journal*, 59, 13-22. <https://doi.org/10.1111/adj.12158>
- [5] Narla, R. R., & Ott, S. M. (2018). Bones and the sex hormones. *Kidney International*, 94(2), 239-242. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.03.021>
- [6] Hong, A. R., Kim, J. H., Lee, K. H., Kim, T. Y., Im, S. A., Moon, H. G., Han, W. S., Noh, D. Y., Kim, S. W., & Shin, C. S. (2017). Long-term effect of aromatase inhibitors on bone microarchitecture and macroarchitecture in non-osteoporotic postmenopausal women with breast cancer. *Osteoporosis International*, 28(4), 1413-1422. <https://doi.org/10.1007/s00198-016-3899-6>
- [7] Amarasekara, D. S., Yun, H., Kim, S., Lee, N., Kim, H., & Rho, J. (2018). Regulation of Osteoclast Differentiation by Cytokine Networks. *Immune Network*, 18(1), Article UNSP e8. <https://doi.org/10.4110/in.2018.18.e8>
- [8] Martinaityte, I., Jorde, R., Emaus, N., Eggen, A. E., Joakimsen, R. M., & Kamycheva, E. (2017). Bone mineral density is associated with vitamin D related rs6013897 and estrogen receptor polymorphism rs4870044: The Tromso study. *Plos One*, 12(3), Article e0173045. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173045>
- [9] Loiodice, S., Marciano, C., Vinel, A., Lavier, M. C. C., Berdal, A., & Babajko, S. (2014). Estrogen and Bisphenol A Affect Male Rat Enamel Formation and Promote Ameloblast Proliferation. *Endocrinology*, 155(9), 3365-3375. <https://doi.org/10.1210/en.2013-2161>
- [10] Arid, J., Oliveira, D. B., Evangelista, S. S., Vasconcelos, K. R. F., Dutra, A. L. T., de Oliveira, S. S., de Queiroz, A. M., Nelson, P., Vieira, A. R., & Kuchler, E. C. (2019). Oestrogen receptor alpha, growth hormone receptor, and developmental defect of enamel. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 29(1), 29-35. <https://doi.org/10.1111/ipd.12434>
- [11] Alexandrov, Ye. I., Agafonova, G. Yu., Alexandrov, I. N., Korzh, V. I., & Ushich, O. A. (2013). Karies zubov, khronicheskii generalizovannyi parodontit i defitsit estrogenu i elektrolitov u zhenshchin [Caries, chronic generalized periodontitis, deficiency of estrogen and electrolytes in women]. *Medyko-sotsialni problemy simi*, 18(3), 81-85. [in Russian].
- [12] Barilo, O., Agafonov, K., & Furman, R. (2019). Riven mineralizatsii shchelep u khvorykh z dysbalansom estrogenu za danymy kompiuternoi tomografi [Level of jaw mineralization in patients with estrogen imbalance according to computed tomography data]. *Suchasna stomatolohiia*, (4), 24-28. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.33295/1992-576X-2019-4-24>
- [13] Garmash, O. V. (2019). Obgruntuвання dotsilnosti doslidzhennia odonukleotydnoho polimorfizmu v heni aromatazy yak mozhylyvoho markeru ryzyku rozvytku rannoho dytyachoho kariiesu u osib, yaki narodylys iz makrosomieiu. *Modern aspects of the molecular-biochemical studies and laboratory screening in the clinical and experimental medicine*. Proceedings of the Conference (pp.15-16). Zaporizhzhia. [in Ukrainian].

- [14] Zhang, Q., Chen, B., Yan, F. H., Guo, J. B., Zhu, X. F., Ma, S. Z., & Yang, W. R. (2014). Interleukin-10 Inhibits Bone Resorption: A Potential Therapeutic Strategy in Periodontitis and Other Bone Loss Diseases. *Biomed Research International*, Article 284836. <https://doi.org/10.1155/2014/284836>
- [15] Feng, W., Guo, J., & Li, M. Q. (2019). RANKL-independent modulation of osteoclastogenesis. *Journal of Oral Biosciences*, 61(1), 16-21. <https://doi.org/10.1016/j.job.2019.01.001>
- [16] Streicher, C., Heyny, A., Andrukhova, O., Haigl, B., Slavic, S., Schuler, C., Kollmann, K., Kantner, I., Sexl, V., Kleiter, M., Hofbauer, L. C., Kostenuik, P. J., & Erben, R. G. (2017). Estrogen Regulates Bone Turnover by Targeting RANKL Expression in Bone Lining Cells. *Scientific Reports*, 7, Article 6460. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06614-0>
- [17] Walsh, J. S. (2015). Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. *Surgery (United Kingdom)*, 33(1), 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2014.10.010>
- [18] Garmash, O. V., Rossokha, Z. I., & Gorovenko, N. G. (2020). Association between rankl [RS9594759] and IL10 [RS1800896] genes polymorphism and deciduous tooth eruption terms in ukrainians born macrosomic. *Wiadomosci Lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*, 73(2), 342-351.
- [19] Nicot, R., Vieira, A. R., Raoul, G., Delmotte, C., Duhamel, A., Ferri, J., & Sciote, J. J. (2016). ENPP1 and ESR1 genotypes influence temporomandibular disorders development and surgical treatment response in dentofacial deformities. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 44(9), 1226-1237. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2016.07.010>
- [20] Montazeri-Najafabady, N., Dabbaghmanesh, M. H., Amiri, R. M., & Mirzai, Z. (2019). Influence of Estrogen Receptor Alpha Polymorphism on Bone Mineral Density in Iranian Children. *Human Heredity*, 84(2), 82-89. <https://doi.org/10.1159/000502230>
- [21] Zhu, H., Jiang, J., Wang, Q., Zong, J., Zhang, L., Ma, T., Xu, Y., & Zhang, L. (2018). Associations between ESR1 gene polymorphisms and osteoporosis susceptibility and bone mineral density in postmenopausal women: A systematic review and meta-analysis. *BMC Endocrine Disorders*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12902-018-0230-x>
- [22] Mondockova, V., Adamkovicova, M., Lukacova, M., Grosskopf, B., Babosova, R., Galbavy, D., Martiniakova, M., & Omelka, R. (2018). The estrogen receptor 1 gene affects bone mineral density and osteoporosis treatment efficiency in Slovak postmenopausal women. *BMC Medical Genetics*, 19(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12881-018-0684-8>
- [23] Zhu, Y., Chen, J., Cheng, H., & Cai, W. (2017). Estrogen receptor alpha gene polymorphisms contribute to fragility fracture susceptibility in elderly postmenopausal women with heart failure. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 10(2), 3435-3444.
- [24] Greendale, G. A., Chu, J., Ferrell, R., Randolph, J. F., Johnston, J. M., & Sowers, M. F. R. (2006). The Association of Bone Mineral Density with Estrogen Receptor Gene Polymorphisms. *American Journal of Medicine*, 119(9 SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.07.011>
- [25] Sowers, M., Jannausch, M. L., Liang, W., & Willing, M. (2004). Estrogen Receptor Genotypes and Their Association with the 10-Year Changes in Bone Mineral Density and Osteocalcin Concentrations. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(2), 733-739. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030691>
- [26] Graber, L. W., Vanarsdall, R. L., Vig, K. W. L., & Huang, G. J. (2017). *Orthodontics: current principles and techniques*. St. Louis, MO: Elsevier.
- [27] Moudi, B., Heidari, Z., Mahmoudzadeh sagheb, H., & Moudi, M. (2018). Analysis of interleukin 10 gene polymorphisms in patients with chronic periodontitis and healthy controls. *Dental Research Journal*, 15(1), 71-79. <https://doi.org/10.4103/1735-3327.223614>

Иммуногистохимическая характеристика процессов ангиогенеза в ткани головного мозга при сахарном диабете 2 типа

Ю. Н. Авраменко*

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

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

Ключевые слова:

сахарный диабет, ангиогенез, VEGF, VEGFR-2, CD31, CD105.

Патология. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 46-51

*E-mail:

juliya_avramenko@ukr.net

Цель работы – изучить особенности иммуногистохимической экспрессии VEGF, VEGFR-2 и CD31, CD105 в коре головного мозга при сахарном диабете 2 типа.

Материалы и методы. Проведено патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование секционного материала ткани головного мозга в 3 группах наблюдений: I – условного контроля без сахарного диабета (СД) и цереброваскулярной патологии, II – умершие с дисциркуляторно-ишемической энцефалопатией (ДИЭ), III – умершие с фоновым СД 2 типа.

Результаты. Установлено возрастание экспрессии VEGF и VEGFR-2 и при дисциркуляторно-ишемической энцефалопатии, и у больных с сахарным диабетом 2 типа (VEGF в группе условного контроля – 0,337 (0,232; 0,617) %, в группе с ДИЭ – 0,713 (0,438; 1,304) %, в группе СД 2 типа – 1,003 (0,699; 1,631) %; VEGFR-2 в группе условного контроля – 0,916 (0,55; 1,56) %, в группе ДИЭ – 1,238 (0,76; 1,61) %, в группе СД 2 типа – 1,15 (0,58; 1,784) %). Установлено наличие прямой средней силы корреляции между уровнем экспрессии CD105 и VEGFR-2: $r = 0,31$ ($p < 0,05$) при СД 2 типа. Плотность распределения микрососудов достоверно возрастает в группе СД 2 типа. Установлено достоверное возрастание экспрессии CD105 в группе СД 2 типа (0,434 (0,265; 0,741) %) по сравнению с группой условного контроля (0,346 (0,263; 0,46) %). Между показателями уровня экспрессии CD31 и CD105 при ДИЭ и в группе СД 2 типа установлено наличие прямой средней силы корреляций: для группы с ДИЭ $r = 0,41$, для группы СД 2 типа $r = 0,39$ ($p < 0,05$).

Выводы. При СД 2 типа происходит активация ангиогенеза в коре головного мозга, что, вероятно, связано с активацией фактора транскрипции HIF-1 α .

Ключові слова:

цукровий діабет, ангиогенез, VEGF, VEGFR-2, CD31, CD105.

Патологія. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 46-51

Імуногістохімічна характеристика процесів ангиогенезу у тканині головного мозку при цукровому діабеті 2 типу

Ю. М. Авраменко

Мета роботи – вивчити особливості імуногістохімічної експресії VEGF, VEGFR-2 і CD31, CD105 у корі головного мозку при цукровому діабеті 2 типу.

Матеріали та методи. Виконали патоморфологічне й імуногістохімічне дослідження секційного матеріалу тканини головного мозку у 3 групах спостережень: I – умовного контролю без цукрового діабету (ЦД) і цереброваскулярної патології, II – померлі з дисциркуляторно-ішемічною енцефалопатією (ДІЕ), III – померлі з ЦД 2 типу.

Результати. Встановили збільшення зростання експресії VEGF та VEGFR-2 і при дисциркуляторно-ішемічній енцефалопатії, й у хворих із фоновим цукровим діабетом 2 типу (VEGF у групі умовного контролю – 0,337 (0,232; 0,617) %, у групі з ДІЕ – 0,713 (0,438; 1,304) %, у групі ЦД 2 типу – 1,003 (0,699; 1,631) %; VEGFR-2 у групі умовного контролю – 0,916 (0,550; 1,56) %, у групі з ДІЕ – 1,238 (0,76; 1,61) %, у групі ЦД 2 типу – 1,15 (0,58; 1,784) %). Визначили пряму середньої сили кореляцію між рівнем експресії CD105 і VEGFR-2: $r = 0,31$ при ЦД 2 типу. Щільність розподілу микросудин вірогідно збільшується у групі ЦД 2 типу. Виявили вірогідне збільшення експресії CD105 у групі з ЦД 2 типу (0,434 (0,265; 0,741) %) порівняно групою умовного контролю (0,346 (0,263; 0,46) %). Між показниками рівня експресії CD31 і CD105 при ДІЕ і у групі ЦД 2 типу наявна пряма середньої сили кореляція: для групи з ДІЕ $r = 0,41$, для групи ЦД 2 типу $r = 0,39$ ($p < 0,05$).

Висновки. При ЦД 2 типу відбувається активация ангиогенезу в корі головного мозку, що, ймовірно, пов'язано з активацией фактора транскрипції HIF-1 α .

Key words:

diabetes mellitus, angiogenesis, VEGF, VEGFR-2, CD31, CD105.

Pathologia
2020; 17 (1), 46-51

Immunohistochemical characteristics of the angiogenesis processes in brain tissue in diabetes mellitus type 2

Yu. M. Avramenko

Aim – to study the features of VEGF, VEGFR-2 and CD31, CD105 immunohistochemical expression in the cerebral cortex in diabetes mellitus type 2.

Materials and methods. Pathomorphological and immunohistochemical studies of the brain tissue section material were performed in 3 groups of observations: group I – control without DM and cerebrovascular pathology, group II – died with dyscirculatory-ischemic encephalopathy (DIE), group III – died with DM type 2.

Results. Increased expression of VEGF and VEGFR-2 was found both in dyscirculatory-ischemic encephalopathy and in patients with diabetes mellitus type 2 (VEGF in the control group – 0.337 (0.232; 0.617) %, in the group with DIE – 0.713 (0.438; 1.304) %, in the group with diabetes mellitus type 2 – 1.003 (0.699; 1.631) %; VEGFR-2 in the group of control – 0.916 (0.550; 1.56) %, in the group with DIE – 1.238 (0.76; 1.61) %, in the group with DM type 2 – 1.15 (0.58; 1.784) %. There is direct correlation between the level of expression of CD105 and VEGFR-2: $r = 0.31$ for diabetes type 2. The distribution density of microvessels significantly increases in the group with DM type 2. Significant increase in expression of CD105 in the group with DM type 2 (0.434 (0.265; 0.741) %) was found, compared with the group of control (0.346 (0.263; 0.46) %). There are direct correlations between CD31 and CD105 expression in DIE ($r = 0.41$) and in the group with DM type 2 ($r = 0.39$, $P < 0.05$).

Conclusions. Angiogenesis is activated in the cerebral cortex in diabetes type 2, which may be due to the activation of the transcription factor HIF-1 α .

Церебральная сосудистая система – динамичная структура, которая быстро адаптируется и реагирует на физиологические и патологические сигналы. В условиях гипоксии сеть кровеносных сосудов расширяется, чтобы удовлетворить растущие потребности в кислороде. Активируются реакции ангиогенеза, а также ремоделирования существующей сосудистой системы с образованием новых коллатералей. Оба эти процесса потенцируются сигналами окружающей среды, при этом весьма вероятно, что ответная реакция сосудистой системы головного мозга может отличаться в физиологических и патологических условиях [1].

По данным научной литературы, сахарный диабет (СД) приводит к структурным и функциональным изменениям в сосудистой сети головного мозга за счет активации процессов ангиогенеза [2].

Эти данные обуславливают актуальность изучения вопросов, связанных с молекулярно-генетическими основами ангиогенеза, ответы на многие из которых еще не найдены.

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor – VEGF) открыт в 1983 г. как фактор, влияющий на сосудистую проницаемость. Этот белок играет ключевую роль в индукции ангиогенеза и в норме, и при патологии [3]. VEGFR-2 участвует в процессах нормального и патологического ангиогенеза и является основным рецептором, опосредующим действие VEGF на эндотелиальные клетки [4]. VEGF участвуют во всех фазах ангиогенеза, в том числе нейроангиогенеза, проявляют прямые нейротрофические и нейропротективные свойства [5,6]. В норме VEGF экспрессируется на низких уровнях, его обнаруживают спорадически в цитоплазме паренхиматозных клеток в большинстве областей мозга [7]. VEGFR-2 экспрессируется в цитоплазме нейронов и эндотелиальных клеток сосудов [8].

CD105 (эндоглин) – трансмембранный гликопротеин, экспрессируемый на активированных эндотелиальных клетках сосудов [9]. Он широко экспрессируется на поверхности эндотелиоцитов, являясь частью рецепторного комплекса TGF β , и участвует в связывании TGF β 1, TGF β 3, BMP-2 и BMP-7 [10]. Эндоглин необходим для процессов ангиогенеза и ремоделирования, является важным компонентом эндотелиального комплекса активации синтеза оксида азота [11], а также играет роль индуктора антиапоптотического пути в гипоксических эндотелиальных клетках. В научной литературе есть сведения о наличии прямой корреляции между уровнями экспрессии эндоглина и плотностью микро-

сосудов с пролиферацией эндотелиальных клеток, а также маркерами пролиферации эндотелиальных клеток в опухолях [12].

Цель работы

Изучить особенности иммуногистохимической экспрессии VEGF, VEGFR-2 и CD31, CD105 в коре головного мозга при сахарном диабете 2 типа.

Материалы и методы исследования

Проведено патоморфологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование ткани головного мозга на секционном материале. Изучены 30 секционных случаев, разделенных на основании результатов анализа анамнестических и патологоанатомических данных на 3 группы. Первую группу (V1) составили 10 умерших от различных заболеваний без наличия признаков СД и цереброваскулярной патологии – они использованы в качестве условного контроля. Во вторую группу (V2), учитывая очень частое сочетание СД с атеросклерозом и его церебральными проявлениями, для оценки их влияния на результат исследования СД отобраны 10 случаев умерших от тяжелой цереброваскулярной патологии (дисциркуляторно-ишемическая энцефалопатия на почве стенозирующего атеросклероза – ДИЭ) без каких-либо проявлений СД. В третью группу (V3) вошли 10 наблюдений умерших в условиях наличия клинически и морфологически выраженного СД без признаков иной цереброваскулярной патологии.

Кусочки ткани головного мозга фиксировали в 10 % забуференном формалине и заливали в парафин. Особенности гистологического строения исследуемых образцов изучали в срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. ИГХ-исследование проводили по стандартной методике, предусмотренной производителем антител. Использовали моноклональные антитела Mo a-Hu VEGF Vascular Endothelial Growth Factor, Clone VG1 («DAKO», Дания), поликлональные антитела Rb a-Hu Flk-1 / KDR / VEGFR2 Ab-1 («Thermo Fisher Scientific Inc.», США), моноклональные антитела Mo a-Hu CD31 Endothelial Cell Marker Ab-1 Clone JC/70A («DAKO», Дания), моноклональные антитела Mo a-Hu CD105 Endoglin, Clone: SN6h1 («DAKO», Дания), а также системы визуализации z DAKO EnVision+System с диаминобензидином («DAKO», США).

Результаты иммуногистохимической реакции оценивали в стандартизированном поле зрения микроскопа Scope. A1 «Carl Zeiss» (ГДР) и камерой Progres

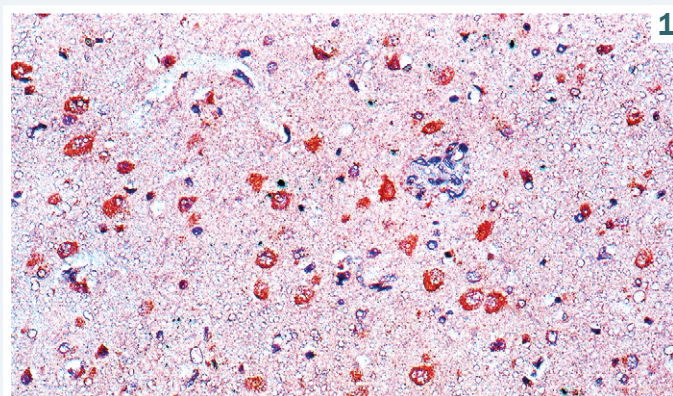


Рис. 1. Экспрессия VEGF в коре головного мозга при СД 2 типа. Мо a-Hu VEGF Vascular Endothelial Growth Factor, Clone VG1 («DAKO», Дания), $\times 200$.

Рис. 2. Показатели уровня экспрессии VEGF в группах сравнения: V1 – контроль, V2 – ДИЭ, V3 – группа СД 2 типа.

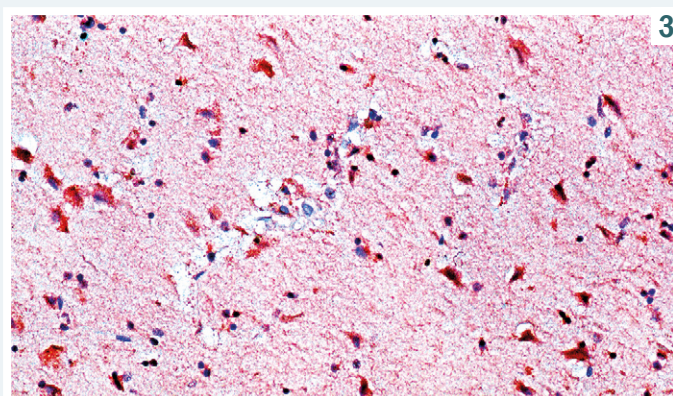
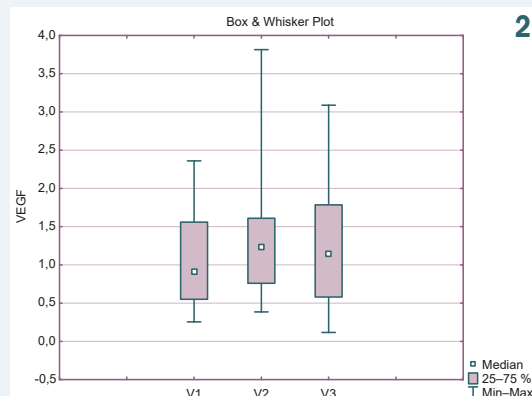
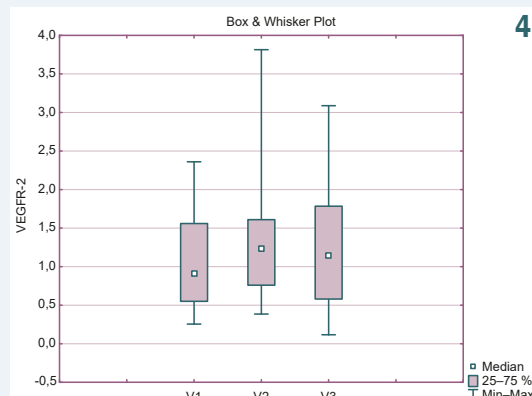


Рис. 3. Экспрессия VEGFR-2 в коре головного мозга при дисциркуляторно-ишемической энцефалопатии. Поликлональные антитела Rb a-Hu Flk-1/KDR/VEGFR2 Ab-1 («Thermo Fisher Scientific Inc.», США), $\times 200$.

Рис. 4. Показатели уровня экспрессии VEGFR-2 в группах сравнения: V1 – контроль, V2 – ДИЭ, V3 – группа СД 2 типа.



Gryphax Jenoptik 60N-C1"1,0x426114 (ГДР) при увеличении $\times 200$. В каждом случае анализ проводили в 5 полях зрения с помощью программы Видеотест-Морфология 5.2.0.158 (ООО Видеотест, РФ), уровень экспрессии маркеров оценивали в μm^2 . Результаты оценивали по показателям относительной площади экспрессии ($S_{\text{отн}}$, %). На каждом препарате исследовали 5 полей зрения при увеличении $\times 200$. Относительную площадь экспрессии ($S_{\text{отн}}$, %) рассчитывали как отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади поля зрения. В срезах ткани головного мозга групп сравнения, окрашенных с использованием антител к CD31, проводили подсчет плотности микрососудов по методу S. Bosari et al. [13].

Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи пакета Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., лицензия № JPZ804I382130ARC10-J). Вычисляли медиану (Me), нижний и верхний квартили (Q1; Q3); сравнение между двумя группами наблюдений проводили при помощи критерия Манна-Уитни, между тремя группами наблюдений – при помощи критерия Краскела-Уоллиса; корреляционный анализ проведен с применением коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Результаты считали статистически значимыми на уровне 95 % ($p < 0,05$).

Результаты

В результате ИГХ-исследования установлено, что мембранно-цитоплазматическая экспрессия VEGF отмечена в клетках эндотелия и нейронах, астроцитах коры головного мозга. В группе условного контроля уровень экспрессии составляет 0,337 (0,232; 0,617) %, в группе с ДИЭ отмечено возрастание этого показателя больше чем в 2 раза – 0,713 (0,438; 1,304) %, в группе с СД 2 типа – 1,003 (0,699; 1,631) % (рис. 1), что в 3 раза больше по сравнению с нормой и в 1,4 раза больше, чем в группе с ДИЭ.

По результатам сравнительного анализа установлена достоверная разница между уровнями экспрессии VEGF в группах сравнения $p < 0,05$ (рис. 2).

Во всех группах сравнения установлена мембранно-цитоплазматическая экспрессия VEGFR-2 в клетках эндотелия, телах нейронов, микроглии. В группе условного контроля уровень экспрессии составляет 0,916 (0,550; 1,56) %, в группе с ДИЭ – 1,238 (0,76; 1,61) %, в группе СД 2 типа – 1,15 (0,58; 1,784) % (рис. 1), что в 1,25 раза больше по сравнению с группой условного контроля.

Достоверная разница между медианами экспрессии VEGFR-2 в группах сравнения не установлена ($p > 0,05$) (рис. 4).

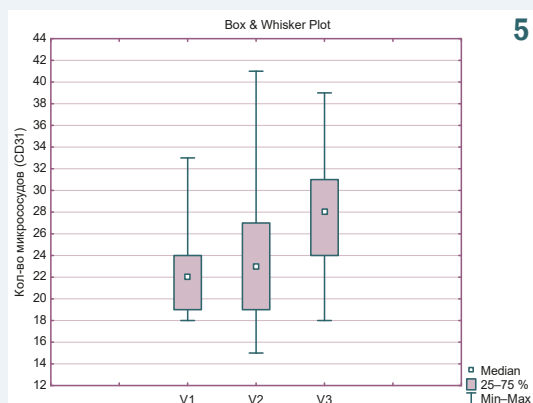


Рис. 5. Показатели плотности микрососудов, оцененной по экспрессии CD31, в группах сравнения: V1 – контроль, V2 – ДИЭ, V3 – группа СД 2 типа.

Рис. 6. Экспрессия CD31 в коре головного мозга умерших больных СД 2 типа. Моноклональные антитела Mo a-Hu CD31 Endothelial Cell Marker Ab-1 Clone JC/70A («ДАКО», Дания), $\times 200$.

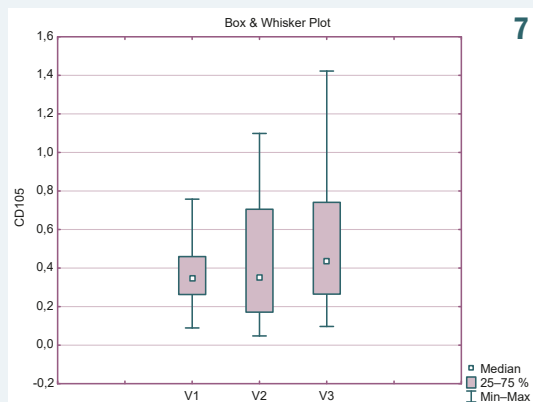
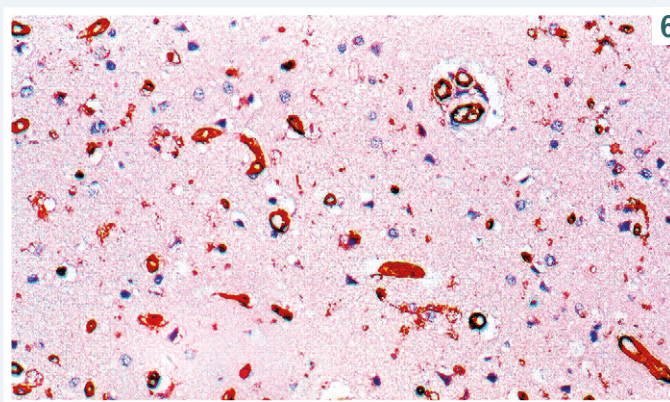
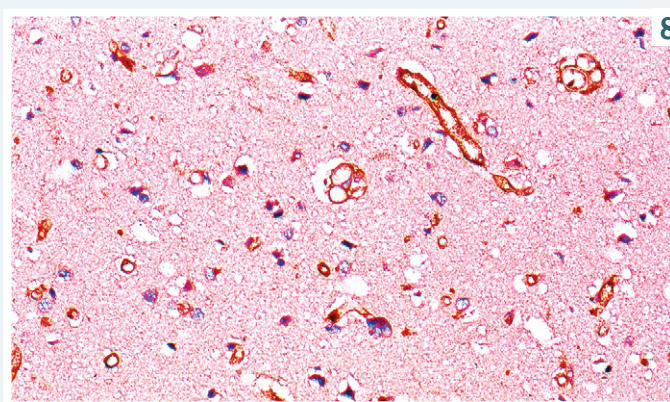


Рис. 7. Показатели уровня экспрессии CD105 в группах сравнения: V1 – контроль, V2 – ДИЭ, V3 – группа СД 2 типа.

Рис. 8. Экспрессия CD105 в коре головного мозга умерших больных СД 2 типа. Моноклональные антитела Mo a-Hu CD105 Endoglin, Clone: SN6h1 («ДАКО», Дания), $\times 200$.



Для определения степени развитости микроциркуляторного русла в ткани используют установление белка CD31. Этот белок – маркер, способный селективно показывать наличие гликопротеина с массой 130 kDa в эндотелии сосудов, тем самым способствуя определению васкуляризации и, соответственно, плотности сосудистого русла ткани. Мембранная экспрессия CD31 отмечена в эндотелиоцитах микрососудов, что позволяет производить подсчет плотности микрососудов. Результаты сравнительного анализа указывают, что в группе условного контроля показатели плотности микрососудов составляют 22,00 (19,00; 24,00) (рис. 5). В группе с ДИЭ отмечено незначительное увеличение этого показателя – 23,00 (19,00; 27,00), разница между плотностью микрососудов статистически недостоверна ($p > 0,05$). В группе СД 2 типа показатель плотности составил 28,00 (24,00; 31,00), что статистически достоверно больше, чем в условной группе контроля ($p < 0,05$) (рис. 6).

CD105 активно экспрессируется на эндотелиальных клетках сосудов. Получены следующие результаты морфометрического измерения (рис. 7) в группе условного контроля – 0,346 (0,263; 0,46) %, в группе с ДИЭ отмечены практически аналогичные данные – 0,351 (0,171; 0,705) %, в группе СД 2 типа (рис. 8) показатель экспрессии CD105 составил 0,434

Таблица 1. Корреляционные связи между показателями экспрессии CD31, CD105 и VEGF, VEGFR-2 в группе условного контроля

	CD 31	CD 105	VEGF	VEGFR-2
CD 31	1,00	0,10	-0,10	-0,22
CD 105	0,10	1,00	-0,19	-0,03
VEGF	-0,10	-0,19	1,00	-0,13
VEGFR-2	-0,22	-0,03	-0,13	1,00

Таблица 2. Корреляционные связи между показателями экспрессии CD31, CD105 и VEGF, VEGFR-2 в группе с ДИЭ

	CD 31	CD 105	VEGF	VEGFR-2
CD 31	1,00	0,41*	0,13	-0,09
CD 105	0,41*	1,00	-0,09	-0,02
VEGF	0,13	-0,09	1,00	0,20
VEGFR-2	-0,09	-0,02	0,20	1,00

*: статистически значимая корреляционная связь ($p < 0,05$).

Таблица 3. Корреляционные связи между показателями экспрессии CD31, CD105 и VEGF, VEGFR-2 в группе СД 2 типа

	CD 31	CD 105	VEGF	VEGFR-2
CD 31	1,00	0,39*	-0,05	0,22
CD 105	0,39*	1,00	0,04	0,31*
VEGF	-0,05	0,04	1,00	0,18
VEGFR-2	0,22	0,31*	0,18	1,00

*: статистически значимая корреляционная связь ($p < 0,05$).

(0,265; 0,741) %, что статистически достоверно больше таковых в условной группе контроля ($p < 0,05$), но статистически недостоверно по сравнению с группой ДИЭ ($p > 0,05$).

Проведен корреляционный анализ связей между показателями экспрессии CD31, CD105 и VEGF, VEGFR-2 в группах сравнения (табл. 1–3).

Установлено, что в группе условного контроля взаимосвязь между исследованными маркерами отсутствует. Между показателями уровня экспрессии CD31 и CD105 в коре головного мозга при ДИЭ и в группе с фоновым СД 2 типа характерно наличие прямой средней силы корреляции: $r = 0,41$ для группы с ДИЭ, $r = 0,39$ для группы СД 2 типа, $p < 0,05$. При СД 2 типа установлена прямая средней силы корреляция между уровнем экспрессии CD105 и VEGFR-2: $r = 0,31$, $p < 0,05$.

Обсуждение

Согласно полученным данным, СД 2 типа характеризуется достоверно большей экспрессией VEGF (1,003 (0,699; 1,631) %) по сравнению с группой условного контроля и группой ДИЭ (рис. 2). Установлена тенденция к увеличению экспрессии основного рецептора VEGFR-2, при этом в группе с ДИЭ этот показатель несколько выше (1,238 (0,76; 1,61) %), чем в группе с СД (1,15 (0,58; 1,784) %) (рис. 4). Вероятно, это связано с возникающей гипоксией в ткани головного мозга.

По данным Jeffrey L. Ebersole et al. (2018), в условиях гипоксии активируется фактор транскрипции HIF-1 α , который стимулирует транскрипцию проангиогенных молекул, факторы роста (VEGF-A, VEGFR-2, FGF и MMP) и переключает баланс микросреды в ангиогенную среду (Ang-1 / Ang-2), матриксные металлопротеиназы (MMPs) опосредуют деградацию базальной мембраны, происходит миграция эндотелиальных клеток [1, 14].

В работе Gui-Li Yang and et al. (2018) показано, что VEGF также индуцирует сосудистую проницаемость в результате активации эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) и продуцирования оксида азота (NO) [15]. Это важное патогенетическое звено в развитии церебральной катастрофы. Активация VEGFR-2 вызывает стимуляцию целого ряда сигнальных путей, таких как митоген-активируемые протеинкиназы, обуславливающие миграцию, пролиферацию, выживаемость клеток эндотелия и клеточные взаимодействия [16]. В научной литературе описана тенденция к возрастанию экспрессии основного проангиогенного фактора VEGF и его рецептора VEGFR-2 при ишемии ткани [17].

Полученные данные свидетельствуют, что в коре головного мозга плотность сосудистой сети, оцененная по экспрессии CD31 (рис. 5), более высокая в группе СД 2 типа, установленные показатели статистически достоверно больше по сравнению с группой условного контроля, что совпадает с данными исследований, проводившихся на экспериментальных моделях [17].

Экспрессия эндоглина при СД 2 типа статистически выше (рис. 7), чем в группе условного контроля, что отражает активацию эндотелиоцитов в коре голов-

ного мозга. Установлена достоверная прямая средней силы корреляционная связь между ИГХ-экспрессией CD31 и CD105 и при ДИЭ, и при СД. Это можно расценивать как активацию процесса ангиогенеза, за счёт которого и происходит увеличение сосудистой плотности. Также отмечена статистически достоверная прямая средней силы корреляционная связь между уровнем экспрессии CD105 и VEGFR-2 в группе СД 2 типа ($r = 0,31$, $p < 0,05$).

По данным E. Rossi et al. (2019), эндоглин ассоциируется с несколькими белками, критически вовлеченными в адгезию, пролиферацию, миграцию, ангиогенез и проницаемость эндотелиальных клеток, включая интегрины, зиксин, рецептор VEGFR 2 типа (VEGFR-2) [18]. В работе Hongyu Tian показано, что CD105 регулирует передачу сигналов VEGF, взаимодействуя с рецептором VEGFR-2 через его цитоплазматический домен, и увеличивает степень активации VEGFR-2 [19]. Полученные данные указывают на активацию процессов ангиогенеза при СД 2 типа.

Выводы

1. При СД 2 типа и при ДИЭ отмечена повышенная экспрессия VEGF, при СД этот показатель достоверно больше.
2. Экспрессия VEGFR-2 возрастает при СД 2 типа и при ДИЭ, при этом при СД 2 типа экспрессия VEGFR-2 коррелирует с экспрессией CD105.
3. Плотность микрососудов, оцененная по экспрессии CD31, значительно выше в группе СД 2 типа.
4. При СД 2 типа происходит активация ангиогенеза в коре головного мозга, что, вероятно, связано с активацией фактора транскрипции HIF-1 α .

Перспективы дальнейших исследований.

Изучение других механизмов, задействованных в процессе патологического ангиогенеза при сахарном диабете 2 типа.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках НИР Запорожского государственного медицинского университета «Закономерности формирования метаболических нарушений, нейроэндокринного и вегетативного дисбалансов в патогенезе экспериментальной артериальной гипертензии разного генеза» № госрегистрации 0114U000966.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Надійшла до редакції / Received: 30.01.2020

Після доопрацювання / Revised: 26.02.2020

Прийнято до друку / Accepted: 04.03.2020

Сведения об авторе:

Авраменко Ю. Н., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Відомості про автора:

Авраменко Ю. М., асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Information about author:

Avramenko Yu. M., Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список литературы

- [1] Cerebral neovascularization in diabetes: implications for stroke recovery and beyond / A. Ergul, M. Abdelsaid, A. Y. Fouda, S. C. Fagan. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2014. Vol. 34. Iss. 4. P. 553-563. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.18>
- [2] Adaptive Cerebral Neovascularization in a Model of Type 2 Diabetes Relevance to Focal Cerebral Ischemia / W. G. Li, R. Prakash, A. I. Kelly-Cobbs et al. *Diabetes*. 2010. Vol. 59, Iss. 1. P. 228-235. <https://doi.org/10.2337/db09-0902>
- [3] Сосудистый эндотелиальный фактор роста в регуляции развития и функционирования головного мозга: новые молекулы-мишени для фармакотерапии / В. В. Рославцева, А. Б. Салмина, С. В. Прокопенко и др. *Биомедицинская химия*. 2016. Т. 62, вып. 2. С. 124-133. <https://doi.org/10.18097/PBMC20166202124>
- [4] Влияние фактора роста эндотелия сосудов на ангиогенез и нейрогенез / А. С. Рудько, М. Х. Эфендиева, М. В. Будзинская, М. А. Карпилова. *Вестник офтальмологии*. 2017. № 3. С. 75-80. <https://doi.org/10.17116/oftalma2017133375-80>
- [5] EphrinB2 regulates VEGFR2 during dendritogenesis and hippocampal circuitry development / E. Harde, L. Nicholson, B. F. Cuadrado et al. *Elife*. 2019. Vol. 8. Article e49819. <https://doi.org/10.7554/eLife.49819>
- [6] Theis V., Theiss C. VEGF – A Stimulus for Neuronal Development and Regeneration in the CNS and PNS. *Current Protein & Peptide Science*. 2018. Vol. 19, Iss. 6. P. 589-597. <https://doi.org/10.2174/138920371966180104113937>
- [7] Geiseler S. J., Morland C. The Janus Face of VEGF in Stroke. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. Vol. 19, Iss. 5. P. Article 1362. <https://doi.org/10.3390/ijms19051362>
- [8] VEGFR1 and VEGFR2 in Alzheimer's Disease / R. Harris, J. S. Miners, S. Allen, S. Love. *Journal of Alzheimers Disease*. 2018. Vol. 61, Iss. 2. P. 741-752. <https://doi.org/10.3233/jad-170745>
- [9] Endoglin (CD105) is a more appropriate marker than CD31 for detecting microvessels in carotid artery plaques / R. Fukumitsu, Y. Takagi, K. Yoshida, S. Miyamoto. *Surgical Neurology International*. 2013. Vol. 4, Iss. 1. P. 132. <https://doi.org/10.4103/2152-7806.119081>
- [10] Прасол В. А., Мясоедов К. В., Гилёв Б. В. Прогностические маркеры течения критической ишемии нижних конечностей. *Харківська хірургічна школа*. 2015. № 6. С. 14-22.
- [11] The roles of endoglin gene in cerebrovascular diseases / W. Zhu, L. Ma, R. Zhang, H. Su. *Neuroimmunology and Neuroinflammation*. 2017. Vol. 4, Iss. 10. P. 199-210. <https://doi.org/10.20517/2347-8659.2017.18>
- [12] Kocyńska E., Makarewicz R. Endoglin – A marker of vascular endothelial cell proliferation in cancer. *Współczesna Onkologia*. 2012. Vol. 16, Iss. 1. P. 68-71. <https://doi.org/10.5114/wo.2012.27340>
- [13] Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma / S. Bosari, A. K. C. Lee, R. A. DeLellis et al. *Human Pathology*. 1992. Vol. 23, Iss. 7. P. 755-761. [https://doi.org/10.1016/0046-8177\(92\)90344-3](https://doi.org/10.1016/0046-8177(92)90344-3)
- [14] Hypoxia-inducible transcription factors, HIF1A and HIF2A, increase in aging mucosal tissues / J. L. Ebersole, M. J. Novak, L. Orraca et al. *Immunology*. 2018. Vol. 154, Iss. 3. P. 452-464. <https://doi.org/10.1111/imm.12894>
- [15] Yang G. L., Li L. Y. Counterbalance: modulation of VEGF/VEGFR activities by TNFSF15. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2018. Vol. 3. P. Article Unsp 21. <https://doi.org/10.1038/s41392-018-0023-8>
- [16] VEGF-A/VEGFR2 signaling network in endothelial cells relevant to angiogenesis / C. S. Abhinand, R. Raju, S. J. Soumya et al. *Journal of Cell Communication and Signaling*. 2016. Vol. 10, Iss. 4. P. 347-354. <https://doi.org/10.1007/s12079-016-0352-8>
- [17] Enhanced cerebral but not peripheral angiogenesis in the Goto-Kakizaki model of type 2 diabetes involves VEGF and peroxynitrite signaling / R. Prakash, P. R. Somanath, A. B. El-Remessy et al. *Diabetes*. 2012. Vol. 61, Iss. 6. P. 1533-1542. <https://doi.org/10.2337/db11-1528>
- [18] Rossi E., Bernabeu C., Smadja D. M. Endoglin as an Adhesion Molecule in Mature and Progenitor Endothelial Cells: A Function Beyond TGF-beta. *Frontiers in Medicine*. 2019. Vol. 6. P. Article 10. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00010>
- [19] Endoglin interacts with VEGFR2 to promote angiogenesis / H. Y. Tian, J. J. Huang, C. Golzio et al. *Faseb Journal*. 2018. Vol. 32, Iss. 6. P. 2934-2949. <https://doi.org/10.1096/fj.201700867RR>
- [2] Li, W. G., Prakash, R., Kelly-Cobbs, A. I., Ogbi, S., Kozak, A., El-Remessy, A. B., Schreihof, D. A., Fagan, S. C., & Ergul, A. (2010). Adaptive Cerebral Neovascularization in a Model of Type 2 Diabetes Relevance to Focal Cerebral Ischemia. *Diabetes*, 59(1), 228-235. <https://doi.org/10.2337/db09-0902>
- [3] Roslavtceva, V. V., Salmina, A. B., Prokopenko, S. V., Pozhilenkova, E. A., Kobanenko, I. V., & Rezvitskaya, G. G. (2016). Sosudisty endotelial'nyi faktor rosta v regulatsii razvitiya i funktsionirovaniya golovno mozga: novye molekuly-misheni dlya farmakoterapii [The role of vascular endothelial growth factor in the regulation of development and functioning of the brain: new target molecules for pharmacotherapy]. *Biomeditsinskaya Khimiya*, 62(2), 124-133. [in Russian]. <https://doi.org/10.18097/PBMC20166202124>
- [4] Rud'ko, A. S., Efendieva, M. Kh., Budzinskaya, M. V., & Karpilova, M. A. (2017). Vliyanie faktora rosta jendotelija sosudov na angiogenez i nejro-genez [Influence of vascular endothelial growth factor on angiogenesis and neurogenesis]. *Vestnik oftal'mologii*, (3), 75-80. [in Russian]. <https://doi.org/10.17116/oftalma2017133375-80>
- [5] Harde, E., Nicholson, L., Cuadrado, B. F., Bissen, D., Wigge, S., Urban, S., Segarra, M., de Almodovar, C. R., & Acker-Palmer, A. (2019). EphrinB2 regulates VEGFR2 during dendritogenesis and hippocampal circuitry development. *Elife*, 8, Article e49819. <https://doi.org/10.7554/eLife.49819>
- [6] Theis, V., & Theiss, C. (2018). VEGF – A Stimulus for Neuronal Development and Regeneration in the CNS and PNS. *Current Protein & Peptide Science*, 19(6), 589-597. <https://doi.org/10.2174/138920371966180104113937>
- [7] Geiseler, S. J., & Morland, C. (2018). The Janus Face of VEGF in Stroke. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5), Article 1362. <https://doi.org/10.3390/ijms19051362>
- [8] Harris, R., Miners, J. S., Allen, S., & Love, S. (2018). VEGFR1 and VEGFR2 in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimers Disease*, 61(2), 741-752. <https://doi.org/10.3233/jad-170745>
- [9] Fukumitsu, R., Takagi, Y., Yoshida, K., & Miyamoto, S. (2013). Endoglin (CD105) is a more appropriate marker than CD31 for detecting microvessels in carotid artery plaques. *Surgical Neurology International*, 4(1), 132. <https://doi.org/10.4103/2152-7806.119081>
- [10] Prasol, V. A., Myasoedov, K. V., & Gilyov, B. V. (2015). Prognosticheskie markery techeniya kriticheskoj ishemii nizhnikh konechnostei [Prognostic markers of the course of critical lower limb ischemia]. *Kharkivska khirurgichna shkola*, (6), 14-22. [in Russian].
- [11] Zhu, W., Ma, L., Zhang, R., & Su, H. (2017). The roles of endoglin gene in cerebrovascular diseases. *Neuroimmunology and Neuroinflammation*, 4(10), 199-210. <https://doi.org/10.20517/2347-8659.2017.18>
- [12] Kocyńska, E., & Makarewicz, R. (2012). Endoglin – A marker of vascular endothelial cell proliferation in cancer. *Współczesna Onkologia*, 16(1), 68-71. <https://doi.org/10.5114/wo.2012.27340>
- [13] Bosari, S., Lee, A. K. C., DeLellis, R. A., Wiley, B. D., Heatley, G. J., & Silverman, M. L. (1992). Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma. *Human Pathology*, 23(7), 755-761. [https://doi.org/10.1016/0046-8177\(92\)90344-3](https://doi.org/10.1016/0046-8177(92)90344-3)
- [14] Ebersole, J. L., Novak, M. J., Orraca, L., Martinez-Gonzalez, J., Kirakodu, S., Chen, K. C., Stromberg, A., & Gonzalez, O. A. (2018). Hypoxia-inducible transcription factors, HIF1A and HIF2A, increase in aging mucosal tissues. *Immunology*, 154(3), 452-464. <https://doi.org/10.1111/imm.12894>
- [15] Yang, G. L., & Li, L. Y. (2018). Counterbalance: modulation of VEGF/VEGFR activities by TNFSF15. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 3, Article Unsp 21. <https://doi.org/10.1038/s41392-018-0023-8>
- [16] Abhinand, C. S., Raju, R., Soumya, S. J., Arya, P. S., & Sudhakaran, P. R. (2016). VEGF-A/VEGFR2 signaling network in endothelial cells relevant to angiogenesis. *Journal of Cell Communication and Signaling*, 10(4), 347-354. <https://doi.org/10.1007/s12079-016-0352-8>
- [17] Prakash, R., Somanath, P. R., El-Remessy, A. B., Kelly-Cobbs, A., Stern, J. E., Dore-Duffy, P., Johnson, M., Fagan, S. C., & Ergul, A. (2012). Enhanced cerebral but not peripheral angiogenesis in the Goto-Kakizaki model of type 2 diabetes involves VEGF and peroxynitrite signaling. *Diabetes*, 61(6), 1533-1542. <https://doi.org/10.2337/db11-1528>
- [18] Rossi, E., Bernabeu, C., & Smadja, D. M. (2019). Endoglin as an Adhesion Molecule in Mature and Progenitor Endothelial Cells: A Function Beyond TGF-beta. *Frontiers in Medicine*, 6, Article 10. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00010>
- [19] Tian, H. Y., Huang, J. J., Golzio, C., Gao, X., Hector-Greene, M., Katsanis, N., & Blobel, G. C. (2018). Endoglin interacts with VEGFR2 to promote angiogenesis. *Faseb Journal*, 32(6), 2934-2949. <https://doi.org/10.1096/fj.201700867RR>

References

- [1] Ergul, A., Abdelsaid, M., Fouda, A. Y., & Fagan, S. C. (2014). Cerebral neovascularization in diabetes: implications for stroke recovery and beyond. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 34(4), 553-563. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.18>

Clinical and epidemiological characteristics and morphological peculiarities of urogenital trichomoniasis nowadays

H. I. Mavrov^{ID}*1,2,A-F, T. V. Osinska^{ID}1,A-D, P. V. Fedorych^{ID}3,A-D

¹SI "Institute of Dermatology and Venereology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, ²Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine, ³Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv, Ukraine

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

Key words:

Trichomonas vaginalis,
Trichomonas tenax,
Pentatrichomonas hominis,
co-infections,
ultrastructure.

Pathologia
2020; 17 (1), 52-59

*E-mail:
uniidiv@gmail.com

Importance of the topic is stipulated with the current significant spread of infectious diseases of the urogenital tract, caused by the representatives of the protozoa genus *Trichomonas*.

Aim. Evaluate the prevalence and peculiarities of contemporary trichomonas infection (*Trichomonas vaginalis*, *Pentatrichomonas hominis*, *Trichomonas tenax*), with the consideration of the associated bacterial infections that cause the urogenital pathology and the ultrastructural peculiarities of *Trichomonas vaginalis* morphotypes in the patients with chronic infectious diseases of the genitourinary organs.

Material and methods. The research was carried out among 377 patients with chronic infectious diseases of the genitourinary organs. Routine bacterioscopic and bacteriological methods were applied. In addition, *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* were detected using real-time polymerase chain reaction and applying original experimental primers. The ultrastructure of the trichomonads was studied using a PEM-125K electron microscope equipped with the SAI-01A (SEMI) system, using a CCD camera DX 2 and KAPPA software package.

Results. *Trichomonas vaginalis* was detected in 48.3 % using the methods of optical microscopy and culture media inoculation. *Trichomonas tenax* was detected in 18.2 % and *Pentatrichomonas hominis* was detected in 67.1 % with the polymerase chain reaction. Development of the pathological process in the urogenital system of the studied patients (up to 90 %) was caused with the microbial associations, in particular, with *Ureaplasma urealyticum* (26.1 %), *Chlamydia trachomatis* (16.7 %), *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* (13.9 %) and various kinds of opportunistic pathogenic microflora (up to 60 %), which lead to dysbiosis of urogenital system. It was proved that the oval morphotype *Trichomonas vaginalis* may be referred to the virulent forms; it was detected more often (68 %) than the piriform morphotype.

Conclusions. Possible presence of trichomonads of three species: *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax*, *Pentatrichomonas hominis*, in particular in pathological microbial associations, as important factors of the emergence and / or development of the pathological process, was established in the human genitourinary system. It is reasonable to refer the oval morphotype *Trichomonas vaginalis* to the virulent forms of this agent.

Ключові слова:

Trichomonas vaginalis,
Trichomonas tenax,
Pentatrichomonas hominis,
асоційовані
інфекції,
ультраструктура.

Патологія. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 52-59

Клініко-епідеміологічні характеристики і морфологічні особливості сучасного сечостатевого трихомонозу

Г. І. Мавров, Т. В. Осінська, П. В. Федорич

Актуальність теми зумовлена значним поширенням інфекційних захворювань сечостатевих шляхів, що викликані представниками роду найпростіших *Trichomonas*.

Мета роботи – оцінити поширеність та особливості сучасної трихомонадної інвазії (*Trichomonas vaginalis*, *Pentatrichomonas hominis*, *Trichomonas tenax*), враховуючи асоційовані бактеріальні інфекції, що зумовлюють патологію уrogenітального тракту, та ультраструктурні особливості морфотипів *Trichomonas vaginalis* у хворих на хронічні інфекційні захворювання сечостатевих органів.

Матеріали та методи. Дослідження виконали у 377 пацієнтів із хронічними інфекційними захворюваннями сечостатевих органів. Використовували рутинні бактеріоскопічний і бактеріологічний методи. Крім того, за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі, використовуючи авторські експериментальні оригінальні праймери, виявляли *Trichomonas tenax* і *Pentatrichomonas hominis*. Ультраструктуру трихомонад вивчали за допомогою електронного мікроскопа PEM-125K, забезпеченого системою SAI-01A (SEMI), з використанням CCD камери DX 2 і пакету програм KAPPA.

Результати. За допомогою методів оптичної мікроскопії та засівів на поживне середовище *Trichomonas vaginalis* виявили у 48,3 % хворих. Методом полімеразної ланцюгової реакції *Trichomonas tenax* визначили у 18,2 %, *Pentatrichomonas hominis* – у 67,1 %. Розвиток патологічного процесу в сечостатевій системі обстежених (до 90 %) зумовлений мікробними асоціаціями, а саме з *Ureaplasma urealyticum* (26,1 %), *Chlamydia trachomatis* (16,7 %), *Mycoplasma hominis* і *Mycoplasma genitalium* (13,9 %) та різних видів умовно-патогенної мікрофлори (до 60 %), що спричиняють дисбіоз сечостатевої системи. Показано, що овальний морфотип *Trichomonas vaginalis* можна класифікувати як вірулентну форму, його виявляли частіше (68 %), ніж грушоподібний.

Висновки. Встановили можливість наявності у сечостатевій системі людини, зокрема в патологічних мікробних асоціаціях, трихомонад 3 видів: *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax*, *Pentatrichomonas hominis* – як важливих чинників виникнення та/або розвитку патологічного процесу. Овальний морфотип *Trichomonas vaginalis* доцільно вважати вірулентною формою цього збудника.

Клинико-эпидемиологические характеристики и морфологические особенности современного мочепоолового трихомоноза

Г. И. Мавров, Т. В. Осинская, П. В. Федорич

Актуальность темы обусловлена широким распространением воспалительных заболеваний мочепооловых путей, которые вызваны представителями рода простейших *Trichomonas*.

Цель работы – оценить распространенность и особенности современной трихомонадной инвазии (*Trichomonas vaginalis*, *Pentatrichomonas hominis*, *Trichomonas tenax*), учитывая ассоциированные бактериальные инфекции, обуславливающие патологию урогенитального тракта, и ультраструктурные особенности морфотипов *Trichomonas vaginalis* у больных, страдающих хроническими воспалительными заболеваниями мочепооловых органов.

Материалы и методы. Исследования проведены у 377 пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями мочепооловых органов. Использовали рутинные бактериоскопический и бактериологический методы. Кроме того, с помощью метода полимеразной цепной реакции в реальном времени, используя авторские экспериментальные оригинальные праймеры, определяли *Trichomonas tenax* и *Pentatrichomonas hominis*. Ультраструктуру трихомонад изучили с помощью электронного микроскопа ПЭМ-125К, обеспеченного системой САИ-01А (SELM), с использованием CCD камеры DX 2 и пакета программ KAPPA.

Результаты. С помощью методов оптической микроскопии и посевов на питательную среду *Trichomonas vaginalis* обнаружили у $48,3 \pm 3,5$ % больных. Методом полимеразной цепной реакции *Trichomonas tenax* определили у $18,2 \pm 2,9$ %, *Pentatrichomonas hominis* – у $67,1 \pm 3,5$ %. Развитие патологического процесса в мочепооловой системе обследованных (до 90 %) обусловлено микробными ассоциациями, а именно с *Ureaplasma urealyticum* (26,1 %), *Chlamydia trachomatis* (16,7 %), *Mycoplasma hominis* и *Mycoplasma genitalium* (13,9 %) и различных видов условно-патогенной микрофлоры (до 60 %), которые вызывают дисбиоз мочепооловой системы. Показано, что овальный морфотип *Trichomonas vaginalis* можно классифицировать как вирулентную форму, его обнаруживали чаще (68 %), чем грушевидный.

Выводы. Установлена возможность наличия в мочепооловой системе человека, в том числе в патологических микробных ассоциациях, трихомонад 3 видов: *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax*, *Pentatrichomonas hominis* – как важных факторов возникновения и/или развития патологического процесса. Овальный морфотип *Trichomonas vaginalis* целесообразно считать вирулентной формой этого возбудителя.

Ключевые слова:
Trichomonas vaginalis,
Trichomonas tenax,
Pentatrichomonas hominis,
ассоциированные
инфекции,
ультраструктура.

Патология. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 52-59

At the present stage, sexually transmitted infections (STIs) constitute an urgent global problem of healthcare. Today, trichomoniasis (ICD-10 code A59) continues to occupy an undisputed leading position among the sexually transmitted infections in terms of the number of cases. According to WHO, the annual global incidence of urogenital trichomoniasis (UT) is about 270 million people. In Ukraine, about 250 000 patients per year are officially reported on average, of which 40 % are women and 30 % are men of fertile age, which raises particular concern [1–3].

Contemporary trichomonas infection is characterized with mixed chronic recurrent oligosymptomatic course, multiple lesions of the genitourinary system; it has a negative impact on fertility of the patients, increases the risk of adverse gestational complications and perinatal infection of children; it is characterized with complexity of diagnostics and high torpidity to the administered therapy [4–7].

Nowadays it is proved that the trichomonas infection contributes to the development of extragenital pathology, secondary immune deficiency, increases the risk of hyperplastic processes in the urogenital tract of patients and affects their psycho-emotional state [8–12].

At the present stage, trichomoniasis is considered a mixed protozoan-bacterial-viral infection. In particular, it was proved that *T. vaginalis* plays a role in formation of pathogenic microbiocenoses that can cause imbalance of the urinary microbiota in both women and men. Today, special attention should be paid to the ability of trichomonads to capture and reserve various pathogenic microorganisms because of their incomplete phagocytosis – ‘reservoir’ or so-called TANK function. This stipulates the possibility of prolonged persistence of bacteria, fungi and viruses, in particular the HIV agent within the tricho-

monas, and explains the unsuccessful attempts to diagnose and eliminate the relevant microorganisms. In addition, it was reported that pathogenic microflora could block nitro groups in imidazole compounds, thus impeding the treatment of urogenital trichomoniasis [1,6,12–14].

Another feature of contemporary trichomoniasis is the ability of *Trichomonas vaginalis* to generate so-called atypical forms. Therefore, they greatly vary in terms of their shape, size, presence of flagella and nuclei, which challenges the diagnostics and causes some difficulties in the disease therapy, especially chronic recurrent forms [3,12].

For a long time, only *Trichomonas vaginalis* was considered to be capable of living in the human urogenital tract. Today, the possibility of prolonged colonization and pathology of the human genitourinary system caused by both *Trichomonas vaginalis* and *Trichomonas non vaginalis* (*Pentatrichomonas hominis* and *Trichomonas tenax*) is proved [14,15].

Therefore, considering the above aspects of contemporary trichomonal infection of the genitourinary system, we consider it relevant to conduct the research in order to determine the clinical, epidemiological and morphological characteristics of the urogenital trichomoniasis, which will allow optimizing the diagnostic and preventive measures aimed to avoid complications of this disease.

Aim

Evaluate the prevalence and peculiarities of contemporary trichomonal infection (*Trichomonas vaginalis*, *Pentatrichomonas hominis*, *Trichomonas tenax*), with the consideration of the associated bacterial infections

that cause the urogenital pathology and the ultrastructural peculiarities of *Trichomonas vaginalis* morphotypes in the patients with chronic infectious diseases of the genitourinary organs.

Materials and methods

Patients were enrolled to the study at the State Institution "Institute of Dermatology and Venereology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine" during 2018–2019.

Laboratory diagnostics of *Trichomonas* vaginals and related infections – light microscopy, cultural research, polymerase chain reaction – were performed at the State Institution "Institute of Dermatology and Venereology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine" (Kharkiv) and Kyiv City Oleksandrivska Clinical Hospital – clinical base of the Ukrainian Military Medical Academy (Kyiv). Electron microscopic examination was performed at the State Institution "Institute of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine" (Kharkiv) – by agreement.

Original sampling of the examined patients consisted of 377 persons that were screened for STIs, with the consideration of their age (from 17 to 80, mean age – 33.2 ± 2.5 years) and sex (females – 145, males – 131). Screening with bacteriological, bacterioscopic methods and real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) identified the groups of patients, that are mentioned in this research. Further detailed examination was carried out in 247 patients (65.5 % of the original sampling), in particular: *Trichomonas vaginalis* was verified with bacteriological and bacterioscopic methods in 48.3 % cases, in particular in 97 of 201 patients (females – 38, males – 59); verification with real-time PCR method using the authors' experimental original primers confirmed: *Trichomonas tenax* in 32 of 176 (18.2 %) cases (males – 19, females – 13) and *Pentatrichomonas hominis* in 118 of 176 (67.1 %) cases (males – 69, females – 59). The age range of the examined patients was wide enough; for instance, the age of male patients varied from 18 to 80 years (mean age was 36.8 years), and female – from 17 to 74 years (mean – 35.2 years). The peak incidence was 27–34 years (64.6 %).

The control group did not differ significantly in age and sex characteristics from the study groups, which made it possible to compare them correctly with other parameters.

Criteria for enrollment to the study: presence of chronic infectious diseases of the genitourinary tract, in particular, with trichomonas etiology and slow course, poor symptoms and disease duration over 1 year, voluntary informed consent. Exclusion criteria: patient refusal, administration of anti-protist and antimicrobial therapy over the last month before the study.

Diagnostics of trichomonas infection was based on the results of a comprehensive examination, which included: detection of trichomonads in smear sampled from urethra in males, vagina and cervical canal in females, and cultural study of biological material in liquid nutrient medium based on M 305 broth (HiMedia, India) with further agent detection by microscopy of native wet preparations. For microscopic imaging of protozoa in

smear, the material was fixed and then stained according to Gram's technique [3,6,7].

The real-time PCR used the DT-96 amplifier, "Femoflor-16" reagent set (R&D company "DNA Technology", the Russian Federation) and primers to detect different types of trichomonads, including the authors' original primers for detection of *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* [15]. "Femoflor-16" reagent set is designated for quantitative determination of microflora associated with bacterial vaginosis (BV) in female biological fluids. The application method for "Femoflor-16" was adapted by us to determine the appropriate microflora in men. "Femoflor-16" reagent set allows to quantify the following parameters: total bacterial mass, *Lactobacillus* spp., *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas* spp., *Eubacterium* spp., *Sneathia* spp./*Leptotrichia* spp./*Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp./*Veillonella* spp./*Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp., *Mobiluncus* spp./*Corynebacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Atopobium vaginae*, *Candida* spp., *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* (urealyticum + parvum), *Mycoplasma genitalium* [2].

Electron microscopic object of study was the trichomonad cultures of day 5–9, which were isolated from 55 patients. The material was pre-mixed with the equal volume of 3 % glutaraldehyde prepared on phosphate buffer (pH 7.3 to 7.4). Fixation time – 4 hours. The cell suspension was centrifuged at 750 rpm. The precipitate was washed in phosphate buffer and postfixed in 1 % solution of osmium tetroxide for 2 hours. After dehydration with ethyl alcohol of increasing concentration (from 30 % to 96 %, twice in absolute alcohol) and propylene oxide, the samples were impregnated with a mixture of Epon-araldite-propylene oxide, then they were put in Epon-araldite and polymerized at 60 °C for 48 hours. To select the desired area of the study, semithin sections with thickness of 0.5 µm were made, which were stained with methylene blue and studied with LUMAM-MP-4 microscope. For electron microscopy, ultrathin sections obtained with UMTP-7 ultramicrotome were contrasted with the saturated aqueous uranyl acetate solution and lead citrate solution. The cell ultrastructure was examined using an electron microscope PEM-125K at the accelerating voltage of 75 kV, which is equipped with the imaging and analysis system CAI-01A (JSC "SELM", Ukraine) using a CCD camera DX 2 and a software package developed by KAPPA company (Germany) [3,13].

The results of qualitative research (case reports, case-series) were statistically processed using the software package STATISTICA 9.0. (StatSoft), license type: Freeware. When analyzing the frequency of qualitative traits (expressed as a percentage), the p value of the Fisher test was used. The results of the studies are presented in the text as frequency $\pm$ standard deviation (% $\pm$ σ).

All patients were consulted by related specialists, including urologists, and women additionally by gynecologists.

The study was performed in accordance with the ethical principles of the Declaration of Helsinki with the permission of the Bioethics Commission of the State Institute for Dermatology and Venereology of the National Medical Academy of Ukraine.

Results

Study of the clinical course of trichomonas infection in the observed patients revealed that 82.8 % of men and 90.6 % of women complained of their urogenital tracts. Presence of mucous secretions was noted in 52.8 % of men and 81.9 % of women. 35.2 % of men and 32.9 % of women had burning sensation. Itching in the genital area was present in 17.1 % of men and 21.6 % of women. 23.4 % of men and 28.1 % of women had dysuric syndrome.

Among the examined women, the existing chronic syndromes were as follows: vulvovaginitis was diagnosed in 67.9 %, endocervicitis – in 61.4 %, adnexitis – in 59.9 %, cystitis – in 31.8 % of women, erosion of the cervix – in 13.6 % of patients and infertility in 9.1 % of cases. Men were diagnosed with chronic prostatitis in 82.8 % of cases, chronic urethritis in 69.7 %, epididymitis – in 9.9 %, balanitis – in 4.9 % and erectile dysfunction and infertility in 22.7 %.

Particular attention was given to the group of 150 patients in whom the real-time PCR method verified the *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* infection. We noted the presence of complaints (89.7 %) and clinical manifestations in (91.4 %) patients, namely, women had mucous discharge (88.1 %), genital itching (74.1 %), vulvovaginitis (88.1 %) and endocervicitis (49.1 %), while men had frequent desire to urinate (32.1 %), manifestations of chronic urethritis and prostatitis (59.7 %).

As shown by our studies, in 65.1 % of patients examined, trichomoniasis was defined as a mixed infection with other STI agents, and the most significant were the pathologic associations with *Ureaplasma urealyticum* (26.1 %), *Chlamydia trachomatis* (16.7 %), *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* (13.9 %) and with highly oncogenic types of *Human papillomavirus* as well (15.6 %).

In our opinion, the data obtained are relevant, since they demonstrate the species composition of opportunistic pathogenic microflora (OPM), which has been identified as associates with *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis*. Comparing the species composition of OPM, some differences were found, namely the overwhelming number of isolated microorganisms in association with *T. vaginalis* were represented by different types of streptococci and staphylococci, and a smaller part – by representatives of other families. Sex differences were also observed. Thus, strains of opportunistic pathogenic microorganisms in high levels of colonization were isolated in women (37.1 %). The leading place among the isolated bacterial strains was occupied by streptococci, and the percentage of detected staphylococci was slightly lower. However, the specific gravity of some species was higher than of others. Among the streptococci found in this group, there were the representatives of three species. The leading positions of the streptococcal component were taken by *S. mitis* and *S. mutans* (27.2 % and 15.9 %, respectively), and staphylococcal components – *S. haemolyticus* (17.7 %). The percentage of *S. warneri* detection (12.1 %) was slightly lower. A fairly high percentage of detection was reported for *E. coli* (11.9 %). In some women (5.8 %),

Klebsiella spp. was found, a microorganism, which has quite pronounced pathogenic properties and is not inherent to vaginal biotope.

According to the results of bacteriological studies in men, the results of microbial composition of urogenital biocenosis differed from the results obtained in women. Among the men (41.9 %), *S. haemolyticus* (19.5 %) was the "leader: of the isolated microorganisms, followed by the representative of the genus streptococci – *S. mitis* (12.4 %). It was reported that the streptococcal component of biocenosis in males was represented by only one species and was lower in percentage than in females. *Klebsiella spp.* had a higher detection percentage in males as compared to the female group, as the figure reached almost 9.9 %. However, *E. coli* isolates were obtained in less number of men as compared to women – 7.3 %. Unlike women, men were found to have a representative of enterobacteria – *Proteus mirabilis* (4.7 %). Given the fact that this microorganism should not be in this biotope, even a low detected percentage of it raises questions about how this pathogen from the large intestine got to urethra.

Study of OPM in patients with *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* infection showed that the following pathogens and / or their groups are most often included in the relevant pathological microbial associations: *Candida spp.*, *Eubacterium spp.*, *Mobiluncus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ Porphyromonas spp.* Moreover, significant advantage in detection rate of some OPM in men could be noted, namely: *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ Porphyromonas spp.*, *Eubacterium spp.*, *Sneathia spp./Leptotrichia spp./Fusobacterium spp.*, *Mobiluncus spp./Corynebacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.* As shown by our data, 14.5 % of patients showed one type (group) of microorganisms, in one third of cases these were women (38.9 %), three or more types (groups) – in 64.6 %, and 6 or more were detected in every sixth patient (18.8 %). Gender differences in the detection rate of these microorganisms may be indicative of their adaptation to the genitourinary system of men, despite certain differences in alkalinity of the habitat. The detection rate of *Atopobium vaginae*, on the contrary, was higher among women. In the study of a group of apparently healthy humans, there were no markers of sexual infection, and the representatives of opportunistic pathogenic microflora were isolated in the amount of 10^2 CFU/cm³ and less, in the form of single colonies, in particular, in women mainly *S. epidermidis* (52.5 %) and in males – *S. saprophyticus* (66.3 %).

One of the factors that challenges the diagnostics of *Trichomonas vaginalis* is the presence of atypical forms of parasites, as they greatly vary in terms of their shape, size, presence of flagella and nuclei [3]. In the study with a transmissible electron microscope (TEM) *T. vaginalis*, which were isolated from 55 patients with chronic infectious diseases of the genitourinary organs with sluggish course, had both rounded (oval) and classic (piriform) shape, however, oval morphotype was more common (68 %) than piriform. This fact can also be extrapolated to the morphotypes that are likely to occur *in vivo*, since cultivation in a medium makes it impossible to convert

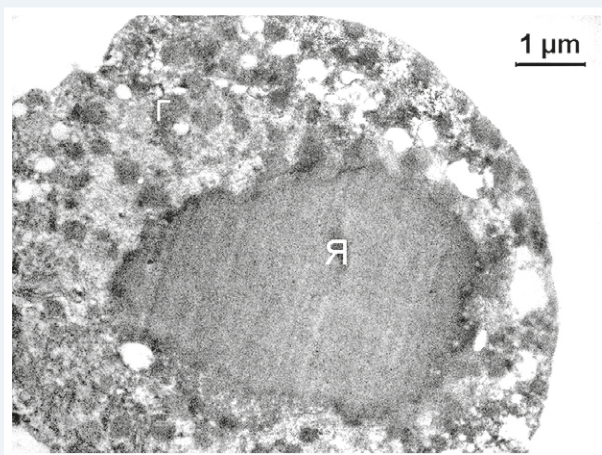


Fig. 1. Ultrastructure of *T. vaginalis*. Cytolemma is mostly preserved, contains no microvilli. The oval-shaped nucleus (Я) is filled with chromatin of uniform structure and degree of compaction. The contour of the nuclear membrane is tortuous; nuclear pores are visible in the right.

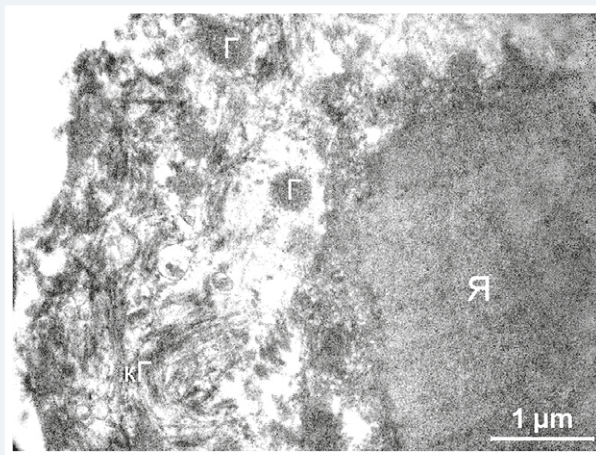


Fig. 2. Ultrastructure of *T. vaginalis*. There is a violation of integrity of the cell membrane. Membrane fragments and fibrous elements are immediately adjacent to the *T. vaginalis* nucleus. Hydrogenosomes (Г) have regular rounded shape and content of uniform electron density. There are circular cisterns of Golgi complex (КГ) and a small number of fringed vesicles in the cytoplasm.

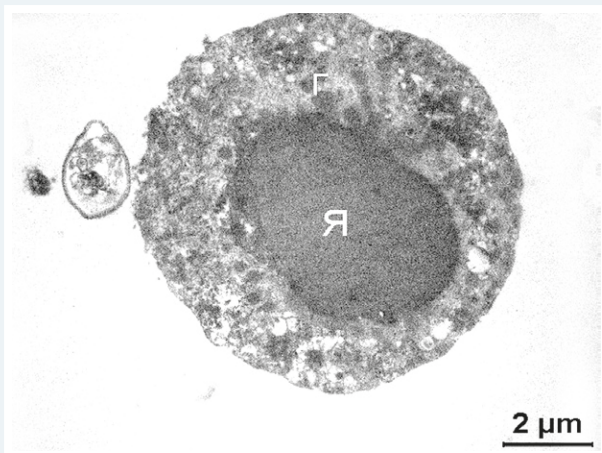


Fig. 3. Ultrastructure of *T. vaginalis*. *T. vaginalis*, which contacts *M. genitalium*, which is topped with a terminal slightly-elongated organelle (→). Integrity of the trichomonad cytolemma is impaired in some places. The nucleus (Я) is oval and filled with homogeneous chromatin of medium electron density. Small dense hydrogenosomes (Г) and digestive vacuoles and vesicles of different size are identified in the cytoplasm.

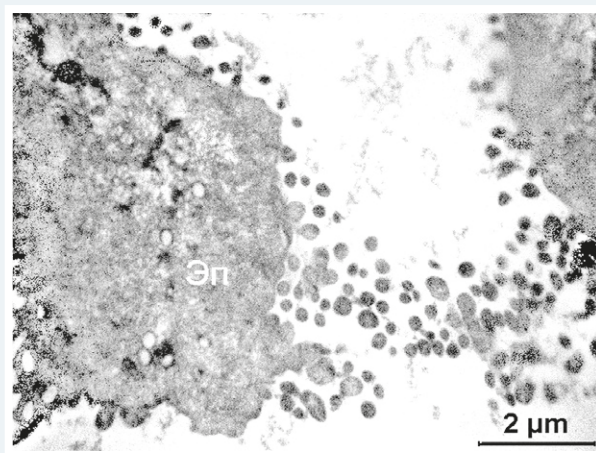


Fig. 4. Ultrastructure of *T. vaginalis*. Fragments of two deflated epitheliocytes, to the surface of which cocci adhere. Cytolemma of epitheliocytes forms a network of microvilli. Cytoplasm is mostly filled with fibrillar proteins of the cytoskeleton and small vacuoles.

T. vaginalis from one morphotype to another one. The round-shaped morphotypes are capable to divide via amitotic bud formation, rather than longitudinal division, like the typical piriform morphotypes. The following ultrastructural features were established for the oval morphotype: size variability (length 6–24 μm and width 5–12 μm); undulating membrane and flagella in most cells were absent; which may be indicative of immobility of these trichomonads, axostyle, pelta and costa were also reduced; nucleus of rounded or oval shape is located mainly in the center of the cell; the nuclear envelope of the investigated cells retained integrity, the pore complexes were not common; the chromatin was presented with a homogeneous electron-dense material that uniformly filled the nucleus; the contour of the nuclear membrane was often tortuous; heterogeneous nucleoplasmic density was present; typical dictyosomes and the flattening of Golgi apparatus tanks were absent; accumulations of vesicles different in shape and density were observed

around the nucleus; orderly arrangement of ribosomes (in piriform pathogens, they were located in the nucleus and organized into polysomes) was missing; internal membranes system was partially reduced, cell vacuolation was increased; polymorphism in size, shape and density of the hydrogenosomes were observed [3] (Fig. 1, 2).

Ultra-thin sections of specimens taken from the cervical canal, vagina and urethra revealed a large number of diverse microorganisms that were located between epithelial cells and adhered to epitheliocytes and, in particular, were in contact with *T. vaginalis* [3] (Fig. 3, 4).

Thus, chronic forms of trichomonas infection are most often microscopically represented with trichomonad-bacterial associations. Therefore, we used a complex therapy for treatment of urogenital trichomoniasis, which included application of modern antitrichomonad drugs in combination with antibiotics and pathogenetic therapy. Further confirmation of the concept of activity of nitroimidazole derivatives with systemic and local action

against *Trichomonas vaginalis* as well as *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* was obtained. This comprehensive approach provided the maximum eradication (94.9 %) of both trichomonads and concomitant opportunistic and pathogenic microflora, which minimized development of complications and recurrences.

Discussion

The data presented above show that the contemporary trichomonas infection continues to occupy a leading position in terms of prevalence and poses a threat to the health of both young and mature people; also it leads to complications that stipulate impairment of reproductive, sexual and urinary functions. We established that no significant gender differences were detected in detection rate of trichomonas infection agents in the genitourinary system of patients. Attention was drawn by the mean age of the examined patients, i.e. in spite of quite extensive age range (from 17 to 80 years), they were predominantly the patients above thirty. This fact emphasizes the problem of the so-called "trichomonas carrier state" when patients with oligosymptomatic course of infection have no idea about presence of trichomonas in them. The reported rate shows high uniformity of this contingent and witnesses to the need for timely examination and full-scale treatment, especially of the patients of fertile age, taking into account the fact that this is exactly the time when they plan pregnancy and have children, and the index of infertility reaches almost 12 % according to our data. Upon analysis of the obtained data, it was shown that, among the male patients, a higher percentage of positive tests for *Trichomonas vaginalis* (82.8 %) was reported in the patients with chronic prostatitis, as compared with the patients with chronic urethritis (69.7 %). Women had a rather high detection rate of vulvovaginitis (67.9 %) and approximately equal percentages of chronic endocervicitis and adnexitis (61.4 % and 59.9 %), respectively. In our opinion, it is an interesting fact that there is a high rate of chronic cystitis (55.9 %) in women aged 45 years and more.

Nevertheless, we have concerns about the fact that contemporary trichomonas monoinfection occurs much less frequently, and in most cases manifests in a form of pathological microbial associations (up to 70 %), which adds specific peculiarities to the disease course, and – as a consequence – complicates the choice antibacterial agents for etiotropic therapy. Our research is another confirmation of this trend. It was further confirmed that in patients with urogenital trichomoniasis, two morphotypes of virulent forms of *T. vaginalis* are distinguished: piriform and oval, with the latter morphotype outnumbers greatly, namely, the round-shaped forms made up the majority (67 %). The results of the ultrastructure study suggest that the round-shaped forms of *T. vaginalis* are one of the virulent forms rather than degenerative, as it was considered previously, since they have the required morphological organization and, therefore, are capable of causing a pathogenic effect on the macroorganism. However, the structural changes observed in cytoplasm of round-shaped *T. vaginalis* cells indicate a decrease in their physiological activity, which may witness to adverse conditions experienced by them in the human body (e.g.

the effect of anti-protist drugs), which coincides with the other thoughts [1,4,6,10,13]. However, the issue of possible affiliation of various trichomonad morphotypes to various *T. vaginalis* serotypes or even to other *Trichomonas* species remains open and requires further study.

Analysis of our studies revealed the widespread prevalence of protozoal invasions in genitourinary system caused by *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis*. Presence of chronic inflammatory process in the genitourinary system of each patient enables us to make assumptions about the prospect of current consideration of *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* as the etiological factor for emergence and/or course of urogenital infections, in particular, in pathological microbial associations, which stipulates – in our opinion – the need for their mandatory eradication.

High rate of *Trichomonas vaginalis* invasion (48.3 %) established by optical microscopy and media inoculation of *Trichomonas tenax* (18.2 %) and *Pentatrichomonas hominis* (67.1 %) during real-time PCR indicates the need for timely and informative diagnostics of these microorganisms in order to prevent any possible complications. The detection rate of *Trichomonas vaginalis* was higher particularly as a result of inoculation on liquid nutrient media. Presence of agents in Gram stained smears was verified almost twofold less, and PCR diagnostics was the least sensitive (4 %) in this case. On the contrary, verification of *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis* in the urinary tract using the real-time PCR method was maximally informative. Therefore, it was suggested that during trichomonad verifications by inoculation on the appropriate nutrient medium often take *Trichomonas non vaginalis* is often confused with *Trichomonas vaginalis*, namely *Trichomonas tenax* or *Pentatrichomonas hominis* [15–17].

The scientific novelty of the data obtained is confirmed by the fact that protozoan invasions in addition to *Trichomonas vaginalis* are also capable of causing by *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis*. New data on the ultrastructural features of the oval morphotype of *T. vaginalis* make it possible to attribute it to virulent forms of the pathogen, since they have the appropriate morphological organization and are capable of inflicting pathogenic influence.

A clinical feature of modern trichomoniasis is that it runs chronically in the form of associations with other STIs (*Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium*, *Human Papillomavirus*). The incidence of trichomoniasis depends on the localization of infectious processes (vulvovaginitis, endocervicitis, adnexitis in women, and prostatitis in men).

The practical relevance of the data presented is that determining the type of protozoa, as well as their morphological forms, plays a crucial role in preventing STI complications, recurrences and re-infections through the selection of adequate treatment and diagnostic and preventive measures [1,5,14,18].

Conclusions

1. *Trichomonas vaginalis* invasion of the genitourinary organs continues to be a leader in prevalence among

STIs. The diagnosis of trichomoniasis established by optical microscopy and medium inoculation was verified in 48.3 % of patients. Moreover, the peak incidence was reported among the patients of the most reproductive age, which proves the importance of the invasion monitoring, taking into account the age of patients.

2. It is confirmed that presence of *Trichomonas vaginalis* leads to complications that cause impaired reproductive, sexual and urinary functions of the body. In particular, it has been shown that the detection rate of this microorganism depends on localization and the course of infectious processes, namely in women with chronic vulvovaginitis (67.9 %), endocervicitis (61.4 %) and adnexitis (59.9 %) and in men with a sluggish course of chronic prostatitis (48.1 %).

3. According to real-time PCR data, protozoal invasions of the urogenital system, beside *Trichomonas vaginalis*, may be also caused by *Trichomonas tenax* (18.2 %) and *Pentatrichomonas hominis* (67.1 %), which should be considered as important pathological factors of urinary dysbiosis in the urogenital system in both women and men with chronic inflammatory processes, which, in our opinion, necessitates their mandatory eradication.

4. Contemporary trichomoniasis in most cases (up to 70 %) manifests as pathological microbial associations, in particular with other STIs, namely the most significant were the pathological associations with *Ureaplasma urealyticum* (26.1 %), *Chlamydia trachomatis* (16.7 %), *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* (13.9 %), OPM (up to 65 %), as well as with highly oncogenic types of *Human Papillomavirus* (15.6 %), which affects the disease course and its complications, as well as the choice of effective therapeutic, diagnostic and preventive measures.

5. The obtained data on the ultrastructural features of *T. vaginalis* of atypical oval morphotype in patients with chronic trichomoniasis allows to attribute it to the virulent form of the agent, rather than to the degenerative one, since it has the necessary morphological organization and is able to cause pathogenic effect on the macroorganism, and currently it is identified more often (68 %) than the typical piriform morphotype.

Prospect of further research is related to the analysis of correlation between the clinical, etiological and morphological characteristics of contemporary trichomoniasis at the expense of both *Trichomonas vaginalis* and *Trichomonas non vaginalis*, with the consideration of the co-infections, in particular, study of the issue of possible affiliation of various trichomonad morphotypes to various *T. vaginalis* serotypes or even to other *Trichomonas* species, which can improve the clinical, diagnostic, organizational and preventive measures against the trichomonad invasion in human urogenital tract.

Funding

Topic of the scientific research SI "Institute of Dermatology and Venereology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine" "Optimization of laboratory system for diagnostics of syphilis and trichomoniasis for various levels of medical assistance to the population in the face of social instability and emergencies", within the framework of budget financing (№ 0116U003595).

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

Надійшла до редакції / Received: 18.12.2019
Після доопрацювання / Revised: 12.01.2019
Прийнято до друку / Accepted: 14.01.2019

Information about the authors:

Mavrov H. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Studying the Influence of HIV Epidemic on the Problem of Sexually Transmitted Infections, SI "Institute of Dermatology and Venereology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Head of the Department of Dermatovenereology and HIV/AIDS, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-3645-2792

Osinska T. V., MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Studying the Influence of HIV Epidemic on the Problem of Sexually Transmitted Infections, SE "Institute for Dermatology and Venereology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv.

ORCID ID: 0000-0002-2683-4957

Fedorych P. V., MD, PhD, Associate Professor, Head of the Course of Dermatology and Venereology, Professor of the Department of Military General Practice and Family Medicine, Ukrainian Military Medical Academy of the Ministry of Defense of Ukraine, Kyiv.

ORCID ID: 0000-0001-8273-0821

Відомості про авторів:

Мавров Г. І., д-р мед. наук, професор, зав. відділу вивчення впливу епідемії ВІЛ на проблему інфекцій, що передаються статевим шляхом, ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», м. Харків, зав. каф. дерматовенерології та ВІЛ/СНІДу, Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна.

Осинська Т. В., канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділу вивчення впливу епідемії ВІЛ на проблему інфекцій, що передаються статевим шляхом, ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», м. Харків.

Федорич П. В., канд. мед. наук, доцент, начальник курсу дерматології та венерології, професор каф. військової загальної практики – сімейної медицини, Українська військово-медична академія МО України, м. Київ.

Сведения об авторах:

Мавров Г. И., д-р мед. наук, профессор, зав. отдела изучения влияния эпидемии ВИЧ на проблему инфекций, передающихся половым путем, ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины», г. Харьков, зав. каф. дерматовенерологии и ВИЧ/СПИДа, Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина.

Осинская Т. В., канд. мед. наук, старший научный сотрудник отдела изучения влияния эпидемии ВИЧ на проблему инфекций, передающихся половым путем, ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины», г. Харьков.

Федорич П. В., канд. мед. наук, доцент, начальник курса дерматологии и венерологии, профессор каф. военной общей практики – семейной медицины, Украинская военная медицинская академия МО Украины, г. Киев.

References

- [1] Hinderfeld, A. S., & Simoes-Barbosa, A. (2020). Vaginal dysbiotic bacteria act as pathobionts of the protozoal pathogen *Trichomonas vaginalis*. *Microbial Pathogenesis*, 138, Article 103820. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103820>
- [2] Kissinger, P. (2015). *Trichomonas vaginalis*: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. *Bmc Infectious Diseases*, 15, Article 307. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-1055-0>
- [3] Fedorych, P. V., Mavrov, G. I., Dzhoraeva, S. K., & Osinska, T. V. (2018). Ultrastrukturnye osobennosti morfotipov *Trichomonas vaginalis*, vydelennykh ot bol'nykh s khronicheskoi trichomonadnoi invaziei [Ultrastructural features of the *Trichomonas vaginalis* morphotypes isolated from patients with chronic *Trichomonas* invasion]. *Dermatologia ta venerologia*, (4), 17-22. [in Russian].

- [4] Kemmerling, U., Osuna, A., Schijman, A. G., & Truyens, C. (2019). Congenital Transmission of *Trypanosoma cruzi*: A Review About the Interactions Between the Parasite, the Placenta, the Maternal and the Fetal/Neonatal Immune Responses. *Frontiers in Microbiology*, 10, Article 1854. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01854>
- [5] Bondarenko, G. M., Mavrov, G. I., Osinskaia, T. V., Unuchko, S. V., Gubenko, T. V., Shcherbakova, Yu. V., & Sobol, N. V. (2016). Perynatalna invaziia *Trichomonas vaginalis* yak problema reproduktyvnoi medytsyny [*Trichomonas vaginalis* prenatal invasion as a problem of reproductive medicine]. *Zhurnal Natsionalnoi akademii medychnykh nauk Ukrainy*, 22(3-4), 368-376. [in Ukrainian].
- [6] Edwards, T., Burke, P., Smalley, H., & Hobbs, G. (2016). *Trichomonas vaginalis*: Clinical relevance, pathogenicity and diagnosis. *Critical Reviews in Microbiology*, 42(3), 406-417. <https://doi.org/10.3109/1040841x.2014.958050>
- [7] Van Der Pol, B. (2016, Jan). Clinical and Laboratory Testing for *Trichomonas vaginalis* Infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(1), 7-12. <https://doi.org/10.1128/jcm.02025-15>
- [8] Gaydos, C. A., Schwebke, J., Dombrowski, J., Marrazzo, J., Coleman, J., Silver, B., Barnes, M., Crane, L., & Fine, P. (2017). Clinical performance of the Solana (R) Point-of-Care *Trichomonas* Assay from clinician-collected vaginal swabs and urine specimens from symptomatic and asymptomatic women. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 17(3), 303-306. <https://doi.org/10.1080/14737159.2017.1282823>
- [9] Mielczarek, E., & Blaszkowska, J. (2016). *Trichomonas vaginalis*: pathogenicity and potential role in human reproductive failure. *Infection*, 44(4), 447-458. <https://doi.org/10.1007/s15010-015-0860-0>
- [10] Howe, K., & Kissinger, P. J. (2017). Single-Dose Compared With Multidose Metronidazole for the Treatment of Trichomoniasis in Women: A Meta-Analysis. *Sexually Transmitted Diseases*, 44(1), 30-35. <https://doi.org/10.1097/olq.0000000000000537>
- [11] Shcherbakova, Yu., Kutasevych, Ya., Mavrov, G., Osinskaya, T., Kalashnikova, I. (2019, September 5-7). Assessment of psycho-emotional state in patients with sexually transmitted infections in vulnerable groups to HIV infection. 33rd IUSTI – Europe Congress on Sexually Transmitted Infections, (pp. 109-110). Tallinn.
- [12] Najafi, A., Nosrati, M. R. C., Ghasemi, E., Navi, Z., Yousefi, A., Majidani, H., Ghaneialvar, H., Sayehmiri, K., Galvan-Ramirez, M. D., & Fakhar, M. (2019). Is there association between *Trichomonas vaginalis* infection and prostate cancer risk?: A systematic review and meta-analysis. *Microbial Pathogenesis*, 137, Article 103752. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103752>
- [13] Raja, I. M., Basavareddy, A., Mukherjee, D., & Meher, B. R. (2016). Randomized, double-blind, comparative study of oral metronidazole and tinidazole in treatment of bacterial vaginosis. *Indian Journal of Pharmacology*, 48(6), 654-658. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.194843>
- [14] Fedorich, P. V., & Mavrov, G. I. (2018). Doslidzhennia skladu mikrobykh asotsiatsii zbudnykiv protozoynykh invazii z mikrofloriu, shcho asotsiovana z bakterialnym vahinozom u khvorykh na khronichni infektsii sechostatevoi systemy [Combination of protozoan invasion agents with bacterial vaginosis associated microflora in patients with genital chronic inflammatory diseases]. *Dermatovenerologiya. Kosmetologiya. Seksopatologiya*, (1-4), 6-13. [in Ukrainian].
- [15] Fedorych, P. V., Zeleny, S. B., Sadovska, O. A., & Dudikova, K. V. (2017). Porivniannia efektyvnosti diahnozyky trykhomoniazu za kulturalnym metodom ta metodom polimeraznoi lantsiuhovoi reaktsii z vykorystanniam praimeriv dlia vyavleniia *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* ta *Pentatrichomonas hominis* [Comparison of effectiveness of trichomoniasis diagnosis by cultural method and polymerase chain reaction method with the use of primers for the detection of *Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas tenax* and *Pentatrichomonas hominis*]. *Ukrainskyi zhurnal dermatologii, venerologii, kosmetologii*, (1), 65-69. [in Ukrainian].
- [16] Ananieva, M. M. (2018). Etiological and pathogenetic aspects of non-specific bacterial vaginosis. *Zaporozhye Medical Journal*, 20(3), 432-436. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.3.132124>
- [17] Fedorych, P. V. (2018). Vyavleniia *Pentatrichomonas hominis* pry kolpotsevisyiti ta salpingooforyti [Detection of *Pentatrichomonas hominis* of colpocervicitis and salpingooforitis]. *Dermatologiya ta venerologiya*, (3), 77-79. [in Ukrainian].

Ультраструктурные особенности состояния астроглиальной эндосомальной системы при сепсис-ассоциированной энцефалопатии

Т. В. Шулятникова  *A-D, В. А. Шаврин  A,E,F

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

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

Ключевые слова:

астроглия, сепсис-ассоциированная энцефалопатия, мульти-везикулярные тельца.

Патология. 2020. Т. 17, № 1(48). С. 60-67

*E-mail: shulyatnikova.tv@gmail.com

Сепсис-ассоциированная энцефалопатия (САЭ) – частое осложнение сепсиса, проявляющееся широким спектром дисфункциональных мозговых расстройств. Астроциты, как главные гомеостатические клетки мозга, играют ключевую роль в процессах адаптации нервной ткани к острому повреждению.

Цель работы – определить ультраструктурное состояние эндосомальной системы астроцитов в головном мозге крыс в экспериментальных условиях системного воспаления.

Материалы и методы. Исследование проведено на 2 группах крыс линии Вистар: контрольной (5 ложнооперированных крыс) и основной (с перевязкой и пункцией слепой кишки, CLP, 10 крыс). Исследование коры и подкоркового белого вещества сенсомоторной зоны в срок от 12 ч до 24 ч послеоперационного периода проведено с помощью трансмиссионной электронной микроскопии.

Результаты. В группе CLP, начиная с 12 ч послеоперационного периода, в перикарионах и отростках астроцитов увеличивается количество мультивезикулярных телец (MBT). Так, у умерших животных основной группы отмечена тенденция к увеличению количества эндосом по сравнению с контролем и преимущественность локализации их в перикарионах астроцитов. Астроглия выживших животных основной группы характеризовалась большей степенью компенсации внутриклеточного отека и повышением количества MBT с преимущественным накоплением их в капиллярных ножках астроцитов, где их численность увеличилась более чем в 3 раза по сравнению с группой контроля.

Выводы. В условиях абдоминального сепсиса в астроцитах головного мозга с середины первых суток отмечали признаки реактивных изменений с повышением активности их эндосомально-экзосомального аппарата, что отражает высокую степень адаптивной активности астроглии и компенсацию патологического состояния ткани. Одно из ультраструктурных выражений этого явления – повышение в цитоплазме астроцитов количества мультивезикулярных телец с накоплением последних в астроцитарных отростках, преимущественно в капиллярных астроцитарных ножках. Накопление MBT в астроцитарных отростках может указывать на активацию их межклеточного и глиоваскулярного взаимодействия посредством эндо- и экзоцитоза в острой фазе адаптивных процессов в условиях САЭ. Этот факт подчеркивает особую роль астроглии в процессах компенсации нарушенного гомеостаза мозговой ткани в данных условиях.

Ключові слова:

астроглія, сепсис-асоційована енцефалопатія, мультивезикулярні тілця.

Патологія. 2020. Т. 17, № 1(48). С. 60-67

Ультраструктурні особливості стану астрогліальної ендосомальної системи при сепсис-асоційованій енцефалопатії

Т. В. Шулятникова, В. О. Шаврін

Сепсис-асоційована енцефалопатія (САЕ) – часте ускладнення сепсису, що виявляється широким спектром дисфункціональних порушень головного мозку. Астроцити, як головні гомеостатичні клітини мозку, відіграють ключову роль у процесах адаптації нервової тканини до гострого пошкодження.

Мета роботи – визначити ультраструктурний стан ендосомальної системи астроцитів у головному мозку щурів в експериментальних умовах системного запалення.

Матеріали та методи. Дослідження виконали на 2 групах щурів лінії Вістар: контрольній (5 хибнооперованих щурів) і основній (із перев'язкою і пункцією сліпої кишки, CLP, 10 щурів). Дослідження кори та підкоркової білої речовини сенсомоторної зони у строк від 12 год до 24 год післяопераційного періоду виконали за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії.

Результати. У групі CLP, починаючи з 12 год післяопераційного періоду, в перикаріонах і відростках астроцитів збільшується кількість мікровезикулярних тілець (MBT). Так, у померлих тварин основної групи визначили тенденцію до збільшення кількості ендосом порівняно з контролем і з переважною локалізацією їх у перикаріонах астроцитів. Астроглія тварин основної групи, які вижили, характеризувалася більшим ступенем компенсації внутрішньоклітинного набряку й накопиченням MBT у капілярних ніжках астроцитів, де їхня кількість вірогідно збільшувалася більш ніж утричі порівняно з групою контролю.

Висновки. В умовах експериментального абдомінального сепсису в астроцитах головного мозку з середини першої доби спостерігали ознаки реактивних змін із підвищенням активності їхнього ендосомально-екзосомального апарату,

що показує високий ступінь адаптивної активності астроглії та фазу компенсації патологічного стану тканини. Одне з ультраструктурних проявів цього явища – підвищення в цитоплазмі астроцитів кількості MBT із накопиченням останніх в астроцитарних відростках, здебільшого в капілярних астроцитарних ніжках. Накопичення MBT в астроцитарних відростках може вказувати на активацію їхньої міжклітинної та гліо-васкулярної взаємодії за допомогою ендо- та екзоцитозу в гострій фазі адаптивних процесів в умовах САЕ. Цей факт підкреслює особливу роль астроглії в процесах компенсації порушеного гомеостазу мозкової тканини в наведених умовах.

Ultrastructural features of astroglial endosomal system state in sepsis-associated encephalopathy

T. V. Shuliatnikova, V. O. Shavrin

Sepsis-associated encephalopathy (SAE) is a common complication of sepsis, with a range of dysfunctional brain disorders. Astrocytes, as the main homeostatic brain cells, play a key role during adaptation of brain tissue to acute damage.

The aim. To determine the ultrastructural state of endosomal system of astrocytes in the rat brain under experimental conditions of systemic inflammation.

Materials and methods. Male Wistar rats were divided into 2 groups: control group (5 sham-operated animals); the main group with cecal ligation and puncture (CLP, 10 animals). The study of cortex and subcortical white matter of sensorimotor zone in the period between 12 and 24 h after operation was carried out using TEM.

Results. In CLP group, starting from 12 h after operation the number of multivesicular bodies (MVBs) increased in astroglial pericaryons and processes. Thus, deceased animals showed a tendency to increase in number of endosomes compared with control and the predominance of their localization in the pericaryons of astrocytes. Astroglia of survived animals of CLP group showed the lesser degree of intracellular edema and accumulation of MVBs into perivascular astroglial endfeet, where they exceeded control up to 3 times.

Conclusions. In conditions of SAE, starting from 12 h after operation, brain astrocytes show obvious reactive changes with an activation of their endosomal-exosomal machinery, which reflects a high degree of adaptive activity of astroglia and compensatory phase of the pathological state of tissue. One of the ultrastructural signs of this phenomenon is the increased density of MVBs and redistribution of latter predominantly in capillary astrocytic endfeet. The accumulation of MVBs in astrocytic processes may indicate the activation of their intercellular and gliovascular interactions through endo- and exocytosis in the acute phase of adaptive processes under conditions of SAE. This fact emphasizes the special role of astroglia in the compensation of impaired brain homeostasis in SAE.

Key words:

astroglia, sepsis associated encephalopathy, multivesicular bodies.

Pathologia

2020; 17 (1), 60-67

Острая церебральная недостаточность на фоне сепсис-ассоциированной энцефалопатии (САЭ) осложняет течение сепсиса до 70 % случаев [1], в том числе абдоминального, который чаще всего является следствием осложненной интраабдоминальной инфекции [2,3]. Сепсис-ассоциированную энцефалопатию рассматривают как синдром общей дисфункции мозга, развивающийся при сепсисе без прямого инфекционного поражения центральной нервной системы (ЦНС), хотя последнее утверждение не однозначно и требует дополнительного уточнения [4]. САЭ представлена широким спектром потенциально обратимых когнитивных изменений, включая нарушение цикла сон-бодрствование, очаговый неврологический дефицит, бредово-галлюцинаторный комплекс и снижение сознания вплоть до комы [5,6].

Острая церебральная недостаточность при сепсисе – результат многофакторных событий, а именно высокого уровня системных цитокинов, микробных компонентов и эндотоксинов, которые повреждают барьеры головного мозга и вызывают срыв мозгового гомеостазу. Недостаточно изученной при САЭ остается клеточная реактивность мозговой ткани, в том числе ультраструктурная реорганизация.

Астроциты, являясь главными гомеостатическими клетками ЦНС [7] и формируя многофункциональные анатомические барьеры, активно участвуют в защите мозговой ткани против инфекционных агентов и ограничивают ее повреждение [8,9]. Астроциты

идентифицируют, синтезируют и интегрируют воспалительные сигналы между иммунными клетками и клетками мозговой паренхимы, координируя тем самым нейроиммунную ответную реакцию на системную инфекцию [4]. Они взаимодействуют с другими нервными клетками посредством высвобождения ряда сигнальных молекул, которые являются компонентами так называемой «глиокринной системы» мозга [10,11].

Один из способов высвобождения этих молекул из астроцитов – экзоцитоз, система которого включает перечень секреторных органелл, таких как лизосомы, плотноядерные везикулы, синаптоподобные микровезикулы и экстрацеллюлярные везикулы (ЭЦВ) [12]. ЭЦВ содержат ряд биологически активных веществ: mRNA, miRNA, сигнальные молекулы, цитокины [13,14]. С ЭЦВ астроцитов ассоциирован экзоцитоз ими белков комплемента C3a в процессе нейровоспаления [15], доставка молекул МНС-II на поверхность реактивных астроцитов как непрофессиональных антигенпрезентирующих клеток [16,17]. Экзоцитозный механизм астроцитов обеспечивает секрецию ими ряда других молекул, таких как нейротрансмиттеры и их предшественники, пластические факторы, гормоны и прочие [11].

Один из видов ЭЦВ – экзосомы, которые формируются в ходе эндосомального внутриклеточного цикла из мультивезикулярных телец (MBT) вследствие слияния последних с плазматической мембраной и высвобождения их интралюминальных везикул (ИлВ)

во внеклеточное пространство [18]. Эндосомальная система имеет первостепенное значение в активном взаимодействии между плазматической мембраной, клеточным аппаратом синтеза-секреции и лизосомами. После эндоцитоза трансмембранные белки транспортируются к ранним эндосомам, которые по ходу созревания формируют ИлВ и превращаются в MBT (вид поздних эндосом) [18]. ИлВ формируются с помощью нейтральной сфингомиелиназы-2 и церамидзависимого процесса [19] и вовлекают ESCRT-0, I, II, III (endosomal sorting complex required for transport) в формирование MBT [18]. MBT играют ключевую роль в сортировке продуктов внутриклеточного метаболизма – с помощью ESCRT-механизма в их везикулах происходит секвестрация мембранных белков и цитоплазматических молекул, которые в последующем могут транслоцироваться в лизосомы для катаболизма [20] либо высвобождаться в составе экзосом во внеклеточную среду [21]. Подробное описание экзосом и их морфогенеза представлено в обзоре L. M. Doyle et al. [22].

Состояние эндосомальной системы астроглии и их секреторной активности в условиях системного воспаления остается малоизученным вопросом, что обуславливает его актуальность.

Цель работы

Определить ультраструктурное состояние эндосомальной системы астроцитов в головном мозге крыс в экспериментальных условиях системного воспаления.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на крысах линии Вистар (ЧП «Биомодельсервис» ВА, г. Киев, Украина). Самцов весом 200–300 г содержали в акриловых клетках (по 5 животных в клетке) в стандартных условиях: при 12-часовом световом цикле при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$, со свободным доступом к еде (стандартный корм для крыс ЧП «Биомодельсервис», г. Киев, Украина) и воде. Животных акклиматизировали в течение 1 недели до эксперимента. Все процедуры проведены в соответствии с рекомендациями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS №123), (Страсбург, 18.03.1986) и директиве Европейского Совета (2010/63/EU) [23]. Исследование одобрено комиссией по биоэтике Запорожского государственного медицинского университета.

В эксперименте использована модель цекальной перевязки и пункции «CLP» (саесум ligation and puncture), которую наиболее часто применяют для воспроизведения полимикробного абдоминального сепсиса у грызунов [24,25].

Животных поделили на 2 группы: контрольную (5 ложноперевязанных крыс) и группу с CLP (перевязка и пункция слепой кишки, 10 крыс). Животные анестезированы интраперитонеальной инъекцией кетамина (80–100 мг/кг м.т.) и ксилазина (5–15 мг/кг м.т.). После наступления анестезии нижний квадрант передней брюшной стенки побрит, обработан спиртовым рас-

твором. С помощью скальпеля и ножниц сделана продольная срединная лапаротомия длиной 3 см и выведена слепая кишка в рану. После рассечения мезентерия слепой кишки на нее наложена лигатура ниже илеоцекального клапана (проходимость остальной части кишки сохранена). Соотношение перевязанной части кишки к условно интактной (от лигатуры до илеоцекального клапана) составило 75 % : 25 %, что соответствовало модели тяжелого сепсиса [24]. Перевязанная часть кишки перфорирована насквозь 18 G иглой, из сформированных обоих отверстий выделено небольшое количество содержимого кишки. После возвращения кишки в брюшную полость брюшная стенка послойно ушита стерильными шелковыми нитями, послеоперационная рана обработана, наложена повязка. В контрольной группе ложноперевязанных животных проведены те же процедуры, но без перевязки и перфорации слепой кишки. Все животные сразу после операции выведены из наркоза подкожным введением предварительно нагретого до 37°C физиологического раствора (5 мл/100 г м.т.). В послеоперационном периоде животные находились в клетках, в тех же условиях, что и до операции, со свободным доступом к еде и воде; каждые 6 часов производили обезболивание и тщательный мониторинг состояния (первые 2 часа после операции – мониторинг каждые полчаса). Оценивали такие признаки: диарея, пилорэрекция, периорбитальная экссудация, социальная изоляция, респираторные нарушения, летаргия. В группе CLP из 10 животных в период с 12 до 24 часов после операции в условиях выраженных указанных признаков погибли 7 крыс (подгруппа В – умершие животные), 3 животных выжили до конца эксперимента (подгруппа А – выжившие), в контрольной группе (подгруппа С) умерших животных не было. Через 24 ч после операции с помощью интраперитонеального введения эвтаназийного раствора пентобарбитала натрия (240 мг/мл) произведен забой животных.

Материал от умерших животных брали после остановки сердечбиения (через 1–5 минут) и помещали в стандартный фиксационный раствор для трансмиссионной электронной микроскопии: 2,5 % раствор глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере (pH = 7,4). Из сенсомоторной коры лобной доли левого полушария вырезали кусочки до 1×1 мм и помещали на 2 часа (при $t = 40^\circ\text{C}$) в тот же фиксационный раствор с добавлением сахарозы. Вторичную фиксацию в течение 2 ч проводили с использованием 1 % четырехоксида осмия на фосфатном буфере. Далее кусочки обезвоживали в батарее спиртов восходящей концентрации (до 100°) с промежуточным контрастированием в 2,5 % растворе уранилацетата в течение 2 часов. Обезвоженные кусочки пропитывали смесью ацетона и эпона (2:1; 1:1; 1:2), заливали в эпоксидную смолу Epon-812 и полимеризовали в 2 этапа: 36°C (12 ч); 56°C (24 ч). Полутонкие (1–2 мкм) и ультратонкие срезы (55–65 нм) изготовлены на ультрамикротоме (PowerTome RMC Boeckeler, USA) и проконтрастированы цитратом свинца по Рейнольдсу (30 мин, $t = 25^\circ\text{C}$). Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим и основным фуксином. Ультра-

тонкие срезы исследовали на разных увеличениях и получили изображения с использованием электронного микроскопа ПЭМ-100-01 (ОАО «Selmi», г. Сумы, Украина) при ускоряющем напряжении 65 кВ.

В материале каждого животного во время изучения срезов ткани в электронном микроскопе проводили анализ ультраструктуры астроцитарных перикарионов, профилей паренхиматозных отростков и профилей перикапиллярных астроцитарных муфт. В каждом случае исследовали по 5 блоков ткани. Из них изготовили по 10 ступенчатых (каждый четвертый) ультратонких срезов (площадью ~3500 мкм² каждый) и отобрали по 30 единиц каждого из указанных объектов; подсчитали количества MBT в их составе.

Статистическую обработку полученных данных провели при помощи пакета Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., лицензия № JPZ8041382130ARCN10-J). Вычисляли медиану (Me), нижний и верхний квартили (Q1; Q3); сравнение между двумя группами наблюдений проводили при помощи критерия Манна–Уитни, между тремя и более группами наблюдений – при помощи критерия Краскела–Уоллиса. Результаты считали статистически значимыми на уровне 95 % ($p < 0,05$).

Результаты

Изучение ультраструктуры образцов коры и подкоркового белого вещества у семи умерших животных показало, что с 12 до 24 часов послеоперационного периода преобладающими и распространенными в клетках являются признаки дезорганизации ядерных и цитоплазматических компонентов, парциальной деструкции органелл, активного расхода внутриклеточных субстратов энергетического и пластического обмена. К 24 часам и у умерших, и 3 выживших животных основной группы отмечено появление отдельных нейронов или их групп в состоянии некроза, с относительным повышением их встречаемости в динамике послеоперационного периода. Одновременно с этим у выживших животных к концу первых суток после операции отмечены признаки активации внутриклеточного транспорта и межклеточных глионейрональных и глиоглиальных взаимодействий, а именно интенсификация их эндосомальной и экзосомальной систем и перинейронального сателлитоза. Так, в астроцитах выживших животных ярким ультраструктурным выражением активации системы эндо-, транс- и экзоцитоза является повышение количества мультивезикулярных телец. Эти вакуолярные образования имели размер от 0,4 мкм до 1,2 мкм и содержали от 2 до 30 ИлВ диаметром от 50 нм до >500 нм. MBT формируются вследствие эндоцитоза мелких вакуолизированных участков окружающего нейрона и являются разновидностью поздних эндосом. В виду того, что на разных стадиях своего формирования они являются участниками разнообразных внутриклеточных процессов, взаимодействуя с другими компонентами цитокavitальной системы и лизосомальным аппаратом, отмеченные MBT характеризовались высоким полиморфизмом, несмотря на наличие общих морфологических признаков. В одних случаях в

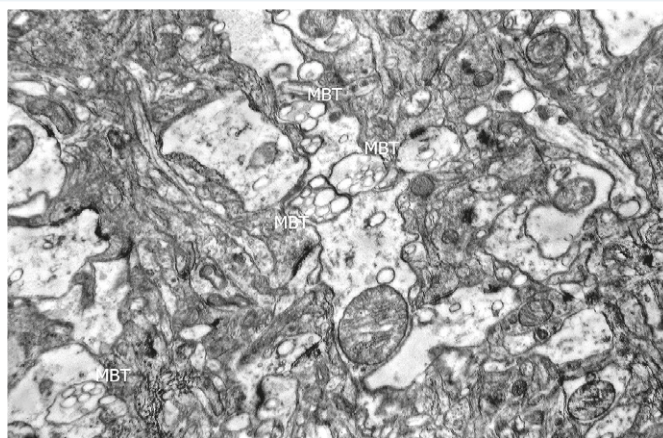


Рис. 1. Накопление MBT в паренхиматозных астроцитарных отростках в сенсомоторной коре умершей крысы. 20 часов послеоперационного периода. Трансмиссионная электронная микроскопия, ув. $\times 12\,000$.

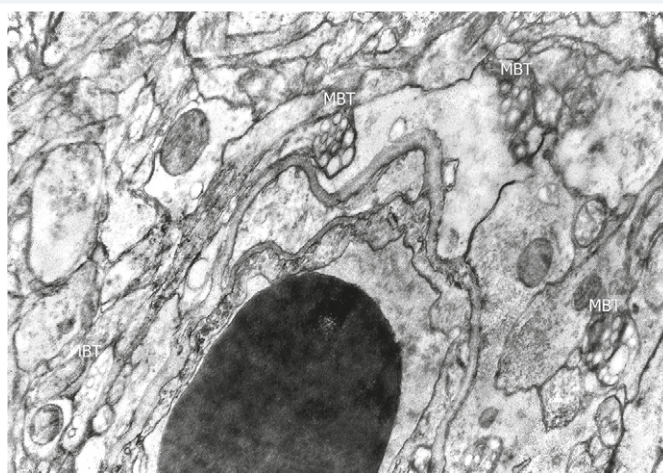


Рис. 2. Накопление MBT в капиллярных астроцитарных ножках в сенсомоторной коре выжившего животного. 24 часа послеоперационного периода у крысы. Трансмиссионная электронная микроскопия, ув. $\times 16\,000$.

MBT наблюдали относительно большое количество плотно упакованных электроннопрозрачных ИлВ, в других установили наличие больших пустот с остатками разреженной электронноплотной субстанции или миелиноподобных телец и других сходных пластинчатых структур.

При статистическом анализе этих структур установлено, что их количество и локализация имеют определенные особенности в зависимости от клинической динамики послеоперационного состояния животных и компартмента астроцитарных клеток, в которых они отмечены.

Так, при изучении астроглии в контрольной группе животных выяснили, что MBT в них обнаруживают в единичных экземплярах и с одинаково низкой встречаемостью во всех трех изучаемых компартментах: профилях перикарионов, паренхиматозных отростков и капиллярных муфт (рис. 3).

В основной группе наблюдения встречаемость MBT возросла (рис. 1). Так, у умерших животных их количественные значения в астроцитарных пе-

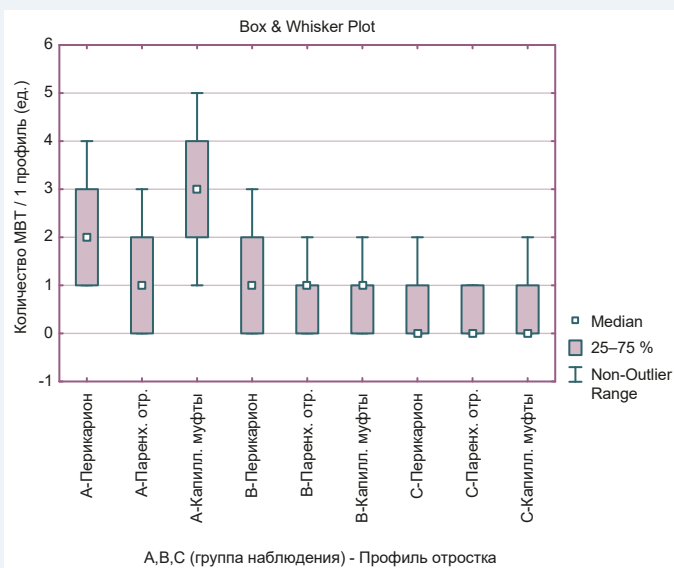


Рис. 3. Количество мультивезикулярных телец в различных астроцитарных профилях (перикарион, паренхиматозные отростки, капиллярные муфты) в группах сравнения (А, В, С) в период с 12 ч до 24 ч после операции.

А: группа выживших животных; В: группа умерших животных; С: группа контроля.

рикарionaх по сравнению с контролем составили 1,00 (0,00; 2,00) ед./1 профиль и 0,00 (0,00; 1,00) ед./1 профиль соответственно, однако эти значения не имели достоверной разницы ($p > 0,05$) (рис. 3). Астроглия у этой группы животных характеризовалась более распространенными признаками наводненности гиалоплазмы, ее просветления, вакуолизации и фокального распада.

Окружающий нейрипил, соседние глиальные клетки и нейроны также отличались признаками декомпенсированного отека и тяжелыми деструктивными процессами. Стоит отметить, что астроциты, содержащие в перикарионе или в отростках MBT, характеризовались относительно большей сохранностью органелл и меньшей выраженностью отека.

Астроглия выживших животных отличалась признаками компенсации внутриклеточного отека в виде расширения цитокавитальных систем и большей сохранностью плазматических мембран, клеточных ультраструктур. В таких астроцитах отмечено достоверное увеличение количества MBT по сравнению с контрольной группой и перераспределение их с накоплением в перикапиллярных астроцитарных ножках (муфтах) (рис. 2, рис. 3).

Так, значения количества MBT в перикарионах, паренхиматозных отростках и капиллярных астроцитарных муфтах в группе выживших животных составили соответственно 2,00 (1,00; 3,00) ед./1 профиль; 1,00 (0,00; 2,00) ед./1 профиль; 3,00 (2,00; 4,00) ед./1 профиль с достоверным преобладанием последнего показателя при сравнении компартментов ($p < 0,05$). Медианные значения количества MBT в капиллярных астроцитарных ножках к 24 часам послеоперационного периода у выживших животных достоверно превысили данный показатель в тех же компартментах контрольной группы в 3 раза (соответственно 3,00

(2,00; 4,00) ед./1 профиль и 0,00 (0,00; 1,00) ед./1 профиль; $p < 0,05$). Повышенное образование MBT и перераспределение их в капиллярные астроцитарные муфты – отличительная черта астроглиальной ультраструктуры группы выживших животных (рис. 3).

Обсуждение

Перераспределение и накопление астроцитарных поздних эндосом в перикапиллярной близости может указывать на усиление гематоэнцефалического метаболизма. В условиях системного воспаления агрессивные факторы вызывают функциональное нарушение либо анатомическое повреждение естественных барьеров ЦНС, что индуцирует развитие нейровоспалительного ответа в мозговой ткани [4]. Нейровоспаление при сепсисе в зависимости от тяжести процесса может характеризоваться спектром морфологических изменений, начиная от поверхностных и обратимых перестроек внутриклеточного и тканевого метаболизма нервной ткани до тяжелых нарушений кровообращения, декомпенсированного отека, гнойных и некротических процессов. В этих условиях на этапе адаптивных процессов, когда гомеостаз еще относительно сохранен, можно предположить активизацию резервных путей нервной ткани к очищению и выведению продуктов обмена в сосудистое русло за счет повышения эндосомально-экзосомального транспорта. Также такие изменения указывают на повышение активности особого рода глиокриновой, сигнализационной деятельности астроцитов с использованием экзоцитоза молекул непосредственно в кровь как проявления тесной взаимосвязи мозгового метаболизма и системных реакций.

В последнее время растет количество доказательств того, что некоторые виды miRNA, такие как miR-155, miR-27b, miR-326, miR-124, miR-146a, miR-21, miR-223, let-7 семейство, транспортируемые в составе экзосом, могут играть ключевую роль в регуляции нейровоспаления, воздействуя на глиальную воспалительную реактивность [26–28]. Balusu S. и соавт. экспериментально показали, что системное воспаление приводит к увеличению количества MBT и экзосом в эпителии сосудистого сплетения, что ассоциировано с повышением уровня ЭЦВ и провоспалительных miRNA в ликворе. Указанные экзосомы далее проникали из ликвора в мозговую паренхиму, захватывались астроцитами и микроглией, что приводило к повышению экспрессии провоспалительных генов и обуславливало усиление процессов нейровоспаления [29]. Исходя из этого, нельзя исключать возможность того, что астроциты, выступая кондукторами в передаче сигнальных молекул, выполняют эту функцию посредством содержимого своих экзосом и таким образом регулируют воспалительный ответ в мозговой ткани, а также посылают сигналы на периферию через кровь и ликвор.

Wang G. et al. экспериментально доказали роль астроцитарных экзосом в запуске апоптотической гибели астроцитов. Так, например, показано, что амилоидный пептид вызывает увеличение количества астроцитарных экзосом, содержащих PAR4 и церамид

(«апоксосом»). Апоксосомы, достигая в межклеточном пространстве проапоптотической концентрации, в последующем захватываются астроцитами и запускают в них апоптотический процесс посредством активации каспазы-3 [30]. В условиях нейровоспаления, индуцированного сепсисом, апоптотическая гибель клеток – достаточно постоянное явление. Роль астроглии в этих процессах остается предметом активного изучения.

Существует также тесная связь между MBT и процессами аутофагии. MBT могут сливаться с аутофагосомами, образуя двойственные органеллы «амфисомы», которые, в свою очередь, объединяются с лизосомами и формируют аутолизосомы для расщепления приносимых продуктов [31]. Для эффективной аутофагической деградации некоторых белков необходимы функционально активные MBT, а ESCRT мутации, обуславливающие нарушения синтеза MBT, ассоциированы с рядом нейродегенеративных заболеваний [32–35]. Таким образом, повышение количества MBT в астроцитах в условиях нейровоспаления на фоне сепсиса может указывать и на активацию аутофагических процессов в астроглии.

С другой стороны, недавние исследования показали важную роль астроцитарных экзосом и их содержания в глияльно-нейрональном взаимодействии в норме и патологии, где экзосомы выступали, главным образом, как факторы, обуславливающие выживание и пластичность нейронов [36–39].

В нашем исследовании относительно большое количество MBT в паренхиматозных отростках астроцитов также может указывать на повышение астро-астроцитарного взаимодействия в астроцитарном синцитии и усилении эндоцитозной активности астроцитов в перисинаптических ложах, что естественно при усилении процессов разобщения, деградации и распада синаптических аппаратов и больше характерно для мозга группы умерших животных. У выживших животных такие морфологические изменения астроцитарных отростков могут указывать на активное их вовлечение в механизмы синаптической пластичности в процессе адаптации к острой гипоксии, интоксикации, отека, что наблюдают при САЭ. Входя в состав трехкомпонентного синапса («tripartite synapse») [40,41], перисинаптические астроцитарные отростки образуют так называемую «синаптическую колыбель» [42], в среде которой происходит регуляция жизнедеятельности синапса в норме и контроль над его пластичностью в условиях, отличных от физиологических, в частности, – нейротрансмиттерного дисбаланса, который отмечают при САЭ [43,44].

Выводы

1. В условиях системного воспаления в астроцитах головного мозга с середины первых суток наблюдают признаки реактивных изменений с повышением активности их эндосомально-экзосомального аппарата, что отражает высокую степень адаптивной активности астроглии и относительную компенсацию патологического состояния ткани.

2. Одно из ультраструктурных выражений реактивных изменений в астроцитах – повышение в цитоплазме количества поздних эндосом (мультивезикулярных телец) с накоплением в астроцитарных отростках, преимущественно в перикапиллярных астроцитарных ножках, где их количество у выживших животных в среднем увеличивается более чем в 3 раза по сравнению с группой контроля.

3. Накопление мультивезикулярных телец в астроцитарных отростках может указывать на активацию глиоглиального, глионейронального, нейроглиального, глиоваскулярного взаимодействия и активного метаболизма между этими структурами посредством эндо- и экзоцитоза в острой фазе адаптивных процессов в условиях сепсис-ассоциированной энцефалопатии. Этот факт подчеркивает особую роль астроцитарной глии в процессах компенсации нарушенного гомеостаза нервной ткани в данных условиях.

Перспективы дальнейших исследований.

Учитывая дефицит исследований в области ультраструктурной патологии мозговой ткани в условиях системного воспаления, планируется дальнейшее изучение данного вопроса с использованием описанной экспериментальной модели. Исследование ультраструктурных изменений головного мозга при сепсисе позволило бы выявить основные варианты развития событий на суб- и межклеточном уровне организации ткани на разных этапах патологического процесса, что могло бы стать полезным инструментом в выяснении морфогенеза сепсис-ассоциированной энцефалопатии и разработке более эффективных методов терапевтического влияния на данную патологию.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках инициативной НИР Запорожского государственного медицинского университета «Морфогенез деструктивно-репаративных процессов головного мозга при захворываниях судинного та токсико-метаболического генезу» № госрегистрации 0118U004253.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Надійшла до редакції/Received: 03.02.2020

Після доопрацювання/Revised: 20.02.2020

Прийнято до друку/Accepted: 01.03.2020

Сведения об авторах:

Шулятникова Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
ORCID ID: 0000-0002-0196-9935

Шаврин В. А., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
ORCID ID: 0000-0001-7019-702X

Відомості про авторів:

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

Шаврін В. О., д-р мед. наук, професор каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Information about authors:

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

Список литературы

- [1] Lamar C. D., Hurley R. A., Taber, K. H. Sepsis-Associated Encephalopathy: Review of the Neuropsychiatric Manifestations and Cognitive Outcome. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*. 2011. Vol. 23, Iss. 3. P. 236-241. <https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.23.3.237>
- [2] Shuliatnikova T. V., Shavrin V. O. Sepsis associated encephalopathy and abdominal sepsis: current state of problem. *Art of Medicine*. 2018. Iss. 3. P. 158-165.
- [3] Global validation of the WSES Sepsis Severity Score for patients with complicated intra-abdominal infections: a prospective multicentre study (WISS Study) / M. Sartelli, F. M. Abu-Zida, F. Caten et al. *World Journal of Emergency Surgery*, 2015. Vol. 10. P. 61. <https://doi.org/10.1186/s13017-015-0055-0>
- [4] Shulyatnikova T., Verkhatsky A. Astroglia in Sepsis Associated Encephalopathy. *Neurochemical Research*. 2020. Vol. 45, Iss. 1. P. 83-99. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02743-2>
- [5] Understanding brain dysfunction in sepsis / R. Sonnevill, F. Verdonk, C. Rauturier et al. *Annals of Intensive Care*. 2013. Vol. 3. P. 15. <https://doi.org/10.1186/2110-5820-3-15>
- [6] Chaudhry N., Duggal A. K. Sepsis Associated Encephalopathy. *Advances in Medicine*. 2014. Vol. 2014. P. 1-16. <https://doi.org/10.1155/2014/762320>
- [7] Verkhatsky A., Nedergaard M. Physiology of Astroglia. *Physiological Reviews*. 2018. Vol. 98, Iss. 1. P. 239-389. <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2016>
- [8] Sofroniew M. V. Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation. *Nature Reviews Neuroscience*. 2015. Vol. 16, Iss. 5. P. 249-263. <https://doi.org/10.1038/nrn3898>
- [9] Zorec R., Zupanc T. A., Verkhatsky A. Astroglipathology in the infectious insults of the brain. *Neuroscience Letters*. 2019. Vol. 689. P. 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.08.003>
- [10] Vardjan N., Zorec R. Excitable astrocytes: Ca²⁺ and cAMP-regulated exocytosis. *Neurochemical Research*. 2015. Vol. 40, Iss. 12. P. 2414-2424. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1545-x>
- [11] Astrocytes as secretory cells of the central nervous system: idiosyncrasies of vesicular secretion / A. Verkhatsky, M. Matteoli, V. Parpura et al. *Embo Journal*. 2016. Vol. 35, Iss. 3. P. 239-257. <https://doi.org/10.15252/embj.201592705>
- [12] Gliocrine system: Astroglia as secretory cells of the CNS / N. Vardjan, V. Parpura, A. Verkhatsky, R. Zorec. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Vol. 1175. New York : Springer. P. 93-115. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9913-8_4
- [13] Turchinovich A., Drapkina O., Tonevitsky A. Transcriptome of Extracellular Vesicles: State-of-the-Art. *Frontiers in Immunology*. 2019. Vol. 10. P. 202. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00202>
- [14] EVmiRNA: a database of miRNA profiling in extracellular vesicles / T. Liu, Q. Zhang, J. K. Zhang et al. *Nucleic Acids Research*. 2019. Vol. 47, Iss. D1. P. D89-D93. <https://doi.org/10.1093/nar/gky985>
- [15] NFkB-Activated Astroglial Release of Complement C3 Compromises Neuronal Morphology and Function Associated with Alzheimer's Disease / H. Lian, L. Yang, A. Cole et al. *Neuron*. 2015. Vol. 85, Iss. 1. P. 101-115. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.11.018>
- [16] IFN-γ-induced increase in the mobility of MHC class II compartments in astrocytes depends on intermediate filaments / N. Vardjan, M. Gabrijel, M. Potokar et al. *Journal of Neuroinflammation*. 2012. Vol. 9. P. 144. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-144>
- [17] Exocytosis of large-diameter lysosomes mediates interferon γ-induced relocation of MHC class II molecules toward the surface of astrocytes / M. Božić, A. Verkhatsky, R. Zorec, M. Stenovec. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2019. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03350-8>
- [18] Huotari J., Helenius A. Endosome maturation. *EMBO Journal*. 2011. Vol. 30, Iss. 17. P. 3481-3500. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.286>
- [19] Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular Endosomes / K. Trajkovic, C. Hsu, S. Chiantia et al. *Science*. 2008. Vol. 319, Iss. 5867. P. 1244-1247. <https://doi.org/10.1126/science.1153124>
- [20] Luzio J. P., Gray S. R., Bright N. A. Endosome-lysosome fusion. *Biochemical Society Transactions*. 2010. Vol. 38. P. 1413-1416. <https://doi.org/10.1042/bst0381413>
- [21] Hanson P. I., Cashikar A. Multivesicular Body Morphogenesis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2012. Vol. 28. P. 337-362. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154152>
- [22] Doyle L. M., Wang M. Z. Overview of Extracellular Vesicles, Their Origin, Composition, Purpose, and Methods for Exosome Isolation and Analysis. *Cells*. 2019. Vol. 8, Iss. 7. P. Article 727. <https://doi.org/10.3390/cells8070727>
- [23] Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010. P. 33-79.
- [24] Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture / D. Rittirsch, M. S. Huber-Lang, M. A. Flierl, P. A. Ward. *Nature Protocols*. 2009. Vol. 4, Iss. 1. P. 31-36. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.214>
- [25] Toscano M. G., Ganea D., Gamero A. M. Cecal Ligation Puncture Procedure. *Jove-Journal of Visualized Experiments*. 2011. Iss. 51. P. e2860. <https://doi.org/10.3791/2860>
- [26] Su W., Aloï M. S., Garden G. A. MicroRNAs mediating CNS inflammation: Small regulators with powerful potential. *Brain Behavior and Immunity*. 2016. Vol. 52. P. 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.07.003>
- [27] MicroRNAs: Roles in Regulating Neuroinflammation / A. D. Gaudet, L. K. Fonken, L. R. Watkins et al. *Neuroscientist*. 2018. Vol. 24, Iss. 3. P. 221-245. <https://doi.org/10.1177/1073858417721150>
- [28] Nuzziello N., Liguori M. The MicroRNA Centrism in the Orchestration of Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases. *Cells*. 2019. Vol. 8, Iss. 10. P. 1193. <https://doi.org/10.3390/cells8101193>
- [29] Identification of a novel mechanism of blood-brain communication during peripheral inflammation via choroid plexus-derived extracellular vesicles / S. Balusu, E. Van Wonterghem R. De Rycke et al. *Embo Molecular Medicine*. 2016. Vol. 8, Iss. 10. P. 1162-1183. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606271>
- [30] Astrocytes Secrete Exosomes Enriched with Proapoptotic Ceramide and Prostate Apoptosis Response 4 (PAR-4) potential mechanism of apoptosis induction in Alzheimer disease (AD) / G. H. Wang, M. Dinkins, Q. He et al. *Journal of Biological Chemistry*. 2012. Vol. 287, Iss. 25. P. 21384-21395. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.340513>
- [31] Fader C. M., Colombo M. I. Autophagy and multivesicular bodies: two closely related partners. *Cell Death and Differentiation*. 2009. Vol. 16, Iss. 1. P. 70-78. <https://doi.org/10.1038/cdd.2008.168>
- [32] Rusten T. E., Simonsen A. ESCRT functions in autophagy and associated disease. *Cell Cycle*. 2008. Vol. 7, Iss. 9. P. 1166-1172. <https://doi.org/10.4161/cc.7.9.5784>
- [33] Recent progress in the role of autophagy in neurological diseases / T. Meng, S. Lin, H. Zhuang et al. *Cell Stress*. 2019. Vol. 3, Iss. 5. P. 141-161. <https://doi.org/10.15698/cst2019.05.186>
- [34] Banerjee R., Beal M. F., Thomas B. Autophagy in neurodegenerative disorders: pathogenic roles and therapeutic implications. *Trends in Neurosciences*. 2010. Vol. 33, Iss. 12. P. 541-549. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2010.09.001>
- [35] Autophagy in neurodegenerative diseases: pathogenesis and therapy / F. Guo, X. Y. Liu, H. B. Cai, W. D. Le. *Brain Pathology*. 2018. Vol. 28, Iss. 1. P. 3-13. <https://doi.org/10.1111/bpa.12545>
- [36] Extracellular Vesicles Secreted by Astroglial Cells Transport Apolipoprotein D to Neurons and Mediate Neuronal Survival Upon Oxidative Stress / R. Pascua-Maestro, E. Gonzalez, C. Lillo et al. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2019. Vol. 12. P. 526. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00526>
- [37] Exosomes From Astrocyte Processes: Signaling to Neurons / A. Venturini, M. Passalacqua, S. Pelassa et al. *Frontiers in Pharmacology*. 2019. Vol. 10. P. 1452. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01452>
- [38] MiRNAs in Astrocyte-Derived Exosomes as Possible Mediators of Neuronal Plasticity / C. Lafourcade, J. P. Ramirez, A. Luarte et al. *Journal of Experimental Neuroscience*. 2016. Vol. 10. P. 1-9. <https://doi.org/10.4137/jen.s39916>
- [39] Schiera G., Di Liegro C. M., Di Liegro I. Cell-to-Cell Communication in Learning and Memory: From Neuro- and Glia-Transmission to Information Exchange Mediated by Extracellular Vesicles. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21, Iss. 1. P. 266. <https://doi.org/10.3390/ijms21010266>
- [40] Santello M., Cali C., Bezzi P. Gliotransmission and the Tripartite Synapse. *Synaptic Plasticity: Dynamics, Development and Disease*. 2012. Vol. 970. P. 307-331. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0932-8_14
- [41] Durkee C. A., Araque A. Diversity and Specificity of Astrocyte-neuron Communication. *Neuroscience*. 2019. Vol. 396. P. 73-78. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.11.010>
- [42] Verkhatsky A., Nedergaard M. Astroglial cradle in the life of the synapse. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*. 2014. Vol. 369, Iss. 1654. P. 20130595. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0595>
- [43] van Gool W. A., van de Beek D., Eikelenboom P. Systemic infection and delirium: when cytokines and acetylcholine collide. *Lancet*. 2010. Vol. 375, Iss. 9716. P. 773-775. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(09\)61158-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(09)61158-2)
- [44] Activity-Dependent Structural Plasticity of Perisynaptic Astrocytic Domains Promotes Excitatory Synapse Stability / Y. Bernardinelli, J. Randall, E. Janett et al. *Current Biology*. 2014. Vol. 24, Iss. 15. P. 1679-1688. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.06.025>

References

- [1] Lamar, C. D., Hurley, R. A., & Taber, K. H. (2011). Sepsis-Associated Encephalopathy: Review of the Neuropsychiatric Manifestations and Cognitive Outcome. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 23(3), 236-241. <https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.23.3.237>
- [2] Shuliatnikova, T. V., & Shavrin, V. O. (2018). Sepsis associated encephalopathy and abdominal sepsis: current state of problem. *Art of Medicine*, (3), 158-165.
- [3] Sartelli, M., Abu-Zidan, F. M., Catena, F., Griffiths, E. A., Di Saverio, S., Coimbra, R., & Ansaloni, L. (2015). Global validation of the WSES Sepsis Severity Score for patients with complicated intra-abdominal infections: a prospective multicentre study (WISS Study). *World Journal of Emergency Surgery*, 10, Article 61. <https://doi.org/10.1186/s13017-015-0055-0>
- [4] Shulyatnikova, T., & Verkhatsky, A. (2020). Astroglia in Sepsis Associated Encephalopathy. *Neurochemical Research*, 45(1), 83-99. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02743-2>
- [5] Sonnevile, R., Verdonk, F., Rauturier, C., Klein, I. F., Wolff, M., Annane, D., Chretien, F., & Sharshar, T. (2013). Understanding brain dysfunction in sepsis. *Annals of Intensive Care*, 3, Article 15. <https://doi.org/10.1186/2110-5820-3-15>
- [6] Chaudhry, N., & Duggal, A. K. (2014). Sepsis Associated Encephalopathy. *Advances in Medicine*, 2014, 1-16. <https://doi.org/10.1155/2014/762320>
- [7] Verkhatsky, A., & Nedergaard, M. (2018). Physiology of Astroglia. *Physiological Reviews*, 98(1), 239-389. <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2016>
- [8] Sofroniew, M. V. (2015). Astrocyte barriers to neurotoxic inflammation. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(5), 249-263. <https://doi.org/10.1038/nrn3898>
- [9] Zorec, R., Zupanc, T. A., & Verkhatsky, A. (2019). Astroglial pathology in the infectious insults of the brain. *Neuroscience Letters*, 689, 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.08.003>
- [10] Vardjan, N., & Zorec, R. (2015). Excitable astrocytes: Ca²⁺- and cAMP-regulated exocytosis. *Neurochemical Research*, 40(12), 2414-2424. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1545-x>
- [11] Verkhatsky, A., Matteoli, M., Parpura, V., Mothet, J. P., & Zorec, R. (2016). Astrocytes as secretory cells of the central nervous system: idiosyncrasies of vesicular secretion. *Embo Journal*, 35(3), 239-257. <https://doi.org/10.15252/embj.201592705>
- [12] Vardjan, N., Parpura, V., Verkhatsky, A., & Zorec, R. (2019). Gliocrine system: Astroglia as secretory cells of the CNS. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 1175, pp. 93-115). Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9913-8_4
- [13] Turchinovich, A., Drapkina, O., & Tonevitsky, A. (2019). Transcriptome of Extracellular Vesicles: State-of-the-Art. *Frontiers in Immunology*, 10, Article 202. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00202>
- [14] Liu, T., Zhang, Q., Zhang, J. K., Li, C., Miao, Y. R., Lei, Q., Li, Q. B., & Guo, A. Y. (2019). EVmiRNA: a database of miRNA profiling in extracellular vesicles. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D89-D93. <https://doi.org/10.1093/nar/gky985>
- [15] Lian, H., Yang, L., Cole, A., Sun, L., Chiang, A. C. A., Fowler, S. W., Shim, D. J., Rodriguez-Rivera, J., Tagliatela, G., Jankowsky, J. L., Lu, H. C., & Zheng, H. (2015). NfκB-Activated Astroglial Release of Complement C3 Compromises Neuronal Morphology and Function Associated with Alzheimer's Disease. *Neuron*, 85(1), 101-115. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.11.018>
- [16] Vardjan, N., Gabriel, M., Potokar, M., Svaiger, U., Kreft, M., Jeras, M., de Pablo, Y., Faiz, M., Pekny, M., & Zorec, R. (2012). IFN-γ-induced increase in the mobility of MHC class II compartments in astrocytes depends on intermediate filaments. *Journal of Neuroinflammation*, 9, <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-144>
- [17] Božić, M., Verkhatsky, A., Zorec, R., & Stenovec, M. (2019). Exocytosis of large-diameter lysosomes mediates interferon γ-induced relocation of MHC class II molecules toward the surface of astrocytes. *Cellular and Molecular Life Sciences*. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03350-8>
- [18] Huotari, J., & Helenius, A. (2011). Endosome maturation. *EMBO Journal*, 30(17), 3481-3500. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.286>
- [19] Trajkovic, K., Hsu, C., Chiantia, S., Rajendran, L., Wenzel, D., Wieland, F., Schwille, P., Brugger, B., & Simons, M. (2008). Ceramide triggers budding of exosome vesicles into multivesicular Endosomes. *Science*, 319(5867), 1244-1247. <https://doi.org/10.1126/science.1153124>
- [20] Luzio, J. P., Gray, S. R., & Bright, N. A. (2010). Endosome-lysosome fusion. *Biochemical Society Transactions*, 38, 1413-1416. <https://doi.org/10.1042/bst0381413>
- [21] Hanson, P. I., & Cashikar, A. (2012). Multivesicular Body Morphogenesis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, Vol 28, 28, 337-362. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154152>
- [22] Doyle, L. M., & Wang, M. Z. (2019). Overview of Extracellular Vesicles, Their Origin, Composition, Purpose, and Methods for Exosome Isolation and Analysis. *Cells*, 8(7), Article 727. <https://doi.org/10.3390/cells8070727>
- [23] EP and Council. (2010). Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. OJ L276:33.
- [24] Rittirsch, D., Huber-Lang, M. S., Flierl, M. A., & Ward, P. A. (2009). Immunodiscerning of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. *Nature Protocols*, 4(1), 31-36. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.214>
- [25] Toscano, M. G., Ganea, D., & Gamero, A. M. (2011). Cecal Ligation Puncture Procedure. *Jove-Journal of Visualized Experiments*, (51), Article e2860. <https://doi.org/10.3791/2860>
- [26] Su, W., Aloï, M. S., & Garden, G. A. (2016). MicroRNAs mediating CNS inflammation: Small regulators with powerful potential. *Brain Behavior and Immunity*, 52, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.07.003>
- [27] Gaudet, A. D., Fonken, L. K., Watkins, L. R., Nelson, R. J., & Popovich, P. G. (2018). MicroRNAs: Roles in Regulating Neuroinflammation. *Neuroscientist*, 24(3), 221-245. <https://doi.org/10.1177/1073858417721150>
- [28] Nuzziello, N., & Liguori, M. (2019). The MicroRNA Centrism in the Orchestration of Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases. *Cells*, 8(10), Article 1193. <https://doi.org/10.3390/cells8101193>
- [29] Balusu, S., Van Wouterghem, E., De Rycke, R., Raemdonck, K., Stremers, S., Gevaert, K., Brkic, M., Demeestere, D., Vanhooren, V., Hendrix, A., Libert, C., & Vandenbroucke, R. E. (2016). Identification of a novel mechanism of blood-brain communication during peripheral inflammation via choroid plexus-derived extracellular vesicles. *Embo Molecular Medicine*, 8(10), 1162-1183. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606271>
- [30] Wang, G. H., Dinkins, M., He, Q., Zhu, G., Poirier, C., Campbell, A., Mayer-Proschel, M., & Bieberich, E. (2012). Astrocytes Secrete Exosomes Enriched with Proapoptotic Ceramide and Prostate Apoptosis Response 4 (PAR-4) potential mechanism of apoptosis induction in Alzheimer disease (AD). *Journal of Biological Chemistry*, 287(25), 21384-21395. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.340513>
- [31] Fader, C. M., & Colombo, M. I. (2009). Autophagy and multivesicular bodies: two closely related partners. *Cell Death and Differentiation*, 16(1), 70-78. <https://doi.org/10.1038/cdd.2008.168>
- [32] Rusten, T. E., & Simonsen, A. (2008). ESCRT functions in autophagy and associated disease. *Cell Cycle*, 7(9), 1166-1172. <https://doi.org/10.4161/cc.7.9.5784>
- [33] Meng, T., Lin, S., Zhuang, H., Huang, H., He, Z., Hu, Y., Gong, Q., & Feng, D. (2019). Recent progress in the role of autophagy in neurological diseases. *Cell Stress*, 3(5), 141-161. <https://doi.org/10.15698/cst2019.05.186>
- [34] Banerjee, R., Beal, M. F., & Thomas, B. (2010). Autophagy in neurodegenerative disorders: pathogenic roles and therapeutic implications. *Trends in Neurosciences*, 33(12), 541-549. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2010.09.001>
- [35] Guo, F., Liu, X. Y., Cai, H. B., & Le, W. D. (2018). Autophagy in neurodegenerative diseases: pathogenesis and therapy. *Brain Pathology*, 28(1), 3-13. <https://doi.org/10.1111/bpa.12545>
- [36] Pascua-Maestro, R., Gonzalez, E., Lillo, C., Ganfornina, M. D., Falcon-Perez, J. M., & Sanchez, D. (2019). Extracellular Vesicles Secreted by Astroglial Cells Transport Apolipoprotein D to Neurons and Mediate Neuronal Survival Upon Oxidative Stress. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12, Article 526. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00526>
- [37] Venturini, A., Passalacqua, M., Pelassa, S., Pastorino, F., Tedesco, M., Cortese, K., Gagliani, M. C., Leo, G., Maura, G., Guidolin, D., Agnati, L. F., Marcoli, M., & Cervetto, C. (2019). Exosomes From Astrocyte Processes: Signaling to Neurons. *Frontiers in Pharmacology*, 10, Article 1452. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01452>
- [38] Lafourcade, C., Ramirez, J. P., Luarte, A., Fernandez, A., & Wyneken, U. (2016). MiRNAs in Astrocyte-Derived Exosomes as Possible Mediators of Neuronal Plasticity. *Journal of Experimental Neuroscience*, 10, 1-9. <https://doi.org/10.4137/jen.s39916>
- [39] Schiera, G., Di Liegro, C. M., & Di Liegro, I. (2020). Cell-to-Cell Communication in Learning and Memory: From Neuro- and Glia-Transmission to Information Exchange Mediated by Extracellular Vesicles. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), Article 266. <https://doi.org/10.3390/ijms21010266>
- [40] Santello, M., Cali, C., & Bezzi, P. (2012). Gliotransmission and the Tripartite Synapse. *Synaptic Plasticity: Dynamics, Development and Disease*, 970, 307-331. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0932-8_14
- [41] Durkee, C. A., & Araque, A. (2019). Diversity and Specificity of Astrocyte-neuron Communication. *Neuroscience*, 396, 73-78. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.11.010>
- [42] Verkhatsky, A., & Nedergaard, M. (2014). Astroglial cradle in the life of the synapse. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 369(1654), Article 20130595. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0595>
- [43] van Gool, W. A., van de Beek, D., & Eikelenboom, P. (2010). Systemic infection and delirium: when cytokines and acetylcholine collide. *Lancet*, 375(9716), 773-775. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(09\)61158-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(09)61158-2)
- [44] Bernardinelli, Y., Randall, J., Janett, E., Nikonenko, I., König, S., Jones, E. V., Flores, C. E., Murai, K. K., Bochet, C. G., Holtmaat, A., & Müller, D. (2014). Activity-Dependent Structural Plasticity of Perisynaptic Astrocytic Domains Promotes Excitatory Synapse Stability. *Current Biology*, 24(15), 1679-1688. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.06.025>

Changes of the pro-hormone levels of vitamin D 25(OH)D in patients with newly diagnosed pulmonary tuberculosis treatment failure

R. M. Yasinskyi^{ID} *A,B,C,D, O. M. Raznatovska^{ID} A,C,E,F

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

Key words:

tuberculosis, treatment failure, vitamin D.

Pathologia

2020; 17 (1), 68-74

*E-mail:

phthisiologist@gmail.com

In Ukraine the number of patients with newly diagnosed tuberculosis (NTDB) who successfully complete the course of treatment reaches 60–65 % today. This is while the World Health Organization (WHO) criteria for successful treatment of this category of patients is 85 %. Scientists around the world are studying the possible pathogenetic factors of treatment failure of antimycobacterial therapy in patients with tuberculosis. Nowadays, the impact of vitamin D has been widely studied in this area. Studying of the dynamics of this indicator in patients with NDTB with widespread destructive tuberculosis in the lungs and bacterial excretion with the purpose of finding new markers of progression of a specific process and failure of treatment, as well as finding possible ways of additional pathogenetic therapy to accompany patients is actual. This approach will prevent treatment failure and, as a consequence, improve treatment efficiency.

Purpose. To determine changes in the pro-hormone levels of vitamin D 25(OH)D in patients with NDTB treatment failure during the intensive phase of antimycobacterial therapy.

Materials and methods. A prospective study involving 58 patients with NDTB lungs was performed. The patients were divided into 2 groups: 28 patients with pulmonary NDTB treatment failure were included in the 1st group (the main group), 30 patients, who subsequently successfully completed the course of treatment were included in the 2nd group (comparison group). The control group consisted of 29 healthy volunteer-donors. All the patients had been in inpatient treatment in Communal Institution “Zaporizhzhia Regional TB Clinical dispensary” during 2017–2019 years. Scientific medical-laboratory center of Zaporizhzhia State Medical University researched changes of the level of 25(OH)D in the blood serum by method of enzyme linked immunosorbent assay using immunoassay analyser Sirio S with “DIAsource ImmunoAssays S.A.” kit (Belgium) (ng/ml). Blood sampling was made after an overnight fast. Blood was collected uniformly throughout the year in all patients and volunteers to avoid the effect of seasonal variability in vitamin D in the blood.

Results. While healthy volunteers have a reduction in the level of pro-hormone 25(OH)D only in 51.7 % of cases (deficiency in 13.8 % and insufficiency in 37.9 %), patients with NDTB with generalized specific process in the lungs, the presence of destruction of over 3 cm in diameter and bacterial excretion at the beginning of intensive phase of antimycobacterial therapy (0 doses), have its decrease in 96.5 % (81 % deficiency and 15.5 % insufficiency). 1/3 of patients (35.7 % at the 0th dose and 32.1 % at the 90th dose) with tuberculosis treatment failure have pro-hormone levels 25(OH)D less than 7 ng/ml, whereas in patients who successfully completed the course of treatment, this concentration of pro-hormone 25(OH)D was not even diagnosed. In the dynamics, after 3 months of intensive phase of antimycobacterial therapy (90 doses) in patients with NDTB treatment failure the levels of pro-hormone 25(OH)D continue to decrease significantly by 1.3 times relative to the initial values, which is 1.4 times lower than in patients who successfully completed the course of treatment.

Conclusions. In the vast majority of patients with NDTB of lungs with a risk of ineffective treatment, a pronounced deficiency of vitamin D (1/3 patients with pro-hormone levels 25(OH)D less than 7 ng/ml) is determined at the beginning of treatment, and after 3 months of the intensive phase of antimycobacterial chemotherapy exacerbates vitamin D deficiency. Therefore, this indicator can be used as a prognostic for the tuberculosis treatment failure and reducing the level of pro-hormone 25(OH)D in the dynamics require consideration of the problem of methods of its correction by the addition of vitamin D.

Ключові слова:

туберкульоз, невдача лікування, вітамін D.

Патологія. 2020.

Т. 17, № 1(48).
С. 68-74

Зміни рівнів прогормона вітаміну D 25(OH)D у хворих на неефективно лікований уперше діагностований туберкульоз легень

Р. М. Ясінський, О. М. Разнатовська

В Україні частка хворих на вперше діагностований туберкульоз (ВДТБ), які успішно завершують курс лікування, становить 60–65 %, а критерій Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) успішного лікування таких пацієнтів – 85 %. Світова наукова спільнота вивчає можливі патогенетичні чинники невдачі антимікобактеріальної терапії у хворих на туберкульоз. У цьому аспекті нині широко вивчають вплив вітаміну D. Актуальним є вивчення динаміки цього показника у хворих на ВДТБ із поширеним деструктивним туберкульозним процесом у легенях і бактеріовиділення для пошуку нових маркерів прогресування специфічного процесу та невдачі лікування, а також для з'ясування можливих шляхів додаткової патогенетичної терапії супроводу хворих. Такий підхід дає можливість запобігти невдачі лікування та, як наслідок, сприятиме підвищенню ефективності лікування.

Мета роботи – визначити зміни рівнів прогормона вітаміну D 25(OH)D у хворих на неефективно лікований ВДТБ легень у процесі інтенсивної фази антимікобактеріальної терапії.

Матеріали та методи. Виконали проспективне дослідження, в яке залучили 58 хворих на ВДТБ легень. Пацієнтів поділили на 2 групи: у 1 (основну) включили 28 осіб із неефективно лікованим ВДТБ легень, у 2 групу (порівняння) – 30

хворих, які згодом успішно завершили курс лікування. Контрольну групу утворили 29 здорових донорів-волонтерів. Усі пацієнти перебували на стаціонарному лікуванні в КУ «Запорізький обласний протитуберкульозний клінічний диспансер» у 2017–2019 рр. Дослідження рівнів прогормона вітаміну D 25(OH)D здійснили в Навчальному медико-лабораторному центрі Запорізького державного медичного університету методом твердофазного імуноферментного аналізу, використовуючи імуноферментний рідер Sirio S і набори «DIAsource ImmunoAssays S.A.» (Бельгія), (нг/мл). Зразки крові пацієнтів брали вранці натще. У всіх хворих та у волонтерів кров брали рівномірно протягом року для уникнення впливу сезонної варіабельності вітаміну D у крові.

Результати. У здорових волонтерів зниження рівня прогормона 25(OH)D визначили тільки у 51,7 % випадків (дефіцит – у 13,8 %, недостатність – у 37,9 %). У хворих на ВДТБ легень із поширеним специфічним процесом у легенях, наявністю деструкцій понад 3 см у діаметрі та бактеріовиділенням на початку інтенсивної фази антимікобактеріальної терапії (0 доз) зниження рівня прогормона 25(OH)D діагностували у 96,5 % (у 81 % – дефіцит, у 15,5 % – недостатність). 1/3 хворих (35,7 % на 0 дозі та 32,1 % на 90 дозі) з неефективно лікованим туберкульозом мають рівні прогормона 25(OH)D менші ніж 7 нг/мл, а у хворих, які успішно завершили курс лікування, таку концентрацію прогормона 25(OH)D навіть не визначали. У динаміці, через 3 місяці інтенсивної фази антимікобактеріальної терапії (90 доз), у хворих на неефективно лікований ВДТБ легень рівні прогормона 25(OH)D вірогідно продовжують знижуватися в 1,3 раза щодо початкових значень; це в 1,4 раза менше ніж показники пацієнтів, які успішно завершили курс лікування.

Висновки. У більшості хворих на ВДТБ легень із ризиком неефективного лікування визначали виразний дефіцит вітаміну D (у 1/3 хворих рівні прогормона 25(OH)D менші ніж 7 нг/мл) на початку лікування, а через 3 місяці інтенсивної фази антимікобактеріальної хіміотерапії поглиблюється дефіцит вітаміну D. Отже, цей показник можна застосовувати як прогностичний щодо неефективного лікування туберкульозу, а зниження рівня прогормона 25(OH)D у динаміці потребує з'ясування доцільності методів його корекції шляхом додавання препаратів вітаміну D.

Изменения уровней прогормона витамина D 25(OH)D у больных неэффективно леченым впервые диагностированным туберкулезом легких

Р. Н. Ясинский, Е. Н. Разнатовская

В Украине доля больных с впервые диагностированным туберкулезом легких (ВДТБ), которые успешно заканчивают курс лечения, составляет 60–65 %, а критерий Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) успешного лечения этой категории пациентов составляет 85 %. Ученые всего мира изучают возможные патогенетические факторы неудачи антимикобактериальной терапии у больных туберкулезом. В этом аспекте широко изучают влияние витамина D. Актуально изучение динамики этого показателя у больных ВДТБ с распространенным деструктивным туберкулезным процессом в легких и бактериовыделением для поиска новых маркеров прогрессирования специфического процесса и неэффективного лечения, а также установления возможных путей дополнительной патогенетической терапии сопровождения больных. Такой подход позволит предупредить неудачу лечения и, как следствие, будет способствовать повышению эффективности лечения.

Цель работы – определить изменения уровней прогормона витамина D 25(OH)D у больных с неэффективно леченым ВДТБ легких в процессе интенсивной фазы антимикобактериальной терапии.

Материалы и методы. Выполнено проспективное исследование, в которое вошли 58 больных ВДТБ легких. Пациентов поделили на 2 группы: 1 (основная) – 28 пациентов с неэффективно леченым ВДТБ легких; 2 группа (сравнения) – 30 пациентов, которые потом успешно завершили курс лечения. Контрольную группу составили 29 здоровых доноров-волонтеров. Все пациенты находились на стационарном лечении в КУ «Запорожский областной противотуберкулезный клинический диспансер» в период 2017–2019 гг. Исследование уровней прогормона витамина D 25(OH)D выполнили в Учебном медико-лабораторном центре Запорожского государственного медицинского университета методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием иммуноферментного ридера Sirio S и наборов «DIAsource ImmunoAssays S.A.» (Бельгия), (нг/мл). Образцы крови пациентов брали утром натощак. У всех больных и у волонтеров кровь собирали равномерно в течение года для избегания влияния сезонной вариабельности витамина D в крови.

Результаты. У здоровых волонтеров снижение уровня прогормона 25(OH)D установлено только в 51,7 % случаев (дефицит – в 13,8 %, недостаточность – в 37,9 %). У больных ВДТБ с распространенным специфическим процессом в легких, с наличием деструкций более 3 см в диаметре и бактериовыделением в начале интенсивной фазы антимикобактериальной терапии (0 доз) снижение прогормона 25(OH)D установлено у 96,5 % (у 81 % – дефицит, у 15,5 % – недостаточность). 1/3 больных (35,7 % на 0 дозе и 32,1 % на 90 дозе) с неэффективно леченым туберкулезом имеют уровни прогормона 25(OH)D меньше 7 нг/мл. У больных, которые успешно завершили курс лечения, такая концентрация прогормона 25(OH)D даже не диагностирована. В динамике, через 3 месяца интенсивной фазы антимикобактериальной терапии (90 доз), у больных с неэффективно леченым ВДТБ легких уровни прогормона 25(OH)D достоверно продолжают снижаться в 1,3 раза относительно начальных значений; это в 1,4 раза ниже относительно показателей пациентов, которые успешно завершили курс лечения.

Выводы. У большинства больных ВДТБ легких с риском неэффективного лечения установлен выраженный дефицит витамина D (у 1/3 пациентов уровни прогормона 25(OH)D меньше 7 нг/мл) в начале лечения, а через 3 месяца интенсивной фазы антимикобактериальной химиотерапии усугубляется дефицит витамина D. Таким образом, этот показатель можно использовать как прогностический касательно неэффективного лечения туберкулеза, а снижение уровня прогормона 25(OH)D в динамике обуславливает необходимость рассмотрения вопроса целесообразности методов его коррекции путем добавления препаратов витамина D.

Ключевые слова:
туберкулез,
неудача лечения,
витамин D.

Патология. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 68-74

Table 1. The study groups distribution by age and gender

Indicator	The 1 st group (n = 28)	The 2 nd group (n = 30)	The control group (n = 29)
Men	20 (71.4 %)	23 (76.7 %)	19 (65.6 %)
Women	8 (28.6 %)	7 (23.3 %)	11 (34.4 %)
Average age, years	46.04 ± 2.09	43.0 ± 3.48	42.2 ± 2.9

Newly diagnosed tuberculosis (NTDB) treatment failure is established in the patient according to the Ukrainian unified clinical guide of medical care (UUCGMC) "Tuberculosis" [1]. In Ukraine the number of patients with NTDB who successfully complete the course of treatment reaches 60–65 % today [2]. This is while the World Health Organization (WHO) criteria for successful treatment of this category of patients is 85 %. The most important of causes of treatment failure are lack of adherence to treatment [2] and late detection of tuberculosis (when patients are diagnosed with massive bacterial excretion, a generalized process in the lungs and destructions) [3]. Ukrainian scientists mention [4] that changing the structure of clinical forms of tuberculosis toward widespread and acute-progressing forms will further reduce the effectiveness of treatment. At the same time, scientists around the world are studying the possible pathogenetic factors of treatment failure of antimycobacterial therapy (AMBT) in patients with tuberculosis. Nowadays, the impact of vitamin D has been widely studied in this area.

The following mechanisms of regulation of the immune response by vitamin D in patients with tuberculosis have been established: activates macrophages, promotes the enhancement of antimycobacterial action of cathelicidin and γ -interferon, activates oxidative stress [5]. It is believed that the gold standard for determining the content of this vitamin is the evaluating of the concentration of pro-hormone vitamin D – 25(OH)D [6].

Povorozniuk V. V et al. indicate that the vast majority of the population of Ukraine (81.8 %) has a deficiency of vitamin D and 4.6 % inhabitants – insufficiency [6].

When comparing the levels of vitamin D pro-hormone in infected individuals and patients with active tuberculosis, the findings of the scientists have differences. Aibana O. et al. [5] and Gurjav U. et al. [7] on the basis of the obtained data argue that low levels of vitamin D in people with latent tuberculosis infection contribute to the development of active disease. Hong Y. et al. [8] note significantly lower levels of 25(OH)D in patients than in infected individuals. Ashenafi S. et al. [9] indicate that there is no difference between vitamin D pro-hormone levels between the compared contingents.

Wang Q. Z. et al. [10] indicate that patients with active tuberculosis with very low pro-hormone 25(OH)D levels (less than 8.5 ng/ml) have more severe disease symptoms. Memon A. et al. [11] detect a deficiency of pro-hormone vitamin D in the blood of patients with pulmonary tuberculosis with bacterial excretion and the presence of destructions.

In contrast to foreign authors, the role of vitamin D in the course of tuberculosis in children [12] and in adults with comorbid tuberculosis/chronic obstructive pulmonary disease [13] has been studied by Ukrainian scientists.

Both articles point to the important role of vitamin D in pathogenesis of tuberculosis. However, there are no data available in domestic literature about the dynamics of vitamin D levels in treatment failure newly diagnosed tuberculosis patients in dynamics.

Thus, due to the data on the predominantly low levels of vitamin D in Ukrainian population and the effect of pro-hormone 25(OH)D on the course of tuberculosis, studying of the dynamics of this indicator in patients with NTDB with widespread destructive tuberculosis in the lungs and bacterial excretion with the purpose of finding new markers of progression of a specific process and failure of treatment, as well as finding possible ways of additional pathogenetic therapy to accompany patients is actual. This approach will prevent treatment failure and, as a consequence, improve treatment efficiency.

Aim

To determine changes in the pro-hormone levels of vitamin D 25(OH)D in patients with NTDB treatment failure during the intensive phase of AMBT.

Materials and methods

A prospective study involving 58 patients with NTDB lungs was performed. The patients were divided into 2 groups: 28 patients with pulmonary NTDB treatment failure were included in the 1st group (the main group), 30 patients, who subsequently successfully completed the course of treatment were included in the 2nd group (comparison group). The control group consisted of 29 healthy volunteer-donors.

The age and gender of people in groups did not differ significantly (Table 1).

All the patients had been in inpatient treatment in Communal Institution "Zaporizhzhia Regional TB Clinical dispensary" during 2017–2019 years. Patients had been included in the study after signing the informed and voluntary consent. The study was approved by Commission for Bioethics of Zaporizhzhia State Medical University (Protocol № 1 of 02.02.2017).

Scientific medical-laboratory center of Zaporizhzhia State Medical University researched changes the level of 25(OH)D in the blood serum by method of enzyme linked immunosorbent assay using immunoassay analyser Sirio S with "DIAsource ImmunoAssays S.A." kit (Belgium) (ng/ml). Blood sampling was made after an overnight fast. Blood was collected uniformly throughout the year in all patients and volunteers to avoid the effect of seasonal variability in vitamin D in the blood.

Entry criteria: newly diagnosed pulmonary tuberculosis, widespread pulmonary tuberculous process (infiltrative and disseminated), destructions in the pulmonary tissue over than 3 cm long and bacteriological proof.

Exclusionary criteria: other cases of the 2nd categoria [1], chemoresistant tuberculosis, co-infection (TB/HIV), comorbidities, age over 70 years, non-compliance for treatment.

Since the widespread pulmonary tuberculous process was diagnosed in the 1st and 2nd groups' patients, an intensive phase (IP) for patients was 90

Table 2. Distribution of patients in groups depending on the concentration of pro-hormone 25(OH)D at its low values

Concentration of pro-hormone 25(OH)D	The 1 st group (n = 28)				The 2 nd group (n = 30)			
	0 doses		90 doses		0 doses		90 doses	
	abs.	%	abs.	%	abs.	%	abs.	%
<10 ng/ml	11	39.3	11	39.3	8	26.7	8	26.7
<9 ng/ml	10	35.7	10	35.7	4	13.3	8	26.7
<8 ng/ml	10	35.7	10	35.7	4	13.3	6	20
<7 ng/ml	10	35.7*	9	32.1 [#]	0	0	0	0

*: a significant difference between indicators of groups at the 0 doses, $P < 0.05$; #: a significant difference between indicators of groups at the 90 doses, $P < 0.05$.

doses. Therefore, treatment efficacy was evaluated in 3 months according to the Unified medical care protocol "Tuberculosis" [1].

Pro-hormone vitamin D 25(OH)D level was conducted at the beginning of IP of the treatment (0 doses) and at the end of IP (after 3 months of the treatment – 90 doses).

Statistica for Windows 13.0 (Copyright 1984–2018 TIBCO Software Inc. All rights reserved. Licence № JPZ8041382130ARCN10-J) software was used for the statistical analysis. Normality of distribution of the quantitative indicators was performed by Shapiro–Wilk test. Research evidence are submitted in a form $M \pm m$, where M stands for average mean, m stands for mean error. The statistical significance of differences between groups was determined using Student's T-test (since the normality of distribution of the quantitative indicators was performed). The significance of the difference in the distribution of indicators (the distribution of patients in study groups in dynamics of treatment depending on the status of pro-hormone 25(OH)D) between groups was determined by comparison of frequencies. To compare qualitative indicators (distribution of patients in groups depending on the concentration of pro-hormone 25(OH)D at its low values) used the method of χ -squares with Yates correction. The results considered to be significant only if the P -value was lower than 0.05.

Results

Given that the concentration of pro-hormone 25(OH)D less than 20 ng/ml is a deficiency of vitamin D, and the concentration of 21–29 ng/ml is its insufficiency [5], the distribution of patients in the study groups during treatment depending on the status of pro-hormone 25(OH)D was done (Fig. 1).

As we can see, healthy volunteers had pro-hormone 25(OH)D deficiency only in 4 people (13.8 %) and its insufficiency in 11 (37.9 %). This indicator was normal in almost half of the people – 17 (48.3 %). Analyzing the data of patients, it was found that the frequency of both pro-hormone 25(OH)D deficiency and its insufficiency was almost the same and did not differ significantly in patients of both groups 1 and 2 at the beginning of IP of AMBT (0 doses). Thus, in the vast majority of the 1st and 2nd groups' patients there was a pro-hormone 25(OH)D deficiency (in 22 (78.6 %) and 25 (89.3 %) patients, respectively), which is significantly more frequent than in healthy volunteers: by 5.6 times ($P < 0.01$) in the 1st group and by 5.3 times ($P < 0.01$) in the 2nd group. However, the frequency of pro-hormone 25(OH)D insufficiency in patients of the 1st

and 2nd groups was lower but not significantly than in healthy volunteers: by 2.6 times in the 1st group and by 2.2 times in the 2nd group (in 4 (14.3 %) in the 1st group and in 5 (16.7 %) in the 2nd group versus 11 (37.9 %) in control group, $P > 0.05$).

At the end of IP of AMBT (90 doses) there were no patients with vitamin D insufficiency in the 1st group who had treatment failure ($P < 0.05$ compared to control group), on the other hand, the frequency of its deficiency increased by 10.7 (25 (89.3 % compared to 22 (78.3 %); $P > 0.05$) and this index normalized by 3.6 % (3 (10.7 %) against 2 (7.1 %); $P > 0.05$).

In patients who successfully completed IP of AMBT (90 doses) the frequency of persons with normal level of pro-hormone 25(OH)D was decreased by 3.3 % (2 patients (6.7 %) versus 3 (10 %); $P > 0.05$) and frequency of sick people with its insufficiency was reduced by 3.4 % (4 (13.3 %) against 5 (16.7 %); $P > 0.05$), instead the frequency of its deficit increased by 6.7 % (24 patients (80 %) at the beginning against 22 (73.3 %) at the end of IP; $P > 0.05$).

Based on the data of previous studies [10], that in patients with active tuberculosis with very low values of pro-hormone 25(OH)D (less than 8.5 ng/ml) more severe symptoms occur, the distribution of patients in groups depending on the concentration of pro-hormone 25(OH)D at its low values was done (Table 2). The proportion of patients with an appropriate concentration 10 ng/ml and below was evaluated. The concentration of pro-hormone 25(OH)D 10 ng/ml and below was not diagnosed in healthy volunteers.

It was found that the number of patients in group 1 with 25(OH)D level less than 7 ng/ml at the beginning of treatment and after 3 months reached more than 1/3 of patients (35.7 % and 32.1 % respectively), which is reliable distinguished patients from those who successfully completed the course of treatment (group 2), where such a concentration of pro-hormone 25(OH)D (<7 ng/ml) was not even diagnosed.

Comparing the levels of pro-hormone 25(OH)D in patients at the beginning of treatment (0 doses), it was found that they were reduced by 2.1 times in group 1 and by 1.7 times – in group 2 of patients relative to the corresponding indicator in the control (14.5 ± 2.55 ng/ml and 18.28 ± 2.77 ng/ml versus 31.04 ± 2.73 ng/ml; $P < 0.01$), (Fig. 2).

The dynamics showed a decrease in the levels of pro-hormone 25(OH)D in both groups, but a significant decrease by 1.3 times occurred in patients of 1 group (14.5 ± 2.55 ng/ml versus 10.9 ± 1.18 ng/ml; $P < 0.05$ and 18.28 ± 2.77 ng/ml versus 15.48 ± 2.3 ng/ml; $P > 0.05$).

After 3 months of treatment (90 doses), the levels of pro-hormone 25(OH)D remained lower in both groups

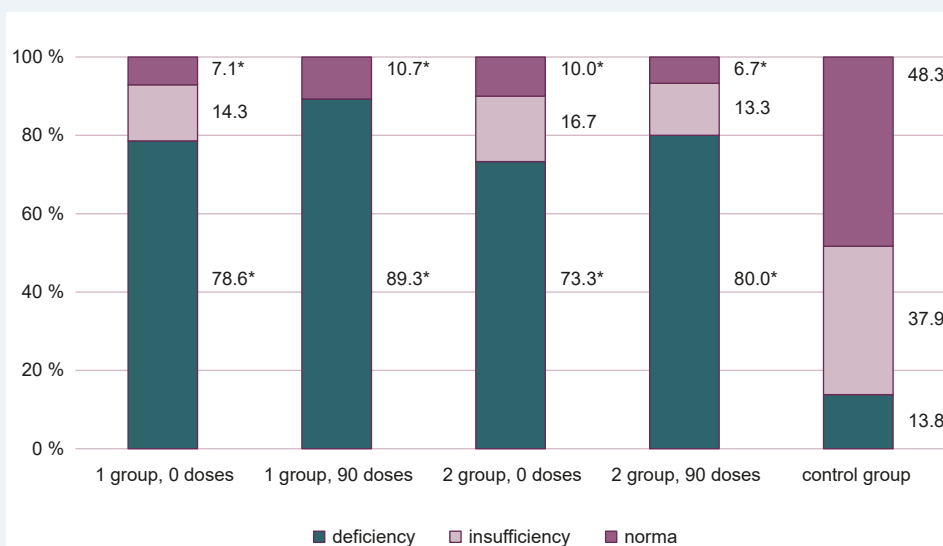


Fig. 1. Distribution of patients in groups in dynamics depending on pro-hormone 25(OH)D status, %.

*: a significant difference between indicators related to the control group, $P < 0.05$.

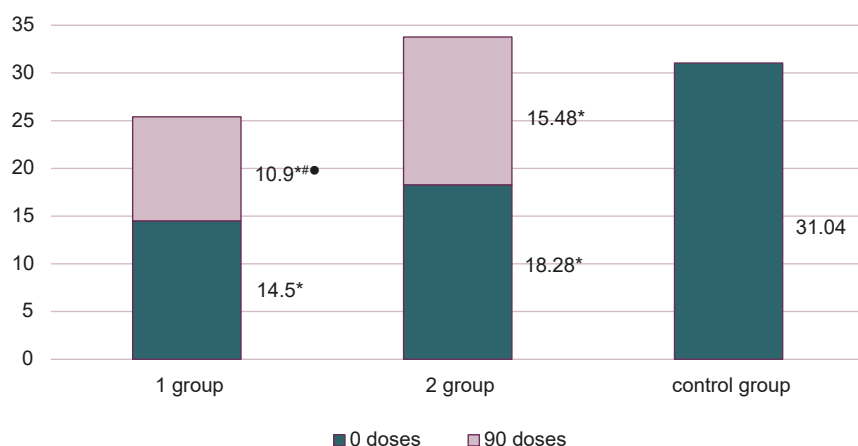


Fig. 2. Pro-hormone 25(OH)D levels in groups during treatment, ng/ml.

*: significant difference between indicators at the 0 and 90 doses related to the control group, $P < 0.05$;

#: significant difference between indicators in dynamics within one group, $P < 0.05$;

*.: significant difference between indicators at the 0 and 90 doses between 1 and 2 groups, $P < 0.05$.

compared to controls: by 2.8 times for 1 group and by 2 times for 2 group (10.9 ± 1.18 ng/ml and 15.48 ± 2.3 ng/ml against 31.04 ± 2.73 ng/ml; $P < 0.001$).

Comparing the levels of pro-hormone 25(OH)D after 3 months of treatment (90 doses) between 1 and 2 groups, it was found that in 1 group it was by 1.4 times lower: 10.9 ± 1.18 ng/ml against 15.48 ± 2.3 ng/ml; $P < 0.05$.

Discussion

It was found that there are 56 (96.5 %) patients with low levels of pro-hormone 25(OH)D, of which 47 people (81 %) have a deficiency and 9 (15.5 %) have a insufficiency among 58 patients with NDTB of lungs with generalized pulmonary involvement, destruction of lung tissue over 3 cm in diameter and with bacteriological proof (which is a risk of treatment failure) at the beginning of IP of AMBT (0 doses). These results confirmed the findings of previous studies [11], but Memon A. et al. determined this indicator in patients with NDTB with bacterial excretion and the presence of destruction, regardless of the size of affected lungs' areas. At the same time, we found that more than 1/3

of patients who will have treatment failure have levels of 25(OH)D below 7 ng/ml.

A further significant decrease in the level of pro-hormone 25(OH)D by 1.3 times in patients with treatment failure and a its decrease (but not significant) in patients who successfully completed the course of treatment in dynamics in patients with NDTB of lungs was determined. Tukvadze N. et al. [14] found that the levels of pro-hormone 25(OH)D did not change during treatment in patients receiving AMBT (both at the 60th and 90th doses), but the researchers examined patients with bacterial excretion, which in 78.8 % of cases had no destruction in the lungs. Mily A. et al. [15] also did not detect changes in vitamin D pro-hormone levels after IP of AMBT completion (90 doses). The opposite results were obtained by Sloan D. J. et al. [16] and Tostmann A. et al. [17], who received data that after 2 months of IP of AMBT (60 doses) vitamin D levels increased in patients. The authors attribute this to the fact that in the course of treatment in patients improves nutrition and general clinical condition, which contributes to an increase in time spent on the street and, as a consequence, increases the supply of vitamin D to the body.

Hazan Z. et al. [18] obtained results similar to ours, they found that pro-hormone 25(OH)D levels in patients

with bacterial excretion were significantly reduced within 3 months in patients who had deficiency, insufficiency, and normal values. The authors explained this effect by antimycobacterial drugs of the first line (isoniazid, rifampicin, pyrazinamide, ethambutol) impact on the metabolism of vitamin D. However, data on this effect on vitamin D metabolism are controversial. Thus, some researchers have found that isoniazid and rifampicin promote the increase in serum levels of pro-hormone 25(OH)D [19]. Others have found that first-line drugs so affect the metabolism of vitamin D, which reduce the vitamin D-induced production of cathelicidin by macrophages [20].

Considering the fact that the pro-hormone 25(OH)D levels after 3 months of IP of AMBT (90 doses) in patients who failed treatment were 1.4 times lower than in patients who successfully completed the course of treatment. This is despite the fact that all patients received the same standardized AMBT. Therefore, it is likely that not only drugs have an effect on vitamin D metabolism. We believe that due to the generalized tuberculosis and presence of the destruction over 3 cm and bacterial excretion, vitamin D is actively involved in the protection against tuberculosis and therefore the concentration of pro-hormone 25(OH)D in the serum is reduced, especially if immune answer is insufficient to stabilize the process after 3 months of treatment with antimycobacterial drugs and treatment failure is diagnosed.

Conclusions

1. While healthy volunteers have a reduction in the level of pro-hormone 25(OH)D only in 51.7 % of cases (deficiency in 13.8 % and insufficiency in 37.9 %), patients with NDTB with generalized specific process in the lungs, the presence of destruction of over 3 cm in diameter and bacterial excretion at the beginning of IP of AMBT (0 doses), have its decrease in 96.5 % (81 % deficiency and 15.5 % insufficiency).

2. 1/3 of patients (35.7 % at the 0th dose and 32.1 % at the 90th dose) with tuberculosis treatment failure have pro-hormone levels 25(OH)D less than 7 ng/ml, whereas in patients who successfully completed the course of treatment, this concentration of pro-hormone 25(OH)D was not even diagnosed.

3. In the dynamics, after 3 months of IP of AMBT (90 doses) in patients with NDTB treatment failure the levels of pro-hormone 25(OH)D continue to decrease significantly by 1.3 times relative to the initial values, which is 1.4 times lower than in patients who successfully completed the course of treatment.

Thus, in the vast majority of patients with NDTB of lungs with a risk of ineffective treatment, a pronounced deficiency of vitamin D (1/3 patients with pro-hormone levels 25(OH)D less than 7 ng/ml) is determined at the beginning of treatment, and after 3 months of the intensive phase of antimycobacterial chemotherapy exacerbates vitamin D deficiency. Therefore, this indicator can be used as a prognostic for the tuberculosis treatment failure and reducing the level of pro-hormone 25(OH)D in the dynamics require consideration of the problem of methods of its correction by the addition of vitamin D.

Prospects for further scientific research. To develop an algorithm for managing this category of patients in order to reduce the number of treatment failures and increase the effectiveness of antimycobacterial therapy.

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

Надійшла до редакції / Received: 25.11.2019

Після доопрацювання / Revised: 10.12.2019

Прийнято до друку / Accepted: 11.12.2019

Information about authors:

Yasynskiy R. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Phthysiology and Pulmonology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0003-4132-731X

Raznatovska O. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Phthysiology and Pulmonology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0003-2252-9063

Відомості про авторів:

Ясінський Р. М., канд. мед. наук., доцент каф. фтизіатрії і пульмонології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Разнатовська О. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. фтизіатрії і пульмонології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Ясинский Р. Н., канд. мед. наук, доцент каф. фтизиатрии и пульмонологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Разнатовская Е. Н., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. фтизиатрии и пульмонологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- [1] Ministry of Health of Ukraine. (2014, September 4). *Unifikovanyi klinichnyi protocol pervynnoi, vtorynnoi (spetsializovanoi) ta tretynnoi (vysokospetsializovanoi) medychnoi dopomohy. Tuberkuloz. Nakaz MOZ 04.09.2014 No. 620* [Unified clinical protocol for primary, secondary (specialized) and tertiary (highly specialized) medical care for adults. Tuberculosis (No. 620)]. <https://zakon.rada.gov.ua/rada/file/text/?f434621n28.pdf>
- [2] Feshenko, Yu. I. (2019). Suchasni tendentsii vyvchennia problem tuberkulozu [Current trends in the study of tuberculosis problems]. *Ukrainskyi pulmonologichnyi zhurnal – Ukrainian Pulmonary Journal*, (1), 8-24 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.312.15/2306-4927-2019-103-1-8-24>
- [3] Melnyk, V. M., Novozhylova, I. O., & Matushevych, V. H. (2019). Problema nyzkoi efektyvnosti likuvannia khvorykh na tuberkuloz lehen [The problem of low efficiency of treatment of patients with pulmonary tuberculosis]. *Ukrainskyi pulmonologichnyi zhurnal – Ukrainian Pulmonary Journal*, (1), 25-32 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.312.15/2306-4927-2019-103-1-25-32>
- [4] Feshchenko, Yu. I., Todoriko, L. D., Kuzhko, M. M., & Humeniuk, M. I. (2018). Patomorfoz tuberkulozu – realii sohodennia, khimiorезystentnist, yak oznaka prohresuvannia [Tuberculosis pathomorphosis – the realities of today, chemoresistance as a sign of progression]. *Ukrainskyi pulmonologichnyi zhurnal – Ukrainian Pulmonary Journal*, (2), 6-10 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.31215/2306-4927-2018-100-2-6-10>
- [5] Aibana, O., Huang, C. C., Aboud, S., Arnedo-Pena, A., Becerra, M. C., Bellido-Blasco, J., ... Murray, M. B. (2019). Vitamin D status and risk of incident tuberculosis disease: A nested case-control study, systematic review, and individual-participant data meta-analysis. *Plos Medicine*, 16(9), Article e1002907. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002907>
- [6] Povorozniuk, V. V., Balatska, N. I., Muts, V. Ya., & Vdovina, O. A. (2011). Defitsyt ta nedostatnist vitaminu D u zhyteliv Ukrainy [Vitamin D deficiency and insufficiency in the population of Ukraine]. *Bol. Sustavy. Pozvonochnik – Pain. Joints. Spine*, (4), 5-13 [in Ukrainian].

- [7] Gurjav, U., Ankhbat, M., Ganbaatar, G., Batjarga, K., Ochirbat, B., Baigal, D., Jargalsaikhan, B., Munkhjargal, O., Bolormaa, S., Yansanjav, N., Luvsanyandan, N., Dorj, G., Dambaa, N., Bromage, S., & Ganmaa, D. (2019). Vitamin D deficiency is associated with tuberculosis infection among household contacts in Ulaanbaatar, Mongolia. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 23(8), 919-923. <https://doi.org/10.5588/ijtld.19.0047>
- [8] Hong, Y., Kim, Y., Lee, J. J., Lee, M. G., Lee, C. Y., Heo, J., Han, S. S., Lee, S. J., Kim, W. J., & Hong, J. Y. (2019). Levels of vitamin D-associated cytokines distinguish between active and latent tuberculosis following a tuberculosis outbreak. *Bmc Infectious Diseases*, 19, Article 151. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-3798-5>
- [9] Ashenafi, S., Mazurek, J., Rehn, A., Lemma, B., Aderaye, G., Bekele, A., Assefa, G., Chanyalew, M., Aseffa, A., Andersson, J., Bergman, P., & Brighenti, S. (2018). Vitamin D-3 Status and the Association with Human Cathelicidin Expression in Patients with Different Clinical Forms of Active Tuberculosis. *Nutrients*, 10(6), Article 721. <https://doi.org/10.3390/nu10060721>
- [10] Wang, Q. Z., Liu, Y. F., Ma, Y., Han, L., Dou, M., Zou, Y., Sun, L. M., Tian, H., Li, T. X., Jiang, G. F., Du, B. L., Kou, T. Y., Song, J. Q., Kok, F. J., & Schouten, E. G. (2018). Severe hypovitaminosis D in active tuberculosis patients and its predictors. *Clinical Nutrition*, 37(3), 1034-1040. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.04.018>
- [11] Memon, A., Raqeeb, A., Humaira, M., & Khoharo, H. K. (2016). Vitamin D-3 in Newly Diagnosed Pulmonary Tuberculosis Patients: A Comparative Case Control Study. *Journal of the Liaquat University of Medical and Health Sciences*, 15(1), 16-20.
- [12] Mykolyshyn, L. I., Piskur, Z. I., Didyk, Y. Y., & Sikirynska, O. S. (2016). Klinichni parametry vitaminu D pry tuberkulozi u ditei [Clinical parameters of vitamin D in tuberculosis in children]. *Tuberkuloz, lehenevi khvoroby, VIL infektsiia*, (4), 32-38. [in Ukrainian].
- [13] Cherenko, S. O. (2012). Tuberkuloz i khronichne obstruktyvne zakhvoriuvannya lehen – spilni mekhanizmy patohenezu ta vplyv vitaminu D na yikh perebih [Tuberculosis and chronic obstructive pulmonary disease – common mechanisms of pathogenesis and the impact of vitamin D on their course]. *Ukrainskyi khimioterapevtychnyi zhurnal*, (1-2), 91-97. [in Ukrainian].
- [14] Tukvadze, N., Sanikidze, E., Kipiani, M., Hebbar, G., Easley, K. A., Shenvi, N., Kempker, R. R., Frediani, J. K., Mirtskhulava, V., Alvarez, J. A., Lomtadze, N., Vashakidze, L., Hao, L., Del Rio, C., Tangpricha, V., Blumberg, H. M., & Ziegler, T. R. (2015). High-dose vitamin D-3 in adults with pulmonary tuberculosis: a double-blind randomized controlled trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, 102(5), 1059-1069. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.113886>
- [15] Mily, A., Rekha, R. S., Kamal, S. M. M., Arifuzzaman, A. M., Rahim, Z., Khan, L., Haq, M. A., Zaman, K., Bergman, P., Brighenti, S., Gudmundsson, G. H., Agerberth, B., & Raqib, R. (2015). Significant Effects of Oral Phenylbutyrate and Vitamin D3 Adjunctive Therapy in Pulmonary Tuberculosis: A Randomized Controlled Trial. *Plos One*, 10(9), Article e0138340. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138340>
- [16] Sloan, D. J., Mwandumba, H. C., Kamdolozi, M., Shani, D., Chisale, B., Dutton, J., Khoo, S. H., Allain, T. J., & Davies, G. R. (2015). Vitamin D deficiency in Malawian adults with pulmonary tuberculosis: risk factors and treatment outcomes. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 19(8), 904-911. <https://doi.org/10.5588/ijtld.15.0071>
- [17] Tostmann, A., Wielders, J. P., Kibiki, G. S., Verhoef, H., Boeree, M. J., & van der Ven A. J. (2010). Serum 25-hydroxy-vitamin D3 concentrations increase during tuberculosis treatment in Tanzania. *International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 14(9), 1147-1152.
- [18] Hasan, Z., Salahuddin, N., Rao, N., Aqeel, M., Mahmood, F., Ali, F., Ashraf, M., Rahman, F., Mahmood, S., Islam, M., Dildar, B., Anwer, T., Oighor, F., Sharif, N., & Ullah, A. R. (2014). Change in serum CXCL10 levels during anti-tuberculosis treatment depends on vitamin D status. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 18(4), 466-469. <https://doi.org/10.5588/ijtld.13.0460>
- [19] Sheng, L., Xue, Y., He, X., Zhu, Y. G., Li, H. D., Wu, Y. Q., Dang, R. L., Tang, M. M., & Jiang, P. (2015). Effects of repeated administration of rifampicin and isoniazid on vitamin D metabolism in mice. *Steroids*, 104, 203-207. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2015.10.004>
- [20] Chesdachai, S., Zughaier, S. M., Hao, L., Kempker, R. R., Blumberg, H. M., Ziegler, T. R., & Tangpricha, V. (2016). The effects of first-line anti-tuberculosis drugs on the actions of vitamin D in human macrophages. *Journal of Clinical and Translational Endocrinology*, 6, 23-29. <https://doi.org/10.1016/j.jcte.2016.08.005>

Можливості сублінгвальної алерген-специфічної імунотерапії в дітей дошкільного віку з сенсibilізацією до алергенів цвілевих грибів

О. В. Шарикадзе^{*A,B,C,D}, О. М. Охотнікова^{E,F}

Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна

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

Мета роботи – визначення ефективності сублінгвальної алерген-специфічної імунотерапії (СЛІТ) у дітей дошкільного віку з сенсibilізацією до алергенів цвілевих грибів *Alternaria alternata*.

Матеріали та методи. У дослідження залучили 447 дітей віком 4.1 ± 0.9 (від 3 до 7) року з верифікованими діагнозами алергічної бронхіальної астми та/або алергічного риніту. У 58 пацієнтів (I група) з доведеною сенсibilізацією до мажорних алергенів *Alternaria alternata* оцінювали ефективність сублінгвальної алерген-специфічної імунотерапії, що тривала протягом 3 років, за допомогою візуальної аналогової шкали (ВАШ) і рівнем sIgE до мажорного компонента альтернативі Alt a1. 27 дітей (II група), які отримували тільки базисну терапію, увійшли у групу порівняння.

Результати. У пацієнтів першої групи, які протягом 3 років отримували СЛІТ, встановили вірогідне зниження носових симптомів: чхання – з 29 (26; 31) мм до 8 (6; 11) мм ($p = 0.008$); ринорея – з 29 (26; 34) мм до 5 (4; 6) мм ($p = 0.012$); свербіння – з 20 (17; 23) мм до 5 (4; 6) мм ($p = 0.002$); закладеність носа – з 29 (25; 35) мм до 7 (5; 9) мм ($p = 0.016$) порівняно з вихідним рівнем. Аналогічну динаміку визначили щодо неносових симптомів: свербіж очей, почервоніння очей і виділення з очей, – що вірогідно зменшилися (з 26 (23; 31) мм до 5 (3; 7) мм ($p = 0.007$), з 29 (26; 36) мм до 4 (3; 6) мм ($p = 0.014$) і з 29,5 мм до 5,0 (4; 7) мм ($p = 0.003$) відповідно) порівняно з вихідними значеннями. Крім того, встановили вірогідне зниження таких показників як кашель та утруднене дихання з 54 (46; 61) мм до 7 (6; 9) мм ($p = 0.013$) і з 50 (39; 57) мм до 7 (5; 9) мм ($p = 0.011$). Варто відзначити також, що на тлі 3-річної СЛІТ у пацієнтів I групи виявили вірогідно нижчі показники усіх симптомів алергопатології (за шкалою ВАШ) порівняно з пацієнтами, які були тільки на базисній терапії.

Висновки. Результати дослідження показали, що використання сублінгвальної імунотерапії в дітей із сенсibilізацією до грибів роду *Alternaria alternata* та наявністю клінічних проявів алергічного риніту і/або алергічної бронхіальної астми є ефективним і безпечним методом лікування та дає змогу швидко (протягом перших 6 місяців) досягти контролю над симптомами захворювання.

Ключові слова:

сублінгвальна імунотерапія, алерген-специфічна імунотерапія, діти, алергічна астма, цвіль *Alternaria alternata*.

Патологія. 2020.

Т. 17, № 1(48).

С. 75-79

*E-mail:

sharikadzelena@gmail.com

Possibilities of sublingual allergen-specific immunotherapy in preschool children with sensitization to mold fungus allergens

O. V. Sharikadze, O. M. Okhotnikova

Purpose. Determination of the efficacy of sublingual allergen-specific immunotherapy (SLIT) in preschool children with sensitization to allergens of mold *Alternaria alternata*.

Materials and methods. The study involved 447 children aged 4.1 ± 0.9 years (from 3 to 7 years old), with verified diagnoses of allergic bronchial asthma and/or allergic rhinitis. In 58 patients with proven sensitization to *Alternaria alternata* major allergens, the efficacy of sublingual allergen-specific immunotherapy (SLIT) was assessed, which was carried out for 3 years and evaluated using a visual analogue scale (VAS) and the sIgE level to the major component of *Alternaria* Alt a1. 27 children (group II) who received exclusively basic therapy were included in the comparison group.

Results. During three years, SLIT in patients of the first group showed a significant decrease in the frequency of nasal symptoms: sneezing from 29 (26; 31) mm to 8 (6; 11) mm ($P = 0.008$), rhinorrhea from 29 (26; 34) mm to 5 (4; 6) mm ($P = 0.012$), itching from 20 (17; 23) mm to 5 (4; 6) mm ($P = 0.002$) and nasal congestion from 29 (25; 35) mm to 7 (5; 9) mm ($P = 0.016$) compared with the initial level. Similar dynamics were observed with the nasal symptoms itching of the eyes, redness of the eyes and discharge from the eyes, which significantly decreased from 26 (23; 31) mm to 5 (3; 7) mm ($P = 0.007$), from 29 (26; 36) mm to 4 (3; 6) mm ($P = 0.014$) and from 29.5 mm to 5.0 (4; 7) mm ($P = 0.003$) in comparison with the initial values. Dynamics were also observed in relation to asthma symptoms, namely, the cough and shortness of breath indices reliably decreased from 54 (46; 61) mm to 7 (6; 9) mm ($P = 0.013$) and from 50 (39; 57) mm to 7 (5; 9) mm ($P = 0.011$) compared to baseline values. It should be noted that the indicators of VAS in children after the end of the SLIT course were significantly lower than those in children who received basic therapy.

Conclusions. The study showed that the use of sublingual immunotherapy in children with sensitization to mold *Alternaria alternata* and the presence of clinical manifestations of allergic rhinitis and / or allergic bronchial asthma, is an effective and safe treatment method and allows to gain control over symptoms of the disease quickly (within the first 6 months).

Key words:

sublingual immunotherapy, immunologic desensitization, children, allergic asthma, mold *Alternaria alternata*.

Pathologia

2020; 17 (1), 75-79

Ключевые слова:

сублингвальная
иммунотерапия,
аллерген-
специфическая
иммунотерапия,
дети,
аллергическая
астма, плесень
Alternaria alternata.

Патология. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 75-79

Возможности сублингвальной аллергенспецифической иммунотерапии у детей дошкольного возраста с сенсibilизацией к аллергенам плесневых грибов

А. В. Шарикадзе, А. Н. Охотникова

Цель работы – определение эффективности сублингвальной аллерген-специфической иммунотерапии (СЛИТ) у детей дошкольного возраста с сенсibilизацией к аллергенам плесневых грибов *Alternaria alternata*.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 447 детей в возрасте $4,1 \pm 0,9$ (от 3 до 7) года с верифицированными диагнозами аллергической бронхиальной астмы и/или аллергического ринита. У 58 пациентов с доказанной сенсibilизацией к мажорным аллергенам *Alternaria alternata* оценивали эффективность сублингвальной аллерген-специфической иммунотерапии, которую проводили в течение 3 лет, с помощью визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) и по уровню slgE к мажорному компоненту альтернарии Alt a1. 27 детей (II группа), которые получали базисную терапию, вошли в группу сравнения.

Результаты. У пациентов первой группы, которые получали СЛИТ в течение 3 лет, установлено достоверное снижение носовых симптомов: чихание – с 29 (26; 31) мм до 8 (6; 11) мм ($p = 0,008$), ринорея – с 29 (26; 34) мм до 5 (4; 6) мм ($p = 0,012$), зуд – с 20 (17; 23) мм до 5 (4; 6) мм ($p = 0,002$) мм и заложенность носа – с 29 (25; 35) мм до 7 (5; 9) мм ($p = 0,016$) по сравнению с исходным уровнем. Аналогичная динамика отмечена относительно неносовых симптомов: зуд глаз, покраснение глаз и выделения из глаз, которые достоверно уменьшились (с 26 (23; 31) мм до 5 (3; 7) мм ($p = 0,007$), с 29 (26; 36) мм до 4 (3; 6) мм ($p = 0,014$) и с 29,5 мм до 5,0 (4; 7) мм ($p = 0,003$) соответственно) по сравнению с исходными значениями.

Кроме того, определено достоверное снижение таких показателей, как кашель и затрудненное дыхание с 54 (46; 61) мм до 7 (6; 9) мм ($p = 0,013$) и с 50 (39; 57) мм до 7 (5; 9) мм ($p = 0,011$). Стоит отметить, что показатели ВАШ у детей после окончания курса СЛИТ были достоверно ниже аналогичных показателей у детей, которые получали базисную терапию.

Выводы. Результаты исследования показали, что использование сублингвальной иммунотерапии у детей с сенсibilизацией к грибам рода *Alternaria alternata* и наличием клинических проявлений аллергического ринита и/или аллергической бронхиальной астмы – эффективный и безопасный метод лечения, позволяющий быстро (в течение первых 6 месяцев) достичь контроля над симптомами заболевания.

Цвілеві гриби існують майже 200 млн років. Це еукаріотичні організми, які живуть як сапрофіти, паразити або симбіонти у своїх рослинних або тваринних господарях. Поширеність цвілевих грибів у природі пов'язана з їхніми необмеженими можливостями пристосування до факторів зовнішнього середовища. Вони ростуть усередині та ззовні будинків, майже в будь-якому субстраті; оптимальні умови – за температури від 18°C до 32°C . Цвілеві гриби відрізняються невибагливістю до середовища проживання та їжі [2,6,7].

Серед грибів, які паразитують на тваринах і людині, більшість – аскоміцети. Це цвіль, що пошкоджує рослини та харчові продукти, є біодеструктором. Крім того, аскоміцети викликають IgE-залежні алергічні реакції.

Гриби роду *Alternaria* – найпоширеніші гриби аероалергени, що характеризуються розвитком сезонних піків, насамперед під час дощового сезону і з квітня до жовтня [2–4,11]. Група вчених під керівництвом David Denning показала, що понад 6,5 млн людей мають важку астму з грибковою сенсibilізацією [5]. В останні роки на території України також відзначають збільшення рівня сенсibilізації до цвілі. За даними оглядів літератури, це доведений фактор ризику розвитку алергічного риніту й астми [1].

Доведено, що підвищені рівні спорів *Alternaria* в атмосфері корелюють зі збільшенням кількості госпіталізацій і смертності від астми [9]. Незважаючи на підвищений інтерес до проблеми, досі недостатньо інформації щодо визначення рівня сенсibilізації в дітей і підлітків з астмою, ринітом та/або екземою, а також можливості використання алерген-специфічної імунотерапії в цих пацієнтів.

Мета роботи

Визначити ефективність сублингвальної алерген-специфічної імунотерапії в дітей дошкольного віку з сенсibilізацією до алергенів цвілевих грибів *Alternaria alternata*.

Матеріали і методи дослідження

Здійснили проспективне когортне дослідження 447 дітей віком $4,1 \pm 0,9$ (від 3 до 7) роки з верифікованими за критеріями Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA, 2016), Global initiative for asthma (GINA, 2016–2017) діагнозами алергічної бронхіальної астми та/або алергічного риніту протягом 3 років (2015–2017).

На кафедрі педіатрії № 1 НМАПО імені П. Л. Шупика всім дітям виконали дослідження за допомогою шкірного прик-тесту (ШПТ), використовуючи алергенні екстракти європейської панелі респіраторних алергенів Діатер (Іспанія). Сенсibilізація до *Alternaria alternata* підтверджена наявністю пухиря з діаметром понад 3 мм за наявності позитивного (понад 3 мм) тесту з гістаміном і негативного (менше ніж 3 мм) тесту з фізіологічним розчином.

Визначення специфічного IgE до мажорних алергенів *Alternaria alternata* – Alt a1 здійснювали за допомогою імунофлуоресцентного методу на базі автоматизованого аналізатора ImmunoCAP-200 в МЛ «Діла» (Київ). З метою лікування використовували лікувальні екстракти Діатер (Іспанія) для під'язикового введення, які містили алерген *Alternaria alternata* 0,175 НЕР₀ алергена в 1 мл.

Ефективність лікування оцінювали за допомогою візуальної аналогової шкали (ВАШ), показники якої

Таблиця 1. Алгоритм прогнозу сублінгвальної алерген-специфічної терапії в дітей дошкільного віку з сенсibilізацією до цвілевих грибів *Alternaria alternata*

ШПТ «+»	ШПТ «+»	ШПТ «+»/«-»
Alt a1 «+»	–	Alt a1 «-»
Висока	Середня	Низька

Таблиця 2. Показники ВАШ у дітей на тлі сублінгвальної алергенспецифічної імунотерапії та дітей групи порівняння з сенсibilізацією до цвілевих грибів

Ознака, мм (0–100)	1 група (n = 58)					2 група (n = 27)				
	До лікування	6 міс.	12 міс.	24 міс.	36 міс.	До лікування	6 міс.	12 міс.	24 міс.	36 міс.
Верхні симптоми										
Чхання ¹	29 (26; 31)	17 (14; 19)*	10 (8; 13)*	8 (6; 11)*	5 (4; 7)*	30 (27; 34)	23 (18; 25)*	19 (16; 21)*	20 (16; 23)	21 (19; 25)*
Ринорея ¹	29 (26; 34)	24 (20; 27)*	19 (17; 22)*	12 (10; 14)*	5 (4; 6)*	28 (22; 35)	22 (18; 26)*	17 (15; 22)*	24 (21; 29)	26 (23; 29)*
Свербіж носа ¹	20 (17; 23)	12 (9; 14)*	10 (8; 12)*	6 (4; 7)*	5 (4; 6)*	20 (17; 22)	14 (11; 16)	13 (11; 16)*	13 (12; 16)*	15 (11; 18)*
Закладеність носа ¹	29 (25; 35)	26 (22; 28)	20 (16; 25)*	11 (9; 14)*	7 (5; 9)*	27 (24; 30)	21 (17; 23)	18 (15; 20)	25 (20; 28)	21 (18; 23)*
Свербіж очей ²	26 (23; 31)	16 (14; 18)*	12 (9; 14)*	9,5 (8; 11)*	5 (3; 7)*	23 (20; 28)	16 (12; 19)	14 (11; 15)	22 (19; 23)	19 (16; 23)*
Почервоніння очей ²	29 (26; 36)	20,5 (17; 25)	14 (12; 17)*	11 (9; 14)*	4 (3; 6)*	29 (22; 33)	22 (16; 28)	14 (13; 18)*	23 (18; 26)	26 (21; 33)*
Виділення з очей ²	29,5 (26; 34)	20 (17; 26)	14 (12; 17)*	8 (7; 10)*	5 (4; 7)*	31 (25; 35)	22 (18; 25)	18 (15; 23)*	22 (17; 25)	29 (24; 33)*
Нижні симптоми (симптоми астми)										
Утруднене дихання	54 (46; 61)	35 (30; 41)*	14 (11; 17)*	9 (7; 11)*	7 (6; 9)*	45 (41; 51)	33 (26; 37)	28 (23; 36)*	32 (28; 47)*	40 (32; 44)*
Кашель	50 (39; 57)	34,5 (25; 41)*	22 (16; 26)*	13,5 (10; 16)*	7 (5; 9)*	55 (47; 67)	36 (33; 40)*	26 (20; 30)*	33 (29; 36)*	37 (33; 42)*

*: $p < 0,05$ – порівняно з вихідними значеннями; *: $p < 0,05$ – різниця між групами дослідження на 36 місяці терапії; 1: носові симптоми, 2: неносові симптоми.

перераховані у відповідні бали, та за динамікою рівня специфічних IgE Alt a1.

Батьки хворих і практично здорових дітей дали інформовану згоду на участь у дослідженні.

Статистичне опрацювання результатів здійснювали, застосовуючи пакет програм Statistica 10.0.228.8 (ліцензійний № 999K347150-W) та Excel версії 14.0.7237.5000 (Microsoft Corp., USA). Непараметричний тест Wilcoxon's використовували для порівняння показників у зв'язаних групах з розподілом, що відрізнявся від нормального, і наводили як $Me (Q_{25}; Q_{75})$. Для порівняння в незалежних групах використовували критерій Мана-Уїтні. Т-критерій Стюдента застосовували для аналізу показників з нормальним розподілом, які наведені як середнє арифметичне (M) за результатами кожного дослідження $\pm$ стандартне відхилення (SD). Усі статистичні тести були двобічними, значущим вважали рівень $p < 0,05$.

Результати

За результатами ШПТ, сенсibilізація до екстракту цвілевих грибів *Alternaria alternata* виявлена у 447 дітей. Більшість обстежених (91,1 %) мала ко-сенсibilізацію, що пов'язана з побутовими алергенами кліщів домашнього пилу, алергенами домашніх тварин, менше – з пиловими алергенами. Серед усіх обстежених моносенсibilізація виявлена лише в 40 (8,9 %) дітей.

Для визначення пацієнтів, яким необхідне призначення сублінгвальної алерген-специфічної імунотерапії (СЛІТ), використовували алгоритм, що наведений у таблиці 1.

За результатами молекулярної алергодіагностики, СЛІТ рекомендована 85 пацієнтам із високим (100,0 % осіб) прогнозом ефективності, з-поміж яких 58 (71,6 %) пацієнтів розпочали СЛІТ екстрактом

Alternaria alternata та увійшли в 1 групу дослідження; 27 (28,4%) пацієнтів відмовилися від СЛІТ та утворили групу порівняння (2 група).

Між групами дослідження не було вірогідної різниці за клініко-лабораторними показниками. У дітей обох груп дослідження з сенсibilізацією до *Alternaria alternata* найчастіше спостерігали симптоми ринореї і закладеності носа, рідше – утруднене дихання та кашель, які виявляли здебільшого в моносенсibilізованих дітей. Цей факт можна пояснити наявністю великої кількості полісенсibilізованих дітей до різних груп алергенів. Відомості фахової літератури підтверджують наші спостереження, що моносенсibilізація до *Alternaria alternata* частіше асоційована з симптоматикою бронхіальної астми [9–11]. Результати трірічного оцінювання клінічної ефективності СЛІТ за показниками ВАШ наведені в таблиці 2.

За даними таблиці 2, СЛІТ тривалістю 3 роки в пацієнтів першої групи в результаті показала вірогідне зниження носових симптомів: чхання – з 29 (26; 31) мм до 8 (6; 11) мм ($p = 0,008$); ринореї – з 29 (26; 34) мм до 5 (4; 6) мм ($p = 0,012$); свербіж – з 20 (17; 23) мм до 5 (4; 6) мм ($p = 0,002$); закладеності носа – з 29 (25; 35) мм до 7 (5; 9) мм ($p = 0,016$) порівняно з вихідним рівнем.

Аналогічна динаміка виявлена щодо неносових симптомів: свербіж очей, почервоніння очей і виділення з очей, – які вірогідно зменшилися з 26 (23; 31) мм до 5 (3; 7) мм ($p = 0,007$), з 29 (26; 36) мм до 4 (3; 6) мм ($p = 0,014$) та з 29,5 мм до 5 (4; 7) мм ($p = 0,003$) відповідно порівняно з вихідними значеннями.

Негативну динаміку спостерігали також щодо симптомів астми, як-от вірогідне зниження таких показників, як кашель та утруднене дихання з 54 (46; 61) мм до 7 (6; 9) мм ($p = 0,013$) та з 50 (39; 57) мм до 7 (5; 9) мм ($p = 0,011$) відповідно порівняно з початковими значеннями (табл. 2).

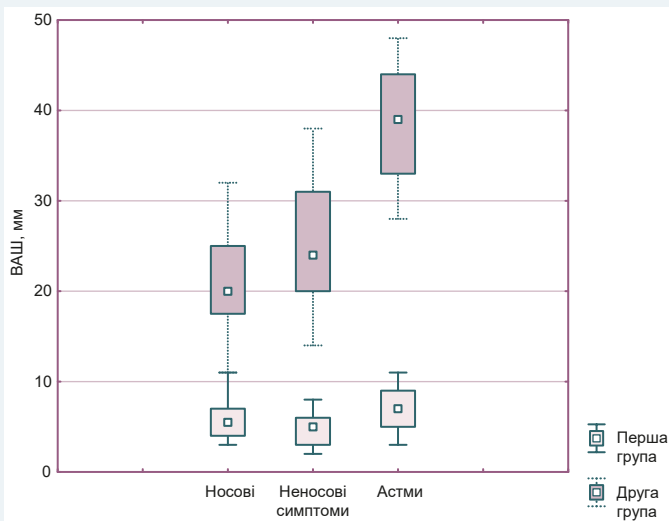


Рис. 1. Порівняльна характеристика результатів 3-річного лікування у групах дослідження з сенсibilізацією до алергенів цвілевих грибів за показниками ВАШ.

Варто відзначити, що на тлі 3-річної СЛІТ у пацієнтів 1 групи виявили вірогідно нижчі показники усіх симптомів алергопатології (за шкалою ВАШ) порівняно з пацієнтами, які були тільки на базисній терапії (рис. 1).

Так, через 3 роки лікування в пацієнтів 1 групи носові симптоми були вірогідно меншими порівняно з 2 групою – 5,5 (4; 7) проти 20 (17,5; 25), $p = 0,011$, як і неносові симптоми – 5 (3; 6) проти 24 (20; 31), $p = 0,027$ (рис. 1).

Подібну динаміку відмінностей між групами дослідження встановили також щодо симптомів астми, які виявлялись вірогідно меншими в пацієнтів першої групи – 7 (5; 9) проти 39 (33; 44), $p = 0,008$ (рис. 1).

На відміну від 1 групи, в пацієнтів 2 групи впродовж 3 років симптоматика періодично відновлювалась, що потребувало повторних курсів базисної терапії.

Ефективність лікування підтверджена також показником рівня специфічних IgE Alt a1 до початку та після завершення лікування. Так, до початку лікування у дітей 1 групи середній показник IgE Alt a1 становив $59,1 \pm 4,1$ kU/l, у дітей 2 групи – $64,27 \pm 7,40$ kU/l. Контроль показників після завершення терапії СЛІТ показав вірогідне ($p < 0,05$) зниження показника в 1 групі – $24,27 \pm 8,40$ kU/l, у групі порівняння – $89,6 \pm 8,1$ kU/l.

Безпека лікування в дітей має пріоритетне значення. Тому в першій групі дітей проаналізували розвиток побічних симптомів під час СЛІТ, який показав, що за весь час спостереження жодних тяжких несприятливих подій, пов'язаних із прийманням препарату, не зафіксовано.

Обговорення

Необхідність використання алерген-специфічної імунотерапії в дітей з алергічним ринітом і бронхіальною астмою для досягнення контролю, зменшення медикаментозного навантаження та профілактики ускладнень доведена в численних дослідженнях.

Так, у статті [8] обговорюються можливі наслідки та побічні дії проведення АСІТ, зокрема з використанням алергенів цвілі. Висновки свідчать про безпечність такої форми лікування.

Можливості сублінгвального методу АСІТ як менш травматичного та дозволеного до використання у дітей, починаючи з 3 років, ще вивчають. Водночас відкритими залишаються питання, що стосуються лікування грибковими алергенами: можливості профілактики розвитку бронхіальної астми, тривалості ефекту після завершення терапії.

У статті [4] обговорюються питання якості та ефективності вакцин, які використовують для лікування, а також ідеться про необхідність призначення моновакцин для запобігання протеолізу та зниженню ефективності лікування. Незважаючи на це, роботи, котрі стосуються СЛІТ, і результати нашого дослідження свідчать про її високу ефективність у дітей із сенсibilізацією до алергенів плісняви (*Alternaria alternata*). Особливе значення має своєчасність призначення, що може запобігти прогресуванню захворювання та розвитку ускладнень. Використання алгоритмів для призначення СЛІТ, що базуються на показниках молекулярної діагностики, поліпшує ефективність лікування. Зменшення показника slgE Alt a1 із $59,1 \pm 4,1$ kU/l до $24,27 \pm 8,40$ kU/l після завершення проведення СЛІТ доводить необхідність своєчасного призначення імунотерапії дітям віком від 3 років.

У дітей, які отримували СЛІТ, показники ВАШ вірогідно поліпшилися порівняно з групою дітей, яким СЛІТ не призначали.

Висновки

1. У дітей дошкільного віку, які хворі на бронхіальну астму та/або алергічний риніт і сенсibilізовані до алергенів цвілі *Alternaria alternata*, використання сублінгвальної імунотерапії стандартизованими лікувальними екстрактами є ефективним і безпечним методом лікування.

2. Умовою ефективної терапії є необхідність використання сучасних алгоритмів діагностики з визначенням мажорних компонентів алергенів для виключення ризику перехресних реакцій на споріднені види цвілі.

3. Результати дослідження показали, що СЛІТ знижує частоту супутньої інфекційної патології в дітей, сенсibilізованих до алергенів *Alternaria alternata*, та запобігає розвитку бронхіальної астми в дітей із клінічними проявами алергічного риніту.

Перспективи подальших досліджень. Продовжити вивчення ефективності СЛІТ алергенними екстрактами *Alternaria alternata* шляхом спостереження та контролю показників сенсibilізації для визначення ступеня досягнення толерантності.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 25.02.2019

Після доопрацювання / Revised: 16.12.2019

Прийнято до друку / Accepted: 13.01.2020

Відомості про авторів:

Шарикадзе О. В., канд. мед. наук, доцент каф. педіатрії № 1, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Охотнікова О. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. педіатрії № 1, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Information about authors:

Sharikadze O. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pediatric No.1, P. L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Okhotnikova O. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head

of the Department of Pediatric No.1, P. L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Сведения об авторах:

Шарикадзе О. В., канд. мед. наук, доцент каф. педіатрії № 1, Національна медична академія післядипломного образования імені П. Л. Шупика, г. Київ, Україна.
Охотнікова Е. Н., д-р мед. наук, професор, зав. каф. педіатрії № 1, Національна медична академія післядипломного образования імені П. Л. Шупика, г. Київ, Україна.

Список літератури

- [1] Рекалова О. М., Петренко Л. В. Фунгальна алергія у хворих на легку та середньої тяжкості бронхіальну астму: клінічні, функціональні, алергологічні, лабораторні особливості. *Український пульмонологічний журнал*. 2017. № 2. С. 19-22.
- [2] Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases-Estimate Precision / F. Bongomin, S. Gago, R. O. Oladele, D. W. Denning. *Journal of Fungi*. 2017. Vol. 3, Iss. 4. <https://doi.org/10.3390/jof3040057>
- [3] Pediatric severe asthma with fungal sensitization is mediated by steroid-resistant IL-33 / S. Castaninha, R. Sherburn, S. Walker et al. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2015. Vol. 136, Iss. 2. P. 312-322. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.01.016>
- [4] Coop C. A. Immunotherapy for Mold Allergy. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2014. Vol. 47, Iss. 3. P. 289-298. <https://doi.org/10.1007/s12016-013-8389-4>
- [5] Fungal allergy in asthma-state of the art and research needs / D. W. Denning, C. Pashley, D. Hartl et al. *Clinical and Translational Allergy*. 2014. Vol. 4, Article 14. <https://doi.org/10.1186/2045-7022-4-14>
- [6] Fungi: the neglected allergenic sources / R. Cramer, M. Garbani, C. Rhyner, C. Huitema. *Allergy*. 2014. Vol. 69, Iss. 2. P. 176-185. <https://doi.org/10.1111/all.12325>
- [7] Fukutomi Y., Taniguchi M. Sensitization to fungal allergens: Resolved and unresolved issues. *Allergology International*. 2015. Vol. 64, Iss. 4. P. 321-331. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2015.05.007>
- [8] The European Survey on Adverse Systemic Reactions in Allergen Immunotherapy (EASSI): A paediatric assessment / P. R. del Rio, C. Vidal, J. Just et al. *Pediatric Allergy and Immunology*. 2017. Vol. 28, Iss. 1. P. 60-70. <https://doi.org/10.1111/pai.12660>
- [9] Indoor Air Quality / J. M. Seguel, R. Merrill, D. Seguel, A. C. Campagna. *American Journal of Lifestyle Medicine*. 2017. Vol. 11, Iss. 4. P. 284-295. <https://doi.org/10.1177/1559827616653343>
- [10] Mold allergens in respiratory allergy: From structure to therapy / T. E. Twaroch, M. Curin, R. Valenta, I. Swoboda. *Allergy, Asthma and Immunology Research*. 2015. Vol. 7, Iss. 3. P. 205-220. <https://doi.org/10.4168/aair.2015.7.3.205>
- [11] Allergy in severe asthma / S. R. Del Giacco, A. Bakirtas, E. Bel et al. *Allergy*. 2017. Vol. 72, Iss. 2. P. 207-220. <https://doi.org/10.1111/all.13072>

References

- [1] Rekalova, E. M., & Petrenko, L. V. (2017). Fungal allergy in patients with mild and moderate asthma: clinical, functional, allergological, laboratory features. *Ukrainian pulmonary journal*, (2), 19-22. [in Ukrainian].
- [2] Bongomin, F., Gago, S., Oladele, R. O., & Denning, D. W. (2017). Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases-Estimate Precision. *Journal of Fungi*, 3(4), Article Unsp 57. <https://doi.org/10.3390/jof3040057>
- [3] Castaninha, S., Sherburn, R., Walker, S., Gupta, A., Bossley, C. J., Buckley, J., Ullmann, N., Grychtol, R., Campbell, G., Maglione, M., Koo, S., Fleming, L., Gregory, L., Snelgrove, R. J., Bush, A., Lloyd, C. M., & Saglani, S. (2015). Pediatric severe asthma with fungal sensitization is mediated by steroid-resistant IL-33. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 136(2), 312-322. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.01.016>

- [4] Coop, C. A. (2014). Immunotherapy for Mold Allergy. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 47(3), 289-298. <https://doi.org/10.1007/s12016-013-8389-4>
- [5] Denning, D. W., Pashley, C., Hartl, D., Wardlaw, A., Godet, C., Del Giacco, S., Delhaes, L., & Sergejeva, S. (2014). Fungal allergy in asthma-state of the art and research needs. *Clinical and Translational Allergy*, 4, Article 14. <https://doi.org/10.1186/2045-7022-4-14>
- [6] Cramer, R., Garbani, M., Rhyner, C., & Huitema, C. (2014). Fungi: the neglected allergenic sources. *Allergy*, 69(2), 176-185. <https://doi.org/10.1111/all.12325>
- [7] Fukutomi, Y., & Taniguchi, M. (2015). Sensitization to fungal allergens: Resolved and unresolved issues. *Allergology International*, 64(4), 321-331. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2015.05.007>
- [8] del Rio, P. R., Vidal, C., Just, J., Tabar, A. I., Sanchez-Machin, I., Eberle, P., Borja, J., Bubel, P., Pfaar, O., Demoly, P., & Calderon, M. A. (2017). The European Survey on Adverse Systemic Reactions in Allergen Immunotherapy (EASSI): A paediatric assessment. *Pediatric Allergy and Immunology*, 28(1), 60-70. <https://doi.org/10.1111/pai.12660>
- [9] Seguel, J. M., Merrill, R., Seguel, D., & Campagna, A. C. (2017). Indoor Air Quality. *American Journal of Lifestyle Medicine*, 11(4), 284-295. <https://doi.org/10.1177/1559827616653343>
- [10] Twaroch, T. E., Curin, M., Valenta, R., & Swoboda, I. (2015). Mold allergens in respiratory allergy: From structure to therapy. *Allergy, Asthma and Immunology Research*, 7(3), 205-220. doi:10.4168/aair.2015.7.3.205
- [11] Del Giacco, S. R., Bakirtas, A., Bel, E., Custovic, A., Diamant, Z., Hamelmann, E., Heffler, E., Kalayci, O., Saglani, S., Sergejeva, S., Seys, S., Simpson, A., & Bjermer, L. (2017). Allergy in severe asthma. *Allergy*, 72(2), 207-220. <https://doi.org/10.1111/all.13072>

Алгоритм діагностичної диференціації шизоафективного розладу від інших ендогенних психозів з епізодичним перебігом (шизофренія та афективні розлади)

М. Є. Хоміцький 

Запорізький державний медичний університет, Україна

Ключові слова:
психози,
шизоафективний
розлад, клініка,
діагностика.

Патологія. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 80-85

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

Складною залишається диференційна діагностика шизофренії, шизоафективного розладу (ШАР) й афективних розладів (АР). Це зумовлено схожістю клінічної картини загострення психозу. Перспективний напрям підвищення якості диференційної діагностики – вивчення нозоспецифічних патоперсонологічних трансформацій (ПпТ). Вивчення цих змін при ШАР і визначення їхніх клінічних відмінностей від патоперсонології шизофренії та АР дасть можливість здійснювати диференційну діагностику з високим рівнем вірогідності.

Мета роботи – розроблення алгоритму діагностичної диференціації ШАР від інших ендогенних психозів з епізодичним перебігом (шизофренія та АР) на базі аналізу клініко-психопатологічних, медико-психологічних і клініко-етологічних ознак станів ремісії.

Матеріали та методи. На базі КНП «Обласний клінічний заклад з надання психіатричної допомоги» ЗОР обстежили 312 пацієнтів, з-поміж них 102 особи страждають на АР, 102 хворих мають встановлений діагноз шизоафективний розлад, 108 осіб із діагнозом шизофренія, параноїдна форма, епізодичний тип перебігу.

Основні методи дослідження: клініко-психопатологічний, психодіагностичний, патопсихологічний, клініко-анамнестичний, клініко-етологічний, а також медико-статистичний аналіз.

Результати. У дослідженні розроблено алгоритм діагностичної диференціації ШАР від інших ендогенних психозів з епізодичним перебігом (шизофренія та АР) на основі аналізу клініко-психопатологічних, медико-психологічних і клініко-етологічних ознак станів ремісії / інтермісії. Алгоритм передбачає послідовне використання 2 таблиць (диференціація для пари ШАР – шизофренія та ШАР – АР), в яких наведені ознаки, впорядковані за зниженням показника сумарної інформативності.

Висновки. Результати можуть використовуватися під час диференційної діагностики ендогенного психозу з визначенням нозологічної належності клінічного випадку до ШАР, а також для застосування індивідуально необхідних медико-реабілітаційних утручань.

Key words:
psychoses,
schizoaffective
disorder, clinic,
diagnostics.

Pathologia
2020; 17 (1), 80-85

An algorithm for the diagnostic differentiation of schizoaffective disorder and other endogenous psychoses with episodic course (schizophrenia and affective disorders)

M. Ye. Khomitsky

At present, it is difficult to carry out differential diagnosis between schizophrenia, schizoaffective disorder (SAD) and affective disorders (AD), which is caused by a similarity of the clinical features of psychosis exacerbation. A promising direction of improving the quality of differential diagnosis is the study of nosospecific pathopersonological transformations (PpT). Studying of these changes and identifying their clinical differences from the pathopersonology of schizophrenia and AD will allow differential diagnosis with a high level of confidence.

The aim of the study was to develop an algorithm for the diagnostic differentiation of SAD and other endogenous psychoses with episodic course (schizophrenia and AD) based on the analysis of clinical-psychopathological, medical- psychological and clinical-ethological features of remission.

Contingents and methods. 312 patients were examined at the Municipal Non-Commercial Enterprise "Regional Clinical Institution for Provision of Psychiatric Care" of Zaporizhzhia Regional Council, including 102 patients suffering from AD, 102 persons with SAD and 108 patients diagnosed with "Schizophrenia. Paranoid type. Episodic course".

The main methods of the study were clinical-psychopathological, psychodiagnostical, pathopsychological, clinical-anamnestic, clinical-ethological, as well as medical-statistical analysis.

Results. The study developed an algorithm for the diagnostic differentiation of SAD and other endogenous psychoses with episodic course (schizophrenia and AD) based on the analysis of clinical-psychopathological, medical-psychological and clinical-ethological features of remissions / intermissions.

The algorithm involves the sequential use of 2 tables (differentiation for the pair of SAD – schizophrenia and SAD – AD), which included features, sorted by decreasing total informative index.

Conclusions. The results obtained can be used in the differential diagnosis of endogenous psychosis with the determination of nosological affiliation of the clinical case to the SAD and for use of individually required medico-rehabilitative interventions.

Алгоритм диагностической дифференциации шизоаффективного расстройства от других эндогенных психозов с эпизодическим течением (шизофрения и аффективные расстройства)

Н. Е. Хомицкий

Значительные трудности вызывает проведение дифференциальной диагностики шизофрении, шизоаффективного расстройства (ШАР) и аффективных расстройств (АР). Это обусловлено схожестью клинической картины обострения психоза. Перспективное направление повышения качества дифференциальной диагностики – изучение нозоспецифических патоперсоналогических трансформаций (ПпТ). Изучение этих изменений при ШАР и определение их клинических отличий от патоперсоналогии шизофрении и АР позволит проводить дифференциальную диагностику с высоким уровнем достоверности.

Цель работы – разработка алгоритма диагностической дифференциации ШАР от других эндогенных психозов с эпизодическим течением (шизофрения и АР) на основе анализа клинико-психопатологических, медико-психологических и клинико-этологических признаков состояний ремиссии.

Материалы и методы. На базе КНП «Областное клиническое учреждение по предоставлению психиатрической помощи» ЗОС обследовали 312 пациентов: 102 пациента с АР, 102 человека с установленным диагнозом шизоаффективное расстройство, 108 человек с диагнозом шизофрения, параноидная форма, эпизодический тип течения.

Основные методы исследования: клинико-психопатологический, психодиагностический, патопсихологический, клинико-anamnestический, клинико-этологический, а также медико-статистический анализ.

Результаты. В исследовании разработан алгоритм диагностической дифференциации ШАР от других эндогенных психозов с эпизодическим течением (шизофрения и АР) на основе анализа клинико-психопатологических, медико-психологических и клинико-этологических признаков состояний ремиссии / интермиссии. Алгоритм предусматривает последовательное использование 2 таблиц (дифференциация для пары ШАР – шизофрения и ШАР – АР), в которые включены признаки, упорядоченные по убыванию показателя суммарной информативности.

Выводы. Результаты могут быть использованы при проведении дифференциальной диагностики эндогенного психоза с определением нозологической принадлежности клинического случая к ШАР, а также в ходе применения индивидуально необходимых медико-реабилитационных вмешательств.

Ключевые слова:
психозы,
шизоаффективное
расстройство,
клиника,
диагностика.

Патология. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 80-85

Вивчення ендогенних афективних і психотичних станів привертає все більшу увагу науковців з огляду на зростання поширеності та чималі соціальні та економічні збитки, що спричинені цими захворюваннями [1–4].

За чинними діагностичними рекомендаціями, у разі першого нападу гострого ендогенного психозу потрібно встановлювати діагноз гострий поліморфний психотичний розлад. Втім якісний і кількісний зміст лікувальних і реабілітаційних заходів, застосування яких необхідне в станах ремісії, суттєво відрізняється залежно від нозології та індивідуальних особливостей пацієнта. Це суттєво підвищує важливість здійснення ранньої вірогідної диференційної діагностики, мета якої полягає у визначенні нозологічної належності окремого клінічного випадку [1,2,4]. Найбільші складнощі викликає здійснення диференційної діагностики шизофренії, шизоаффективного розладу (ШАР) й афективних розладів (АР). Це зумовлено певною схожістю клінічної картини загострення психозу, в якій у більшості клінічних випадків переважає афективна симптоматика [1,2].

Перспективний напрям підвищення якості диференційної діагностики – вивчення нозоспецифічних патоперсоналогічних трансформаций (ПпТ), які включають широкий діапазон психопатологічної симптоматики, що належить до стійких змін особистості внаслідок перенесеного психічного захворювання за Міжнародною класифікацією хвороб 10 перегляду (МКХ-10). Суттєві труднощі при ШАР виникають під час оцінювання та трактування наявної семіотики порушень емоційної та вольової сфери та

диференціації нерізких проявів емоційно-вольового зниження, субдепресії (ендогенної, психогенної, нейрорепетитивної) та «депресивного стилю поведінки», формування якого відбувається в періоди ремісії / інтермісії ендогенних депресивних розладів. Вочевидь, названі емоційні порушення поглиблюють, а можливо, і стають причиною нейрокогнітивного дефіциту, формування якого доведено вже після перших епізодів ендогенних психозів.

Вивчення цих змін і визначення їхніх клінічних відмінностей від патоперсоналогії шизофренії та афективних розладів дасть можливість здійснювати ранню диференційну діагностику з високим рівнем вірогідності всередині групи ендогенних психозів. Наступний крок – оптимізація лікувально-реабілітаційних впливів і підвищення рівня адаптації та якості життя пацієнтів, які страждають на ШАР.

Мета роботи

Розроблення алгоритму діагностичної диференціації ШАР від інших ендогенних психозів з епізодичним перебігом (шизофренія та АР) на базі аналізу клініко-психопатологічних, медико-психологічних і клініко-етологічних ознак станів ремісії.

Матеріали і методи дослідження

На базі КНП «Обласний клінічний заклад з надання психіатричної допомоги» ЗОР обстежили 312 пацієнтів: 102 особи, які страждають на афективні розлади (АР), до яких належить біполярний афективний роз-

лад (50 осіб) і рекурентний депресивний розлад (52 особи) – група 1; 102 особи із встановленим діагнозом шизоафективний розлад – група 2; 108 осіб із діагнозом шизофренія, параноїдна форма, епізодичний тип перебігу – група 3. Діагностика цих захворювань здійснена за МКХ-10.

Група 1 мала такі характеристики: середній вік пацієнтів дорівнював $47,9 \pm 10,2$ року (усі дані наведено як $M \pm SD$); поділ за статтю: 70 жінок і 32 чоловіки; тривалість захворювання у вибірці – від 2 до 40 років, середній показник – $14,4 \pm 8,6$ року. Середній вік пацієнтів на момент початку захворювання у вибірці – $33,5 \pm 10,3$ року. До моменту обстеження в анамнезі пацієнтів зафіксовано від 2 до 31 епізоду хвороби та госпіталізацій, що з ними пов'язані. У середньому в групі 2 цей показник становив $6,9 \pm 5,0$ разів. У групі 2 середній вік пацієнтів дорівнював $45,0 \pm 10,3$ року; поділ за статтю: 53 жінки і 49 чоловіків; тривалість захворювання – від 2 до 35 років, середній показник – $16,8 \pm 8,3$ року. Середній вік пацієнтів на момент початку захворювання у вибірці – $28,2 \pm 7,6$ року. До моменту обстеження в анамнезі пацієнтів зафіксували від 2 до 32 епізодів хвороби та пов'язаних із ними госпіталізацій, у середньому у вибірці цей показник становив $11,9 \pm 6,8$ разів. Характеристики групи 3: середній вік пацієнтів – $39,0 \pm 9,7$ року; поділ за статтю: 59 жінок і 49 чоловіків; тривалість захворювання становила від 2 до 32 років, середній показник – $13,5 \pm 8,1$ року. Середній вік пацієнтів на момент початку захворювання у вибірці – $25,5 \pm 6,3$ року. До обстеження в анамнезі пацієнтів зафіксували від 2 до 18 епізодів хвороби та пов'язаних з ними госпіталізацій, у середньому у вибірці цей показник дорівнював $6,3 \pm 3,8$ разів.

Обов'язкові критерії включення у вибірку: наявність стану клінічної ремісії з редукцією психотичної симптоматики та відсутність тяжкої соматичної, неврологічної патології.

Усі пацієнти дали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні.

Основні методи дослідження: клініко-психопатологічний, психодіагностичний, патопсихологічний, клініко-анамнестичний, клініко-етологічний, а також медико-статистичний аналіз.

Клініко-психопатологічний метод використали для підтвердження встановленого діагнозу за критеріями Міжнародної класифікації хвороб 10 перегляду та стану ремісії/інтермісії на момент дослідження, а також для оцінювання стану пацієнтів за Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) [5].

Клініко-анамнестичний метод застосували під час поглибленого вивчення клініко-анамнестичних даних.

Клініко-катамнестичний метод передбачав аналіз медичної документації (амбулаторні карти), отримання даних шляхом опитування пацієнта, його родичів і найближчого оточення.

Психодіагностичним методом дослідили особистісні характеристики за допомогою стандартизованого методу дослідження особистості (СМДО) [6], особливості реагування на хворобу (РНХ) та рівень адаптивності за допомогою тестової методики ТОБОЛ [7]. Психодіагностичне обстеження включало оцінювання нейропсихологічного статусу за допомогою

набору нейрокогнітивних методик, що засновані на розробках А. Р. Лурія (Л. І. Вассерман, 1997) [8].

Клініко-етологічний метод застосували для вивчення структури та типології невербальних характеристик соціально-комунікативної поведінки, а також кількісного аналізу з використанням глосарію, що укладений V. P. Samokhvalov та O. E. Samokhvalova [9].

Статистичний аналіз даних виконали методами клінічної та математичної статистики за допомогою програм MS Excel for Windows XP та SPSS 10.0.5 for Windows. Обчислювали середнє значення (M) та стандартне відхилення (SD).

Для побудови диференційно-діагностичного алгоритму оцінили діагностичну цінність якісних ознак (діагностичних коефіцієнтів (ДК) і ступенів інформативності (СтІ)), сформулювали двоетапний диференційно-діагностичний алгоритм, який може бути використаний у рамках послідовної процедури А. Вальда (в модифікації Е. В. Гублера).

Результати

На етапі первинного опрацювання даних у кожному випадку оцінювали вірогідність/невірогідність результату та можливість/неможливість використання для наступного узагальненого оцінювання. Якщо результат обстеження пацієнта за окремою методикою визнано невірогідним, його виключали зі статистичного опрацювання. Загальна кількість результатів, що отримані під час обстеження за методикою СМДО і які визнані невірогідними, становила 62 випадки (19,4 % контингенту). За групами: 16 (15,7 % контингенту групи), 21 (20,6 % контингенту групи) та 25 (23,1 % контингенту групи) випадків – у 1, 2 і 3 групі відповідно. Оцінювання результатів, які отримали за оцінювальними шкалами (показують ставлення до обстеження та можуть бути використані для визначення психічного стану загалом) L (нещирість), F (ненадійність) і K (корекції), виявило значну схожість ($p > 0,1$) профілів груп обстеження. Так, показники за L у 1, 2 і 3 групах дорівнювали $50,47 \pm 9,62$, $49,41 \pm 8,84$ та $48,72 \pm 8,50$ Т-балів відповідно. Це свідчить про відсутність намагання справити краще враження під час обстеження. Показники, які отримали за шкалою F, у 1, 2 та 3 групі: $63,26 \pm 9,15$, $62,07 \pm 8,47$ та $63,18 \pm 10,39$ Т-балів. Це свідчить про стан дистресу, схвилюваності, внутрішнього напруження, що спричинене внутрішніми психологічними проблемами. Середні показники за шкалою K – у межах 53–56 Т-балів (в 1 групі – $54,22 \pm 9,33$, у 2 – $55,43 \pm 8,58$, у 3 – $53,47 \pm 9,57$) і є свідченням неохочості обстежених заперечувати наявність проблем, а також про чутливість до оцінювання своєї особистості та поведінки суспільством.

Отже, кількість пацієнтів, результати обстеження яких вважали вірогідними та використали для обчислення, становила 250 осіб: 81, 86 і 83 пацієнти у 1, 2 і 3 групі відповідно.

Статистичне опрацювання результатів починали з обрахування діагностичного коефіцієнта (ДК) та СтІ для кожного значення кожної якісної ознаки. Обчислення виконували в парах ШАР – шизофренія та ШАР – АР. Також розраховували сумарну інформативність (СІ)

Таблиця 1. Перший етап диференційно-діагностичного алгоритму (ШАР – шизофренія)

Характеристики ознаки	ДК				СІ
Ознака	Якісне значення ознаки				
Наявність егоцентричного типу у структурі РНХ	-2,07 ні	5,11 так	–	–	1,17
Показник шкали 0 (соціальна інтраверсія) за СМДО ≥65 Т-балів	1,50 ні	-5,63 так	–	–	0,94
Показник шкали 6 (ригідність) за СМДО ≥65 Т-балів	2,16 ні	-3,42 так	–	–	0,82
Показник шкали F (ненадійність) за СМДО ≥65 Т-балів	1,74 ні	-4,11 так	–	–	0,80
Показник Р4 (збудливість) за PANSS	-2,27 1 бал	2,66 2 бали	2,91 3 бали	4,88 ≥ 4 балів	0,69
Порушення гнозису обличчя (нейропсихологічне дослідження)	2,35 відсутнє	-2,90 Легкий ступінь	-1,52 Помірний або виражений ступінь	–	0,65
Показник шкали 7 (тривожність) за СМДО ≥65 Т-балів	1,79 ні	-2,80 так	–	–	0,57
Уникання зорового контакту в соціально-комунікативній поведінці	0,63 ні	-8,02 так	–	–	0,56
Порушення конструктивного праксису (нейропсихологічне дослідження)	2,49 відсутнє	-2,11 легкий ступінь	-2,20 помірний ступінь	0,11 виражений ступінь	0,55
Наявність тривожного типу у структурі РНХ	-1,12 ні	4,26 так	–	–	0,54
Наявність апатичного типу у структурі РНХ	0,78 ні	-6,18 так	–	–	0,53
Порушення розуміння логіко-граматичних структур (нейропсихологічне дослідження)	1,65 відсутнє	-3,05 легкий ступінь	-2,11 помірний або виражений ступінь	–	0,52
Невербальні елементи емоційно-вольового зниження та аутизації в соціально-комунікативній поведінці	1,47 < 5 % від загальної кількості поведінкових елементів	-3,35 5–15 % від загальної кількості поведінкових елементів	-1,65 >15 % від загальної кількості поведінкових елементів	–	0,51
Порушення мислення (нейропсихологічне дослідження)	1,91 відсутнє	-2,90 легкий ступінь	-0,47 помірний або виражений ступінь	–	0,50

Таблиця 2. Другий етап диференційно-діагностичного алгоритму (ШАР – АР)

Ознака	Характеристики ознаки	ДК			СІ
	Якісне значення ознаки				
Наявність егоцентричного типу в структурі РНХ	-2,04	4,92	–	1,11	
	ні	так			
Наявність дисфоричного типу у структурі РНХ	-1,24	7,86	–	1,08	
	ні	так			
Показник Р5 (ідеї величі) за PANSS	-1,54	0,26	9,29	0,96	
	1 бал	2 бали	≥ 3 бали		
Показник Р4 (збудливість) за PANSS	-2,04	0,59	6,49	0,91	
	1 бал	2 бали	≥ 3 бали		
Показник шкали F (ненадійність) за СМДО ≥65 Т-балів	1,80	-4,19	–	0,84	
	ні	так			
Демонстрація невербального елемента «фланш бровами» в соціально-комунікативній поведінці	6,79	-0,88	–	0,67	
	ні	так			
Наявність меланхолічного типу у структурі РНХ	0,86	-6,51	–	0,63	
	ні	так			
Показник шкали К (корекція) за СМДО ≥65 Т-балів	0,80	-6,27	–	0,57	
	ні	так			
Наявність гармонійного типу у структурі РНХ	0,80	-6,27	–	0,57	
	ні	так			
Показник шкали 9 (оптимізм та активність) за СМДО ≥65 Т-балів	-1,44	3,15	–	0,51	
	ні	так			
Сума за субшкалою загальних розладів PANSS	-3,51	0,88	2,48	0,50	
	<20 балів	20–30 балів	>20 балів		

для кожної ознаки. Наступний крок – упорядкування ознак за зменшенням показника CI окремо для пари ШАР – шизофренія (табл. 1) та ШАР – АР (табл. 2). Отже, діагностичний алгоритм включає 2 послідовні етапи, кожен із яких використовує власну диференційно-діагностичну таблицю. Як критерій завершення кожного етапу процедури диференційної діагностики використали порогові значення ΣDK , які відповідають показнику чутливості 95 % та показнику специфічності 95 % і дорівнюють 13 (-13 у разі завершення процедури не на користь діагнозу ШАР). Надалі зіставляли результати, що отримані на обох етапах. При досягненні значення $\Sigma DK > 13$, > 20 та > 30 (за етапами 1 і 2) клінічний випадок відповідає діагнозу ШАР з вірогідністю 95 %, 99 % та 99,9 %. При досягненні значення $\Sigma DK < -13$, < -20 та < -30 (за етапами 1 і 2) клінічний випадок не відповідає діагнозу ШАР із вірогідністю 95 %, 99 % і 99,9 %.

Обговорення

Результати корелюють із даними вітчизняних [4] та іноземних [2,9] дослідників і свідчать про наявність у пацієнтів із періодичними ендегенними психозами в період ремісії клініко-психопатологічних, медико-психологічних і клініко-етологічних ознак ПпТ, структура і вираженість яких відрізняється залежно від нозологічної належності. Виявлені нозоспецифічні відмінності ПпТ характеризуються рівнем вірогідності $p \leq 0,05$ та $StI \geq 0,5$ і стали основою для уперше розробленого алгоритму діагностичної диференціації ШАР від інших ендегенних психозів з епізодичним перебігом (шизофренія та афективні розлади).

Висновки

1. У дослідженні розробили алгоритм діагностичної диференціації ШАР від інших ендегенних психозів з епізодичним перебігом (шизофренія та АР) на підставі аналізу клініко-психопатологічних, медико-психологічних і клініко-етологічних ознак станів ремісії/інтермісії.

2. Здійснили порівняльний аналіз клінічної семіотики, що належить до ПпТ при ендегенних психозах з епізодичним перебігом, встановили ознаки з вірогідною різницею частоти виявлення під час порівняння в парах ШАР – шизофренія та ШАР – АР. Обрахували DK та StI для кожного значення кожної якісної ознаки. Розрахували також CI для кожної ознаки.

3. Розробили діагностичний алгоритм, який передбачає послідовне використання 2 таблиць (диференціація для пари ШАР – шизофренія та ШАР – АР), у які включені ознаки, що характеризуються рівнем вірогідності $p \leq 0,05$ та $StI \geq 0,5$ і впорядковані за зменшенням показника CI .

4. Використання комплексного якісного оцінювання клініко-психопатологічних, медико-психологічних і клініко-етологічних ознак ПпТ, що включені в диференційно-діагностичний алгоритм, дає змогу встановити або спростувати діагноз ШАР на трьох рівнях вірогідності: 95 % ($p = 0,05$), 99 % ($p = 0,01$) і 99,9 % ($p = 0,001$).

5. Результати можуть бути використані під час диференційної діагностики в період ремісії/інтермісії ендегенного психозу з епізодичним перебігом із визначенням нозологічної належності окремого клінічного випадку до ШАР і застосування індивідуально необхідних терапевтичних, психосоціальних втручань і спрямованого нейрокогнітивного тренінгу відповідно до визначеної нозології.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 05.02.2020

Після доопрацювання / Revised: 14.02.2020

Прийнято до друку / Accepted: 28.02.2020

Відомості про автора:

Хоміцький М. Є., канд. мед. наук, доцент каф. психіатрії, психотерапії, загальної та медичної психології, наркології та сексології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-8622-6718

Information about author:

Khomitskyi M. Ye., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Psychiatry, Psychotherapy, General and Medical Psychology, Narcology and Sexology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Сведения об авторе:

Хоміцький Н. Е., канд. мед. наук, доцент каф. психиатрии, психотерапии, общей и медицинской психологии, наркологии и сексологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Список літератури

- [1] The reliability and clinical utility of ICD-11 schizoaffective disorder: A field trial / D. L. Peterson, C. A. Webb, J. W. Keeley et al. *Schizophrenia Research*. 2019. Vol. 208. P. 235-241. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2019.02.011>
- [2] Diagnostic reliability in schizoaffective disorder / A. Murru, M. Manchia, M. Tusconi et al. *Bipolar Disorders*. 2016. Vol. 18, Iss. 1. P. 78-80. <https://doi.org/10.1111/bdi.12366>
- [3] Стан психічного здоров'я населення та показники діяльності психіатричної та наркологічної служби в Україні: інформ.-аналіт. огляд за 2014 – 2017 рр. / П. В. Волошин, Н. О. Марута, І. В. Лінський та ін. Харків, 2019. 81 с.
- [4] Чугунов В. В., Киреева Е. Н. Медико-психологические предикторы продромального периода повторного эпизода рекуррентного депрессивного расстройства. *Запорожский медицинский журнал*. 2014. № 3. С. 71-76. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2014.3.26035>
- [5] Kay S. R., Fiszbein A., Opler L. A. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*. 1987. Vol. 13, Iss. 2. P. 261-276. <https://doi.org/10.1093/schbul/13.2.261>
- [6] Вассерман Л. И., Дорофеева С. А., Меерсон Я. А. Методы нейropsychологической диагностики : практическое руководство. СПб : Стройлеспечат, 1997. 360 с.
- [7] Психологическая диагностика отношения к болезни : пособие для врачей / Л. И. Вассерман, Б. В. Иовлев, Э. Б. Карпова, А. Я. Вукс. СПб : СПб НИПНИ им. В. М. Бехтерева, 2005. 32 с.
- [8] Собчик Л. Н. Стандартизированный многофакторный метод исследования личности СМЛП. СПб : Речь, 2000. 219 с.
- [9] Samokhvalov V. P., Samokhvalova O. E. Toward a Neuroethology of Schizophrenia: Findings from the Crimean Project. *Handbook of Schizophrenia Spectrum Disorders*. Vol. 2. Springer Netherlands, 2011. P. 121-164. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0831-0_6

References

- [1] Peterson, D. L., Webb, C. A., Keeley, J. W., Gaebel, W., Zielasek, J., Rebello, T. J., Robles, R., Matsumoto, C., Kogani, C. S., Kulygina, M., Farooq, S., Green, M. F., Falkai, P., Hasan, A., Galderisi, S., Larach, V., Krasnov, V., & Reed, G. M. (2019). The reliability and clinical utility of

- ICD-11 schizoaffective disorder: A field trial. *Schizophrenia Research*, 208, 235-241. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2019.02.011>
- [2] Murru, A., Manchia, M., Tusconi, M., Carpiello, B., Pacchiarotti, I., Colom, F., & Vieta, E. (2016). Diagnostic reliability in schizoaffective disorder. *Bipolar Disorders*, 18(1), 78-80. <https://doi.org/10.1111/bdi.12366>
- [3] Voloshyn, P. V., Maruta, N. O., Linskyi, I. V., Panko, T. V., Koliesnik, T. M., & Vainer, I. M. (Eds.). (2019). *Stan psykhiichnoho zdorovia naseleennia ta pokaznyky dialnosti psykhiatrychnoi ta narkolohichnoi sluzhby v Ukraini*. Informatsiino-analitychnyi ohliad za 2014 – 2017 rr [State of mental health of the population and indicators of psychiatric and narcological service activity in Ukraine]. Information and Analytical Review for 2014-2017. Kharkiv. [in Ukrainian].
- [4] Chugunov, V. V., & Kireeva, E. N. (2014). Mediko-psikhologicheskie prediktory prodromal'nogo perioda povtornogo epizoda rekurrentnogo depressivnogo rasstroistva [Medical and psychological predictors of prodromal period of repeated episode of major depressive disorder]. *Zaporozhye medical journal*, (3), 71-76. [in Russian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2014.3.26035>
- [5] Kay, S. R., Fiszbein, A., & Opler, L. A. (1987). The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 13(2), 261-276. <https://doi.org/10.1093/schbul/13.2.261>
- [6] Vasserman, L. I., Dorofeeva, S. A., & Meerson, Ya. A. (1997). *Metody neiropsikhologicheskoi diagnostiki* [Methods of neuropsychological diagnosis]. Saint Petersburg: Stroilespechat. [in Russian].
- [7] Vasserman, L. I., Iovlev, B. V., Karpova, E. B., & Vuks, A. Ya. (2005). Psikhologicheskaya diagnostika otnosheniya k bolezni: Posobie dlya vrachei [Psychological assessment of attitude toward disease]. *Saint Petersburg: Bekhterev Psychoneurological Research Institute*. [in Russian].
- [8] Sobchik, L. N. (2000). *Standartizirovannyi mnogofaktorny metod issledovaniya lichnosti SMIL* [Standardized multifactorial method of studying personality SMIL]. *Saint Petersburg: Rech'*. [in Russian].
- [9] Samokhvalov, V. P., & Samokhvalova, O. E. (2011). Toward a Neuroethology of Schizophrenia: Findings from the Crimean Project. In *Handbook of Schizophrenia Spectrum Disorders, Volume II* (pp. 121-164). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0831-0_6

Spinal mobility in children with diabetes and factors, which influence it

O. Ye. Pashkova^{*A,E,F}, K. P. Lysenko^{B-D}

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

Key words:

children, diabetes mellitus, periostin, vitamin D, spine mobility.

Pathologia

2020; 17 (1), 86-92

*E-mail:

elenapashkova0901@gmail.com

Aim of study: to evaluate spine mobility, as an integral marker of joint mobility, according to the duration of the disease and provision of vitamin D in children with diabetes.

Materials and research methods. Overall, 93 children from 11 to 17 years old with insulin-dependent diabetes were examined. According to the duration of the disease, all the children were divided into three groups: the first group consists of 26 children (average age 12.9 ± 0.4 years) with the duration of the disease less than a year, the second group consists of 33 patients (average age 13.8 ± 0.4 years) with the duration of the disease from one to five years, the third group consists of 34 patients (average age 14.3 ± 0.4 years) with the duration of the disease for more than five years. The control group consists of 30 conditionally healthy children that are representative by age and gender. Evaluation of joints motion was performed in all the children with the help of metrical tests. The content of vitamin D and periostin was identified in blood serum by the method of immunoenzyme assay.

Results. It was found that in children with diabetes mellitus, compared with the control group, there is a decrease in spine mobility. Starting from the second year of disease, it was noticed that there is gradual decrease of mobility of all parts of the spine. We observed a decrease in blood serum vitamin D levels, which progress with the enlargement of illness duration. In the first year of the disease, vitamin deficiency was only 10 %. At that time, in group 2 in 50 % of children, and in group 3 in 80 % of children there was a decrease in vitamin D level ($P < 0.05$). Lack of vitamin D sufficiency was accompanied by a deterioration of the overall mobility of the spine. The lowest levels of vitamin D were found in children with high-risk glycemic control.

It was determined that the level of periostin tended to increase gradually with the progress of diabetes. Data analysis showed that children with high levels of periostin had low levels vitamin D in blood serum.

Conclusions. Children with diabetes are characterized by the deterioration in the functional state of the spine in the form of reduced mobility in all its regions, which progress with an increase in the duration of the disease. One of the mechanisms for the development of the revealed violations is poor compensation for diabetes and vitamin D deficiency.

Ключові слова:

діти, цукровий діабет, періостин, вітамін D, рухливість хребта.

Патологія. 2020.

Т. 17, № 1(48).
С. 86-92

Стан рухливості хребта в дітей, які хворі на цукровий діабет, та фактори, що на нього впливають

О. Є. Пашкова, К. П. Лисенко

Мета роботи – оцінити стан рухливості хребта як інтегральний маркер стану суглобів у дітей, які хворі на цукровий діабет, залежно від тривалості перебігу захворювання та забезпеченості вітаміном D.

Матеріали та методи. Обстежили 93 дитини, які хворі на інсулінозалежний діабет, віком від 11 до 17 років. Обстежених поділили 3 групи: 1 – 26 дітей (середній вік – $12,9 \pm 0,4$ року) з тривалістю цукрового діабету (ЦД) до 1 року; 2 – 33 пацієнти (середній вік – $13,8 \pm 0,4$ року) з тривалістю захворювання від 1 до 5 років; 3 – 34 хворих (середній вік – $14,3 \pm 0,4$ року) з тривалістю цукрового діабету понад 5 років. У контрольну групу ввійшли 30 умовно здорових дітей, репрезентативних за віком і статтю. Усім дітям виконали дослідження функціонального стану хребта за допомогою метричних тестів, визначили рівень вітаміну D і періостину за допомогою імуноферментного аналізу.

Результати. Встановили, що для дітей, які хворі на цукровий діабет, порівняно з контрольною групою притаманне зниження рухливості хребта. Перші ознаки цих змін виявляли вже з другого року захворювання, вони прогресували зі збільшенням тривалості перебігу цукрового діабету.

Встановлено, що з прогресуванням захворювання відбувалося поступове погіршення забезпеченості вітаміном D. Якщо на першому році захворювання недостатність вітаміну визначена тільки в 10 %, у 2 групі – в 50 % дітей, то при перебігу ЦД понад 5 років дефіцит вітаміну D діагностували у 80 % дітей ($p < 0,05$). Недостатній рівень забезпеченості вітаміном D супроводжувався погіршенням стану загальної рухливості хребта. Найнижчі значення рівня вітаміну D притаманні дітям із глікемічним контролем із високим ризиком для життя ($r = -0,41$, $p < 0,05$).

Визначили, що рівень періостину мав тенденцію до поступового збільшення при прогресуванні цукрового діабету. Аналіз даних показав, що найбільший вміст періостину спостерігали у дітей з низькою забезпеченістю вітаміном D у сироватці крові ($r = -0,36$; $p < 0,05$).

Висновки. Дітям, які хворі на цукровий діабет, притаманне погіршення функціонального стану хребта – зниження рухливості в усіх його відділах, що прогресують зі збільшенням тривалості захворювання. Одними з механізмів розвитку виявлених порушень є незадовільна компенсація діабету та недостатня забезпеченість вітаміном D.

Состояние подвижности позвоночника у детей, больных сахарным диабетом, и факторы, которые на него влияют

Е. Е. Пашкова, К. П. Лысенко

Цель работы – оценить состояние подвижности позвоночника как интегральный маркер состояния суставов у детей, больных сахарным диабетом, в зависимости от длительности течения заболевания и обеспеченности витамином D.

Материалы и методы. Обследовали 93 ребенка, больных инсулинозависимым диабетом, в возрасте от 11 до 17 лет, которых поделили на 3 группы: 1 – 26 детей (средний возраст – $12,9 \pm 0,4$ года) с длительностью сахарного диабета (СД) до 1 года; 2 – 33 пациента (средний возраст – $13,8 \pm 0,4$ года) с длительностью заболевания от 1 года до 5 лет; 3 – 34 больных (средний возраст – $14,3 \pm 0,4$ года) с длительностью сахарного диабета более 5 лет. Контрольную группу составили 30 условно здоровых детей, репрезентативных по возрасту и полу. Всем детям проведено исследование функционального состояния позвоночника с помощью метрических тестов, определили уровень витамина D и периостина с помощью иммуноферментного анализа.

Результаты. Установлено, что для детей, больных сахарным диабетом, по сравнению с контрольной группой, характерно снижение подвижности позвоночника, первые признаки этих изменений определяли уже со второго года заболевания, они прогрессировали с увеличением длительности течения сахарного диабета.

Установлено, что с прогрессированием заболевания происходило постепенное ухудшение обеспеченности витамином D. Если на первом году заболевания недостаточность витамина D определена только у 10 %, во 2 группе – у 50 % детей, то при течении СД более 5 лет дефицит витамина D диагностирован у 80 % детей ($p < 0,05$). Недостаточный уровень обеспеченности витамином D сопровождался ухудшением состояния общей подвижности позвоночника. Самые низкие значения уровня витамина D присущи детям с гликемическим контролем с высоким риском для жизни ($r = -0,41$; $p < 0,05$).

Определено, что уровень периостина имел тенденцию к постепенному увеличению при прогрессировании сахарного диабета. Анализ данных показал, что наибольшее содержание периостина наблюдали у детей с низкой обеспеченностью витамином D в сыворотке крови ($r = -0,36$, $p < 0,05$).

Выводы. Для детей, больных сахарным диабетом, характерно ухудшение функционального состояния позвоночника – снижение подвижности во всех его отделах, прогрессирующее с увеличением продолжительности заболевания. Одни из механизмов развития установленных нарушений – неудовлетворительная компенсация диабета и недостаточная обеспеченность витамином D.

Ключевые слова:

дети, сахарный диабет, периостин, витамин D, подвижность позвоночника.

Патология. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 86-92

There are more than 20 million people on the Earth with insulin-dependent diabetes, which is 10–15 % of all patients with diabetes. Nevertheless, WHO experts prognose that the number of this patients will increase by 1.5 times until 2030 taking into consideration fast pace of this disease increase. The most important problem of insulin-dependent diabetes is revealing of early and late complications of different organs and systems, that cause worsening of life quality. The main reason for late complications is hyperglycemia [1]. That is why it is very important to treat diabetes correctly and on time. If during treatment it is not possible to achieve normoglycemia, this leads to chronic complications, such as diabetic retinopathy, neuropathy, nephropathy, osteoarthropathy, etc. [2].

Diabetic arthropathy is a common complication of diabetes and it often occurs, according to literature review in 0.08–13.00 %, and in patients with a high risk of glycemic control, it increases to 29 % [3]. Skeleto-muscular lesion appears in children even if the duration of the disease is not long, meantime adult patients have such changes after a much longer disease duration [1]. This happens due to age-related peculiarities of skeleton, gaining bone mass and growth spurt [4]. Decreasing of bone mass leads to disorder of mechanical strength, which causes accelerated bone friability. However, osteopenia in children usually goes covertly and it is not diagnosed throughout a long time [3].

Recently, syndrome of joints movement volume restriction in patients with diabetes is vividly studied, long-existing hyperglycemia takes the leading position

in mechanisms of its development, as well as specific complications of this disease [5].

It is known that vitamin D is needed for normal bone mineralization and maintenance of calcium and phosphorus in the blood serum. In the late 80s, it was found that in osteoblasts and osteocytes there are both vitamin D receptors (VDR) and 1.25 (OH) $_2$ D [6]. VD directly participates in bone tissue metabolism, acting with VDR on osteoclasts, chondrocytes, osteoblasts [7]. In addition to the effect of VD on the bone system, the role of VD hypovitaminosis on the pathogenesis of metabolic disorders, including diabetes, is possible [8]. In support of this fact, VDR were found in β -cells of the pancreas, in adipose tissue and skeletal muscles involved in glucose homeostasis [9].

It is proved that extracellular protein – periostin also takes part in the metabolism of bone tissue. It regulates the collection and adhesion of bone marrow osteoblasts for bone regeneration. An experiment was conducted on mice with lacked periostin. Defects such as stunted growth, short bones, impaired regeneration and bone density were discovered [10]. However, to date, there are only a few works in which the relationship of periostin and vitamin D and their changes in various pathologies were studied [11]. Nevertheless, until now the question about the whole spectrum of changes in skeleto-muscular system in children with insulin-dependent diabetes is open. That is why there is a strong need for searching of early diagnostic criteria for changes in skeleto-muscular system, especially at early age, when pathological processes can be reversed.

Aim

To evaluate spine mobility, as an integral marker of joint mobility, according to the duration of the disease and provision of vitamin D in children with diabetes.

Materials and research methods

The research was held on the base of Endocrinology Department of Communal Enterprise "Zaporizhzhia regional clinical children hospital" of Zaporizhzhia regional council. Overall, 93 children from 11 to 17 years old with insulin-dependent diabetes were examined. According to the duration of the disease, all children were divided into three groups: the first group consists of 26 children (average age 12.9 ± 0.4 years) with the duration of the disease less than a year, the second group consists of 33 patients (average age 13.8 ± 0.4 years) with the duration of the disease from one to five years, the third group consists of 34 patients (average age 14.3 ± 0.4 years) with the duration of the disease for more than five years. The control group consists of 30 conditionally healthy children that are representative by age and gender.

Evaluation of joints motion was performed in all the children with the help of metrical tests [12,13]:

1) Definition of mobility of cervical region of the spine. 8 centimeters is measured up from VII cervical vertebra, where the mark is made. Then one asks a child to lean head down as much as possible. Then this distance is marked as well. This distance increases for 2–3 centimeters in healthy children.

2) Chin-sternum test. While leaning the head down, a person's chin must touch the sternum. If there is a lesion of cervical region of spine, then some space is left between chin and sternum.

3) Otto test – mobility evaluation of thoracic region of spine. 30 centimeters is measured down from VII cervical vertebra, where the mark is made. Then the distance between these two points is measured, while a child is leaning forward as much as possible. Healthy children have the increase of this distance for 3–4 centimeters.

4) Restriction of chest excursion is used for determination of costovertebral joints mobility. Chest circumference is measured on the level of the IV rib while a child inhales deeply and then exhales. The difference between index of chest circumference is usually 4.0–4.5 centimeters.

5) Schober's test – mobility evaluation of lumbar region of spine. 10 centimeters is measured up from V lumbar vertebra, where the mark is made. While leaning forward as much as possible this distance increases for 3–4 centimeters.

6) Thomayer test – evaluation of general mobility of the whole spine. It is conducted by measuring distance in centimeters from middle finger of outstretched hands to the floor. This distance equals 0 in healthy children.

The content of vitamin D in blood serum was determined by EIA method using commercial kits: 25OH Vitamin D Total ELISA (DI Asource ImmunoAssays S.A., Belgium).

The group of patients with diabetes mellitus whose vitamin D level was determined consisted of 30 children, the control group consisted of 10 children. During Vitamin D assessment 5 threshold levels of serum hydroxycalciferol concentration were allocated: absolutely toxic level – more than 200 ng/ml; level with a possible manifestation of toxicity – 100–200 ng/ml; adequate level – 30–100 ng/ml; insufficiency – 21–29 ng/ml and deficiency – less than 20 ng/ml [14].

The group of patients with diabetes mellitus whose periostin level was determined consisted of 62 patients, the control group consisted of 20 patients. The content of periostin in blood serum was determined by EIA method using commercial kits HUMAN PERIOSTIN/OSF-2 ELISA KIT (Aviscera Bioscience Inc., USA)

All the results were analyzed using the set of statistic programs Statistica 13.0 (StatSoft Inc. № JPZ8041382130ARCN10-J). Parametrical methods that helped to evaluate arithmetic mean (M), standard deviation (σ) and mean error (m) were applied for normally arranged rates. Check of normality was held with the Shapiro–Wilk test of asymmetry. The method of correlation analysis was used to calculate the Pearson correlation coefficient in the normal distribution of features and the Spearman rank correlation coefficient in their absence. We used the median and quartiles Me (Q1; Q2) in the case of unequal distribution of features and nonlinear nature of dependence. The significance of the differences in the results obtained for different groups in the normal distribution of characteristics was determined by the parametric (Student's criterion) method. In cases where the distribution law was statistically significantly different from the normal one, the non-parametric Mann–Whitney criterion (U) was calculated as a nonparametric analogue of the Student's criterion. Differences were considered to be significant at $P < 0.05$.

In planning this work the bioethical commission gave permission to conduct research. All patients signed informed consent to participate in the study. All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. Informed consent was obtained from all individual participants included in the study. The full data set by children, their parents, and physician that support the findings of this study are not publicly available due to the ethics approval originally obtained.

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. Informed consent was obtained from all individual participants included in the study. The full data set by children, their parents, and physician that support the findings of this study are not publicly available due to the ethics approval originally obtained.

All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. Informed consent was obtained from all individual participants included in the study. The full data set by children, their parents, and physician that support the findings of this study are not publicly available due to the ethics approval originally obtained.

Results

Carried out analyses shows that the longer the duration of diabetes is, the worse functional condition of spine children have (Table 1).

For example, in the group of children who have diabetes for less than a year, there were only solitary cases of decrease of spine functional condition. Moreover, average parameters of spine mobility did not statistically differ from data of control group. Despite that, starting from the second year of disease, it was noticed that there is gradual decrease of mobility of all regions of the spine. The individual analyses showed that patients from the second group suffered primarily from lesion of cervical region of spine, decrease of spine mobility was noticed in one third of patients (Table 2). It was noted

Table 1. Mobility conditions of spine in children with diabetes, depending on the duration of the disease according to data of metrical tests ($M \pm m$)

Metrical tests	1 group, n = 26	2 group, n = 33	3 group, n = 34	Control group, n = 30
Mobility of cervical region of spine, cm	2.37 $\pm$ 0.12	1.95 $\pm$ 0.11 ¹	1.65 $\pm$ 0.10 ^{1,2,3}	2.33 $\pm$ 0.09
Chin-sternum test, cm	0.12 $\pm$ 0.08	0.44 $\pm$ 0.12 ^{1,2}	0.96 $\pm$ 0.13 ^{1,2,3}	0.10 $\pm$ 0.07
Otto test, cm	3.25 $\pm$ 0.12	2.91 $\pm$ 0.10	2.68 $\pm$ 0.10 ^{1,2}	3.13 $\pm$ 0.13
Schober's test, cm	3.42 $\pm$ 0.11	3.17 $\pm$ 0.10 ¹	2.79 $\pm$ 0.10 ^{1,2,3}	3.53 $\pm$ 0.11
Chest excursion, cm	4.56 $\pm$ 0.13	4.23 $\pm$ 0.15 ¹	3.69 $\pm$ 0.10 ^{1,2}	4.67 $\pm$ 0.12
Thomayer test, cm	0.15 $\pm$ 0.11	0.82 $\pm$ 0.24 ^{1,2}	2.68 $\pm$ 0.36 ^{1,2,3}	0.20 $\pm$ 0.09

¹: a significant ($P < 0.05$) difference compared to the corresponding indicator of the control group; ²: a significant ($P < 0.05$) difference compared to the corresponding indicator of group 1; ³: a significant ($P < 0.05$) difference compared to the corresponding indicator of group 2.

Table 2. Registration frequency of spinal movement disorders in children with diabetes, according to metrical tests, depending on duration of the disease (n, %)

Metrical tests	1 group, n = 26		2 group, n = 33		3 group, n = 34		Control group, n = 30	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Mobility of cervical region of spine, cm	2	7.7	10	30.3 ¹	17	50.0 ^{1,2}	2	6.6
Chin-sternum test, cm	2	7.7	11	33.3 ^{1,2}	23	67.6 ^{1,2,3}	2	6.6
Otto test, cm	2	7.7	8	24.2 ²	16	47.1 ^{1,2,3}	3	10.0
Schober's test, cm	2	7.7	9	27.3 ^{1,2}	17	50.0 ^{1,2}	1	3.3
Chest excursion, cm	1	3.8	4	12.1	11	32.3 ^{1,2}	1	3.3
Thomayer test, cm	2	7.7	11	33.3 ^{1,2}	27	79.4 ^{1,2,3}	2	6.6

¹: a significant ($P < 0.05$) difference compared to the corresponding indicator of the control group; ²: a significant ($P < 0.05$) difference compared to the corresponding indicator of group 1; ³: a significant ($P < 0.05$) difference compared to the corresponding indicator of group 2.

Table 3. Mobility conditions of spine in children with diabetes, according to the status of glycaemic control ($M \pm m$)

Metrical tests	Glycemic control			Control group, n = 30
	Ideal and optimal, n = 20	Suboptimal, n = 29	High risk to life, n = 44	
Mobility of cervical region of spine, cm	2.28 $\pm$ 0.10	2.18 $\pm$ 0.10	1.74 $\pm$ 0.08 ^{1,2,3}	2.33 $\pm$ 0.09
Chin-sternum test, cm	0.08 $\pm$ 0.06	0.32 $\pm$ 0.09 ^{1,2}	0.63 $\pm$ 0.09 ^{1,2,3}	0.10 $\pm$ 0.07
Otto test, cm	3.11 $\pm$ 0.14	2.92 $\pm$ 0.11	2.80 $\pm$ 0.10	3.13 $\pm$ 0.13
Schober's test, cm	3.42 $\pm$ 0.11	3.25 $\pm$ 0.10 ¹	2.98 $\pm$ 0.08 ^{1,2,3}	3.53 $\pm$ 0.11
Chest excursion, cm	4.56 $\pm$ 0.13	4.17 $\pm$ 0.12 ¹	4.03 $\pm$ 0.10 ^{1,2}	4.67 $\pm$ 0.12
Thomayer test, cm	0.76 $\pm$ 0.21	1.90 $\pm$ 0.43 ^{1,2}	3.48 $\pm$ 0.56 ^{1,2,3}	0.20 $\pm$ 0.09

¹: a significant ($P < 0.05$) difference compared to the corresponding indicator of the control group; ²: a significant ($P < 0.05$) difference compared to the corresponding indicator of group with ideal and optimal glycaemic control; ³: a significant ($P < 0.05$) difference compared to the corresponding indicator of group with suboptimal glycaemic control.

Table 4. The amount of vitamin D and periostin in blood serum of children with diabetes according to the duration of the disease (Me (Q25–Q75))

Score	1 group	2 group	3 group	Control group
Vitamin D, ng/ml	32 (30–35) n = 10	29 (28–34) n = 10	29.5 (29–31) n = 10	31.5 (30–33) n = 10
Periostin, ng/ml	37.2 (22.7–114.7) ¹ n = 20	44 (18–145) ¹ n = 21	60 (38.5–128.0) ^{1,2} n = 21	2.5 (1.3–33.5) n = 20

¹: a significant ($P < 0.01$) difference compared to the corresponding indicator of the control group; ²: a significant ($P < 0.05$) difference compared to the corresponding indicator of group 1.

that the same number of patients in this group had mobility impairment of spine, which was revealed during Thomayer's test (Table 2).

We got the worst results in patients from the third group, all their indicators that characterize parameters of functional condition of spine, significantly differ from the same parameters of patients in control group, as well as from patients' indicators from the first and second groups.

Data analyses, which is given in Fig. 3, has showed that if the duration of diabetes is more than five years, then there is a decrease of movements amplitude of cervical region of spine in the majority of patients (67.6 %). It has been revealed during carrying out chin-sternum test, which is 8.7 times more often than in patients with 1-year duration of diabetes and 2 times more often comparing to indicators of patients from the second group ($P < 0.05$).

We noticed significant decrease of mobility of thoracic and lumbar regions of spine in patients from the third group comparing to other researched groups ($P < 0.05$). Registered changes were reflected in general spine mobility, and its restriction was noticed in 27 (79.4 %) patients from the third group.

Considering impact of hyperglycemia on the development of diabetic arthropathy we analyzed the spine mobility in children with diabetes, according to the status of glycaemic control (Table 3).

The analysis showed that there was no violation of the state of spinal mobility with ideal and optimal glycaemic control in patients with diabetes. At the same time lack of compensation for the disease was accompanied by decrease of mobility of all regions of the spine. The most significant deviations from normative indicators were determined in patients with glycaemic control with a high

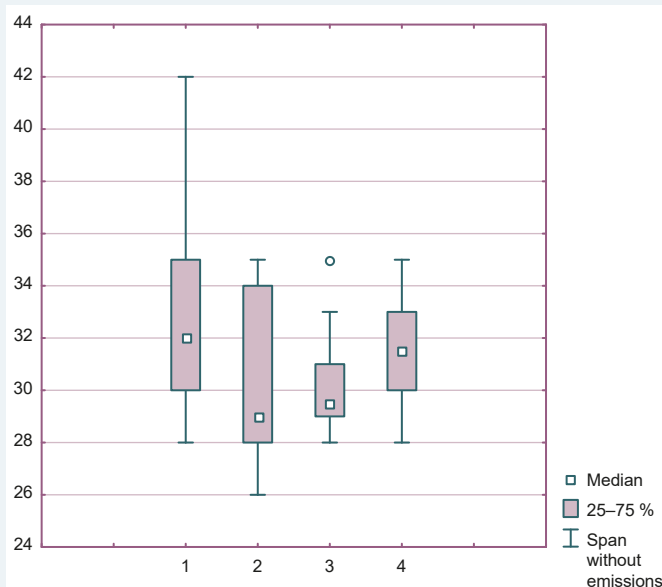


Fig. 1. Diagram of variation of vitamin D amount in blood serum of children with diabetes according to the disease duration.

1: group 1; 2: group 2; 3: group 3; 4: control group.

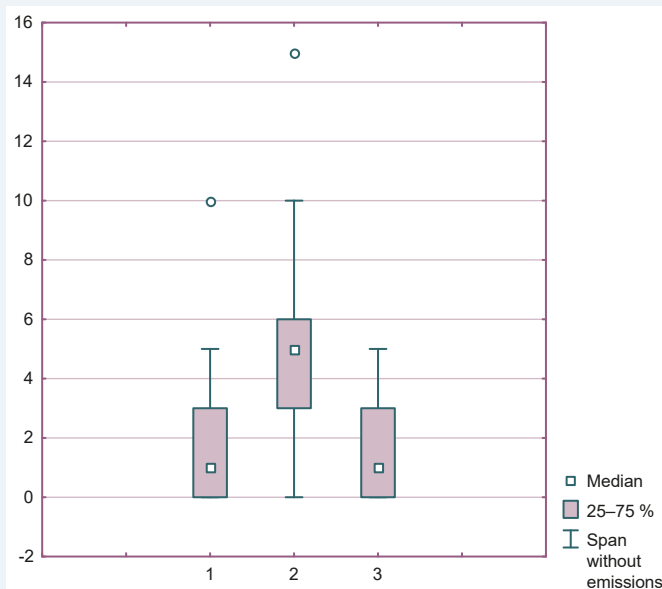


Fig. 2. Variation diagram of the Thomayer test values, depending on the availability of vitamin D in children with diabetes according to the duration of a disease.

1: patients with normal vitamin D levels; 2: patients with deficient levels of vitamin D; 3: control group.

risk for life. In these children, total spine mobility was reduced by 17.6 times compared with the control group ($P < 0.01$) and by 4.6 times compared to patients with good compensation for diabetes ($P < 0.05$).

Vitamin D and periostin affect bone tissue. We have studied the amount of vitamin D and periostin in the blood serum of children with diabetes according to the duration of the disease (Table 4).

The analysis of vitamin D deficiency showed lack of significant difference in vitamin D provision between children with diabetes and the control group ($P > 0.05$).

We observed a decrease in blood serum vitamin D levels, which is progressing with the increase of illness duration. The variation diagram of vitamin D amount in blood serum in investigated groups is given in Fig. 1.

As it is shown in Fig. 1, there was wide variation in levels of vitamin D (26.0–42.0 ng/ml) in blood serum of children with diabetes. The highest variability in the content of vitamin D in the blood serum was detected in the group of patients with a duration of diabetes up to 1 year, concentration fluctuated within 28.0–42.0 ng/ml. The range of 25(OH)D values of the control group was 28.0–35.0 ng/ml. The individual analyses showed that in the first year of the disease, vitamin D deficiency was only 10 %. At that time, in group 2 in 50 % of children, and in group 3 in 80 % of children there was a decrease in vitamin D level ($P < 0.05$).

We have analyzed the relationship between the state of general spinal mobility and the level of vitamin D provision (Fig. 2). As a result, the data obtained showed that in children with diabetes mellitus, an insufficient level of vitamin D provision was accompanied by a deterioration in the state of general spinal mobility (Fig. 2).

As shown in Fig. 2, in patients whose vitamin D content was in the range of 30–100 ng/ml, the Thomayer test did not differ from the data obtained in the children of the control group, and was 1.0 [0.0; 3.0] cm ($P > 0.05$) in both groups. At the same time, children who were found to be deficient in vitamin D had a worsening of the overall mobility of the spine and showed a statistically significant increase in the Thomayer test to 5.0 [3.0; 6.0] cm ($P < 0.05$). Thus, the total mobility of the spine depended on the level of vitamin D, which was confirmed by the inverse correlation between its content in the serum and Thomayer test ($r = -0.38$, $P < 0.05$). There was an inverse correlation between the content of vitamin D in the blood serum and glycated hemoglobin ($r = -0.41$, $P < 0.05$). Low values of vitamin D were inherent in children with glycemic control with a high risk for life.

The next stage of our work was the study of the content of periostin in the blood serum of children with diabetes mellitus (Table 4). Analysis of the data showed that the level of periostin in the blood serum of children with diabetes mellitus had a wide variation of values (8.0–225.0 ng/ml), but was statistically higher than its level in the control group ($P < 0.05$) regardless of the duration of the disease. It was conducted data analysis of the serum periostin content in patients with diabetes mellitus depending on the duration of the disease. A gradual increase with the progression of diabetes with the highest values in children with longer duration of diabetes was established (Fig. 3).

Given that both vitamin D and periostin are involved in bone metabolism [15], we examined the content of the latter in children with diabetes mellitus, depending on the level of vitamin D provision (Fig. 4).

Visual analysis diagram of variation showed that children with low vitamin D supply had high serum periostin content and it was 140.00 [45.75; 177.75] ng/ml. At the same time, in children with diabetes with normal supply of vitamin D, the median concentration of serum periostin was 44.0 [27.0; 64.0] ng/ml ($P < 0.05$). However, it did not reach the control values (2.5 [1.3; 33.5] ng/ml, $P < 0.05$).

The obtained data were confirmed by the inverse correlation relationship of medium strength ($r = -0.36$, $P < 0.05$) between the level of periostin and the vitamin D content in the blood serum of children with diabetes mellitus.

Discussion

All data obtained has shown that a violation of the functional capabilities of the spine was observed, which was manifested by a decrease in mobility in all its regions in children with diabetes. The revealed changes were progressing in the dynamics of the disease and occurred against the background of lack of diabetes compensation, insufficiency of vitamin D and an increase in blood serum periostin.

It is known that bone is a dynamic system in which the remodeling processes continuously occur: formation and resorption of bone tissue. Provision of vitamin D influences the process of resorption. In case of insufficiency or deficiency of vitamin D there is a violation of bone homeostasis. In addition, it is believed that vitamin D affects glucose homeostasis by acting directly on β -cells and indirectly through calcium regulation, since insulin secretion depends on calcium [16]. Our findings also indicate an existing relationship between vitamin D and the state of glycemic control in patients with diabetes. Our findings are consistent with other studies, which demonstrated a significant improvement in glycemic control in the treatment of vitamin D deficiency in children and teenagers with diabetes [17].

Another marker of bone metabolism is periostin. It is expressed in bone by osteocytes and plays a key role in the regulation of osteoblast function and bone formation [15]. Our results show that periostin can be a marker of changes in the osteoarticular system and can be used as a diagnostic tool in the development of diabetic arthropathy. The results of our study show that one of the mechanisms for increasing level of periostin in diabetes mellitus is lack of vitamin D. Together, this leads to a violation of the functional state of the joints, in particular the spine.

Conclusions

1. Children with diabetes are characterized by a deterioration in the functional state of the spine in the form of reduced mobility in all its regions, which progresses with an increase in the disease duration. One of the mechanisms for the development of the revealed violations is poor compensation for diabetes and vitamin D deficiency.

2. The results of our study prove that it is necessary to determine the level of vitamin D in children with diabetes mellitus. It requires timely correction of the deficit in order to improve glycemic control and the prevention of violations of the bones and joints.

Prospects for further research. In the future, it is planned to study the condition of the joints of the upper and lower limbs in children with diabetes mellitus, and to determine the pathogenetic factors that influence the development of their changes.

Funding

The dissertation is planned to be carried out as part of the research work of the Department of Hospital Pediatrics

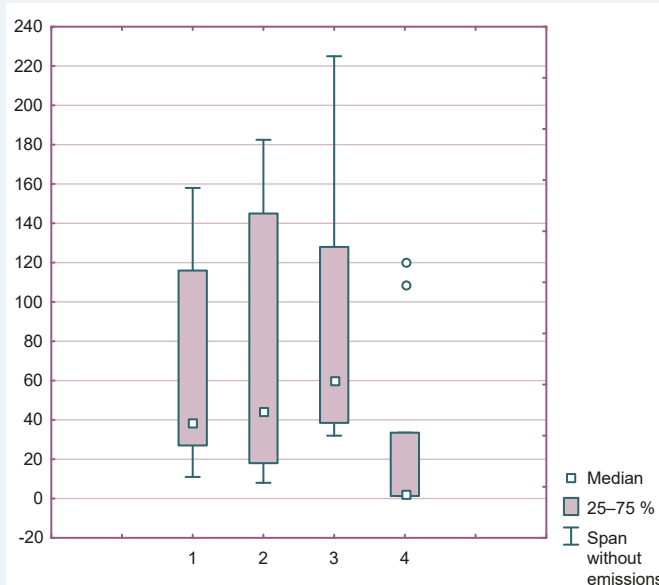


Fig. 3. Variation diagram of periostin amount in blood serum of children with diabetes according to the duration of the disease.

1: group 1; 2: group 2; 3: group 3; 4: control group.

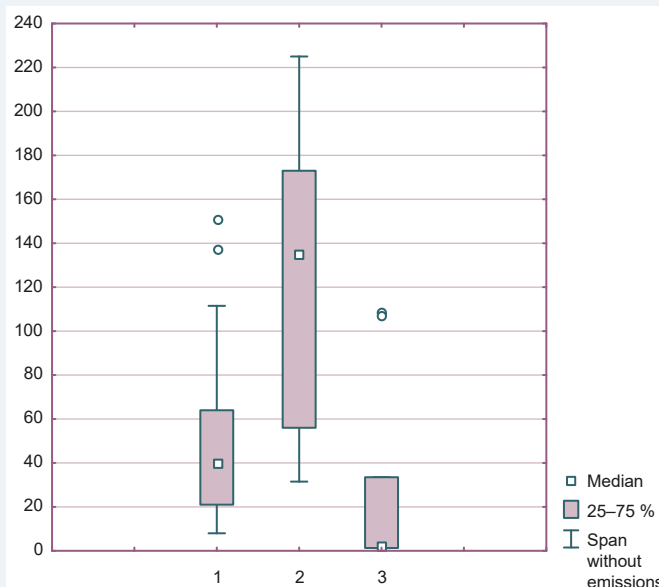


Fig. 4. Variation diagram of periostin amount in blood serum of kids with diabetes according to the availability of vitamin D.

1: patients with normal vitamin D levels; 2: patients with deficient levels of vitamin D; 3: control group.

of Zaporizhzhia State Medical University: "Prediction of the occurrence, diagnosis and treatment of the disorders of musculoskeletal system in children with diabetes" (№ 0119U100456).

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

Конфлікт інтересів: відсутній.

Надійшла до редакції / Received: 11.02.2020

Після доопрацювання / Revised: 24.02.2020

Прийнято до друку / Accepted: 29.02.2020

Information about authors:

Pashkova O. Ye., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Hospital Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Lysenko K. P., PhD Student of the Department of Hospital Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Пашкова О. Є., д-р мед. наук, професор каф. госпітальної педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Лисенко К. П., PhD аспірант каф. госпітальної педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Пашкова Е. Е., д-р мед. наук, профессор каф. госпитальной педиатрии, Запоржский государственный медицинский университет, Украина.

Лысенко К. П., PhD аспирант каф. госпитальной педиатрии, Запоржский государственный медицинский университет, Украина.

the supplementation of vitamin D and the treatment of deficits in Central Europe – recommended vitamin D intakes in the general population and groups at risk of vitamin D deficiency. *Endokrynologia Polska*, 64(4), 319-327. <https://doi.org/10.5603/ep.2013.0012>

- [15] Idolazzi, L., Ridolo, E., Fassio, A., Gatti, D., Montagni, M., Caminati, M., Martignago, I., Incorvaia, C., & Senna, G. (2017). Periostin: The bone and beyond. *European Journal of Internal Medicine*, 38, 12-16. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2016.11.015>
 - [16] Savastio, S., Cadario, F., Genoni, G., Bellomo, G., Bagnati, M., Seco, G., Picchi, R., Giglione, E., & Bona, G. (2016). Vitamin D Deficiency and Glycemic Status in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus. *Plos One*, 11(9), Article e0162554. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162554>
 - [17] Giri, D., Pintus, D., Burnside, G., Ghatak, A., Mehta, F., Paul, P., & Senniappan, S. (2017). Treating vitamin D deficiency in children with type 1 diabetes could improve their glycaemic control. *BMC Research Notes*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2794-3>
-
- References**
- [1] Al-Hariri, M. (2016). Sweet Bones: The Pathogenesis of Bone Alteration in Diabetes. *Journal of Diabetes Research*, 2016, Article 6969040. <https://doi.org/10.1155/2016/6969040>
 - [2] Schacter, G. I., & Leslie, W. D. (2017). Diabetes and Bone Disease. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 46(1), 63-85. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2016.09.010>
 - [3] Zhao, H. M., Diao, J. Y., Liang, X. J., Zhang, F., & Hao, D. J. (2017). Pathogenesis and potential relative risk factors of diabetic neuropathic osteoarthropathy. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 12, Article 142. <https://doi.org/10.1186/s13018-017-0634-8>
 - [4] Maltsev, S. V., Mansurova, G. Sh., Kolesnichenko, T. V., & Zotov, N. A. (2013). Mineral'naya plotnost' kosti u detei v raznye vozrastnye periody [Bone mineral density in children in different age periods]. *Prakticheskaya meditsina*, (6), 106-108. [in Russian].
 - [5] Schvets, N. I., & Bentsa, T. M. (2011). Diabeticheskaya osteoartropatiya: diagnostika i lechenie (Obzor literatury) [Diabetic osteoarthropathy: diagnostic and treatment (literature review)]. *Suchasni aspekty viiskovoi medytyny*, (18), 417-422. [in Russian].
 - [6] Boivin, G., Mesguich, P., Pike, J. W., Bouillon, R., Meunier, P. J., Haussler, M. R., Dubois, P. M., & Morel, G. (1987). Ultrastructural immunocytochemical localization of endogenous 1,25-dihydroxyvitamin-d3 and its receptors in osteoblasts and osteocytes from neonatal mouse and rat calvaria. *Bone and Mineral*, 3(2), 125-136.
 - [7] Sorensen, I. M., Jøner, G., Jenum, P. A., Eskild, A., Brunborg, C., Torjesen, P. A., & Stene, L. C. (2016). Vitamin D-binding protein and 25-hydroxyvitamin D during pregnancy in mothers whose children later developed type 1 diabetes. *Diabetes-Metabolism Research and Reviews*, 32(8), 883-890. <https://doi.org/10.1002/dmrr.2812>
 - [8] Giustina, A., & Bilezikian, J. P. (Eds.). (2018). *Vitamin D in Clinical Medicine* (Vol. 50, pp. 1-8). Karger: Basel, Switzerland. <https://doi.org/10.1159/000486733>
 - [9] Egshatyan, L. V. (2018). Neklassicheskie efekty vitamina D [Non-classical effects of vitamin D]. *Ozhirenie i metabolism*, 15(1), 12-18. [in Russian]. <https://doi.org/10.14341/omet2018112-18>
 - [10] Yan, J., Liu, H. J., Li, H., Chen, L., Bian, Y. Q., Zhao, B., Han, H. X., Han, S. Z., Han, L. R., Wang, D. W., & Yang, X. F. (2017). Circulating periostin levels increase in association with bone density loss and healing progression during the early phase of hip fracture in Chinese older women. *Osteoporosis International*, 28(8), 2335-2341. <https://doi.org/10.1007/s00198-017-4034-z>
 - [11] Povorozniuk, V. V., Pludowski, P., Balatska, N. I., Muts, V. Ya., & Klymovytskiy, F. V. (2014). Defitsyt ta nedostatnist vitaminu D: epidemiologia, diahnostyka, profilaktyka ta likuvannia [Deficit and deficiency Vitamin D: epidemiology, diagnosis, prevention and treatment]. *Donetsk : Zaslavskiy O. Yu.* [in Ukrainian].
 - [12] Aksanova, T. A., Tsarenok, S. Yu., Ivashchenko, N. F., Panina, E. S., Makkaveeva, O. N., & Tereshkov, M. P. (2016). Sovremennye metody diagnostiki ankiloziruyushchego spondiloartrita [Modern methods for the diagnosis of ankylosing spondylitis]. *Zabaikalskii meditsinskii zhurnal*, (1), 11-18. [in Russian].
 - [13] Raevsky, R. T. & Kanishevskii, S. M. (1985). Professionalno-prikladnaya fizicheskaya podgotovka studentov vysshikh uchebnykh zavedenii [Professional and Applied Training of Students of Technical Universities: Training. allowance]. Moscow: Higher school. [in Russian].
 - [14] Pludowski, P., Karczmarewicz, E., Bayer, M., Carter, G., Chlebna-Sokol, D., ... Zmijewski, M. A. (2013). Practical guidelines for

Патофізіологічне обґрунтування ефективності застосування кверцетину в терапії коронавірусної хвороби (COVID-19)

І. А. Зупанець  *A,E,F, С. К. Шебеко  C,E, Н. П. Безугла  B,D, І. А. Отришко  B,C

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

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

Зважаючи на відсутність ефективної та безпечної терапії хворих на COVID-19, пошук нових методів лікування – найбільш актуальна тема в медицині та фармації. Висока летальність (7,1 %) внаслідок розвитку гострого респіраторного дистрес-синдрому, який зумовлений цитокіновим штормом, диктують необхідність розробки нових підходів до впливу на різноманітні патогенетичні ланки захворювання в комплексній терапії таких хворих.

В огляді узагальнили результати експериментальних і клінічних досліджень щодо вивчення фармакологічних властивостей кверцетину (механізмів дії, фармакологічних ефектів) і лікарських препаратів, що його містять, – Квертину та Корвітину (пероральна та парентеральна лікарські форми), які наявні на фармацевтичному ринку України.

Результати численних досліджень свідчать, що кверцетин має (серед інших) високу протизапальну активність, протівірусну, мембраностабілізуючу, імуномодулювальну й антиоксидантну дії. Механізми реалізації цих фармакологічних ефектів добре вивчені та зумовлюють можливість застосування кверцетину як патогенетичної терапії (вплив на різні ланки патогенезу) у хворих на коронавірусну інфекцію. Це диктує необхідність здійснення відповідних клінічних випробувань цих препаратів для профілактики інфікування та лікування коронавірусної інфекції. Результати клінічних випробувань можуть стати інноваційною стратегією в лікуванні хворих на COVID-19.

Ключові слова:

Квертин, Корвітин, кверцетин, цитокіновий шторм.

Патологія. 2020.

Т. 17, № 1(48).
С. 93-101

*E-mail:

clinpharm@nuph.edu.ua

Pathophysiological substantiation of the effectiveness of quercetine use in coronavirus disease (COVID-19) therapy

I. A. Zupanets, S. K. Shebeko, N. P. Bezugla, I. A. Otrishko

In the absence of effective and safety therapy for COVID-19 patients, today the search for new methods of treatment is the most actual topic in medicine and pharmacy. High mortality (7.1 %) due to the development of acute respiratory distress-syndrome, which is caused by cytokine storm, dictate the need to develop a new approaches to the influence on a various pathogenetic links of the disease in the complex therapy of such patients.

This review summarizes the data of experimental and clinical studies of the pharmacological properties of quercetin (mechanisms of action, pharmacological effects) and quercetin-containing drugs Quertin and Corvitin (oral and parenteral dosage forms), which are presented on the pharmaceutical market of Ukraine.

The results of numerous studies indicate that quercetin has (among others) high anti-inflammatory, antiviral, membrane-stabilizing, immunomodulating and antioxidant effects. The mechanisms for the realization of these pharmacological effects are well studied and make it possible to use quercetin as a pathogenetic therapy (effect on the various pathogenesis links) in patients with coronavirus infection. This dictates the need for the conducting of appropriate clinical trials of these drugs for the prevention and treatment of coronary infection. Clinical trials results may be an innovative strategy in the treatment of COVID-19 patients.

Key words:

Quertin, Corvitin, quercetin, cytokine storm.

Pathologia

2020; 17 (1), 93-101

Патофизиологические обоснование эффективности применения кверцетина в терапии коронавирусной болезни (COVID-19)

И. А. Зупанец, С. К. Шебеко, Н. П. Безуглая, И. А. Отришко

При отсутствии эффективной и безопасной терапии больных с COVID-19 поиск новых методов лечения – наиболее актуальная тема в медицине и фармации. Высокая летальность (7,1 %) вследствие развития острого респираторного дистресс-синдрома, который обусловлен цитокинным штормом, диктуют необходимость разработки новых подходов к влиянию на различные патогенетические звенья заболевания в комплексной терапии таких больных.

В обзоре обобщены данные экспериментальных и клинических исследований по изучению фармакологических свойств кверцетина (механизмов действия, фармакологических эффектов) и кверцетинсодержащих лекарственных препаратов Квертин и Корвитин (пероральная и парентеральная лекарственные формы), которые представлены на фармацевтическом рынке Украины.

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют, что кверцетин обладает (среди прочих) высокой противовоспалительной активностью, противовирусным, мембраностабилизирующим, иммуномодулирующим и антиоксидантным действием. Механизмы реализации этих фармакологических эффектов хорошо изучены и обуславливают

Ключевые слова:

Квертин, Корвитин, кверцетин, цитокинный шторм.

Патология. 2020.

Т. 17, № 1(48).
С. 93-101

возможность применения кверцетина в качестве патогенетической терапии (влияние на различные звенья патогенеза) у больных коронавирусной инфекцией. Это диктует необходимость проведения соответствующих клинических испытаний этих препаратов для профилактики инфицирования и для лечения коронавирусной инфекции. Результаты клинических испытаний могут стать инновационной стратегией в лечении больных COVID-19.

Нині найважливішою медико-соціальною проблемою в усьому світі стала пандемія коронавірусної інфекції (COVID-19) – наслідки для суспільства, системи охорони здоров'я та для світової економіки непередбачувані та катастрофічні. За офіційною статистикою, станом на 30.04.2020 р. смертельні випадки COVID-19 становлять 7,1 %, а з-поміж тих, хто нині хворіють, 54 599 пацієнтів перебувають у критичному стані. У зв'язку з COVID-19 ВООЗ оголосила надзвичайну ситуацію в галузі суспільної охорони здоров'я.

Коронавірусна хвороба асоціюється з вираженим запальним процесом, зокрема цитокіновим штормом [1–3].

Останнім часом усе більше уваги вчені приділяють ролі імунозапальних механізмів у патогенезі COVID-19, особливо під час вивчення механізмів розвитку ускладнень цієї патології, найнебезпечнішим серед яких є гострий респіраторний дистрес-синдром [2], який розвивається у 15–33 % хворих. Вважають, що однією з головних ланок його патогенезу є каскад цитокінових реакцій (гіперцитокінемія – IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-17, IFN γ , G-CSF, MCP-1, TNF α тощо) [2–4], який умовно називають «цитокіновим штормом», виникає в організмі хворого внаслідок надлишкової активності нейтрофілів та їхньої здатності утворювати позаклітинні нейтрофільні пастки (NETs) [5]. У зв'язку з цим виникає логічне питання щодо ролі ейкозаноїдів у патогенезі COVID-19, що відіграють роль медіаторів запальної реакції та нерозривно пов'язані з сигнальними каскадами, що реалізуються завдяки цитокінам та іншим сигнальним молекулам. Припускають, що ейкозаноїди, особливо простагландин E₂, виконують одну з провідних функцій у розвитку імунозапальних і запально-деструктивних процесів при COVID-19 [6].

Отже, перспективним нині є кверцетин як біологічно активна речовина природного походження, що здатна чинити неспецифічний багатогранний комплексний вплив на запально-деструктивні процеси в організмі, пригнічуючи активність вільних радикалів, ейкозаноїдів, цитокінів та інших речовин, які беруть участь у розвитку прозапальних сигнальних каскадів [7–9].

Найвідомішим фармакологічним ефектом кверцетину є антиоксидантний, який реалізується через здатність поглинати супероксидні радикали, синглетний кисень, інгібувати утворення ліпідних пероксидних радикалів [10] завдяки особливостям хімічної будови його молекули [11]. Але все більше уваги кверцетин привертає як протизапальний засіб з альтернативним механізмом дії. Незважаючи на те, що він здатний пригнічувати біотрансформацію арахідонової кислоти за обома відомими механізмами – циклооксигеназним і ліпооксигеназним [12,13], переважний інгібувальний вплив кверцетину, безумовно, чинить саме на 5-ліпооксигеназу та синтез лейкотриєнів [14].

Експериментально виявлено: кверцетин може безпосередньо пригнічувати основні медіатори запалення,

перешкоджаючи секреції гістаміну й активності алоантиген-специфічних цитотоксичних Т-лімфоцитів, інтерлейкіну IL-8 і фактора некрозу пухлини (TNF- α) [15]. Високу антигістамінну активність кверцетину підтверджено клінічно [16]. Кверцетин може взаємодіяти з системою поліфосфоїнозитидів, що мобілізують кальцій, та іншими елементами цього сигнального каскаду. Це модулює безліч внутрішньоклітинних реакцій, включаючи утворення та секрецію медіаторів запалення, процеси згортання крові, скорочення гладкої мускулатури, деякі імунні реакції тощо [17]. У доклінічних дослідженнях *in vitro* кверцетин показав суттєве зниження рівня маркерів запалення, як-от NO-синтаза, ЦОГ-2 та С-реактивний протеїн у культурі клітин гепатоцитів людини [18]. Протизапальні властивості кверцетину підтверджено також на моделях ад'ювантного артриту у гризунів [19,20].

Дуже багато експериментальних досліджень присвячені вивченню впливу кверцетину на прозапальну експресію цитокінів, що включають, передусім, IL-1 β , TNF- α та IL-6. У дослідженні [21] доведено: кверцетин за умов фебрильних судом на тлі пренатального стресу в щурів зменшував рівень прозапальних цитокінів (IL-6, IL-1 β , TNF- α) та збільшував рівень протизапальних (саме IL-10) цитокінів, а отже показав нейротекторну активність (протизапальну, протисудомну, протистресову).

В іншому дослідженні [22] автори визначили високий потенціал флавоноїдів, зокрема кверцетину, під час лікування хронічних запальних і незапальних захворювань. Доведено, що флавоноїди зменшують експресію IL-6, IL-8, IL-1 β , TNF- α як основних прозапальних і добре вивчених цитокінів.

Проаналізувавши результати дослідження [23], з'ясували: кверцетин істотно інгібує продукцію TNF- α залежно від дози. Отримані результати є доказом протизапальних ефектів кверцетину, що опосередковуються інгібуванням прозапального цитокіну TNF- α за допомогою модуляції NF- κ B та I κ B.

Отже, кверцетин можна вважати перспективним під час лікування алергічної патології, хронічних запальних (у тому числі аутоімунних) і незапальних (хвороба Альцгеймера) захворювань.

Одним з особливих ефектів кверцетину є його захисна дія на ендотелій судин, що має важливе значення при COVID-19, оскільки при цій патології неминуче розвивається ендотеліальна дисфункція [24]. У багатьох експериментальних дослідженнях доведено, що кверцетин може відновлювати порушення функції судинного ендотелію шляхом посилення активності ендотеліальної NO-синтази, підвищення вмісту простагландину F₂ та NO у крові [25,26] внаслідок впливу на NO-гуанілілциклазний каскад, гіперполяризаційний фактор ендотелію й зниження вмісту ендотеліну-1 [27], через зниження ушкоджувального впливу з боку ангіотензину II й пов'язаної з цим продукції супероксидних радикалів [28], а також завдяки відновленню балансу

в системі NO, NO-синтаз і супероксиду [29]. Важливо також, що кверцетин захищає ендотеліальні клітини від апоптозу [27].

У низці досліджень показано, що кверцетин може діяти як артеріальний вазодилататор, зокрема у коронарних артеріях, підвищуючи рівень цАМФ в ендотеліальних клітинах та інгібуючи агрегацію тромбоцитів [30–32]. До того ж, його антиагрегантний ефект, можливо, зумовлений інгібуванням утворення тромбосану А₂ у тромбоцитах і паралельно блокадою відповідних рецепторів. Зниження синтезу тромбосану викликано, ймовірно, пригніченням активності циклооксигенази [33–35].

Флавоноїди вже давно викликали науковий інтерес як противірусні засоби – у низці досліджень вони показали інгібувальний вплив на протеази різних типів коронавірусів. У деяких експериментах доведено інгібувальний вплив флавоноїдів, включаючи кверцетин, щодо 3С-подібної протеази (3CLpro) та папаїноподібної протеази (PLpro), які беруть участь у процесі протеолізу, а отже, є важливими для інфікування та репродукції SARS-CoV-2 [36–46].

В *in vitro* дослідженнях кверцетину визначили його ефективність (інгібуванням зворотної транскриптази) щодо багатьох вірусів, зокрема вірусу імунodefіциту людини й інших ретровірусів, вірусу герпесу I типу, вірусу поліомієліту I типу, вірусу паргрипу III типу, респіраторно-синцитіального вірусу та вірусу гепатиту С. Так, результати доклінічних досліджень Wong et al. (2017) на приматах свідчать про ефективність застосування кверцетину у випадку інфікування вірусом Зіка [47]. У дослідженні Yao et al. (2018) виявили активність кверцетину щодо ентеровірусу-71 [48].

Експериментальні дослідження показали також противірусний потенціал кверцетину проти SARS-CoV-2 [35,49]. З'ясували, що кверцетин інгібує трипсиноподібні серинові протеїнази в мікромольних концентраціях шляхом зв'язування двома сусідніми фенольними гідроксильними групами з амінокислотними залишками каталітичного центру протеази, зокрема з каталітично важливим залишком глутамінової кислоти, що є характерною ознакою протеаз більшості вірусів.

Враховуючи належність SARS-CoV-2 до родини коронавірусів, що викликають різноманітні захворювання дихальної системи, активність кверцетину протестована щодо інших вірусів цієї родини. Так, дослідження Yi et al. (2004) показало, що кверцетин блокує надходження у клітину іншого коронавірусу, що зумовлює гостру респіраторну вірусну інфекцію (ГРВІ) [36]. Дослідження Nguyen et al. (2012) також підтвердило противірусну активність кверцетину [40].

Отже, численними експериментальними дослідженнями доведена противірусна активність кверцетину, його позитивний вплив на різноманітні патогенетичні ланки різних патологічних станів, зокрема в патогенезі інфекційного процесу. Крім того, кверцетин має так звану органопротекторну активність.

Щодо актуальності пошуку нових методів профілактики та лікування гострого респіраторного дистрес-синдрому при COVID-19, викликає інтерес захисний вплив кверцетину щодо дихальної системи

й, особливо, легеневої тканини. У дослідженні Kumar et al. (2005) виявлено, що кверцетин відновлював концентрацію багатьох антиоксидантів (каталаза, глутатіондисуфатаза, супероксиддисуфатаза) в легенях лабораторних гризунів, які були заражені вірусом грипу А [50].

Застосування кверцетину в комплексі зі стандартною схемою лікування пневмонії істотно поліпшувало результати лікування дітей, знижуючи показники ендогенної інтоксикації та ліпопероксидації, а також підвищення активності антиоксидантної системи [51]. Включення кверцетину до складу комплексної терапії дало можливість знизити тривалість основних клінічних проявів пневмонії в дітей, зокрема ознак дихальної недостатності [52]. Доцільність застосування кверцетину показана також у пацієнтів із загостренням бронхіальної астми на тлі посиленої базисної та противірусної терапії [53].

У пошуку науково обґрунтованих методів лікування сьогодення диктує необхідність здійснення клінічних випробувань (КВ) щодо вивчення ефективності та безпеки не тільки лікарських засобів (ЛЗ) етіотропної (саме противірусних ЛЗ), профілактичної (розробка вакцини) терапії, але й патогенетичної (впливу на ЦШ тощо) терапії. Нині в пошуках надійних методів лікування та профілактики COVID-19 здійснюють понад 20 клінічних випробувань у різних країнах (США, Бразилія, КНР, Велика Британія тощо).

Інтерес до кверцетину як засобу профілактики та лікування COVID-19 при чималій гостроті цієї проблеми вже знайшов відгук у багатьох фахівців.

Зокрема, доктор P. Marik рекомендує оновлений (від 15 квітня 2020 р.) протокол терапії для пацієнтів із COVID-19 «Critical Care COVID-19 Management Protocol» (evmc.edu/covidcare) [54]. Так, для зниження важкості захворювання в особливо вразливих осіб (віком понад 60 років), а також для пацієнтів із легкою симптоматикою для профілактики та лікування запропоновано застосовувати комбінацію кверцетину та вітаміну С по 250–500 мг двічі на день. Одночасне застосування кверцетину з вітаміном С викликає науково-практичний інтерес. Поєднання цих засобів може сприяти посиленню антивірусної дії кверцетину. Підставою для такого припущення є дослідження про те, що комбінація 500 мг кверцетину та 250 мг вітаміну С знижувала пошкодження клітин, а також зменшувала вміст маркерів запалення [55].

Застосування кверцетину в лікуванні хворих на COVID-19 планується також у дослідженні канадських учених Chrétien і Mbikay (2020), які мають великий досвід досліджень впливу кверцетину на процеси лікування гострих респіраторних інфекцій на тваринних моделях. За протоколом, який розробили, планується застосовувати дієтичну добавку кверцетину в дозі 500 мг протягом усього періоду лікування за участю 1000 хворих [56]. Важливим аспектом є те, що, оскільки FDA затвердив кверцетин як безпечну для споживання людиною речовину, стає не актуальним доказ безпеки в умовах експерименту. Отже, кверцетин є доступним для лікування. Передбачається, що застосування кверцетину в лікуванні COVID-19 матиме вагомі фармакоекономічні переваги, оскільки вартість

такого лікування складатиме 2 долари на добу на одного пацієнта.

Уводючи кверцетин у протоколи медикаментозного забезпечення при COVID-19, слід брати до уваги, що при доволі глибокому вивченні антивірусної дії (рино- та ентеровіруси, вірус гепатиту С, віруси грипу, віруси Зіка та Менго) [57–65], він характеризується безперечно високим потенціалом антиоксидантної, антигіпоксичної, протизапальної, імуномодулювальної, кардіо-, нефро- та гепатопротекторної активності [66–67].

Протягом багатьох десятиріч в Україні здійснювали дослідження з розроблення та фармакологічного вивчення лікарських препаратів, що містять кверцетин у різних лікарських формах (внутрішнє й парентеральне застосування). Нині на вітчизняному фармацевтичному ринку зареєстровані 2 лікарські препарати виробництва ПАТ «НВЦ «Борщагівський ХФЗ»: Квертин (таблетки жувальні по 40 мг) і Корвітин (ліофілізат для розчину для ін'єкцій по 0,5 г), – застосування яких у протоколах лікування COVID-19 при сучасному стані цієї проблеми в Україні може мати статус питання національної безпеки.

Препарат Квертин у формі жувальних таблеток має суттєві переваги над іншими відомими у світі кверцетин-вмісними препаратами та дієтичними добавками за показниками фармакокінетики. Завдяки застосуванню особливого складу допоміжних речовин, що містять модифікатор розчинності пектин, вдалося суттєво поліпшити показники біодоступності кверцетину. Протягом експериментального дослідження фармакокінетики Квертину показано збільшення біодоступності кверцетину вдесятеро порівняно з нативною субстанцією [68].

Зважаючи на ускладнення з боку серцево-судинної системи, спричинені впливом як самого коронавірусу, так і препаратів, які застосовують під час лікування COVID-19 [1–3], актуальними є дані про кардіопротекторний вплив Квертину, що отримані в низці доклінічних досліджень.

У комплексному дослідженні ефективності Квертину для запобігання гіпертрофії та ремоделювання міокарда різного ґенезу в щурів встановлено, що застосування препарату поліпшувало гемодинамічні параметри, зменшувало виразність фібротичних змін у міокарді; це свідчить про його кардіопротекторну дію [69]. Експериментальна терапія Квертином при ізопроterenол-індукованому ушкодженні міокарда сприяла зменшенню масового коефіцієнта серця тварин і суттєво запобігала розвитку як дифузних інтерстиціальних, так і осередкових фібротичних процесів у міокарді. На моделі доксорубіцинової кардіоміопатії встановили, що Квертин стабілізує функціональні показники міокарда та чинить виразний антиоксидантний ефект, про що свідчило підвищення активності ферментів антиоксидантного захисту та зниження продуктів ліпопероксидації [70].

Враховуючи побічні ефекти, що мають місце під час хіміотерапії COVID-19, пов'язані з застосуванням хлорохіну, антивірусних препаратів фавіпіравіру та ремдесивіру, які проявляють доволі сильну гепатотоксичність, застосування Квертину є доцільним, зважаючи на його гепатопротекторну дію. Це також підтверджено під час експерименту [71].

До факторів ризику при захворюванні на COVID-19 належить також цукровий діабет і патології нирок. У дослідженні впливу Квертину на метаболічний синдром у щурів, індукований високофруктозною дієтою, встановлено: під його впливом відбувається гальмування розвитку інсулінорезистентності та інтолерантності до вуглеводів [72]. Нефропротекторна дія Квертину підтверджена в експериментальних дослідженнях за умов розвитку уражень нирок різної етіології, де він мав позитивний вплив на показники структурно-функціонального стану нирок, сприяв нормалізації видільної функції нирок та азотистого обміну й чинив антиоксидантну дію [73–75].

Останні дані вказують також на нейротоксичний вплив SARS-CoV-2, який проявляється як гострий респіраторний дистрес-синдром внаслідок токсичного пошкодження стовбура мозку, що призводить до розладу кардіореспіраторного центру [1]. Церебропротекторний вплив препаратів кверцетину доведено на моделі підгострої нелетальної ішемії мозку в щурів, який визначили за нормалізацією рухово-дослідницької активності, підвищенням фізичної витривалості та зменшенням інтенсивності вільно-радикального окиснення у структурах мозкових тканин [76].

Препарат Квертин також має протизапальні властивості. В дослідженні на мишах на моделі гострого асептичного запалення, що викликане різними флогенами, Квертин показав антиексудативний ефект різного ступеня вираженості залежно від використаної моделі та механізмів запальної реакції, що зумовлюють її розвиток [77].

В експериментальних і клінічних дослідженнях доведено високу безпеку Квертину. Він показав відсутність побічних ефектів і хорошу переносність у здорових добровольців [67]. Показник ЛД₅₀ при внутрішньошлунковому введенні препарату в мишей перевищував 5000 мг/кг, у щурів – 10000 мг/кг, що дало можливість класифікувати Квертин як практично нетоксичну речовину [77].

Для Корвітину, який є ліофілізованим порошком для ін'єкцій, притаманні всі фармакологічні ефекти Квертину, але при більшому рівні ефективності, що зумовлено стовідсотковою біодоступністю на тлі хорошої переносності в пацієнтів [67,68]. Фармакокінетичні властивості Корвітину ретельно вивчили у клінічних дослідженнях. Доведено, що цей препарат за умов внутрішньовенного застосування дає можливість швидко створити надвисокі концентрації кверцетину та його біоактивного метаболіту ізорамнетину в крові, які утримуються протягом достатньо тривалого часу для такого шляху введення, оскільки T_{1/2} становить близько 7 год [78]. Завдяки цим унікальним особливостям Корвітин має чималі можливості для застосування у разі необхідності терапії хворих у важкому та критичному стані.

Фармакокінетичні параметри Квертину вивчили під час клінічного випробування за участю здорових добровольців із різними режимами дозування. З'ясували концентрації кверцетину та ізорамнетину при прийманні різних доз, що стало підґрунтям для розроблення рекомендацій щодо режиму дозування.

Багаторічні клінічні дослідження Корвітину в лікуванні гострого інфаркту міокарда дали змогу визначити доцільні умови його ефективного клінічного застосування, наблизитися до розуміння механізмів фармакологічної дії та розробити стратегічні підходи до лікування основного захворювання та патологічних станів, близьких за етіопатогенезом [79,80].

Кардіопротекторна дія Корвітину проявляється багатьма позитивними ефектами. З-поміж них особливо значущими є обмеження зони некрозу міокарда, запобігання його реперфузійного ушкодження, антиаритмічна, антишемічна, антитромботична дія, які встановлені під час лікування гострого коронарного синдрому, гострого інфаркту міокарда та гострої серцевої недостатності [79–81].

За інструкцією до медичного застосування, показаннями до застосування Корвітину є гостре порушення коронарного кровообігу, інфаркт міокарда, серцева недостатність, порушення церебральної гемодинаміки. Крім того, Корвітин є перспективним засобом для оптимізації медикаментозної терапії патології нирок, що підтверджено в низці експериментальних досліджень, в яких доведено нефропротекторну й гіпоазотемічну дію препарату при гострій та хронічній нирковій недостатності, а також хронічному гломерулонефриті [73–75]. Як і Квертин, за токсикологічними характеристиками Корвітин є препаратом, який майже не токсичний для організму людини, оскільки експериментально визначений показник LD_{50} перевищує 5000 мг/кг при внутрішньоочеревинному введенні в щурів [82].

Це зумовлює доцільність застосування Корвітину у хворих на COVID-19 для лікування ускладнень з боку серцево-судинної, центральної нервової та інших систем та органів, що набуває особливої актуальності у хворих груп ризику, похилого віку, які характеризуються поліморбідністю та коморбідністю.

Висновки

1. Лікарські препарати, що містять кверцетин, із великим досвідом застосування у клінічній практиці та добре вивченим профілем безпеки – Квертин і Корвітин – є перспективними засобами для профілактики інфікування та лікування (у складі комбінованої терапії) хворих на COVID-19.

2. Доцільним є здійснення в Україні клінічних випробувань із застосуванням Квертину та Корвітину для обґрунтування застосування Квертину для профілактики інфікування коронавірусом та лікування легких форм коронавірусної хвороби в пацієнтів, які не належить до груп ризику, та медичного персоналу, а Корвітину – у лікуванні COVID-19 середнього та тяжкого ступенів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Подяка

Автори відзначають великий внесок у розробку кверцитину видатного вченого, академіка НАН України О. О. Мойбенка.

Надійшла до редакції / Received: 04.05.2020

Після доопрацювання / Revised: 06.05.2020

Прийнято до друку / Accepted: 07.05.2020

Відомості про авторів:

Зупанець І. А., д-р мед. наук, професор, зав. каф. клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.
ORCID ID: 0000-0003-1253-9217

Шебеко С. К., канд. фарм. наук, доцент каф. клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.
ORCID ID: 0000-0001-9350-7588

Безугла Н. П., канд. мед. наук, доцент каф. клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.
ORCID ID: 0000-0002-6420-2547

Отришко І. А., канд. фарм. наук, доцент каф. клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.
ORCID ID: 0000-0002-9089-8576

Information about authors:

Zupanets I. A., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Shebeko S. K., PhD in Pharmacy, Associate Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Bezugla N. P., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Otrishko I. A., PhD in Pharmacy, Associate Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Сведения об авторах:

Зупанець И. А., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. клинической фармакологии и клинической фармации, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Шебеко С. К., канд. фарм. наук, доцент каф. клинической фармакологии и клинической фармации, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Безугла Н. П., канд. мед. наук, доцент каф. клинической фармакологии и клинической фармации, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Отришко И. А., канд. фарм. наук, доцент каф. клинической фармакологии и клинической фармации, Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина.

Список літератури

- [1] Behrens E. M., Koretzky, G. A. Review: Cytokine Storm Syndrome: Looking Toward the Precision Medicine Era. *Arthritis & Rheumatology*. 2017. Vol. 69. Issue 6. P. 1135-1143. <https://doi.org/10.1002/art.40071>
- [2] Guidelines on the management of acute respiratory distress syndrome / M. J. D. Griffiths et al. *BMJ Open Respiratory Research*. 2019. Vol. 6. Issue 1. P. e000420. <https://doi.org/10.1136/bmjresp-2019-000420>
- [3] Into the Eye of the Cytokine Storm / J. R. Tisoncik et al. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2012. Vol. 76. Issue 1. P. 16-32. <https://doi.org/10.1128/mmbr.05015-11>
- [4] Clinical and Laboratory Profiles of 75 Hospitalized Patients with Novel Coronavirus Disease 2019 in Hefei, China / Z. Zhao et al. *MedRxiv*. 06 March 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.01.20029785>
- [5] Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps / B. J. Barnes et al. *Journal of Experimental Medicine*. 2020. Vol. 217. Issue 6. P. e20200652. <https://doi.org/10.1084/jem.20200652>
- [6] Hypothesis: mPGES-1-Derived Prostaglandin E2, a So Far Missing Link in COVID-19 Pathophysiology? / J. Smeitink et al. *Preprints*. 2020. P. 2020040180. <https://doi.org/10.20944/preprints202004.0180.v1>
- [7] Parasuraman S., Anand David A., Arulmoli, R. Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. *Pharmacognosy Reviews*. 2016. Vol. 10. Issue 20. P. 84-89. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.194044>
- [8] Rana A. C., Gulliya B. Chemistry and Pharmacology of Flavonoids- A Review. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 2019. Vol. 53. Issue 1. P. 8-20. <https://doi.org/10.5530/ijper.53.1.3>

- [9] Lakhanpal P., Rai D. K. Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*. 2007. Vol. 2. Issue 2. P. 20-35. <https://doi.org/10.4314/ijmu.v2i2.39851>
- [10] M. Zhang et al. Antioxidant Properties of Quercetin. *Oxygen Transport to Tissue XXXII* / eds. J. LaManna, M. Puchowicz, K. Xu, D. Harrison, D. Bruley. Vol. 701. Boston, MA: Springer US, 2011. P. 283-289. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7756-4_38
- [11] Ozgen S., Kiliç O. K., Selamoğlu Z. Antioxidant Activity of Quercetin: A Mechanistic Review. *Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology*. 2016. Vol. 4. Issue 12. P. 1134-1138. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v4i12.1134-1138.1069>
- [12] Quercetin Suppresses Cyclooxygenase-2 Expression and Angiogenesis through Inactivation of P300 Signaling / X. Xiao et al. *PLOS ONE*. 2011. Vol. 6. Issue 8. P. e22934. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022934>
- [13] Quercetin May Suppress Rat Aberrant Crypt Foci Formation by Suppressing Inflammatory Mediators That Influence Proliferation and Apoptosis / C. A. Warren et al. *The Journal of Nutrition*. 2008. Vol. 139. Issue 1. P. 101-105. <https://doi.org/10.3945/jn.108.096271>
- [14] Биофлавоноиды как органопротекторы: кверцетин, корвитин, квертин : монография / Н. П. Максютин и др. Киев : Наукова думка, 2012. 274 с.
- [15] Quercetin and Its Anti-Allergic Immune Response / J. Mlcek, T. Jurikova, S. Skrovanova, J. Sochor. *Molecules*. 2016. Vol. 21. Issue 5. P. 623. <https://doi.org/10.3390/molecules21050623>
- [16] Quercetin Is More Effective than Cromolyn in Blocking Human Mast Cell Cytokine Release and Inhibits Contact Dermatitis and Photosensitivity in Humans / Z. Weng et al. *PLOS ONE*. 2012. Vol. 7. Issue 3. P. e33805. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033805>
- [17] Dual Roles of Quercetin in Platelets: Phosphoinositide-3-Kinase and MAP Kinases Inhibition, and cAMP-Dependent Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein Stimulation / W. J. Oh et al. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012. Vol. 2012. P. 485262. <https://doi.org/10.1155/2012/485262>
- [18] The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 and reactive C-protein, and down-regulation of the nuclear factor kappaB pathway in Chang Liver cells / V. Garcia-Medavilla et al. *European Journal of Pharmacology*. 2007. Vol. 557. Issue 2-3. P. 221-229. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.11.014>
- [19] Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat / T. Guardia, A. E. Rotelli, A. O. Juarez, L. E. Pelzer. *Il Farmaco*. 2001. Vol. 56. Issue 9. P. 683-687. [https://doi.org/10.1016/s0014-827x\(01\)01111-9](https://doi.org/10.1016/s0014-827x(01)01111-9)
- [20] Therapeutic and preventive properties of quercetin in experimental arthritis correlate with decreased macrophage inflammatory mediators / M. Mamani-Matsuda et al. *Biochemical Pharmacology*. 2006. Vol. 72. Issue 10. P. 1304-1310. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.08.001>
- [21] Mkhize N. V. P., Qulu L., Mabandla M. V. The Effect of Quercetin on Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines in a Prenatally Stressed Rat Model of Febrile Seizures. *Journal of Experimental Neuroscience*. 2017. Vol. 11. <https://doi.org/10.1177/1179069517704668>
- [22] Flavonoids as Cytokine Modulators: A Possible Therapy for Inflammation-Related Diseases / N. Leyva-López, E. Gutierrez-Grijalva, D. Ambríz-Pérez, J. Heredia. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016. Vol. 17. Issue 6. P. 921. <https://doi.org/10.3390/ijms17060921>
- [23] The Flavonoid Quercetin Inhibits Proinflammatory Cytokine (Tumor Necrosis Factor Alpha) Gene Expression in Normal Peripheral Blood Mononuclear Cells via Modulation of the NF- κ B System / M. P. Nair et al. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2006. Vol. 13. Issue 3. P. 319-328. <https://doi.org/10.1128/cvi.13.3.319-328.2006>
- [24] Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19 / Z. Varga et al. *The Lancet*. 2020. Vol. 395. Issue 10234. P. 1417-1418. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5)
- [25] Dietary quercetin attenuates oxidant-induced endothelial dysfunction and atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice fed a high-fat diet: A critical role for heme oxygenase-1 / Y. Shen et al. *Free Radical Biology and Medicine*. 2013. Vol. 65. P. 908-915. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.185>
- [26] Effect of quercetin on metallothionein, nitric oxide synthases and cyclooxygenase-2 expression on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in rats / A. I. Morales et al. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2006. Vol. 210. Issue 1-2. P. 128-135. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2005.09.006>
- [27] Perez-Vizcaino F., Duarte J., Andriantsitohaina R. Endothelial function and cardiovascular disease: Effects of quercetin and wine polyphenols. *Free Radical Research*. 2006. Vol. 40. Issue 10. P. 1054-1065. <https://doi.org/10.1080/10715760600823128>
- [28] Quercetin and Isorhamnetin Prevent Endothelial Dysfunction, Superoxide Production, and Overexpression of p47phox Induced by Angiotensin II in Rat Aorta / M. Sanchez et al. *The Journal of Nutrition*. 2007. Vol. 137. Issue 4. P. 910-915. <https://doi.org/10.1093/jn/137.4.910>
- [29] The dietary flavonoid quercetin modulates endothelial nitric oxide: superoxide imbalance via expression changes in p47phox under hypertensive conditions in vitro / H. Jones et al. *Heart*. 2014. Vol. 100. Suppl. 4. P. A3-A4. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2014-306916.9>
- [30] Flavonoids inhibit the platelet TxA₂ signalling pathway and antagonize TxA₂ receptors (TP) in platelets and smooth muscle cells / J. A. Guerrero et al. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2007. Vol. 64. Issue 2. P. 133-144. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2007.02881.x>
- [31] Quercetin inhibits collagen-stimulated platelet activation through inhibition of multiple components of the glycoprotein VI signalling pathway / G. P. Hubbard et al. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2003. Vol. 1. Issue 5. P. 1079-1088. <https://doi.org/10.1046/j.1538-7836.2003.00212.x>
- [32] Ingestion of quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in humans / G. P. Hubbard, S. Wolffram, J. A. Lovegrove, J. M. Gibbins. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2004. Vol. 2. Issue 12. P. 2138-2145. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2004.01067.x>
- [33] Mardla V., Kobzar G., Samel N. Potentiation of antiaggregating effect of prostaglandins by α -tocopherol and quercetin. *Platelets*. 2004. Vol. 15. Issue 5. P. 319-324. <https://doi.org/10.1080/09537100410001710263>
- [34] Flavonoids inhibit platelet function through binding to the thromboxane A₂ receptor / J. A. Guerrero et al. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2005. Vol. 3. Issue 2. P. 369-376. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2004.01099.x>
- [35] Khaerunnisa, S., Kurniawan, H., Awaluddin, R., Suhartati, S., & Soetjipto, S. (2020). Potential Inhibitor of COVID-19 Main Protease (M^{pro}) From Several Medicinal Plant Compounds by Molecular Docking Study. *Preprints*. P. 2020030226. <https://doi.org/10.20944/preprints202003.0226.v1>
- [36] Small Molecules Blocking the Entry of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus into Host Cells / L. Yi et al. *Journal of Virology*. 2004. Vol. 78. Issue 20. P. 11334-11339. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.20.11334-11339.2004>
- [37] Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids / S. Jo, S. Kim, D. H. Shin, M.-S. Kim. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2020. Vol. 35. Issue 1. P. 145-151. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1690480>
- [38] A study on anti-SARS-CoV 3CL protein of flavonoids from litchi chinensis sonn core / S.-J. Gong et al. *Chinese Pharmacological Bulletin*. 2008. Vol. 24. P. 699-700.
- [39] Anti-SARS coronavirus 3C-like protease effects of Isatis indigotica root and plant-derived phenolic compounds / C.-W. Lin et al. *Antiviral Research*. 2005. Vol. 68. Issue 1. P. 36-42. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2005.07.002>
- [40] Flavonoid-mediated inhibition of SARS coronavirus 3C-like protease expressed in *Pichia pastoris* / T. T. H. Nguyen et al. *Biotechnology Letters*. 2012. Vol. 34. Issue 5. P. 831-838. <https://doi.org/10.1007/s10529-011-0845-8>
- [41] Characteristics of flavonoids as potent MERS-CoV 3C-like protease inhibitors / S. Jo et al. *Chemical Biology & Drug Design*. 2019. Vol. 94. Issue 6. P. 2023-2030. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13604>
- [42] Quercetin, Inflammation and Immunity / Y. Li et al. *Nutrients*. 2016. Vol. 8. Issue 3. P. 167. <https://doi.org/10.3390/nu8030167>
- [43] Alrawaiq N. S., Abdullah A. A Review of Flavonoid Quercetin: Metabolism, Bioactivity and Antioxidant Properties. *International Journal of Pharm Tech Research*. 2014. Vol. 6. Issue 3. P. 933-941.
- [44] Kumar R., Vijayalakshmi S., Nadasabapathi S. Health Benefits of Quercetin. *Defence Life Science Journal*. 2017. Vol. 2. Issue 2. P. 142-151. <https://doi.org/10.14429/dlsj.2.11359>
- [45] Quercetin: a flavonoid with the potential to treat asthma / L. R. Fortunato, C. de F. Alves, M. M. Teixeira, A. P. Rogerio. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012. Vol. 48. Issue 4. P. 589-599. <https://doi.org/10.1590/s1984-82502012000400002>
- [46] Bischoff S. C. Quercetin: potentials in the prevention and therapy of disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 2008. Vol. 11. Issue 6. P. 733-740. <https://doi.org/10.1097/mco.0b013e32831394b8>
- [47] Antiviral activity of quercetin-3- β -O-D-glucoside against Zika virus infection / G. Wong et al. *Virologica Sinica*. 2017. Vol. 32. Issue 6. P. 545-547. <https://doi.org/10.1007/s12250-017-4057-9>
- [48] Inhibition of enterovirus 71 replication and viral 3C protease by quercetin / C. Yao et al. *Virology Journal*. 2018. Vol. 15. Issue 1. P. 116. <https://doi.org/10.1186/s12985-018-1023-6>
- [49] Smith M., Smith J. C. Repurposing Therapeutics for COVID-19: Supercomputer-Based Docking to the SARS-CoV-2 Viral Spike Protein and Viral Spike Protein-Human ACE2 Interface. ChemRxiv. Preprint. 2020. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.11871402>
- [50] Effect of quercetin supplementation on lung antioxidants after experimental influenza virus infection / P. Kumar et al. *Experimental Lung Research*. 2005. Vol. 31. Issue 5. P. 449-459. <https://doi.org/10.1080/019021490927088>
- [51] Чорномидз І. Б. Клініко-патогенетичне обґрунтування застосування кверцетину у комплексному лікуванні дітей із гострою позалікарняною пневмонією. *Вісник наукових досліджень*. 2011. № 1. С. 34-36.
- [52] Федорців О. С., Чорномидз І. Б., Берош Н. Б. Клінічна ефективність використання кверцетину у комплексному лікуванні дітей, хворих

- на позалікарняну пневмонію. *Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології*. 2013. № 2. С. 7-9.
- [53] Етіопатогенетичні аспекти лікування пацієнтів із вірус-індукованим загостренням бронхіальної астми / О. Я. Дзюблик та ін. *Астма та алергія*. 2013. № 2. С. 12-18.
- [54] Marik P. EVMS critical care COVID-19 management protocol. EVMS Medical Group. 5 May 2020. URL : https://www.evms.edu/media/evms_public/departments/internal_medicine/EVMS_Critical_Care_COVID-19_Protocol.pdf
- [55] The effect of quercetin supplementation on selected markers of inflammation and oxidative stress / G. Askari et al. *Journal of Research in Medical Sciences*. 2012. Vol. 17. Issue 7. P. 637-641. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3685779/>
- [56] Taylor-Vaisey N. A made-in-Canada solution to the coronavirus outbreak? The best hope for an antiviral drug may come from Michel Chrétien's Montreal lab. 24 February 2020. Macleans.ca. <https://www.macleans.ca/news/canada/a-made-in-canada-solution-to-the-coronavirus-outbreak/>
- [57] Quercetin inhibits rhinovirus replication in vitro and in vivo / S. Ganesan et al. *Antiviral Research*. 2012. Vol. 94. Issue 3. P. 258-271. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.03.005>
- [58] Lalani S., Poh C. L. Flavonoids as Antiviral Agents for Enterovirus A71 (EV-A71). *Viruses*. 2020. Vol. 12. Issue 2. P. 184. <https://doi.org/10.3390/v12020184>
- [59] Suppression of hepatitis C virus by the flavonoid quercetin is mediated by inhibition of NS3 protease activity / L. Bachmetov et al. *Journal of Viral Hepatitis*. 2012. Vol. 19. Issue 2. P. e81-e88. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2011.01507.x>
- [60] Lu N., Khachatourian R., French S. W. Quercetin: bioflavonoids as part of interferon-free hepatitis C therapy? *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2012. Vol. 10. Issue 6. P. 619-621. <https://doi.org/10.1586/eri.12.52>
- [61] Antiviral Activity of Baicalein and Quercetin against the Japanese Encephalitis Virus / J. Johari et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2012. Vol. 13. Issue 12. P. 16785-16795. <https://doi.org/10.3390/ijms131216785>
- [62] Quercetin as an Antiviral Agent Inhibits Influenza A Virus (IAV) Entry / W. Wu et al. *Viruses*. 2016. Vol. 8. Issue 1. Article 6. <https://doi.org/10.3390/v8010006>
- [63] Inhibitory effects of quercetin 3-rhamnoside on influenza A virus replication / H. J. Choi, J. H. Song, K. S. Park, D. H. Kwon. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009. Vol. 37. Issue 3-4. P. 329-333. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2009.03.002>
- [64] Veckenstedt A., Güttner J., Béládi I. Synergistic action of quercetin and murine alpha/beta interferon in the treatment of Mengo virus infection in mice. *Antiviral Research*. 1997. Vol. 7. Issue 3. P. 169-178. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(87\)90005-2](https://doi.org/10.1016/0166-3542(87)90005-2)
- [65] Flavonoids: promising natural compounds against viral infections / H. Zakaryan, E. Arabyan, A. Oo, K. Zandi. *Archives of Virology*. 2017. Vol. 162. Issue 9. P. 2539-2551. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3417-y>
- [66] Kelly G. S. Quercetin. Monograph. *Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic*. 2011. Vol. 16. Issue 2. P. 172-194.
- [67] S. K. Shebeko et al. Chapter 27 – Effects of Quercetin and Its Combinations on Health. *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease* / eds. R. R. Watson, V. R. Preedy, S. Zibadi. 2nd ed. London : Academic Press. 2018. P. 373-394. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813006-3.00027-1>
- [68] Експериментальне дослідження фармакокінетичних властивостей кверцетину при пероральному застосуванні з модифікаторами розчинності / В. Ф. Усенко, І. А. Зупанець, О. О. Тарасенко, С. К. Шебеко. *Медицина і клінічна хімія*. 2012. Т. 14. № 1. С. 91-95.
- [69] Спосіб попередження ремоделювання міокарда : пат. 60950 Україна / Мойбенко О. О., Кузьменко М. О., Павлюченко В. Б., Досенко В. Є., Тумановська Л. В. № u201103946 ; заявл. 01.04.11 ; опубл. 25.06.11, бюл. № 12. URL : <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=160680>
- [70] Використання нових лікарських форм кверцетину для профілактики доксорубіцинової кардіоміопатії в експерименті / В. Й. Мамчур та ін. *Медицинські перспективи*. 2005. Т. 10. № 4. С. 4-8.
- [71] Лук'янчук В. Д., Войтенко А. Г. Кінетика вільнорадикальних реакцій у щурів з медіаментозним гепатитом при застосуванні таблеток «Кверцетин». *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2008. № 1-3. С. 52-56.
- [72] The effect of quercetin on oxidative stress markers and mitochondrial permeability transition in the heart of rats with type 2 diabetes / N. I. Gorbenko et al. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2019. Vol. 91. Issue 5. P. 46-54. <https://doi.org/10.15407/ubj91.05.046>
- [73] Зупанець І. А., Шебеко С. К., Харченко Д. С. Дослідження впливу парентеральної форми кверцетину на перебіг гострої ниркової недостатності у щурів. *Медицина хімія*. 2009. Т. 11. № 1. С. 98-102.
- [74] Зупанець І. А., Шебеко С. К., Харченко Д. С. Експериментальне вивчення фармакологічних властивостей парентеральної форми кверцетину в умовах розвитку хронічної ниркової недостатності. *Вісник фармації*. 2009. № 2. С. 75-78.
- [75] Харченко Д. С., Зупанець І. А., Шебеко С. К. Дослідження впливу кверцетину при парентеральному введенні на біохімічні показники щурів із нирковою недостатністю на тлі хронічного гломерулонефриту. *Фармаком*. 2009. № 2. С. 117-121.
- [76] Мамчур В. Й., Слесарчук В. Ю. Захисна дія препаратів кверцетину за умов моделювання гострого іммобілізаційного стресу. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2008. № 1-3. С. 38-43.
- [77] Усенко В. Ф. Вплив препарату «Квертин» на альтеративне та проліферативне запалення в експерименті. *Клінічна фармація*. 2011. Т. 15. № 3. С. 36-38.
- [78] UPLC-MS/MS quantification of quercetin in plasma and urine following parenteral administration / I. A. Zupanets et al. *Clinical Phytoscience*. 2019. Vol. 5. Issue 1. P. 11. <https://doi.org/10.1186/s40816-019-0107-1>
- [79] Пархоменко А. Н. Метаболическая терапия, или кардиопротекция при ишемической болезни сердца: итоги и перспективы. *Український медичний часопис*. 2008. № 4. С. 15-19.
- [80] Блокатор 5-липоксигеназы корвитин: влияние на маркеры воспаления и эндотелиальной дисфункции у больных с острым инфарктом миокарда / А. Н. Пархоменко, С. Н. Кожухов, А. А. Мойбенко, Т. И. Гавриленко. *Рациональна фармакотерапія*. 2008. № 2/1. С. 85-88.
- [81] Пархоменко А. Н., Кожухов С. Н. Результаты открытого рандомизированного исследования по изучению переносимости и эффективности препарата Корвитин® у пациентов с застойной сердечной недостаточностью и систолической дисфункцией левого желудочка. *Український медичний часопис*. 2014. № 4. С. 71-76.
- [82] Зупанець І. А., Шебеко С. К., Харченко Д. С. Дослідження гострої токсичності та середньоефективних доз кверцетину при парентеральному введенні в умовах розвитку ниркової недостатності у щурів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2009. № 1. С. 28-33.

References

- [1] Behrens, E. M., & Koretzky, G. A. (2017). Review: Cytokine Storm Syndrome: Looking Toward the Precision Medicine Era. *Arthritis & Rheumatology*, 69(6), 1135-1143. <https://doi.org/10.1002/art.40071>
- [2] Griffiths, M. J. D., McAuley, D. F., Perkins, G. D., Barrett, N., Blackwood, B., Boyle, A., Chee, N., Connolly, B., Dark, P., Finney, S., Salam, A., Silversides, J., Tarmey, N., Wise, M. P., & Baudouin, S. V. (2019). Guidelines on the management of acute respiratory distress syndrome. *BMJ Open Respiratory Research*, 6(1), Article e000420. <https://doi.org/10.1136/bmjresp-2019-000420>
- [3] Tisoncik, J. R., Korth, M. J., Simmons, C. P., Farrar, J., Martin, T. R., & Katze, M. G. (2012). Into the Eye of the Cytokine Storm. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(1), 16-32. <https://doi.org/10.1128/mmr.05015-11>
- [4] Zhao, Z., Xie, J., Yin, M., Yang, Y., He, H., Jin, T., Li, W., Zhu, X., Xu, J., Zhao, C., Li, L., Li, Y., Mengist, H. M., Zahid, A., Yao, Z., Ding, C., Qi, Y., Gao, Y., & Ma, X. (2020, March 06). Clinical and Laboratory Profiles of 75 Hospitalized Patients with Novel Coronavirus Disease 2019 in Hefei, China. *MedRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.03.01.20029785>
- [5] Barnes, B. J., Adrover, J. M., Baxter-Stoltzfus, A., Borczuk, A., Cools-Lartigue, J., Crawford, J. M., Daßler-Plenker, J., Guerci, P., Huynh, C., Knight, J. S., Loda, M., Looney, M. R., McAllister, F., Rayes, R., Renaud, S., Rousseau, S., Salvatore, S., Schwartz, R. E., Spicer, J. D., ... Egeblad, M. (2020). Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *Journal of Experimental Medicine*, 217(6), Article e20200652. <https://doi.org/10.1084/jem.20200652>
- [6] Smeitink, J., Jiang, X., Pecheritsyna, S., Renkema, H., van Maanen, R., & Beyrath, J. (2020). Hypothesis: mPGES-1-Derived Prostaglandin E2, a So Far Missing Link in COVID-19 Pathophysiology? *Preprints*, Article 2020040180. <https://doi.org/10.20944/preprints202004.0180.v1>
- [7] Parasuraman, S., Anand David, A., & Arulmoli, R. (2016). Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. *Pharmacognosy Reviews*, 10(20), 84-89. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.194044>
- [8] Rana, A. C., & Guliyi, B. (2019). Chemistry and Pharmacology of Flavonoids-A Review. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 53(1), 8-20. <https://doi.org/10.5530/ijper.53.1.3>
- [9] Lakhanpal, P., & Rai, D. K. (2007). Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, 2(2), 20-35. <https://doi.org/10.4314/ijmu.v2i2.39851>
- [10] Zhang, M., Swarts, S. G., Yin, L., Liu, C., Tian, Y., Cao, Y., Swarts, M., Yang, S., Zhang, S. B., Zhang, K., Ju, S., Olek, D. J., Schwartz, L., Keng, P. C., Howell, R., Zhang, L., & Okunieff, P. (2011). Antioxidant Properties of Quercetin. In J. LaManna, M. Puchowicz, K. Xu, D. Harrison, & D. Bruley (Eds.). *Oxygen Transport to Tissue XXXII* (Vol. 701, pp. 283-289). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7756-4_38
- [11] Ozgen, S., Kilinc, O. K., & Selamoğlu, Z. (2016). Antioxidant Activity of Quercetin: A Mechanistic Review. *Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology*, 4(12), 1134-1138. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v4i12.1134-1138.1069>
- [12] Xiao, X., Shi, D., Liu, L., Wang, J., Xie, X., Kang, T., & Deng, W. (2011). Quercetin Suppresses Cyclooxygenase-2 Expression and Angiogenesis through Inactivation of P300 Signaling. *PLOS ONE*, 6(8), Article e22934. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022934>

- [13] Warren, C. A., Paulhill, K. J., Davidson, L. A., Lupton, J. R., Taddeo, S. S., Hong, M. Y., Carroll, R. J., Chapkin, R. S., & Turner, N. D. (2008). Quercetin May Suppress Rat Aberant Crypt Foci Formation by Suppressing Inflammatory Mediators That Influence Proliferation and Apoptosis. *The Journal of Nutrition*, 139(1), 101-105. <https://doi.org/10.3945/jn.108.096271>
- [14] Maksytina, N. P., Moibenko, A. A., Mokhort, N. A., Parkhomenko, A. N., Shalamai, A. S., Frantsuzova, S. B., Pilipchuk, L. B., Dosenko, V. E., Pashevin, D. A., Portnichenko, A. G., Nagibin, V. S., Pavlyuchenko, V. B., Kuz'menko, M. A., Kozhukhov, S. N., & Koval', E. A. (2012). Bioflavonoidy kak organoprotektory: kvartsetin, korviten, kvartin [Bioflavonoids as organoprotectors: Quercetin, Corviten, Quertin]. *Naukova dumka*. [in Russian].
- [15] Micek, J., Jurkova, T., Skrovankova, S., & Sochor, J. (2016). Quercetin and Its Anti-Allergic Immune Response. *Molecules*, 21(5), Article 623. <https://doi.org/10.3390/molecules21050623>
- [16] Weng, Z., Zhang, B., Asadi, S., Sismanopoulos, N., Butcher, A., Fu, X., Katsarou-Katsari, A., Antoniou, C., & Theoharides, T. C. (2012). Quercetin Is More Effective than Cromolyn in Blocking Human Mast Cell Cytokine Release and Inhibits Contact Dermatitis and Photosensitivity in Humans. *PLOS ONE*, 7(3), Article e33805. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033805>
- [17] Oh, W. J., Endale, M., Park, S. -C., Cho, J. Y., & Rhee, M. H. (2012). Dual Roles of Quercetin in Platelets: Phosphoinositide-3-Kinase and MAP Kinases Inhibition, and cAMP-Dependent Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein Stimulation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, Article 485262. <https://doi.org/10.1155/2012/485262>
- [18] García-Mediavilla, V., Crespo, I., Collado, P. S., Esteller, A., Sánchez-Campos, S., Tuñón, M. J., & González-Gallego, J. (2007). The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 and reactive C-protein, and down-regulation of the nuclear factor kappaB pathway in Chang Liver cells. *European Journal of Pharmacology*, 557(2-3), 221-229. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.11.014>
- [19] Guardia, T., Rotelli, A. E., Juarez, A. O., & Pelzer, L. E. (2001). Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. *Il Farmaco*, 56(9), 683-687. [https://doi.org/10.1016/S0014-827X\(01\)01111-9](https://doi.org/10.1016/S0014-827X(01)01111-9)
- [20] Mamani-Matsuda, M., Kauss, T., Al-Kharat, A., Rambert, J., Fawaz, F., Thiolat, D., Moynet, D., Coves, S., Malvy, D., & Mossalayi, M. D. (2006). Therapeutic and preventive properties of quercetin in experimental arthritis correlate with decreased macrophage inflammatory mediators. *Biochemical Pharmacology*, 72(10), 1304-1310. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.08.001>
- [21] Mkhize, N. V. P., Qulu, L., & Mabandla, M. V. (2017). The Effect of Quercetin on Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines in a Prenatally Stressed Rat Model of Febrile Seizures. *Journal of Experimental Neuroscience*, 11. <https://doi.org/10.1177/1179069517704668>
- [22] Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E., Ambríz-Pérez, D., & Heredia, J. (2016). Flavonoids as Cytokine Modulators: A Possible Therapy for Inflammation-Related Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6), Article 921. <https://doi.org/10.3390/ijms17060921>
- [23] Nair, M. P., Mahajan, S., Reynolds, J. L., Aalinkkeel, R., Nair, H., Schwartz, S. A., & Kandaswami, C. (2006). The Flavonoid Quercetin Inhibits Proinflammatory Cytokine (Tumor Necrosis Factor Alpha) Gene Expression in Normal Peripheral Blood Mononuclear Cells via Modulation of the NF- κ B System. *Clinical and Vaccine Immunology*, 13(3), 319-328. <https://doi.org/10.1128/cvi.13.3.319-328.2006>
- [24] Varga, Z., Flammer, A. J., Steiger, P., Haberecker, M., Andermatt, R., Zinkernagel, A. S., Mehra, M. R., Schuepbach, R. A., Ruschitzka, F., & Moch, H. (2020). Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *The Lancet*, 395(10234), 1417-1418. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5)
- [25] Shen, Y., Ward, N. C., Hodgson, J. M., Puddey, I. B., Wang, Y., Zhang, D., Maghzal, G. J., Stocker, R., & Croft, K. D. (2013). Dietary quercetin attenuates oxidant-induced endothelial dysfunction and atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice fed a high-fat diet: A critical role for heme oxygenase-1. *Free Radical Biology and Medicine*, 65, 908-915. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.185>
- [26] Morales, A. I., Vicente-Sánchez, C., Jerkic, M., Santiago, J. M., Sánchez-González, P. D., Pérez-Barriocanal, F., & López-Novoa, J. M. (2006). Effect of quercetin on metallothionein, nitric oxide synthases and cyclooxygenase-2 expression on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 210(1-2), 128-135. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2005.09.006>
- [27] Perez-Vizcaino, F., Duarte, J., & Andriantsitohaina, R. (2006). Endothelial function and cardiovascular disease: Effects of quercetin and wine polyphenols. *Free Radical Research*, 40(10), 1054-1065. <https://doi.org/10.1080/10715760600823128>
- [28] Sanchez, M., Lodi, F., Vera, R., Villar, I. C., Cogolludo, A., Jimenez, R., Moreno, L., Romero, M., Tamargo, J., Perez-Vizcaino, F., & Duarte, J. (2007). Quercetin and Isorhamnetin Prevent Endothelial Dysfunction, Superoxide Production, and Overexpression of p47phox Induced by Angiotensin II in Rat Aorta. *The Journal of Nutrition*, 137(4), 910-915. <https://doi.org/10.1093/jn/137.4.910>
- [29] Jones, H., Gordon, A., Magwenzi, S., Naseem, K., Atkin, S., & Courts, F. (2014). The dietary flavonoid quercetin modulates endothelial nitric oxide:superoxide imbalance via expression changes in p47phox under hypertensive conditions in vitro. *Heart*, 100(Suppl. 4), Article A3-A4. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2014-306916.9>
- [30] Guerrero, J. A., Navarro-Núñez, L., Lozano, M. L., Martínez, C., Vicente, V., Gibbins, J. M., & Rivera, J. (2007). Flavonoids inhibit the platelet TxA₂ signalling pathway and antagonize TxA₂ receptors (TP) in platelets and smooth muscle cells. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 64(2), 133-144. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2007.02881.x>
- [31] Hubbard, G. P., Stevens, J. M., Cicmil, M., Sage, T., Jordan, P. A., Williams, C. M., Lovegrove, J. A., & Gibbins, J. M. (2003). Quercetin inhibits collagen-stimulated platelet activation through inhibition of multiple components of the glycoprotein VI signaling pathway. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 1(5), 1079-1088. <https://doi.org/10.1046/j.1538-7836.2003.00212.x>
- [32] Hubbard, G. P., Wolfram, S., Lovegrove, J. A., & Gibbins, J. M. (2004). Ingestion of quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in humans. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2(12), 2138-2145. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2004.01067.x>
- [33] Mardla, V., Kobzar, G., & Samel, N. (2004). Potentiation of antiaggregating effect of prostaglandins by α -tocopherol and quercetin. *Platelets*, 15(5), 319-324. <https://doi.org/10.1080/09537100410001710263>
- [34] Guerrero, J. A., Lozano, M. L., Castillo, J., Benavente-García, O., Vicente, V., & Rivera, J. (2005). Flavonoids inhibit platelet function through binding to the thromboxane A₂ receptor. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 3(2), 369-376. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2004.01099.x>
- [35] Khaerunnisa, S., Kurniawan, H., Awaluddin, R., Suhartati, S., & Soetjipto, S. (2020). Potential Inhibitor of COVID-19 Main Protease (M^{pro}) From Several Medicinal Plant Compounds by Molecular Docking Study. *Preprints*, Article 2020030226. <https://doi.org/10.20944/preprints202003.0226.v1>
- [36] Yi, L., Li, Z., Yuan, K., Qu, X., Chen, J., Wang, G., Zhang, H., Luo, H., Zhu, L., Jiang, P., Chen, L., Shen, Y., Luo, M., Zuo, G., Hu, J., Duan, D., Nie, Y., Shi, X., Wang, W., ... Xu, X. (2004). Small Molecules Blocking the Entry of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus into Host Cells. *Journal of Virology*, 78(20), 11334-11339. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.20.11334-11339.2004>
- [37] Jo, S., Kim, S., Shin, D. H., & Kim, M. -S. (2020). Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 35(1), 145-151. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1690480>
- [38] Gong, S. -J., Su, X. -J., Yu, H. -P., Li, J., Qin, Y. -J., Xu, Q., & Luo, W. -S. (2008). A study on anti-SARS-CoV 3CL protein of flavonoids from litchi chinensis sonn core. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 24, 699-700.
- [39] Lin, C. -W., Tsai, F. -J., Tsai, C. -H., Lai, C. -C., Wan, L., Ho, T. -Y., Hsieh, C. -C., & Chao, P. -D. L. (2005). Anti-SARS coronavirus 3C-like protease effects of Isatis indigotica root and plant-derived phenolic compounds. *Antiviral Research*, 68(1), 36-42. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2005.07.002>
- [40] Nguyen, T. T. H., Woo, H. -J., Kang, H. -K., Nguyen, V. D., Kim, Y. -M., Kim, D. -W., Ahn, S. -A., Xia, Y., & Kim, D. (2012). Flavonoid-mediated inhibition of SARS coronavirus 3C-like protease expressed in *Pichia pastoris*. *Biotechnology Letters*, 34(5), 831-838. <https://doi.org/10.1007/s10529-011-0845-8>
- [41] Jo, S., Kim, H., Kim, S., Shin, D. H., & Kim, M. (2019). Characteristics of flavonoids as potent MERS-CoV 3C-like protease inhibitors. *Chemical Biology & Drug Design*, 94(6), 2023-2030. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13604>
- [42] Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M., Wang, S., Liu, H., & Yin, Y. (2016). Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients*, 8(3), Article 167. <https://doi.org/10.3390/nu8030167>
- [43] Alrawaiq, N. S., & Abdullah, A. (2014). A Review of Flavonoid Quercetin: Metabolism, Bioactivity and Antioxidant Properties. *International Journal of Pharm Tech Research*, 6(3), 933-941.
- [44] Kumar, R., Vijayalakshmi, S., & Nadanasabapathi, S. (2017). Health Benefits of Quercetin. *Defence Life Science Journal*, 2(2), 142-151. <https://doi.org/10.14429/dlsj.2.11359>
- [45] Fortunato, L. R., Alves, C. de F., Teixeira, M. M., & Rogerio, A. P. (2012). Quercetin: a flavonoid with the potential to treat asthma. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48(4), 589-599. <https://doi.org/10.1590/s1984-82502012000400002>
- [46] Bischoff, S. C. (2008). Quercetin: potentials in the prevention and therapy of disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 11(6), 733-740. <https://doi.org/10.1097/mco.0b013e32831394b8>
- [47] Wong, G., He, S., Siragam, V., Bi, Y., Mbikay, M., Chretien, M., & Qiu, X. (2017). Antiviral activity of quercetin-3- β -O-D-glucoside against Zika virus infection. *Virologica Sinica*, 32(6), 545-547. <https://doi.org/10.1007/s12250-017-4057-9>

- [48] Yao, C., Xi, C., Hu, K., Gao, W., Cai, X., Qin, J., Lv, S., Du, C., & Wei, Y. (2018). Inhibition of enterovirus 71 replication and viral 3C protease by quercetin. *Virology Journal*, 15(1), Article 116. <https://doi.org/10.1186/s12985-018-1023-6>
- [49] Smith, M., & Smith, J. C. (2020). *Repurposing Therapeutics for COVID-19: Supercomputer-Based Docking to the SARS-CoV-2 Viral Spike Protein and Viral Spike Protein-Human ACE2 Interface*. ChemRxiv. Preprint. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.11871402>
- [50] Kumar, P., Khanna, M., Srivastava, V., Tyagi, Y. K., Raj, H. G., & Ravi, K. (2005). Effect of quercetin supplementation on lung antioxidants after experimental influenza virus infection. *Experimental Lung Research*, 31(5), 449-459. <https://doi.org/10.1080/019021490927088>
- [51] Chornomydz, I. B. (2011). Kliniko-patohetnychnye obgruntuvannya zastosuvannya kvvertsetynu u kompleksnomu likuvanni ditei iz hostroliu pozalikalmanioi pnevmoniiu [Clinical and nosotropic ground of application of quercetin in complex treatment of children with acute extrahospital pneumonia]. *Visnyk naukovykh doslidzhen*, (1), 34-36. [in Ukrainian].
- [52] Fedortsiv, O. Ye., Chornomydz, I. B., & Behosh, N. B. (2013). Klinichna efektyvnist vykorystannia kvvertsetynu u kompleksnomu likuvanni ditei, khvorikh na pozalikalmaniu pnevmoniiu [Clinical efficiency quercetin in complex treatment of children with community-acquired pneumonia]. *Aktualni pytannia pediatrii, akusherstva ta hinekolohii*, (2), 7-9. [in Ukrainian].
- [53] Dziublyk, O. Ya., Stezhka, V. A., Nedlinska, N. M., Iachnyk, V. A., Kapitani, G. B., Mukhin, A. A., & Chechel, L. V. (2013). Etiopatohetnychni aspekty likuvannya patsientiv iz virus-indukovanyim zahostrenniem bronkhialnoi astmy [Etiopathogenic aspects of treatment virus-induced acute asthma]. *Astma ta alerhiia*, (2), 12-18. [in Ukrainian].
- [54] Marik, P. (2020, May 5). *EVMS critical care COVID-19 management protocol*. EVMS Medical Group. https://www.evms.edu/media/evms_public/departments/internal_medicine/EVMS_Critical_Care_COVID-19_Protocol.pdf
- [55] Askari, G., Ghiasvand, R., Feizi, A., Ghanadian, S. M., & Karimi-an, J. (2012). The effect of quercetin supplementation on selected markers of inflammation and oxidative stress. *Journal of Research in Medical Sciences*, 17(7), 637-641. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3685779/>
- [56] Taylor-Vaisey, N. (2020, February 24). *A made-in-Canada solution to the coronavirus outbreak? The best hope for an antiviral drug may come from Michel Chrétien's Montreal lab*. Macleans.ca. <https://www.macleans.ca/news/canada/a-made-in-canada-solution-to-the-coronavirus-outbreak/>
- [57] Ganesan, S., Faris, A. N., Comstock, A. T., Wang, Q., Nanua, S., Hershenson, M. B., & Sajjan, U. S. (2012). Quercetin inhibits rhinovirus replication in vitro and in vivo. *Antiviral Research*, 94(3), 258-271. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2012.03.005>
- [58] Lalani, S., & Poh, C. L. (2020). Flavonoids as Antiviral Agents for Enterovirus A71 (EV-A71). *Viruses*, 12(2), Article 184. <https://doi.org/10.3390/v12020184>
- [59] Bachmetov, L., Gal-Tanamy, M., Shapira, A., Vorobeychik, M., Giterman-Galam, T., Sathiyamoorthy, P., Golan-Goldhirsh, A., Benhar, I., Tur-Kaspa, R., & Zemel, R. (2012). Suppression of hepatitis C virus by the flavonoid quercetin is mediated by inhibition of NS3 protease activity. *Journal of Viral Hepatitis*, 19(2), Article e81-e88. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2011.01507.x>
- [60] Lu, N., Khachatoorian, R., & French, S. W. (2012). Quercetin: bioflavonoids as part of interferon-free hepatitis C therapy? *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 10(6), 619-621. <https://doi.org/10.1586/eri.12.52>
- [61] Johari, J., Kianmehr, A., Mustafa, M., Abubakar, S., & Zandi, K. (2012). Antiviral Activity of Baicalein and Quercetin against the Japanese Encephalitis Virus. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(12), 16785-16795. <https://doi.org/10.3390/ijms131216785>
- [62] Wu, W., Li, R., Li, X., He, J., Jiang, S., Liu, S., & Yang, J. (2016). Quercetin as an Antiviral Agent Inhibits Influenza A Virus (IAV) Entry. *Viruses*, 8(1), Article 6. <https://doi.org/10.3390/v8010006>
- [63] Choi, H. J., Song, J. H., Park, K. S., & Kwon, D. H. (2009). Inhibitory effects of quercetin 3-rhamnoside on influenza A virus replication. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37(3-4), 329-333. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2009.03.002>
- [64] Veckenstedt, A., Güttner, J., & Beládi, I. (1987). Synergistic action of quercetin and murine alpha/beta interferon in the treatment of Mengo virus infection in mice. *Antiviral Research*, 7(3), 169-178. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(87\)90005-2](https://doi.org/10.1016/0166-3542(87)90005-2)
- [65] Zakaryan, H., Arabyan, E., Oo, A., & Zandi, K. (2017). Flavonoids: promising natural compounds against viral infections. *Archives of Virology*, 162(9), 2539-2551. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3417-y>
- [66] Kelly, G. S. (2011). Quercetin. Monograph. *Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic*, 16(2), 172-194.
- [67] Shebeko, S. K., Zupanets, I. A., Popov, O. S., Tarasenko, O. O., & Shalamay, A. S. (2018). Chapter 27 – Effects of Quercetin and Its Combinations on Health. In R. R. Watson, V. R. Preedy, & S. Zibadi (Eds.), *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease* (2nd ed., pp. 373-394). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813006-3.00027-1>
- [68] Usenko, V. F., Zupanets, I. A., Tarasenko, O. O., & Shebeko, S. K. (2012). Eksperymentalne doslidzhennia farmakokinetichnykh vlastyvoitei kvvertsetynu pry peroralnomu zastosuvanni z modifikatoramy rozchynnosti [Experimental study of pharmacokinetic properties of quercetin at oral application with modifiers of solubility]. *Medychna i klinichna khimiia*, 14(1), 91-95. [in Ukrainian].
- [69] Moibenko, O. O., Kuzmenko, M. O., Pavliuchenko, V. B., Dosenko, V. Ye., & Tumanovska, L. V. (2011). *Sposib poperedzhennia remodeliuvannya miokarda [Method for preventing remodeling of myocardium]*. Ukraine Patent UA 60950. <https://base.uip.org/search-INV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=160680> [in Ukrainian].
- [70] Mamchur, V. Y., Shalamai, A. S., Starchenko, M. H., Kravchenko, K. O., & Chernov, Ye. O. (2005). Vykorystannia novykh likarskykh form kvvertsetynu dlia profilaktyky doksorubitsynovoi kardiomiopatii v eksperymenti [The use of new dosage forms of Quercetin to prevent doxorubicin cardiomyopathy in the experiment]. *Medychni perspektivy*, 10(4), 4-8. [in Ukrainian].
- [71] Lukjanchuk, V. D., & Voitenko, A. G. (2008). Kinetika vilnoradykalnykh reaktsii u shchuriv z medyamentoznym hepatytom pry zastosuvanni tabletok «Kvvertsetyn» [Kinetics of free radical reactions in rats with medical hepatitis in usage of «Quercetine» tablets]. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, (1-3), 52-56. [in Ukrainian].
- [72] Gorbenko, N. I., Borikov, O. Yu., Ivanova, O. V., Taran, E. V., Litvinova, T. S., Kipyrych, T. V., & Shalamai, A. S. (2019). The effect of quercetin on oxidative stress markers and mitochondrial permeability transition in the heart of rats with type 2 diabetes. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 91(5), 46-54. <https://doi.org/10.15407/ubj91.05.046>
- [73] Zupanets, I. A., Shebeko, S. K., & Kharchenko, D. S. (2009). Doslidzhennia vplyvu parenteralnoi formy kvvertsetynu na perebih hostroi nyrkovoi nedostatnosti u shchuriv [Study of the influence of quercetin parenteral form on clinical course of acute kidney failure in rats]. *Medychna khimiia*, 1(11), 98-102. [in Ukrainian].
- [74] Zupanets, I. A., Shebeko, S. K., & Kharchenko, D. S. (2009). Eksperymentalne vyvchennia farmakolohichnykh vlastyvoitei parenteralnoi formy kvvertsetynu v umovakh rozvytku khronichnoi nyrkovoi nedostatnosti [The experimental study of pharmacological properties of the quercetin parenteral form in conditions of development of the chronic renal insufficiency]. *Visnyk farmatsii*, (2), 75-78. [in Ukrainian].
- [75] Kharchenko, D. S., Zupanets, I. A., & Shebeko, S. K. (2009). Doslidzhennia vplyvu kvvertsetynu pry parenteralnomu vvedenni na biokhimichni pokaznyky shchuriv iz nyrkovoi nedostatnosti na tli khronichnoho hlomerulonefrytu [Study of an impact of quercetin at parenteral introduction on biochemical indices of rats with renal insufficiency against the background of chronic glomerulonephritis]. *Farmakom*, (2), 117-121. [in Ukrainian].
- [76] Mamchur, V., & Slesarchuk, V. (2008). Zakhysna diia preparativ kvvertsetynu za umov modeliuvannya hostroho immobilizatsiinoho stresu [Protective action of Quercetin's preparations in the conditions of design of sharp immobilization stress]. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, (1-3), 38-43. [in Ukrainian].
- [77] Usenko, V. F. Vplyv preparatu «Kvvertyn» na aleratyvne ta proliferatyvne zapalennia v eksperymenti [The effect of the drug «Quertin» on alternative and proliferative inflammation in the experiment]. *Klinichna farmatsiia*, 15(3), 36-38. [in Ukrainian].
- [78] Zupanets, I. A., Pidpruzhnykov, Y. V., Sabko, V. E., Bezugla, N. P., & Shebeko, S. K. (2019). UPLC-MS/MS quantification of quercetin in plasma and urine following parenteral administration. *Clinical Phytoscience*, 5(1), Article 11. <https://doi.org/10.1186/s40816-019-0107-1>
- [79] Parkhomenko, A. N. (2008). Metabolicheskaya terapiya, ili kardioprotektsiya pri ishemicheskoi bolezni serdtsa: itogi i perspektivy [Metabolic therapy or cardioprotection in coronary heart disease: results and prospects]. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*, (4), 15-19. [in Russian].
- [80] Parkhomenko, A. N., Kozhukhov, S. N., Moibenko, A. A., & Gavrilenko, T. I. (2008). Blokator 5-lipoksigenazy korvitin: vliyanie na markery vospaleniya i endotelialnoy disfunktsii u bolnykh s ostrym infarktomiokarda [Corvutin 5-lipoxygenase blocker: effect on inflammatory markers and endothelial dysfunction in patients with acute myocardial infarction]. *Ratsionalna farmakoterapiia*, (2/1), 85-88. [in Russian].
- [81] Parkhomenko, A. N., & Kozhukhov, S. N. (2014). Rezul'taty otkrytogo randomizirovannogo issledovaniya po izucheniiyu perenosimosti i effektivnosti preparata Korvutin® u patsientov s zastoinoi serdechnoi nedostatochnost'yu i sistolicheskoi disfunktsiei levogo zheludochka [The results of an open randomized study to investigate the tolerability and efficacy of Corvutin® in patients with congestive heart failure and left ventricular systolic dysfunction]. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*, (4), 71-76. [in Russian].
- [82] Zupanets, I. A., Shebeko, S. K., & Kharchenko, D. S. (2009). Doslidzhennia hostroi toksychnosti ta serednoefektyvnykh doz kvvertsetynu pry parenteralnomu vvedenni v umovakh rozvytku nyrkovoi nedostatnosti u shchuriv [Study of the acute toxicity and mean effective doses of intraperitoneal form of quercetin under conditions of the development of kidney failure in rats]. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, (1), 28-33. [in Ukrainian].

Клинико-патоморфологические параметры смерти мозга: от истоков концепции до ее применения при трансплантации органов

В. А. Туманский^{*A,D,E,F}, Л. М. Туманская^{B,C}

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

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

Ключевые слова:

смерть мозга, кардио-респираторный центр, стандарты смерти мозга, патология, трансплантация органов.

Патология. 2020. Т. 17, № 1(48). С. 102-113

*E-mail:

v.tumanskiy@gmail.com

Критерии смерти мозга (СМ), параметры их клинико-патоморфологического определения и использования при заборе органов для трансплантации уточняют в разных странах до настоящего времени.

Цель работы – анализ формирования и клинико-патологоанатомическая характеристика смерти мозга.

В обзоре приведен ретроспективный анализ формирования и совершенствования медицинской концепции СМ: концепции смерти целостного мозга (включая ствол мозга) и смерти ствола мозга. На основании собственных данных описаны основные патоморфологические формы СМ (тотальный некроз головного мозга, субтотальный некроз ствола мозга и мозжечка), механизмы их развития и диагностические патологоанатомические параметры. Установлено, что главным критерием развития биологической смерти человека, определяющим необратимую остановку сердца и невозможность восстановления спонтанного дыхания, являются необратимые деструктивные изменения в ядрах моста и продолговатого мозга, составляющих кардио-респираторный центр, который регулирует частоту сердечных сокращений, тонус сосудов и артериальное давление, а также генерирует ритм и особенности дыхания. Освещены современные стандарты клинической диагностики СМ и их реальное применение в разных странах при трансплантации органов, а также предпосылки для возрождения концепции циркуляторной смерти в эру трансплантации органов.

Заключение. Применяемые 3 стандарта смерти человека имеют недостаточно изученные медицинские аспекты и нерешенные этические проблемы.

Ключові слова:

смерть мозку, кардіо-респіраторний центр, стандарти смерті мозку, патологія, трансплантація органів.

Патологія. 2020. Т. 17, № 1(48). С. 102-113

Клініко-патоморфологічні параметри смерті мозку: від джерел концепції до її застосування під час трансплантації органів

В. О. Туманський, Л. М. Туманська

Критерії смерті мозку (СМ), параметри їх клініко-патоморфологічного визначення та використання при взятті органів для трансплантації уточнюють у різних країнах донині.

Мета роботи – аналіз формування та клініко-патологоанатомічна характеристика смерті мозку.

В огляді наведено ретроспективний аналіз формування та вдосконалення медичної концепції СМ: концепції смерті цілісного мозку (включаючи стовбур мозку) і смерті стовбура мозку. На підставі власних даних описали основні патоморфологічні форми СМ (тотальний некроз головного мозку, субтотальний некроз стовбура мозку та мозочка), механізми їхнього розвитку та діагностичні патологоанатомічні параметри. Встановили: головним критерієм розвитку біологічної смерті людини, що визначає незворотну зупинку серця та неможливість відновлення спонтанного дихання, є незворотні деструктивні зміни в ядрах моста й довгастого мозку, які утворюють кардіо-респіраторний центр, що регулює частоту серцевих скорочень, тонус судин та артеріальний тиск, а також генерує ритм, особливості дихання. Наведені сучасні стандарти клінічної діагностики СМ і їх реальне застосування в різних країнах під час трансплантації органів, а також передумови для відродження концепції циркуляторної смерті в еру трансплантації органів.

Заключення. Три стандарти смерті людини, що застосовуються, мають недостатньо вивчені медичні аспекти й невирішені етичні проблеми.

Key words:

brain death, cardio-respiratory center, standards for brain death, pathology, organ transplantation.

Pathologia 2020; 17 (1), 102-113

Clinical and pathomorphological parameters of brain death: from the origins of the concept to its use in organ transplantation

V. O. Tumanskiy, L. M. Tumanska

The criteria for brain death (BD), the parameters of their clinical and pathomorphological determination and use in organ harvesting for transplantation are being clarified in different countries to date.

Aim: analysis of the formation and clinical and pathological characteristics of brain death.

The review provides retrospective analysis of the formation and improvement of the medical concept of BD: the concepts of "death of the whole brain" (including the brain stem) and "death of the brain stem". Based on our own data, the main pathomorphological forms of BD are described (total necrosis of the brain, subtotal necrosis of the brain stem and cerebellum), their development mechanisms, and diagnostic pathological parameters. It has been established that the main criterion for

the development of human biological death, which determines irreversible cardiac arrest and the impossibility of restoring spontaneous respiration, are irreversible destructive changes in the nuclei of the pons and medulla oblongata, which make up the cardio-respiratory center that regulates heart rate, vascular tone and blood pressure, and generating rhythm and breathing patterns. The modern standards of clinical diagnosis of BD and their real application in different countries during organ transplantation, as well as the prerequisites for the revival of the concept of "circulatory death" in the era of organ transplantation are highlighted.

Conclusions. The applied three standards of human death have insufficiently studied medical aspects and unresolved ethical problems.

Остановка сердца и дыхания во все исторические времена были признаками наступления смерти человека. Эти представления изменились в середине XIX столетия после успешного применения новых способов инструментальной интенсивной терапии: в 1947 г. К. Бек с сотрудниками выполнили первую успешную дефибрилляцию при внезапной остановке сердца, а в 1954 г. Р. Шваб с сотрудниками смогли сохранить работу сердца искусственной вентиляцией легких (ИВЛ) пациентам с массивными повреждениями головного мозга (ГМ) (М. А. De Georgia [1]). С 1955 г. появились публикации о пациентах с обширными разрушениями ГМ, которые после остановки дыхания длительно находились на ИВЛ в глубокой коме, при отсутствии вызываемых рефлексом и электрической активности ГМ при электроэнцефалографии (ЭЭГ). Такие тяжелые изменения ЦНС в то время получили название «запредельная кома» (*le coma dépassé*, «необратимая кома» (*irreversible coma*) [2], «деанимация» (*deanimation*) [3], «респираторный мозг» (*respirator brain*) [4]. Эти первые наблюдения ассоциировали связь необратимых изменений ГМ с ИВЛ и реанимацией, дали толчок развитию в Европе в 1952–1965 гг. концепции смерти мозга (СМ) [5]. Термин «синдром смерти мозга» (*brain death syndrome*) появился в 1960 г. [6], а в 1963 г. Р. Шваб и сотр. [7] предложили триаду клинических критериев для определения СМ: отсутствие сознания, расширенные зрачки с отсутствием вызываемых рефлексом, изоэлектрическая ЭЭГ и отсутствие спонтанного дыхания. Ключевыми этическими проблемами того времени была разработка правил для прекращения ИВЛ и интенсивной терапии (ИТ) у безнадежных больных, а также определение момента наступления смерти. На вопрос анестезиолога из Инсбрука В. Найд [8] «Что позволяет прекратить принудительную вентиляцию в заведомо безнадежных случаях?» папа Пий XII в своей речи в Риме (1957 г.) ответил [9]: «Да, допускается остановить принудительную вентиляцию, если душа пациента уже покинула тело. Определение смерти остается на ответственности врачей (не церкви)».

Успешное развитие технологий сердечно-легочной реанимации (СЛР) привело к внедрению в практическую медицину определений, ранее не применявшихся в юриспруденции: клиническая смерть (КС), постреанимационный период, биологическая смерть. Клиническая смерть – период от момента остановки сердца и дыхания до последующего восстановления сердечной деятельности путем СЛР. Признаки КС: отсутствие сердцебиения и спонтанного дыхания, утрата сознания. Постреанимационный период – период от момента возобновления сердечной деятельности путем СЛР до выздоровления кома-

тозного больного или до момента наступления его биологической смерти – необратимого прекращения кровообращения и спонтанного дыхания. Дальнейшее развитие получили признаки биологической смерти. Проводимый нами анализ танатогенеза показал, что из 154 пациентов, проживших от 15 минут до 63 суток после СЛР, 72 % больных перенесли КС смерть однократно, 15 % – дважды, 13 % больных перенесли КС от 3 до 6 раз. Для этой категории больных предлагаем уточнение: биологическую смерть реанимированного больного, поддерживаемого в коматозном состоянии ИВЛ и жизнеобеспечивающей ИТ, фиксируют после последней остановки сердца с неэффективной 30-минутной СЛР (30-минутная СЛР рекомендована в 2010 г. Американской кардиологической ассоциацией и Европейским советом по реанимации). Ранние признаки биологической смерти реанимированного больного, находившегося в коме на ИВЛ: необратимая остановка сердца, кровообращения и спонтанного дыхания, полная арефлексия с утратой рефлексов ствола ГМ и спинного мозга (СпМ), нарастающая мышечная атония и гипотермия. Поздними признаками биологической смерти человека являются так называемые трупные изменения: охлаждение трупа, трупное окоченение, перераспределение крови и трупные пятна, высыхание конъюнктивы глаз и слизистых оболочек, аутолитическое разложение и вторичные гнилостные изменения тканей трупа.

Наиболее распространенные критерии смерти человека – «смерть мозга» и «циркуляторная смерть» от остановки кровообращения, оба закреплены в Законе об унифицированном определении смерти, принятом в США еще в 1981 г. В этом Законе стандартизованы критерии СМ и «циркуляторной» смерти: «Человек, который перенес необратимое прекращение функций кровообращения и дыхания или необратимое прекращение всех функций мозга, включая ствол мозга, мертв» [10]. С конца XIX века преимущественное развитие получила концепция «смерти мозга» (прежде всего для определения критериев наступления смерти безнадежных пациентов с необратимыми поражениями ГМ для прекращения их безуспешной ИТ, во вторую очередь – для возможности забора у них органов для трансплантации). С начала XX столетия начала интенсивно развиваться концепция «циркуляторной смерти» – для развития донорства органов для трансплантации.

В 1975–2005 гг. развернулась медико-философская дискуссия об основных концепциях и стандартах СМ, подробно освещенная С. Machado [11]. Каждая концепция обосновывает различные стандарты тестирования, применяемые сегодня в клинической диагностике СМ как смерти человека.

Стандарт смерти всего (целостного) мозга предполагает, что необратимое прекращение функций всех внутричерепных мозговых структур ведет к прекращению функционирования организма в целом. Для определения смерти целостного мозга необходимо клиническое тестирование отсутствия рефлексов ствола мозга и тест на апноэ, а также подтверждение отсутствия функций большого мозга хотя бы одним или тремя вспомогательными инструментальными методами. *Стандарт смерти ствола мозга* предполагает, что смерть человека определяет необратимая утрата функций ствола мозга, неизбежно приводящая к асистолии. Для установления того, что человек мертв, необходимо неврологическое тестирование отсутствия рефлексов ствола мозга и тест на апноэ. В концепции смерти высшего мозга смерть человека ассоциируется с необратимой утратой сознания, восприятия, чувствительности, познания, способности к социальному взаимодействию. В этой концепции, не получившей клинического применения, анатомическим субстратом смерти человека является необратимое прекращение функционирования неокортекса.

Современная концепция СМ, принятая в большинстве стран, основана на Законе США о единообразном определении смерти 1981 г., а также на критериях Американской академии неврологов (1995–2019) [12]. В соответствии с действующими сегодня руководствами [13, 14], СМ у взрослых, младенцев и детей наступает при необратимой утрате всех функций целостного мозга, включая ствол мозга: клинически диагностируют полную утрату сознания (кома), рефлексов ствола мозга и независимой способности к дыханию (апноэ); отсутствуют также какие-либо факторы их возможной обратимости. При этом признают, что у пациентов с необратимым повреждением полушарий и ствола ГМ может сохраняться нейроэндокринная функция вследствие особой анатомии сосудов гипоталамуса и гипофиза, обеспечивающей их кровообращение при высокой внутричерепной гипертензии (ВЧГ) и последующей ишемии мозга. Параллельно с этим, с 1976 г. в Великобритании (позже – в некоторых других странах) принята концепция «смерти ствола мозга».

Клиническая диагностика СМ предусматривает предварительные условия, клиничко-неврологические тесты СМ и вспомогательные (confirmatory) тесты, подтверждающие специальными инструментальными методами необратимость СМ. Предварительные условия для определения СМ требуют:

1) установление причины необратимого поражения мозга у пациента в коматозном состоянии (обширная открытая черепно-мозговая травма, массивное внутричерепное кровоизлияние, обширный инфаркт или опухоль мозга, острая гидроцефалия, подтвержденные методами нейровизуализации; осложнение оперативного вмешательства или вторичное повреждение мозга из-за аноксии/гипоксии, отравления);

2) исключение причин потенциальной обратимости комы (исключение переохлаждения (внутренняя температура тела $< 32^{\circ}\text{C}$), тяжелого кислотно-основного дисбаланса, гиповолемии и артериальной гипотензии; метаболического или электролитного дисбаланса (гипонатриемии < 110 ммоль/л или гиперна-

триемии > 160 ммоль/л, гиперкальциемии > 3 ммоль/л, гипогликемии < 4 ммоль/л или гипергликемии > 17 ммоль/л, гиперосмоляльности > 350 мосм/л); передозировки седативными или наркотическими препаратами, миорелаксантами.

Клиничко-неврологические тесты СМ определяют полное и устойчивое отсутствие сознания (кома III ст., 3б по шкале Глазго); отсутствие спонтанного дыхания; атония всех мышц; отсутствие стволовых рефлексов: в течение 4 часов фиксированы расширенные зрачки (4–6 мм в диаметре) без реакции зрачков на свет (II и III мозговые нервы), отсутствие роговичного рефлекса (V и VII мозговые нервы), нет челюстного рефлекса (IX мозговой нерв), отсутствие реакция лицевой мускулатуры при глубоком давлении на ногтевое ложе, надглазничный гребень или на височно-нижнечелюстной сустав (афферентный V и VII мозговые нервы), отсутствие окулоцефального рефлекса на быстрый поворот головы (движение глаз куклы – VIII, III и VI мозговые нервы), отсутствие окуло-вестибулярного (калорического) рефлекса на закапывание холодного физиологического раствора ($0\text{--}5^{\circ}\text{C}$) в каждый ушной канал (VIII и III мозговые нервы), отсутствие глоточного (рвотного) рефлекса (IX мозговой нерв) и гортанного (кашлевого) рефлекса (X мозговой нерв). Обязателен тест на апноэ – пациенту предварительно проводят 10–15-минутную преоксигенацию (ИВЛ 100 % кислородом); при PaCO_2 35–45 мм Hg и PaO_2 > 200 мм Hg аппарат ИВЛ отсоединяют и через интубационную трубку вдувают увлажненный кислород с объемной скоростью 6,0 л/мин. Тест положительный, если через 8–10 мин после отсоединения аппарата ИВЛ (при PaCO_2 > 60 мм рт. ст.) у пациента нет дыхательных движений.

Вспомогательные тесты, подтверждающие необратимость СМ, практически подтверждают отсутствие крово- и ликворобращения в полости черепа и отсутствие взаимосвязанной биоэлектрической активности структур большого мозга и ствола ГМ. Первая группа тестов определяет прекращение внутричерепного кровотока и ликворотока: это селективная церебральная панангиография (отсутствие внутричерепного заполнения сосудов на уровне раздвоения сонной артерии и позвоночной артерии), компьютерная томография ГМ, магнитно-резонансная ангиография, транскраниальная доплерография и радионуклидная сцинтиграфия с использованием меченого технеция (для исследования гемоперфузии ГМ). Вторая группа тестов включает ЭЭГ (СМ документирует изоэлектрическая запись от 18 до 20 каналов в течение 30 мин) и отсутствие соматосенсорных, акустических стволовых, зрительных вызванных потенциалов или их комбинации, получившей название «мультимодальные вызванные потенциалы».

Спинальные спонтанные и рефлекторные движения регистрируют у 22–60 % пациентов со СМ через 6–12–24–72 часа после реанимации. Они впервые были описаны Е. О. Jorgensen в 1973 г., в 2005 г. получили название «рефлексы и автоматизмы, ассоциированные со СМ» [15]. Эти движения обусловлены сохранностью функций СпМ, отделенного от погибшего ствола и полушарий ГМ; они провоцируются эпизодами гипоксии, гиперкапнии, раздражением

нижних шейных сегментов СпМ. К ним относятся спастическая контрактура мышц шеи, сгибание в тазобедренном и в локтевом суставе при повороте головы, спонтанный поворот головы в сторону, миокимия лица, одностороннее разгибание – пронация верхней конечности, подергивание пальцев верхней конечности, сгибание пальцев и всей нижней конечности, появление брюшных, коленных и ахилловых рефлексов, асимметричный опистотоз тела [16,17]. Наиболее негативное психоэмоциональное впечатление на медперсонал оказывает поза Лазаря (Lazarus sign) – внезапное сгибание туловища на 40–60° в пояснице, имитирующее попытку сесть лежащего без сознания пациента [17].

Кондиционирование органов потенциального донора. После СМ на органы потенциального донора негативное влияние оказывают системные гемодинамические, гормональные и электролитные нарушения [18]. Ишемия мозга вызывает вегетативный шторм с тахикардией, артериальной гипертензией и периферической вазоконстрикцией. Часто развивается сердечно-сосудистая нестабильность и аритмия. Гипоталамическая дисфункция приводит к утрате терморегуляции и функциональному гипотиреозу, а ишемия гипофиза приводит к потере жидкости и электролитным нарушениям. Гипертензивную фазу сменяет поздняя гипотензия вследствие потери симпатической импульсации, истощения катехоламинов, дисфункции миокарда и снижения сердечного выброса, гиповолемии, периферической вазодилатации и электролитных нарушений. Возникают также многофакторные повреждения легких и почек. Учитывая эти обстоятельства, при наличии согласия на донорство после объявления СМ у потенциального донора до наступления его биологической смерти начинается кондиционирование органов в теле донора, названное субоптимальным донорским лечением [19]. Изменяют ИТ потенциального донора [18]: на фоне усиления мониторинга основных жизненно важных параметров у пациента начинают целевое управление температурой тела, ИВЛ переводят из режима гипервентиляции в нормовентиляцию, прекращают введение ноотропных и седативных препаратов, наркотиков, нейролептиков, миорелаксантов, салуретиков, манитола; для поддержания нормоволемии корректируют инфузионную терапию. При этом у врачей ИТ возникают морально-этические противоречия, обусловленные необходимостью усиления динамического мониторинга гемо- и ликвороциркуляции в ГМ и изменением ИТ «уходящего» пациента ради его подготовки к санкционированному забору органов для трансплантации. После «лечения» органов донора специализированные бригады хирургов проводят эксплантацию органов и их сохранение для трансплантации реципиентам.

Особенности посмертной диагностики СМ. Роль патологоанатома/судебно-медицинского эксперта заключается в том, чтобы подтвердить/снять диагноз СМ у умершего донора органов при раннем вскрытии с микроскопическим исследованием коры и ствола ГМ, поврежденных и дислоцированных отделов мозга, верхнешейных сегментов СпМ, а также гипофиза.

Нами ранее [20–23] частично опубликованы результаты расширенных клинических и патоморфологических исследований ЦНС 53 больных 16–44 лет, из которых 22 были реанимированы после 3–20-минутной однократной КС или 3–6-кратной КС, суммарной длительностью 15–30 минут; 15 были оживлены после апноэ; эти больные прожили в коме на ИВЛ и жизнеобеспечивающей ИТ от 2 до 63 суток до биологической смерти. Учитывая данные ежедневного неврологического и клинко-биохимического мониторинга реанимированных больных (углубление комы по шкале Глазго, снижение артерио-венозной разницы по кислороду в наружной сонной артерии/ярменной вене, стойко высокую ВЧГ, отсутствие кровотока в полости черепа по данным церебральной ангиографии и компьютерной томографии, наличие ЭЭГ изoeлектрического типа, отсутствие рефлексов ствола мозга), а также результаты ранних патологоанатомических вскрытий с расширенным патогистологическим исследованием 15 отделов ГМ и СпМ (кора теменной и затылочной доли больших полушарий, подкорковые ганглии, эпителиамус, гипоталамус, гипофиз, перивентрикулярные отделы III, IV и боковых желудочков, сосудистые сплетения, мост, ростральные и каудальные отделы продолговатого мозга, мозжечок, верхне-шейные отделы СпМ) выделены [20–23] две патологоанатомические формы СМ: тотальный некроз ГМ (37 умерших в возрасте 16–44 года) и субтотальный некроз ствола мозга и мозжечка (16 умерших в возрасте 16–35 лет), имеющие клинко-морфологические различия.

Тотальный некроз ГМ (рис. 1а) развивается при прогрессирующей ВЧГ в связи с быстрым набуханием и увеличением объема ГМ, обуславливающим его глобальную ишемию. В 59 % наблюдений ВЧГ манифестировала после остановки сердца и дыхания (при эмболическом ишемическом инфаркте ГМ, остром гнойном менингите, массивном кровоизлиянии в полушарие ГМ). В 41 % наблюдений ВЧГ развивалась скрыто и клинически проявлялась внезапным апноэ центрального генеза при работающем сердце (при эклампсии, воздушной и амниотической церебральной эмболии, карциноматозе оболочек ГМ, субарахноидальном кровоизлиянии вследствие разрыва аневризмы церебральной артерии или артерио-венозной мальформации). В условиях ИВЛ и жизнеобеспечивающей ИТ у больных быстро прогрессировало набухание и увеличение объема ГМ с прекращением кровотока во всех интракраниальных магистральных артериях.

Морфологические изменения при тотальном некрозе ГМ имеют такую динамику. К концу 2 суток ГМ малокровен, увеличен в объеме из-за набухания, субарахноидальный ликвор отсутствует, продолговатый мозг и нижние миндалины Мзч смещены в шейно-дуральную воронку. При микроскопии во всех отделах ГМ, ствола и Мзч обнаруживают спавшиеся микрососуды с расширенными периваскулярными пространствами, ишемический некроз глиоцитов, а также некроз и цитоллизис нейронов без реактивного глиального сателлитоза. У умерших через 3–4 суток при вскрытии обнаруживают колликативный некроз

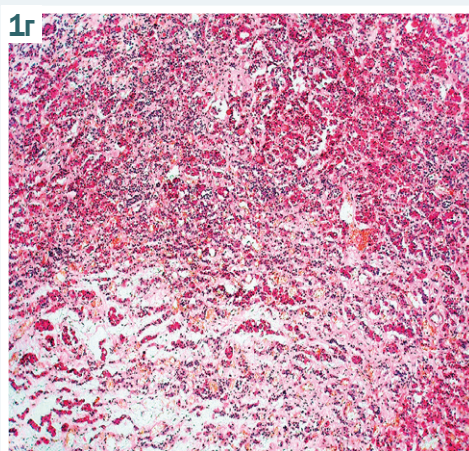
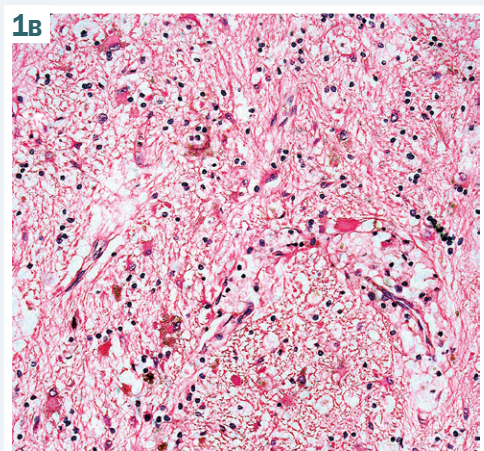
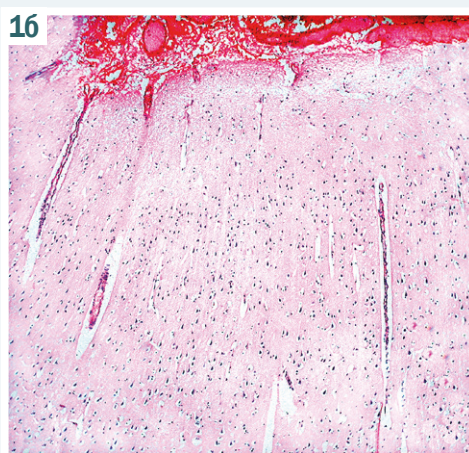
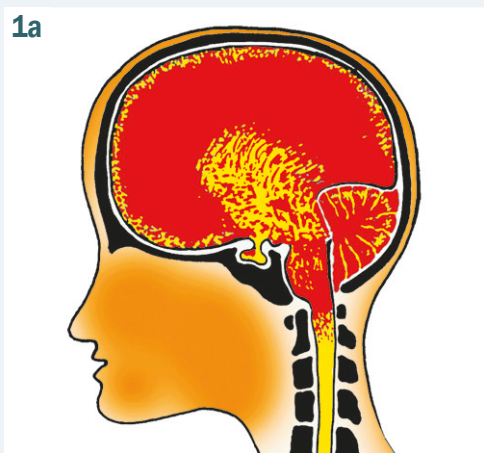


Рис. 1. Тотальный некроз головного мозга.

1а: схема тотального некроза ГМ,

16: ареактивный некроз сохранившегося фрагмента коры больших полушарий через 5 суток после КС;

1в: зона демаркации в 4-м шейном сегменте спинного мозга через 5 суток после КС;

1г: зона демаркации при некрозе части аденогипофиза через 5 суток после КС.

Окраска: **16, в, г** – гематоксилином и эозином.

Ув.: **16** ×120; **1в** ×400; **1г** ×200.

ГМ, а через 5–8 суток – аутолитический распад ГМ с частичной анатомической сохранностью некротизированных крупных сосудов, мозговых оболочек и прилежащих небольших участков коры больших полушарий, а также небольших фрагментов межзубчатого мозга, моста и продолговатого мозга. При микроскопии в частично сохранившихся участках мозга обнаруживают тени аутолизированных нейронов, глиоцитов и сосудов (рис. 16), распад миелиновых волокон. Обширные разрушения ГМ у больных, длительно находившихся в коме на ИВЛ после черепно-мозговой травмы или инсульта, описаны в публикациях P. Mollaret, M. Goulon (1959) [2], R. D. Adams, M. Jéquier (1969) [6], W. Kramer (1963) [3], H. Schneider, W. Masshoff, G. A. Neuhaus (1969) [24], H. Schneider (1970) [25], И. Г. Людковской, Л. М. Поповой (1978) [26], A. E. Walker (1978) [27], J. L. Bernat (1992) [28], J. M. Maith (2009) [29].

Наличие у пациентов при тотальном некрозе ГМ внутричерепной глобальной церебральной ишемии подтверждает демаркация мертвой нервной ткани от живой в зонах с сохранным кровообращением, которую обнаруживают у умерших в шейных сегментах СпМ, в гипофизе, в оптических нервах и стволах черепных нервов.

Тотальный некроз ГМ сопровождается некрозом 1–2 шейных сегментов СпМ вследствие прекращения их кровоснабжения из передней и задней спинальных артерий, которые локализованы в полости черепа

и сдавливаются ущемленными миндалинами Мзч. На уровне 3–5 шейных сегментов СпМ, которые снабжаются кровью из внечерепных радикулярных артерий – ветвей подключичных артерий, а также из сегментарных артерий аорты, кровообращение сохраняется. На этом уровне формируется зона демаркации с наличием в ней на 5–6 сутки активированных микроглиоцитов и «тучных» астроцитов, нагруженных гемосидерином, а также капилляров с признаками неоангиогенеза: почками роста и сосудистыми «отпрысками» (рис. 1в). Наиболее вероятно, что высвобождающиеся из некротизированных клеток производные арахидоновой кислоты (простагландины, лейкотриены) обуславливают появление в зоне демаркации мелких кровоизлияний и привлекаемых макрофагов, фагоцитирующих микроглиоцитов и астроцитов [29]. Наличие демаркационных изменений в шейных сегментах СпМ также обнаруживали G. Schneider, F. Matakas (1971) [30], R. Schröder (1983) [31], C. Machado et al. (1993) [32], C. Machado, J. Korein (2008) [33], J. M. Maith (2009) [29].

Обычно также развивается некроз верхних 2/3 или половины передней доли гипофиза (рис. 1г) вследствие прекращения его кровоснабжения из верхних гипофизарных артерий (исходящих из внутричерепных сегментов внутренних сонных артерий, а также из трабекулярных артерий, исходящих из задней соединительной артерии Вилизиевого круга),

которые опускаются к гипофизу вдоль его ножки и ущемляются при увеличении объема мозга в узком отверстии фиброзной диафрагмы турецкого седла. Нижняя часть аденогипофиза и нейрогипофиз менее доступны ВЧГ, поскольку они снабжаются кровью из сосудов, исходящих из пещеристых сегментов внутренних сонных артерий, которые «спрятаны» в костном сифоне сонных борозд клиновидных костей. Микроскопические изменения в демаркационной зоне аденогипофиза эволюционируют от полнокровия сосудов с миграцией нейтрофилов через моноцитарно-макрофагальную инфильтрацию до активации на 5–8 сутки фибробластов и начала рубцевания некроза. Некроз и демаркационные зоны в гипофизе описаны H. Schneider et al. (1969) [7], W. F. McCormick, N. S. Halmi (1970) [34], И. Г. Людковской, Л. М. Поповой (1978) [26], N. Ujihira et al. (1993) [35], E. F. Wijdicks, E. A. Pfeifer (2008) [36], J. M. Maith (2009) [29].

Своеобразные зоны демаркации появляются в стволах экстракраниальных отделов зрительных нервов и ствольных черепных нервов на границе их выхода из соответствующих отверстий черепа. Внутричерепные отделы зрительных нервов снабжаются кровью из задних цилиарных артерий, исходящих из передней мозговой артерии, кровотока в которой прекращается при высокой ВЧГ, в то время как экстракраниальные отделы зрительных нервов продолжают снабжаться кровью через пиллярную сосудистую сеть, сформированную из ветвей центральной артерии сетчатки и глазной артерии. В зоне демаркации в экстракраниальных отделах зрительных и черепных нервов в первые 3 суток обнаруживают кровоизлияния и набухание миелиновых оболочек нервных стволов, на 5–8 сутки – распад миелиновых оболочек, после чего в дальнейшем остаются нервные волокна, лишенные миелина, и очаговые скопления лимфоцитов под периневрием. Демаркационные зоны в зрительных нервах описывали G. Schneider, F. Matakas (1971) [30], И. Г. Людковская, Л. М. Попова (1978) [26], J. M. Maith (2009) [29].

Субтотальный некроз ствола мозга и мозжечка (рис. 2а) представляет собой вторичный дислокационно-ишемический некроз ствола и МЗч, который развивается у молодых людей (16–38 лет) при локальной ВЧГ в задней черепной ямке с блокадой кровотока в бассейне основной артерии ГМ [20–23]. Патоморфологические исследования такой формы СМ другие патологоанатомы не проводили. Причины локальной ВЧГ: эмболический инфаркт МЗч, прогрессирующая опухоль МЗч или оболочек ствола, острое вспучивание ГМ при пункции опухоли МЗч, а также кровоизлияние в заднюю черепную ямку из врожденной аневризмы основной артерии, из венозного синуса твердой мозговой оболочки (при гнойно-деструктивном мезотимпаните), послеоперационное кровотечение в ложе удаленной опухоли МЗч. Особенности симптоматики: первый сигнал начала мозговой катастрофы – внезапная центральная остановка дыхания и затем сердца, быстрое углубление комы после реанимации. Доминируют симптомы разрушения кардио-респираторного центра (КРЦ): исчезает окулоцефалический рефлекс (феномен «головы и глаз куклы»), а также

калорический окуловестибулярный рефлекс; на 2 сутки проявляется тотальная арефлексия. Быстро блокируется подпаутинное ликворное пространство, рано нарастает окклюзионная гидроцефалия и ВЧГ. Снижается артерио-венозная разница по кислороду в притекающей и оттекающей от мозга крови, из-за снижения потребления мозгом кислорода резко возрастает его напряжение в ликворе, развивается гипергликемия. Регистрируют нестабильную гемодинамику, иногда возникает аритмия, фибрилляция предсердий и желудочков. Накануне биологической смерти развивается декомпенсированный алкалоз крови и ликвора, глубокая гипоксемия артериальной и венозной крови, а также некорректируемая артериальная гипотензия. Постоянной ИТ жизнь больных поддерживается от 3 до 8 суток.

При вскрытии умерших больных обнаруживают субтотальный колликвационный распад МЗч, анатомически сохранными остаются его сосуды и оболочки. В верхних миндалинах мозжечка имеется борозда от их вклинения в отверстие намета МЗч. Водопровод среднего мозга обтурирован размягченной нервной тканью, в дне 4 желудочка нередко обнаруживают кровоизлияния дислокационного генеза. Ствол обескровлен, при разрезах выворачивается за мозговые оболочки в виде размягченного белого детрита, несмотря на ареактивный некроз (рис. 2б), полная колликвация ствола, богатого миелинизированными волокнами, не успевает развиваться. В шейно-дуральной воронке наблюдают размягченные остатки дислоцированных нижних миндалин МЗч и продолговатого мозга. При микроскопии в МЗч обнаруживают ареактивный некроз и аутолиз спавшихся микрососудов, нейронов, глиоцитов (рис. 2в); в оставшихся остатках ствола на территории ядер черепно-мозговых нервов и ретикулярной формации определяют спавшиеся капилляры и полные некрозы ткани с миелинолизисом без реактивных изменений глии. В белом веществе ствола мозга доминирует миелинолизис с такой динамикой: на 2 сутки – значительное набухание миелиновых оболочек нервных волокон, на 3–4 сутки формируются баллоноподобные вздутия миелина, на 4–7 суток отмечают множество сотоподобных полостей на месте разрушенных аксонов и их миелиновых оболочек (рис. 2г). Некроз ствола обычно распространяется на 1–2 шейные сегменты СпМ, при этом на уровне 3–5 сегментов формируется зона сосудисто-глиальной демаркации умеренной интенсивности.

Ростральнее моста в структурах промежуточного и среднего мозга демаркационную сосудисто-глиальную реакцию не наблюдают. В гипофизе, в экстракраниальных отделах зрительного и черепных нервов некрозы и демаркационные изменения отсутствуют. В коре и в других отделах больших полушарий ГМ определяют ишемические изменения и селективные некрозы нейронов, локусы невосстановленного мозгового кровотока и репаративные изменения, характерные для постреанимационной энцефалопатии. Это свидетельствует об отсутствии у этих пациентов глобальной ВЧГ до наступления смерти, а также о сохранении определенного кровотока в сосудистых бассейнах средних мозговых артерий, снабжающих

2а



2б

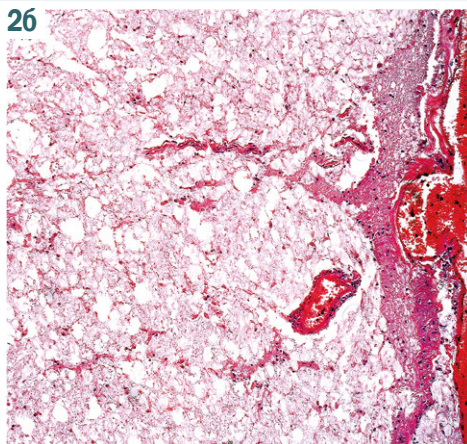


Рис. 2. Субтотальный некроз ствола головного мозга и мозжечка:

2а: схема некроза;

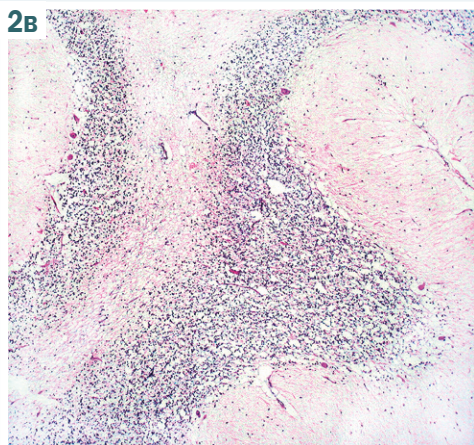
2б: ареактивный некроз ткани ствола мозга через 6 суток после КС;

2в: ареактивный некроз ткани мозжечка через 6 суток после КС;

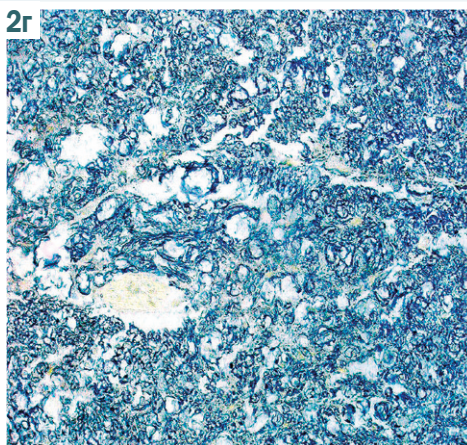
2г: распад миелина нервных волокон ствола мозга 6 суток после КС.

Окраска: **2б, в** – гематоксилином и эозином, **2г** – по Крютцау. Ув.: **2б** ×200; **2в** ×120; **2г** ×240.

2в



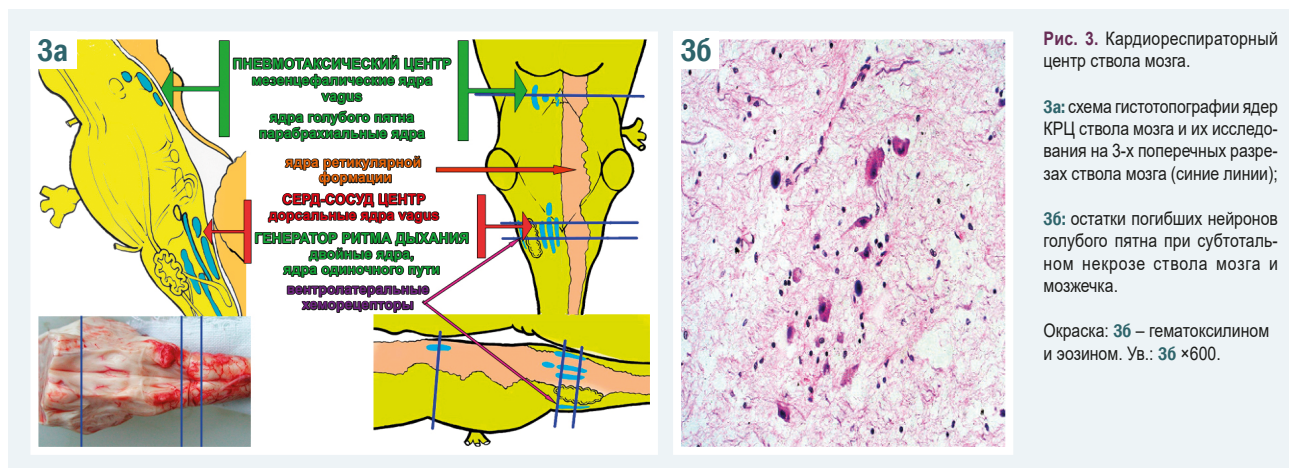
2г



кровью структуры большого мозга. Косвенно об этом свидетельствуют также немногочисленные наблюдения больных с тромбозом основной артерии мозга, с поражениями ствола мозга или Мзч, у которых, несмотря на кому и утрату рефлексов ствола мозга, сохранялась ЭЭГ активность мозга на протяжении 168 часов [37], вызванные соматосенсорные потенциалы [38] и супратенториальный мозговой кровоток, который в течение 2–6 суток эволюционировал от сохранения к утрате [39].

Но что же является причиной биологической смерти больных, которые доживают до 8 суток на ИВЛ и ИТ, несмотря на развитие некроза ствола мозга? А. Mohandas, S. N. Chou [40] предположили, что точкой невозврата к жизни у больных после КС при смерти у них ствола ГМ является необратимое нарушение стволовой регуляции сердечно-сосудистой системы. Сравнительные патоморфологические исследования КРЦ ствола мозга на уровне ростральной и каудальной части моста, на верхнем уровне продолговатого мозга (рис. 3а), в 3 группах неврологически обследованных больных, умерших от утраты функций ствола мозга при постреанимационной энцефалопатии (85 больных), субтотальном некрозе ствола мозга и Мзч (16 больных), массивном полушарном кровоизлиянии/инфаркте мозга (62 больных) показали, что некротические изменения обнаруживают во всех ядерных образованиях КРЦ: в медиальных парабрахимальных ядрах дорсолатераль-

ной части моста (в зоне пневмотаксического центра), в зоне апнейстического центра, локализованного среди клеток ретикулярной формации латеральных отделов продолговатого мозга, а также в зоне генератора ритма дыхания, включающего гигантоклеточные ядра ретикулярной формации, ядра солитарного тракта и двойного ядра вентральной респираторной группы продолговатого мозга [41]. Некротические изменения охватывают ядра голубого пятна, а также хеморецепторные нейроны, локализованные у вентролатеральной поверхности продолговатого мозга. Некрозы определяют в нейронных образованиях сердечно-сосудистого центра продолговатого мозга: в ядрах солитарного тракта, в двойных ядрах и в дорсальных моторных ядрах блуждающего нерва, в латеральных и гигантоклеточных ядрах ретикулярной формации. В этих ядрах КРЦ при постреанимационной энцефалопатии развиваются селективные некрозы нейронов, а при субтотальном некрозе ствола мозга и мозжечка – ареактивные некрозы всей нервной ткани (рис. 3б). Результаты исследований на экспериментальных животных [42,43] показали, что ранняя асинапсия в ретикулярной формации ствола мозга обуславливает начало коматозного состояния, которое углубляется по мере селективной гибели ретикулярных нейронов, некроза и апоптоза нейронов КРЦ ствола. Основные клинические симптомы тяжелого повреждения КРЦ ствола мозга, отмеченные у реанимированных больных: апноэ или неэффективность



спонтанного дыхания, раннее углубление комы и общей арефлексии, нарушения сердечного ритма, а также некорректируемая артериальная гипотензия [41]. По данным J. K. Gordon, J. McKinlay [44], со смертью ствола мозга ассоциированы такие патофизиологические изменения, как гемодинамическая нестабильность потенциальных доноров, ранняя ВЧГ с кратковременной артериальной гипертензией, сменяющаяся гипердренергическим состоянием с легочной гипертензией и ишемией миокарда после смещения ствола мозга в большое затылочное отверстие. У трети пациентов возникает рефлекс Кушинга (гипертония с брадикардией). В последующем из-за потери симпатической активности СпМ снижается вазомоторный тонус, снижается сердечный выброс и перфузия миокарда, развивается тяжелая гипотензия.

Однако как же объяснить наличие сердечной деятельности у больных с разрушающимся стволом мозга, находящихся до 8 суток на ИВЛ и жизнеобеспечивающей ИТ? Наиболее вероятно, что даже при значительных повреждениях КРЦ ствола мозга относительная автономность сердечной деятельности объясняется многоуровневой (в том числе и спинальной) нейрогенной ее регуляцией, а также наличием в сердце автономной нейроэндокринной системы (синусового и атриовентрикулярного генераторов ритма сердца, пептидсинтезирующих клеток предсердий, электровозбудимой проводящей системы сердца). Не менее важный аспект танатогенеза этой категории пациентов – дезинтеграция взаимодействия между стволовым КРЦ и другими структурами мозга. Известно, что ядра солитарного тракта ствола мозга играют важную роль не только в контроле артериального давления, но и в ауторегуляции мозгового кровообращения [45], поэтому при повреждении этих ядер глобально нарушается ауторегуляция мозгового кровотока и возможность нормального функционирования ГМ в целом. Установлено [41], что необратимые деструктивные изменения в ядрах КРЦ моста и продолговатого мозга, регулирующих частоту сердечных сокращений, тонус сосудов и артериальное давление, а также генерирующих ритм дыхания с его пневмотаксическими и апнейстическими особенностями, – определяющий критерий необратимой остановки сердца и невозможности восстановления

спонтанного дыхания при наступлении биологической смерти человека.

Применение медицинских стандартов диагностики смерти мозга при трансплантации органов.

Медицинские стандарты диагностики смерти человека как «смерти целостного мозга» (включая ствол мозга) законодательно приняты в США (кроме штата Невада), в 26 странах Евросоюза (ЕС) (за исключением Великобритании и Ирландии) [46], в России [47], Украине [48], а также в Китае, Японии, Южной Корее, Тайване, Гонконге, Сингапуре, Индии [49]. Во всех этих странах соблюдают предварительные условия диагностики СМ, а также, с определенными вариациями, выполняют клинические тесты диагностики СМ (отсутствие рефлексов ствола мозга и тест на апноэ). Время наблюдения между двумя тестированиями составляет от 6 до 48 часов в странах Азии, от 6 до 24 часов в США, 12 часов в Греции и Литве, от 2 до 12 часов в 24 странах ЕС, не менее 6 часов в Украине и России, всего 1 час в Дании [46,49,50]. Вспомогательные тесты, подтверждающие необратимость СМ, в 2015 г. обязательно использовали только в 29 % из 94 опрошенных стран мира [51]. Применение всех вспомогательных тестов абсолютно обязательно лишь во Франции, Греции, Италии, Люксембурге, Голландии, Швеции, Китае, Южной Корее и Японии [46,49]. В диагностике СМ важное значение также имеет число и профессиональная квалификация диагностов. Во всех странах Азии для подтверждения СМ требуется 2 или более врача; в 26 % стран ЕС – 2 врача; в 32 % стран ЕС – 3 врача; в Индии требуется 4 врача, в России и Украине – консилиум из 3–6 врачей [46,49]. Чаще всего СМ диагностируют врачи интенсивной терапии, реже неврологи и нейрохирурги.

Медицинские стандарты диагностики смерти человека как «смерти ствола мозга» законодательно приняты в Великобритании (с 1976 г.), Ирландии (с 1988 г.), Канаде (с 2003 г.), Австралии, Новой Зеландии, Филиппинах, Таиланде, Индонезии, Малайзии, Шри-Ланке, Мьянме и Вьетнаме [52–54]. Поэтому в этих странах требуются прежде всего клинические доказательства причины и необратимости глубокой комы, а также неврологическое тестирование отсутствия рефлексов ствола мозга, включая тест на апноэ. Клиническое определение СМ включает 3

последовательных и взаимозависимых этапа [54,55]. Обязательно должны быть выполнены предварительные условия: не должно быть никаких сомнений в том, что коматозное состояние пациента обусловлено необратимым повреждением ГМ с известной этиологией, исключены потенциально обратимые причины комы и апноэ (гипотермия, эффекты лекарственных препаратов, метаболические или эндокринные нарушения). Затем при условии, что у пациента в течение 4 часов фиксируют расширенные зрачки и отсутствуют рефлексы черепных нервов, дважды проводят клиническое тестирование 7 рефлексов ствола мозга и тест на апноэ.

Вспомогательные тесты, подтверждающие необратимость СМ, проводят в Великобритании, Ирландии, Канаде, Австралии и Новой Зеландии, когда невозможно выполнить предварительные условия диагностики СМ, когда СМ у коматозного больного невозможно однозначно установить только по неврологическим стволовым тестам, или для минимизации сроков наблюдения между двумя неврологическими тестированиями [53,54,56]. Смерть ствола мозга должна быть диагностирована двумя врачами интенсивной терапии, которые должны присутствовать в каждом из двух клинических тестирований, необходимых для определения смерти. В Великобритании диагноз смерти мозга у детей в возрасте до 2 месяцев запрещен.

Таким образом, концепции «смерти целостного мозга» (включая ствол мозга) и «смерти ствола мозга» с момента их легализации открыли возможности для стремительного развития трансплантации органов в большинстве стран мира. Однако они смогли удовлетворить только 10 % годовой потребности в трансплантированных органах во всем мире [57]. Поэтому нехватку доноров органов с начала XX века развивает концепция донорства после циркуляторной смерти человека [58], определяемой по утрате кровообращения, дыхания и сознания.

Заключение

Разработка интенсивной терапии критических состояний больных, находящихся на грани жизни и смерти, привела к законодательному принятию единообразных критериев смерти человека, дающих право врачам считать человека умершим и прекратить безуспешную реанимационную терапию. Медицинская, этическая и юридическая проблема о возможностях жизнеобеспечивающей ИТ и условиях ее прекращения у безнадежных больных была решена в 80-е годы прошлого столетия принятием в большинстве стран концепции о смерти человека как смерти его мозга. Законодательно закреплены 2 варианта СМ (смерть целостного мозга и смерть ствола мозга), позволяющие считать человека мертвым, имеют свои клинико-неврологические параметры, а также стандарты и протоколы диагностики. Описаны 2 патологоанатомические формы СМ: тотальный некроз ГМ, а также субтотальный некроз ствола мозга и МЗч, имеющие четкие патогенетические и патоморфологические различия. Доказано, что необратимые деструктивные изменения в ядрах КРЦ моста и продолговатого мозга,

регулирующего частоту сердечных сокращений, тонус сосудов и артериальное давление, а также генерирующего ритм дыхания с его пневмотаксическими и апнейстическими особенностями, — определяющий критерий необратимой остановки сердца и невозможности восстановления спонтанного дыхания при наступлении биологической смерти человека. Концепция СМ дала толчок развитию трансплантации органов от умерших доноров и возрастающему спросу на донорские органы, для восполнения дефицита которых с начала XX столетия возрождена концепция циркуляторной смерти человека, клинически определяемой по утрате кровообращения, дыхания и сознания. Применяющиеся в настоящее время 3 стандарта смерти человека имеют недостаточно изученные медицинские аспекты и нерешенные этические проблемы, над которыми работают ученые во всех странах мира.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Надійшла до редакції / Received: 21.01.2020

Після доопрацювання / Revised: 30.01.2020

Прийнято до друку / Accepted: 06.02.2020

Сведения об авторах:

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

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

Відомості про авторів:

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

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

Information about authors:

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

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

Список литературы

- [1] De Georgia M. A. History of brain death as death: 1968 to the present. *Journal of Critical Care*. 2014. Vol. 29, Iss. 4. P. 673-678. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2014.04.015>
- [2] Mollaret P., Bertrand L., Mollaret H. Coma dépasse et necroses nerveuses centrales massives. *Revue Neurologique (Paris)*. 1959. Vol. 101. P. 116-139.
- [3] Kramer W. From reanimation to deanimation (Intravital death of the brain during artificial respiration). *Acta Neurologica Scandinavica*. 1963. Vol. 39, Iss. 2. P. 139-153. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1963.tb05315.x>
- [4] Towbin A. The respirator brain death syndrome. *Human Pathology*. 1973. Vol. 4, Iss. 4. P. 583-594. [https://doi.org/10.1016/S0046-8177\(73\)80067-X](https://doi.org/10.1016/S0046-8177(73)80067-X)

- [5] Moskopp D. Das Konzept des Hirntodes wurde in Europa zwischen 1952 und 1960 entwickelt. Eine Uebersicht zur Historie. *Nervenheilkunde*. 2017. Vol. 36. P. 423-432.
- [6] Adams R. D., Jéquier M. The brain death syndrome: Hypoxemic panencephalopathy. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*. 1969. Vol. 99, Iss. 3. P. 65-73.
- [7] Schwab R. S., Potts F., Bonazzi A. EEG as an aid in determining death in the presence of cardiac activity ethical, legal, and medical aspects. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 1963. Vol. 15. P. 147-148.
- [8] Haid B. Religioes-sittliche Fragen betreffend die Wiederbelebung (Resuscitation, Reanimation). *Der Anaesthetist*. 1958. Vol. 7. P. 241-243. [in German].
- [9] Pius XII Discours en réponse à trois questions de morale médicale sur la reanimation. *Acta Apostolica Sedis*. 1957. Vol. 49. P. 1027-1033.
- [10] Lynn J. Guidelines for the determination of death. Report of the medical consultants on the diagnosis of death to the President's Commission for the Study of Ethical Problems in Medicine and Biomedical and Behavioral Research. *Jama-Journal of the American Medical Association*. 1981. Vol. 246, Iss. 19. P. 2184-2188.
- [11] Machado C. Conceptual Approach to Human Death on Neurological Grounds. *Brain Death. A Reappraisal*. Springer, New York, 2007. P. 32-70. https://doi.org/10.1007/978-0-387-38977-6_3
- [12] Brain death, the determination of brain death, and member guidance for brain death accommodation requests: AAN position statement / J. A. Russell, L. G. Epstein, D. M. Greer et al. *Neurology*. 2019. Vol. 92, Iss. 5. P. 228-232. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000006750>
- [13] Evidence-based guideline update: Determining brain death in adults: Report of the quality standards subcommittee of the American Academy of Neurology / E. F. M. Wijdicks, P. N. Varelas, G. S. Gronseth, D. M. Greer. *Neurology*. 2010. Vol. 74, Iss. 23. P. 1911-1918. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181e242a8>
- [14] Clinical report – Guidelines for the determination of brain death in infants and children: An update of the 1987 task force recommendations / T. A. Nakagawa, S. Ashwal, M. Mathur et al. *Pediatrics*. 2011. Vol. 128, Iss. 3. P. e720-e740. <https://doi.org/10.1542/peds.2011-1511>
- [15] Jain S., DeGeorgia M. Brain death-associated reflexes and automatisms. *Neurocritical Care*. 2005. Vol. 3, Iss. 2. P. 122-126. <https://doi.org/10.1385/ncc.3:2:122>
- [16] Spontaneous and reflex movements in 107 patients with brain death / G. Saposnik, J. Maurino, R. Saizar, J. A. Bueri. *American Journal of Medicine*. 2005. Vol. 118, Iss. 3. P. 311-314. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2004.09.013>
- [17] Spinal reflexes in brain death / Y. Beckmann, Y. Ciftci, T. K. Incesu et al. *Acta Neurologica Belgica*. 2014. Vol. 114, Iss. 4. P. 303-306. <https://doi.org/10.1007/s13760-014-0284-0>
- [18] Pathophysiologic changes after brain death and organ preservation: The intensivist's and anesthesiologist's role / R. Domi, H. Sula, I. Ohri, H. Laho. *Journal of Anesthesia and Clinical Research*. 2013. Vol. 4, Iss. 3. P. 302-305. <https://doi.org/10.4172/2155-6148.1000302>
- [19] Gordon J. K., McKinlay J. Physiological changes after brain stem death and management of the heart-beating donor. *Continuing Education in Anaesthesia. Critical Care and Pain*. 2012. Vol. 12, Iss. 5. P. 225-229. <https://doi.org/10.1093/bjaceaccp/mks026>
- [20] Пермяков Н. К., Туманский В. А. Постреанимационная энцефалопатия. *Архив патологии*. 1984. Т. 46, № 9. С. 5-16.
- [21] Пермяков Н. К., Хуча А. В., Туманский В. А. Постреанимационная энцефалопатия. Москва: Медицина, 1986. 240 с.
- [22] Туманский В. А., Туманская Л. М. Синдром смерти мозга: патогенез, экспертная оценка ранних стадий развития, патологоанатомические формы. *Реаниматология на рубеже XXI века*. Москва, 1996. С. 176-177.
- [23] Туманский В. А., Туманская Л. М. Синдром смерти мозга: морфогенез и критерии патологоанатомической диагностики. *Судинні і онкологічні захворювання: морфогенез та екологічний патоморфоз : матеріали 6-го Конгресу патологів України (30 вересня – 2 жовтня 1998)*. Вінниця. 1998. С. 95-99.
- [24] Schneider H., Masshoff W., Neuhaus G. A. Klinische und morphologische Aspekte des Hirntodes. *Hin Wochenschr*. 1969. Vol. 47, Iss. 16. P. 844-859.
- [25] Schneider H. Der Hirntod. Begriffsgeschichte und Pathogenese. *Nervenarzt*. 1970. Vol. 41, Iss. 8. P. 381-387.
- [26] Людокская И. Г., Попова Л. М. Морфология и патогенез «смерти головного мозга» при инсульте. *Архив патологии*. 1978. Т. 40, № 9. С. 48-54.
- [27] Walker A. E. Pathology of brain death. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1978. Vol. 315. P. 272-280. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1978.tb0345.x>
- [28] Bernat J. L. Brain-death – occurs only with destruction of the cerebral hemispheres and the brain-stem. *Archives of Neurology*. 1992. Vol. 49, Iss. 5. P. 569-570. <https://doi.org/10.1001/archneur.1992.00530290161027>
- [29] Maith J. M. Der Hirntod des Menschen: Forensische Neuropathologie Inaugural dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. Kiel. 2009. S. 1-157.
- [30] Schneider H., Matakas, F. Pathological changes of the spinal cord after brain death. *Acta neuropathologica*. 1971. Vol. 18, Iss. 3. P. 234-247.
- [31] Schroder R. Later changes in brain-death – Signs of partial recirculation. *Acta Neuropathologica*. 1983. Vol. 62, Iss. (1-2). P. 15-23. <https://doi.org/10.1007/bf00684915>
- [32] Short latency somatosensory evoked potentials in brain-dead patients using restricted low cut filter setting / C. Machado, P. Valdes, O. Garcia et al. *Journal of Neurosurgical Sciences*. 1993. Vol. 37, Iss. 3. P. 133-140.
- [33] Korein J., Machado, C. Brain death – Updating a valid concept for 2004. *Brain Death and Disorders of Consciousness*. 2004. Vol. 550. P. 1-14.
- [34] McCormick W. F., Halmi N. S. The hypophysis in patients with coma dépassé ("respirator brain"). *American Journal of Clinical Pathology*. 1970. Vol. 54, Iss. 3. P. 374-383. <https://doi.org/10.1093/ajcp/54.3.374>
- [35] Ujihira N., Hashizume Y., Takahashi A. A neuropathological study on respirator brain. *Clinical Neurology*. 1993. Vol. 33, Iss. 2. P. 141-149.
- [36] Wijdicks E. F. M., Pfeifer E. A. Neuropathology of brain death in the modern transplant era. *Neurology*. 2008. Vol. 70, Iss. 15. P. 1234-1237. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000289762.50376.b6>
- [37] Wijdicks E. F. M. The clinical determination of brain death: Rational and reliable. *Seminars in Neurology*. Thieme Medical Publishers, 2015. P. 103-104. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1547531>
- [38] Wagner W., Ungersböck K., Perneczky A. Preserved cortical somatosensory evoked potentials in apnoeic coma with loss of brain-stem reflexes: case report. *Journal of Neurology*. 1993. Vol. 240, Iss. 4. P. 243-246. <https://doi.org/10.1007/BF00818712>
- [39] Primary Posterior Fossa Lesions and Preserved Supratentorial Cerebral Blood Flow: Implications for Brain Death Determination / P. N. Varelas, P. Brady, M. Rehman et al. *Neurocritical Care*. 2017. Vol. 27, Iss. 3. P. 407-414. <https://doi.org/10.1007/s12028-017-0442-3>
- [40] Mohandas A., Chou S. N. Brain death. A clinical and pathological study. *Journal of neurosurgery*. 1971. Vol. 35, Iss. 2. P. 211-218. <https://doi.org/10.3171/jns.1971.35.2.0211>
- [41] Клинико-морфологическая характеристика кардио-респираторного центра ствола головного мозга в динамике постреанимационной болезни и церебрального полушарного инсульта, осложненного вторичным стловым синдромом / В. А. Туманский, В. И. Дарий, Л. М. Туманская и др. *Патология*. 2005. Т. 2, № 3. С. 82-91.
- [42] Туманская Л. М. Динамика субмикроскопических изменений нейронов и глии ретикулярной формации ствола головного мозга после острой гипоксической гипоксии. *Структурно-функциональные основы организации мозга*. Вып. 7. Москва, 1976. С. 153-156.
- [43] Туманская Л. М. Ультраструктура дендритов нейронов ретикулярной формации ствола головного мозга при острой гипоксической гипоксии. *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии*. 1978. Т. 74, № 3. С. 67-72.
- [44] Gordon J. K., McKinlay J. Physiological changes after brain stem death and management of the heart-beating donor. *Continuing Education in Anaesthesia. Critical Care and Pain*. 2012. Vol. 12, Iss. 5. P. 225-229. <https://doi.org/10.1093/bjaceaccp/mks026>
- [45] Дыхательный центр и регуляция его деятельности супрабульбарными структурами : монография / Н. А. Меркулова, А. Н. Иношкин, В. И. Беляков и др. Самара: Изд-во «Самарский университет», 2007. 170 с.
- [46] Variability in Brain Death Determination in Europe: Looking for a Solution / G. Citerio, I. A. Crippa, A. Bronco et al. *Neurocritical Care*. 2014. Vol. 21, Iss. 3. P. 376-382. <https://doi.org/10.1007/s12028-014-9983-x>
- [47] Стулин И. Д., Мусин П. С., Солонский Д. С., Синкин М. В. Современная клинико-инструментальная диагностика смерти мозга. *Трансплантология*. 2014. № 1. С. 24-35.
- [48] Про внесення змін до деяких законодавчих актів України, що регулюють питання трансплантації анатомічних матеріалів людині : Закон України від 20.12.2019 № 418-IX. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/418-20?lang=uk>
- [49] Brain death: The asian perspective / H. C. Chua, T. K. Kwek, H. Morihara, D. Gao. *Seminars in Neurology*. 2015. Vol. 35. P. 152-161. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1547539>
- [50] Variability of brain death policies in the United States / D. M. Greer, H. H. Wang, J. D. Robinson et al. *JAMA Neurology*. 2016. Vol. 73, Iss. 2. P. 213-218. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.3943>
- [51] Brain death declaration: Practices and perceptions worldwide / S. Wahlster, E. F. M. Wijdicks, P. V. Patel et al. *Neurology*. 2015. Vol. 84, Iss. 18. P. 1870-1879. <https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000001540>
- [52] Citerio G., Murphy P. G. Brain death: The European perspective. *Seminars in Neurology*. 2015. Vol. 35. P. 139-144. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1547533>
- [53] The ANZICS Statement on Death and Organ Donation (Edition 3.2) / Australian and New Zealand Intensive Care Society. Melbourne: ANZICS, 2013. P. 1-68.

- [54] Smith, M. Brain death: The United Kingdom perspective. *Seminars in Neurology*. 2015. Vol. 35, Iss. 2. P. 145-151. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1547534>
- [55] Confirmation of brainstem death / E. J. Cameron, A. Bellini, M. S. Damian, D. P. Breen. *Practical Neurology*. 2016. Vol. 16, Iss. 2. P. 129-135. <https://doi.org/10.1136/practneurol-2015-001297>
- [56] Norris S. Organ Donation and Transplantation in Canada. Legal and Social Affairs Division: Publication no. 2011-113-E. Parliamentary Information and Research Service, 2014. <http://www.lop.parl.gc.ca/content/lop/researchpublications/2011-113-e.pdf>
- [57] Manyalich M., Nelson H., Delmonico F. L. The need and opportunity for donation after circulatory death worldwide. *Current Opinion in Organ Transplantation*. 2018. Vol. 23, Iss. 1. P. 136-141. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000486>
- [58] The circulatory-respiratory determination of death in organ donation / J. L. Bernat, A. M. Capron, T. P. Bleck et al. *Critical Care Medicine*. 2010. Vol. 38, Iss. 3. P. 963-970. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181c58916>
- ### References
- [1] De Georgia, M. A. (2014). History of brain death as death: 1968 to the present. *Journal of Critical Care*, 29(4), 673-678. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2014.04.015>
- [2] Mollaret, P., Bertrand, I., & Mollaret, H. (1959). Coma dépassé et necroses nerveuses centrales massives. *Revue Neurologique (Paris)*, 101, 116-139.
- [3] Kramer, W. (1963). From reanimation to deanimation (Intravital death of the brain during artificial respiration). *Acta Neurologica Scandinavica*, 39(2), 139-153. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1963.tb05315.x>
- [4] Towbin, A. (1973). The respirator brain death syndrome. *Human Pathology*, 4(4), 583-594. [https://doi.org/10.1016/S0046-8177\(73\)80067-X](https://doi.org/10.1016/S0046-8177(73)80067-X)
- [5] Moskopp, D. (1971). Das Konzept des Hirntodes wurde in Europa zwischen 1952 und 1960 entwickelt. Eine Übersicht zur Historie [The compendium of cerebral death developed in Europe between 1952 and 1960. Review to history]. *Nervenheilkunde*, 36, 423-432. [in German].
- [6] Adams, R. D., & Jéquier, M. (1969). The brain death syndrome: Hypoxemic panencephalopathy. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 99(3), 65-73.
- [7] Schwab, R. S., Potts, F., & Bonazzi, A. (1963). EEG as an aid in determining death in the presence of cardiac activity ethical, legal, and medical aspects. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 15, 147-148.
- [8] Haid, B. (1958). Religioes-sittliche Fragen betreffend die Wiederbelebung (Resuscitation, Reanimation). *Der Anaesthesist*, 7, 241-243. [in German].
- [9] Pius XII (1957). Discours en réponse à trois questions de morale médicale sur la reanimation. *Acta Apostolica Sedis*, 49, 1027-1033.
- [10] Lynn, J. (1981). Guidelines for the determination of death. Report of the medical consultants on the diagnosis of death to the President's Commission for the Study of Ethical Problems in Medicine and Biomedical and Behavioral Research. *Jama-Journal of the American Medical Association*, 246(19), 2184-2188.
- [11] Machado, C. (2007). Conceptual Approach to Human Death on Neurological Grounds. In : C. Machado. Brain Death. A Reappraisal. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-0-387-38977-6_3
- [12] Russell J. A., Epstein L. G., Greer D. M., Kirschen M., Rubin M. A., & Lewis A. (2019). Brain death, the determination of brain death, and member guidance for brain death accommodation requests. *Neurology*, 92(5), 228-232. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000006750>
- [13] Wijdicks, E. F. M., Varelas, P. N., Gronseth, G. S., & Greer, D. M. (2010). Evidence-based guideline update: Determining brain death in adults: Report of the quality standards subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 74(23), 1911-1918. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181e242a8>
- [14] Nakagawa, T. A., Ashwal, S., Mathur, M., Mysore, M., Kolinski, L., Rettford, L., ... Jaeschke, R. (2011). Clinical report – Guidelines for the determination of brain death in infants and children: An update of the 1987 task force recommendations. *Pediatrics*, 128(3), e720-e740. <https://doi.org/10.1542/peds.2011-1511>
- [15] Jain, S., & DeGeorgia, M. (2005). Brain death-associated reflexes and automatisms. *Neurocritical Care*, 3(2), 122-126. <https://doi.org/10.1385/ncc.3.2.122>
- [16] Saposnik, G., Maurino, J., Saizar, R., & Bueri, J. A. (2005). Spontaneous and reflex movements in 107 patients with brain death. *American Journal of Medicine*, 118(3), 311-314. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2004.09.013>
- [17] Beckmann, Y., Ciftci, Y., Icesu, T. K., Secil, Y., & Akhan, G. (2014). Spinal reflexes in brain death. *Acta Neurologica Belgica*, 114(4), 303-306. <https://doi.org/10.1007/s13760-014-0284-0>
- [18] Domi, R., Sula, H., Ohri, I., & Laho, H. (2013). Pathophysiologic changes after brain death and organ preservation: The intensivist's and anesthesiologist's role. *Journal of Anesthesia and Clinical Research*, 4(3). <https://doi.org/10.4172/2155-6148.1000302>
- [19] Gordon, J. K., & McKinlay, J. (2012). Physiological changes after brain stem death and management of the heart-beating donor. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care and Pain*, 12(5), 225-229. <https://doi.org/10.1093/bjaacecp/mks026>
- [20] Permiakov, N. K., & Tumanskii, V. A. (1984). Postreanimatsionnaya entsefalopatiya [Postresuscitation encephalopathy]. *Arkhiv patologii*, 46(9), 5-16. [in Russian].
- [21] Permiakov, N. K., Khuchua, A. V., & Tumanskii, V. A. (1986). Post-reanimatsionnaya entsefalopatiya [Postresuscitation encephalopathy]. Moscow: Meditsina. [in Russian].
- [22] Tumanskii, V. A., & Tumanskaya, L. M. (1996). Sindrom smerti mozga: patogenez, ekspertnaya otsenka rannikh stadii razvitiya, patologo-anatomicheskie formy [Brain death syndrome: pathogenesis, expert evaluation of the early stages of development, pathological forms]. In *Reanimatologiya na rubezhe XXI veka*. Moscow. [in Russian].
- [23] Tumanskii, V. A., & Tumanskaya, L. M. (1998). Sindrom smerti mozga: morfogenez i kriterii patologoanatomicheskoi diagnostiki [Brain death syndrome: morphogenesis and criteria for pathological diagnosis]. *Sudynni i onkologichni zakhvoriuvannia: morfogenez ta ekolohichniy patomorfoz*. Vinnytsia. [in Russian].
- [24] Schneider, H., Masshoff, W., & Neuhaus, G. A. (1969). Klinische und morphologische Aspekte des Hirntodes. *Hin Wochenschr*, 47(16), 844-859.
- [25] Schneider, H. (1970). Der Hirntod. Begriffsgeschichte und Pathogenese. *Nervenarzt*, 41(8), 381-387.
- [26] Lyudkovskaya, I. G., & Popova, L. M. (1978). Morfologiya i patogenez «smerti golovno mozga» pri insulte. [Morphology and pathogenesis of «brain death» in stroke]. *Arkhiv patologii*, 40(9), 48-54. [in Russian].
- [27] Walker, A. E. (1978). Pathology of brain death. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 315, 272-280. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1978.tb50345.x>
- [28] Bernat, J. L. (1992). Brain-death – occurs only with destruction of the cerebral hemispheres and the brain-stem. *Archives of Neurology*, 49(5), 569-570. <https://doi.org/10.1001/archneur.1992.00530290161027>
- [29] Maith J. M. (2009). Der Hirntod des Menschen: Forensische Neuropathologie (Doctoral dissertation). Kiel.
- [30] Schneider, H., & Matakas, F. (1971). Pathological changes of the spinal cord after brain death. *Acta neuropathologica*, 18(3), 234-247.
- [31] Schroder, R. (1983). Later changes in brain-death – Signs of partial recirculation. *Acta neuropathologica*, 62(1-2), 15-23. <https://doi.org/10.1007/bf00684915>
- [32] Machado, C., Valdes, P., Garcia, O., Coutin, P., Miranda, J., & Roman, J. (1993). Short latency somatosensory evoked potentials in brain-dead patients using restricted low cut filter setting. *Journal of Neurosurgical Sciences*, 37(3), 133-140.
- [33] Korein, J., & Machado, C. (2004). Brain death – Updating a valid concept for 2004. *Brain Death and Disorders of Consciousness*, 550, 1-14.
- [34] McCormick, W. F., & Halmi, N. S. (1970). The hypophysis in patients with coma dépassé ("respirator brain"). *American Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 374-383. <https://doi.org/10.1093/ajcp/54.3.374>
- [35] Ujihira, N., Hashizume, Y., & Takahashi, A. (1993). A neuropathological study on respirator brain. *Clinical Neurology*, 33(2), 141-149.
- [36] Wijdicks, E. F. M., & Pfeifer, E. A. (2008). Neuropathology of brain death in the modern transplant era. *Neurology*, 70(15), 1234-1237. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000289762.50376.b6>
- [37] Wijdicks, E. F. M. (2015, April 1). The clinical determination of brain death: Rational and reliable. *Seminars in Neurology*. Thieme Medical Publishers, Inc. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1547531>
- [38] Wagner, W., Ungersböck, K., & Perneczky, A. (1993). Preserved cortical somatosensory evoked potentials in apnoeic coma with loss of brain-stem reflexes: case report. *Journal of Neurology*, 240(4), 243-246. <https://doi.org/10.1007/BF00818712>
- [39] Varelas, P. N., Brady, P., Rehman, M., Afshinnik, A., Mehta, C., Abdelhak, T., & Wijdicks, E. F. (2017). Primary Posterior Fossa Lesions and Preserved Supratentorial Cerebral Blood Flow: Implications for Brain Death Determination. *Neurocritical Care*, 27(3), 407-414. <https://doi.org/10.1007/s12028-017-0442-3>
- [40] Mohandas, A., & Chou, S. N. (1971). Brain death. A clinical and pathological study. *Journal of Neurosurgery*, 35(2), 211-218. <https://doi.org/10.3171/jns.1971.35.2.0211>
- [41] Tumanskii, V. A., Darii, V. I., Tumanskaya, L. M., Tertyshnyi, S. I., & Evseev, A. V. (2005). Kliniko-morfologicheskaya kharakteristika kardio-respiratornogo tsentra stvola golovno mozga v dinamike postreanimatsionnoi bolezni i tserebralnogo polusharnogo insulta, oslozhnennogo vtorichnym stvolovym sindromom [Clinical and morphological characteristics of the cardio-respiratory center of the brain stem in the dynamics of postresuscitation disease and cerebral hemispheric stroke complicated by secondary stem syndrome]. *Pathologia*, 2(3), 82-91. [in Russian].
- [42] Tumanskaya, L. M. (1976). Dinamika submikroskopicheskikh izmenenii neuronov i glii retikulyarnoi formatsii stvola golovno mozga posle

- ostroï gipoksicheskoi gipoksii [Dynamics of submicroscopic changes in neurons and glia of the reticular formation of the brain stem after acute hypoxic hypoxia]. In *Strukturno-funktsionalnye osnovy organizatsii mozga* (pp. 153-156). Moscow. [in Russian].
- [43] Tumanskaya, L. M. (1978). Ultrastruktura dendritov neuronov retikulyarnoi formatsii stvola golovnogo mozga pri ostroi gipoksicheskoi gipoksii [Ultrastructure of neurons dendrites of the reticular formation of the brain stem in acute hypoxic hypoxia]. *Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii*, 74(3), 67-72. [in Russian].
- [44] Gordon, J. K., & McKinlay, J. (2012). Physiological changes after brain stem death and management of the heart-beating donor. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care and Pain*, 12(5), 225-229. <https://doi.org/10.1093/bjaceaccp/mks026>
- [45] Merkulova, N. A., Inyushkin, A. N., Belyakov, V. I., Zainulin, R. A., & Inyushkina, E. M. (2007). *Dykhatel'nyi tsentr i regulyatsiya ego deyatel'nosti suprabulbarnymi strukturami* [Respiratory center and regulation of its activity by suprabulbar structures]. Samara: Izd-vo 'Samarskii universitet'. [in Russian].
- [46] Citerio, G., Crippa, I. A., Bronco, A., Vargiolu, A., & Smith, M. (2014). Variability in Brain Death Determination in Europe: Looking for a Solution. *Neurocritical Care*, 21(3), 376-382. <https://doi.org/10.1007/s12028-014-9983-x>
- [47] Stulin, I. D., Musin, R. S., Solonsky, D. S., & Sinkin, M. V. (2014). Sovremennaya kliniko-instrumental'naya diagnostika smerti mozga [Modern clinical and instrumental diagnosis of brain death]. *Transplantologiya*, (1), 24-35. [in Russian].
- [48] Verkhovna Rada of Ukraine. (2019, December 20). *Pro vnesennia zmin do deiakykh zakonodavchykh aktiv Ukrainy, shcho rehuliuut pytannia transplantatsii anatomichnykh materialiv liudyni : zakon Ukrainy 20.12.2019 No 418-IX*. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/418-20?lang=en>
- [49] Chua, H. C., Kwek, T. K., Morihara, H., & Gao, D. (2015, April 1). Brain death: The asian perspective. *Seminars in Neurology*. Thieme Medical Publishers, Inc. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1547539>
- [50] Greer, D. ., Wang, H. H., Robinson, J. D., Varelas, P. N., Henderson, G. V., & Wijicks, E. F. M. (2016). Variability of brain death policies in the United States. *JAMA Neurology*, 73(2), 213-218. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.3943>
- [51] Wahlster, S., Wijicks, E. F. M., Patel, P. V., Greer, D. M., Hemphill, J. C., Carone, M., & Mateen, F. J. (2015). Brain death declaration: Practices and perceptions worldwide. *Neurology*, 84(18), 1870-1879. <https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000001540>
- [52] Citerio, G., & Murphy, P. G. (2015, April 1). Brain death: The European perspective. *Seminars in Neurology*. Thieme Medical Publishers, Inc. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1547533>
- [53] Australian and New Zealand Intensive Care Society. (2013). The ANZICS Statement on Death and Organ Donation (Edition 3.2). Melbourne: ANZICS.
- [54] Smith, M. (2015). Brain death: The United Kingdom perspective. *Seminars in Neurology*, 35(2), 145-151. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1547534>
- [55] Cameron, E. J., Bellini, A., Damian, M. S., & Breen, D. P. (2016). Confirmation of brainstem death. *Practical Neurology*, 16(2), 129-135. <https://doi.org/10.1136/practneurol-2015-001297>
- [56] Norris, S. (2014). Organ Donation and Transplantation in Canada. Legal and Social Affairs Division: Parliamentary Information and Research Service. Publication no.: 2011-113-E. <http://www.lop.parl.gc.ca/content/lop/researchpublications/2011-113-e.pdf>
- [57] Manyalich, M., Nelson, H., & Delmonico, F. L. (2018). The need and opportunity for donation after circulatory death worldwide. *Current Opinion in Organ Transplantation*, 23(1), 136-141. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000486>
- [58] Bernat, J. L., Capron, A. M., Bleck, T. P., Blosser, S., Bratton, S. L., Childress, J. F., ... White, D. B. (2010). The circulatory-respiratory determination of death in organ donation. *Critical Care Medicine*, 38(3), 963-970. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181c58916>

The impact of Toll-like receptors on the immune system functioning and on the immunopathogenesis of chronic hepatitis C: a modern view (literature review)

L. M. Syzova ^{*A-E}, T. I. Koval ^{A-F}, V. I. Ilchenko ^{B,C,D}, I. M. Zviahol'ska ^{B,C,D},
O. M. Izium'ska ^{B,C,D}

Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava

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

Key words:

Toll-like receptors,
polymorphism,
chronic
hepatitis C.

Pathologia

2020; 17 (1), 114-121

*E-mail:

isizof@gmail.com

There exists a considerable body of literature on immunopathogenesis of chronic hepatitis C. Although results appear consistent with prior research in the area mentioned above, they appear inconsistent with the issues in the area of diagnosis, prognosis and treatment effectiveness. In this context the study addresses the research to receptors of the innate immune system – Toll-like receptors.

The aim of the research is to analyze the data of current professional literature regarding the role of individual Toll-like receptors in the immunopathogenesis of chronic hepatitis C.

Materials and methods. The method of reviewing and systematizing as well as the method of content analysis were used to overview the scientific literature as for the role of Toll-like receptors. For this purpose, we employ survey data collected from the world professional literature and analyzed the results of current researches.

Conclusions. The innate immune system plays a prominent role in the primary protection of the body against pathogens which recognition depends on the Toll-like receptors family whereas the genetic analysis is considered as a promising method of preventive and personalized medicine. The advantage of genetic markers regardless of age and other factors contain information about the susceptibility to multifactorial diseases which can be used to create a «genetic passport» of a person. Perceptions about the impact of the Asp299Gly polymorphism of the Toll-like receptor 4 gene and Gln11Leu of the Toll-like receptor 7 gene on the immunopathogenesis of chronic hepatitis C are ambiguous and this research provides a good starting point for discussion and further study which will allow optimizing the therapeutic and diagnostic tactics for this disease based on the complex evaluation of immunity which are defined by the determined polymorphisms.

Ключові слова:

Toll-подібні
рецептори,
поліморфізм,
хронічний
гепатит С.

Патологія. 2020.

Т. 17, № 1(48).
С. 114-121

Сучасний погляд на роль Toll-подібних рецепторів у функціонуванні імунної системи та імунопатогенезі хронічного гепатиту С (огляд літератури)

Л. М. Сизова, Т. І. Коваль, В. І. Ільченко, І. М. Звягольська, О. М. Ізіумська

Незважаючи на великі досягнення у вивченні імунопатогенезу хронічного гепатиту С, залишається багато невирішених питань щодо діагностики, прогнозування перебігу та ефективності лікування. У контексті вивчення цієї інфекції викликають інтерес рецептори вродженої імунної системи – Toll-подібні рецептори.

Мета роботи – проаналізувати відомості сучасної фахової літератури щодо ролі окремих Toll-подібних рецепторів в імунопатогенезі хронічного гепатиту С.

Матеріали та методи. Методами оглядового, системного та контент-аналізу опрацювали доступні наукові джерела, що присвячені вивченню Toll-подібних рецепторів. Наведені дані світової фахової літератури та проаналізовані результати сучасних досліджень.

Висновки. Вроджена імунна система відіграє визначальну роль у первинному захисті організму від патогенів, розпізнавання яких залежить від родини Toll-подібних рецепторів, а генетичний аналіз – перспективний метод превентивної та персоналізованої медицини. Перевага генетичних маркерів полягає в тому, що вони незалежно від віку та інших факторів містять інформацію про схильність до мультифакторіальних хвороб, що можна використати під час створення «генетичного паспорта» людини. Уявлення щодо впливу поліморфізму Asp299Gly гена Toll-подібного рецептора 4 і Gln11Leu гена Toll-подібного рецептора 7 на імунопатогенез хронічного гепатиту С неоднозначні та потребують продовження вивчення. Це дасть змогу оптимізувати лікувально-діагностичну тактику при цьому захворюванні на основі комплексного оцінювання особливостей імунного реагування, що зумовлені наявністю названих поліморфізмів.

Современный взгляд на роль Toll-подобных рецепторов в функционировании иммунной системы и иммунопатогенезе хронического гепатита С (обзор литературы)

Л. М. Сизова, Т. И. Коваль, В. И. Ильченко, И. Н. Звягольская, Е. М. Изюмская

Несмотря на значительные достижения в изучении иммунопатогенеза хронического гепатита С, остается много нерешенных вопросов относительно диагностики, прогнозирования течения и эффективности лечения. В кон-

тексте изучения этой инфекции вызывают интерес рецепторы врожденной иммунной системы – Toll-подобные рецепторы.

Цель работы – провести анализ данных современной научной литературы о роли отдельных Toll-подобных рецепторов в иммунопатогенезе хронического гепатита С.

Материалы и методы. Методами обзорного, системного и контент-анализа обработаны доступные научные источники, посвященные изучению Toll-подобных рецепторов. Представлены данные мировой научной литературы и проанализированы результаты современных исследований.

Выводы. Врожденная иммунная система играет ведущую роль в первичной защите организма от патогенов, распознавание которых зависит от семьи Toll-подобных рецепторов, а генетический анализ – перспективный метод превентивной и персонализированной медицины. Преимущество генетических маркеров заключается в том, что они независимо от возраста и других факторов содержат информацию о склонности к мультифакториальным заболеваниям, что может быть использовано при создании «генетического паспорта» человека. Представление о влиянии полиморфизма Asp299Gly гена Toll-подобного рецептора 4 и Gln11Leu гена Toll-подобного рецептора 7 на иммунопатогенез хронического гепатита С неоднозначны и требуют дальнейшего изучения, что позволит оптимизировать лечебно-диагностическую тактику при этом заболевании на основе комплексной оценки особенностей иммунного реагирования, обусловленных наличием указанных полиморфизмов.

Ключевые слова:

Toll-подобные рецепторы, полиморфизм, хронический гепатит С.

Патология. 2020.

Т. 17, № 1(48).

С. 114-121

Despite the great advances in the study of immunopathogenesis of chronic hepatitis C a number of questions regarding diagnosis, prognosis and effectiveness of treatment of this infection remain to be addressed. We present an overview of literature that relates to work presented here. In recent years there has been renewed interest in mechanisms of the damaging effect of hepatotropic viruses on the liver and the role of the immune system in the progression of pathology. This issue provokes a number of gaps and shortcomings. A thorough understanding of the immunopathogenetic features of chronic hepatitis C and the role of individual immune system receptors in this process will significantly improve chronic hepatitis C therapy and advance an individual treatment approach, minimizing the financial costs and harm of side effects of medicines. Future advancements of gene polymorphism investigations as a factor in genetic susceptibility to infectious diseases and their peculiarities are expected to provide new opportunities for identifying at-risk groups and selecting personalized therapy for each patient. The study of chronic hepatitis C, the Toll-like receptors (TLRs) is a topic under intense research and pivotal importance.

Aim

The aim of the research is to analyze the data of modern professional literature regarding the role of individual TLRs in the immunopathogenesis of chronic hepatitis C.

Materials and methods

In the course of the expertiment methods of review, system and content analysis allowed us to explore and delve into the study of TLRs. We present an overview of the world professional literature that relates to study presented here.

A recent study on the role of TLRs in the functioning of the immune system.

TLRs were first detected in *Drosophila melanogaster* in 1985 by C. Nüsslein-Volhard (German) and E. Wieschaus (USA), the discovery of TLRs was an important event for the research in immunology and was highly estimated, thus Hoffmann (Luxembourg) and B. Beutler (USA) were awarded the Nobel Prize in Physiology or

Medicine in 2011 [1]. TLR4 was the first element to be discovered, then other TLRs in mammals and humans came [2]. Currently 13 TLRs are known, and 10 TLRs of which have been studied in humans [3–4]. Most TLRs are located on the cell surface – TLR1, TLR2, TLR5, TLR6, TLR10; an example of an intracellular arrangement is TLR3, TLR7, TLR8, TLR9, some TLRs can be expressed both intracellularly and extracellularly (TLR4, TLR11, TLR12, TLR13) [2–3,5].

Receptors of the TLRs family recognize pathogens and, upon activation, increase the local synthesis of proinflammatory cytokines, prostaglandins, chemokines that trigger the mechanism of implementation of the inflammatory response – a cascade of adapter and signaling molecules that leads to the induction of innate and adaptive immunity [5–8]. TLRs interact with adapter molecules and transmit an immunogenic signal to effectors, transcription factors, and target genes that together form a TLR-dependent signaling pathway. This pathway functions as a complex, consistent system of functionally interacting molecules. The most conservative role of TLR-activation of antimicrobial immunity in the skin, mucous membranes of the respiratory, gastrointestinal and urogenital tracts [8–11].

The analysis of the functions of different TLRs revealed that cells of the innate immune system activate different signaling pathways depending on the infectious pathogen. The genes which encode elements of the signaling pathway are coherently regulated in concert. Genetic variability not only of TLRs but also of molecules of TLR-dependent signaling pathways can play an important role in recognizing PAMPs (pathogen-associated molecular structures) and altering the immune response to infection [3,8,12]. It is reasonable to claim that clarifying the role of TLR in infectious pathology will let on conducting diagnostics timely and predicting the nature of the disease in advance. Moreover, this allows to study the pathogenetic aspects of its development, as well as to justify the choice of adequate therapy [12–13].

TLR participation in innate immunity is ensured by:

– initiating of secretion of proinflammatory cytokines which are required for physiological immunological response under various influences, among which various infections occupy the central place [6];

- regulating of neutrophil activity; a special role is played by TLR2 and TLR4, when the first one mentioned above protects cells from apoptosis, and the second one manifests itself respectfully as an important regulator of neutrophil survival [14];

- controlling of activation, differentiation and survival of B-lymphocytes, in which TLR2, TLR4 and TLR9 take an active part (this pathway of activation of B-lymphocytes is accompanied by increased calcium emission, phosphorylation of some kinases, enhanced endocytosis, immunoglobulin synthesis, lymphocytes) [15];

- providing support for the intestinal immunity associated with the expression of TLR by the epithelial cells of its mucosa [10];

- participation in the functioning of cells of the central nervous system, most of which express TLR (microglia, neurons, astrocytes, endothelial cells of the brain vessels) and the differential impact of TLR on the function of microglia [16].

Equally important is the involvement of TLR in adaptive immunity, which is also accomplished through a number of mechanisms:

- activation of CD4- and CD8-T lymphocytes [17];

- stimulation of the functions of different antigen recognition dendritic cells that express TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR9 [18];

- activation of macrophages, mast cells, in particular, with the participation of TLR9, which is especially pronounced when exposed to the genetic material of DNA viruses, bacteria, fungi [19];

- regulation of homeostasis of fibroblasts, myofibroblasts, fibroblast-like synoviocytes, endothelial and epithelial cells, in particular, with the participation of TLR2, TLR4, TLR6 [20];

- regulation of normal epithelial cells (TLR2, TLR3, TLR4, TLR5) as well as endothelial cells [21–22];

- potentiation of adaptive immunity with the inclusion of different mechanisms [20].

TLR transmembrane proteins have an extracellular domain (leucine-rich repeat, LRR) and an intracellular Toll IL-1 receptor domain (TIR). The LRR domain recognizes bacterial patterns and transmits the signal. TIR domain is a conserved peptide that interacts with proteins. It is also a part of several cytoplasmic proteins, including two Myeloid differentiation primary response gene (MyD88 and TIR domain containing adapter protein – TIRAP). These proteins transmit TLR signals that may be general and specific. The first signals are induced from all, the second – from one particular type of TLR.

Common signaling pathways are represented by adapter proteins (MyD88 and Toll-interacting protein – TOLLIP), protein kinases (IL-1R-associated kinase – IRAK) and TNF-receptor associated factor 6 (TRAF-6) adapter protein. The interaction between these structures leads to the activation of a large family of mitogen-activated protein kinases (MAPKs). The entire signaling pathway of TLR activation is complex and multicomponent, but the final stage of the protein kinase reaction cascade is the activation of transcriptional factors in the cytosol of the cell in a locked (inactive) state [23]. Several groups of transcription factors are known today. However, the nuclear factor (NF- κ B) has been widely studied [8]. The value

of protein kinases is in the following. On releasing from the NF- κ B blocker, it enters the nucleus of the cell, where it binds to the promoter regions of the inducible gene, which in turn leads to its activation and the initiation of the synthesis of molecules which are encoded by the formation of specific RNAs, and by the activation of inflammatory responses, including cytokine genes [5, 10].

Various macromolecules, including lipids, carbohydrates, proteins, and nucleic acids, act as microbial ligands for TLR. The most well-known TLR ligands of exogenous origin include the components of the cell wall of bacteria: peptidoglycans, lipopolysaccharides, flagellin, DNA of microorganisms, viral RNA and many others. It has now been proven that TLR ligands can also be endogenous molecules released by cell necrosis and massive tissue destruction, as well as by the breakdown of extracellular matrix molecules [8, 24]. TLR binding to ligands triggers an inflammatory signaling cascade through cytoplasmic TIR domains involving adapter proteins, namely MyD88, TIRAP, TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β (TRIF), which leads to the production of cytokines, antimicrobial peptides and it is realized by intracellular signaling in two possible ways [23]. Typically, TLR, with the exception of TLR3, use the MyD88-dependent pathway in which IRAK is sequentially activated, which includes 4 subunits – 2 active kinases (IRAK-1 and IRAK-4) and 2 non-catalytic subunits (IRAK-2 and IRAK-M). Then IRAK-4 phosphorylates IRAK-1. Phosphorylated IRAK-1 binds to TRAF-6 and simultaneously activates NF- κ B, mitogen-activated protein kinases (MAPKs). In the case of NF- κ B, the protein remains in the cytoplasm, binding to the NF- κ B (I κ B) inhibitor. Phosphorylation of I κ B the I κ B kinase complex (IKK) leads to the destruction of the inhibitor, which makes it possible to move NF- κ B to the nucleus. Simultaneous activation of NF- κ B and MAPKs induces transcription of various inflammatory genes, including tumor necrosis factor (TNF), interleukins (IL) 1, 6, 8 and 12. In addition, TLR4 can trigger an immune response via the MyD88-independent pathway. It is carried out by an adapter protein capable of inducing interferon (IFN), which leads to phosphorylation of transcription factors: interferon-regulating factor-3 (IRF-3) and NF- κ B. These two transcription factors potentiate the action of each other, stimulate the production of type I interferons (IFN- α , IFN- β , IFN- γ) and activation of interferon-inducible genes [8, 23–24]. The TLR7, TLR8, TLR9 genes are also capable of initiating type I interferon synthesis through the MyD88-dependent signaling pathway upon activation of IRF-3 and IRF-7 [5, 24]. In addition, signals from TLR7, activating IRF-7, stimulate the production of antiviral cytokines, including type I and II interferon, which in turn would activate the processes of destruction of intracellular pathogens, while activation of NF- κ B induces a pro inflammatory effect through cytokine secretion, such as TNF- α , IL-6 and IL-12 [25–26]. General scheme of TLRs signaling pathways by J. Howell et al. (2013) is depicted in the Fig. 1 [26].

The wide range of TLRs ligands and their presence on most cells of the body contributes to the involvement of TLR in the pathogenesis of many diseases [5–6, 8, 12]. Defects in the TLRs gene system: impaired ligand recognition, TLR expression, signal transduction, production of

effector molecules, and their polymorphism can lead to the development of infectious, autoimmune and oncological diseases, allergopathology [2,5,8,27–30].

The point mutations at the DNA level that encode the structure of the receptor can disrupt its normal functioning and underlie the individual variability of the human genome [30]. The most common cause of differences in gene structure is so-called single nucleotide polymorphism (SNP), which occurs after about 290 base pairs, resulting in the formation of specific alleles of genes, which affects the development of protective reactions and susceptibility to particular diseases [5,8,11,28–30]. Nowadays, the conceptual basis of predictive genomic medicine is the very idea of genetic polymorphism [31].

The gene polymorphism implies that several variants can be copied from the same gene, structurally different from the copy of the same protein, some of them copied or not active at all, or may have the opposite function. When localized in exons, SNPs change the codons of the genetic code, which can lead to replacement of amino acids in peptides, sometimes their presence is associated with an increase or decrease in the concentration/activity of the gene product, thus genetic polymorphism is a source of individual differences, in particular in susceptibility and their course [28,32]. The presence of predisposition genes does not mean that a person can necessarily develop certain pathological conditions, gene polymorphism does not allow determining the time of the disease occurrence, but allows us to identify the characteristics of metabolism, drug metabolism and individual risk of susceptibility to a particular disease.

Thus, our findings indicate that in infectious pathology TLRs gene polymorphism affects the individual features of immunity and leads to immunological disorders caused by activating and inactivating genetic damage to the receptors of innate recognition or signaling molecules [5,8]. According to S. Mukherjee et al. (2019) a common feature of TLRs functional polymorphism is a decrease in the ability to recognize the corresponding ligands, which results in less pronounced cell activation after encountering pathogens [32]. It is reported that in infectious diseases, «mutations» of genes can lead to impaired recognition of infectious agents and imbalance of the functioning of the system of innate immunity, which will eventually be manifested by increased susceptibility to infections and susceptibility to the development of chronic inflammatory processes [5,8,13,28,30].

Thus, over the past several decades there has been a sustained research activity in TLRs genes area not only in terms of basic knowledge but also in the practicalities of predictive and personalized medicine [31]. Along there are some studies in the issue discussed but still the research about the role of TLRs gene polymorphism in chronic hepatitis C remains limited which makes the relevance of our study.

Impact of Asp299Gly polymorphism of TLR4 gene and Gln11Leu of TLR7 gene on chronic hepatitis C immunopathogenesis.

Nowadays, the rapid accumulation of knowledge about the genetic basis of pathological processes enriches the idea of immunopathogenesis of common human

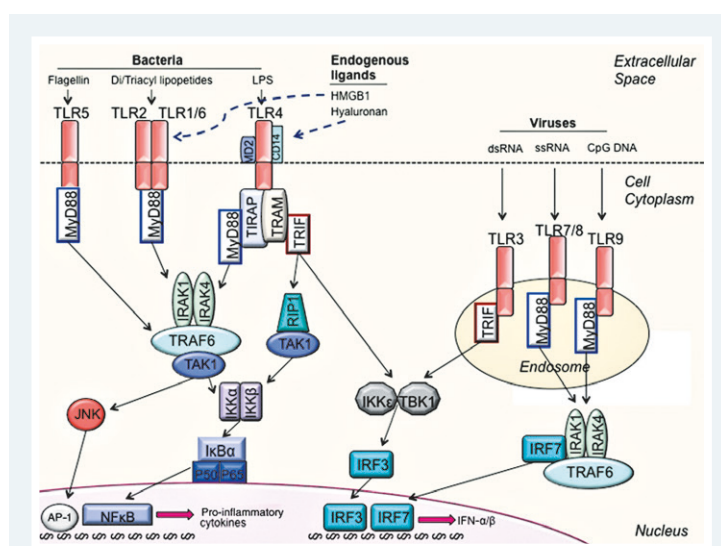


Fig. 1. TLRs signaling pathways [26].

diseases, which, of course, belongs to chronic hepatitis C. In terms of studying both the immunopathogenesis of the disease the gene TLR4, which interacts with the protein envelope of viruses, structural and non-structural proteins of hepatitis C virus (HCV), and the TLR7 gene, a ligand of which is single-stranded are of particular interest [3,5,6,25,26].

The TLR4 gene is located in the 9th chromosome (9q32-33i), its exogenous ligands are lipopolysaccharides of gram-negative bacteria, lipotechoic acid, taxol, flavolipin, F-protein of respiratory syncytial virus, type 1 fimbriae, and fimbriae, mycobacterium tuberculosis ligands, viral glycoproteins, and endogenous – fibronectin, low density lipoproteins, heat shock proteins, β -defensins, HMGB-1 hyaluronan [9,33]. The polymorphic marker Asp299Gly (rs4986790) of the TLR4 gene is a single nucleotide replacement of adenine (A) by guanine (G) at the +896 position of exon 3, which leads to amino acid replacement of aspartic acid (Asp) by glycine (Gly) chain 29. This missense mutation, altering the structure of the extracellular domain of TLR4, leads to the loss of negative charge of the site at position 299, which disrupts the process of recognition of bacterial lipopolysaccharide [4,10].

According to the results of research studies, the frequency of point mutations of the TLR4 gene is very low (<1 %), with the exception of the genetic polymorphism Asp299Gly, the frequency of which is >5 % [8,28,34]; Asp299Gly is virtually undetectable in Asian populations [33]. The practical significance of this polymorphism is associated with inhibition of phosphorylation after lipopolysaccharide stimulation, which in turn leads to a decrease in the translocation of NF- κ B into the nucleus and affects the inhibition of the synthesis of proinflammatory cytokines IL-6 and TNF- α and production of IL-10 [33].

The TLR7 gene is located on Xp22.2. chromosomes and is a component of the body's antiviral defense system. It consists of a single exon and encodes a transmembrane protein of 1049 amino acids, it is localized in intracellular membrane compartments – endosomes, which in turn isolates it from a possible contact with endogenous nucleic

acids. The receptor is able to activate the transcription factors NF- κ B and IRF-7 [25]. The signal is transmitted through the adapter proteins MyD88, TRAF-6, IRAK-4 [35–36]. Exogenous ligands for TLR7 are small synthetic compounds, single-stranded RNA characteristic of the viral genome, nucleoside analogues (imidazoquinolines), loxoribine, bromyrimine, endogenous auto-RNA, ribonucleoproteins [23,25].

Gln11Leu polymorphism (rs179008) of the TLR7 gene is located in exon 3 and is a single nucleotide replacement of adenine (A) for thymine (T) which leads to the amino acid change of glutamine (Gln) for leucine (Leu) in the 11 codon of the protein, this allelic variant is one of the three SNPs that occur in populations of more than 5 % [26,36–37]. Actual data regarding to the incidence of Gln11Leu polymorphism in healthy populations differs both in general and in gender, which is related to the X chromosomal localization of this gene. For example, S. A. Taghavi et al. (2009) report that its overall prevalence is 14.67 %, among women – 10.3 %, among men – 16.24 % [35], and according to M. Bordignon et al. (2013) – 44.2 % for women and 18.5 % for men [29]. This polymorphism encodes functionally defective proteins and is able to reduce IFN- α production, thereby disrupting the adaptive immune response that occurs through the TLR7-dependent signaling pathway [29, 37].

Currently, a large number of genes have been correlated with susceptibility, features, and efficacy of chronic hepatitis C antiviral therapy. A great attention is paid to the role of TLR genes, which are important participants in CSF immunopathogenesis. There are reports in the world and national research studies that highlight the role of TLR4 and TLR7 genes and their functioning in the immunopathogenesis of chronic hepatitis C.

Scientific data suggest that HCV recognition by immune cells occurs through TLR4, and signals from this gene are capable of regulating HCV replication [38–39]. It is stated that in patients with chronic hepatitis C there is a significant increase in the expression of TLR4 by peripheral blood mononuclear cells regardless of HCV genotype or histological stage of the disease, which increases the synthesis of IFN- β , IL-6 from B cells of the immune system and is activated in the immune system. Increased expression of TLR4 by hepatocytes and epithelial cells of the biliary tract, a positive correlation of this phenomenon with liver damage in inflammation, activation of myofibroblasts and the development of liver fibrosis in chronic hepatitis C indicate the results of studies by S. Y. Mohamed et al. (2017) [40].

In some studies, the prevalence of the TLR4 gene Asp299Gly polymorphism among chronic hepatitis C patients is studied. Thus, in the works of O. D. S. Pires-Neto et al. (2015) and A. A. Al-Qahtani et al. (2014) it is indicated that the Asp299Gly polymorphism of the TLR4 gene was detected in 6.9–9.1 % of patients with chronic hepatitis C, whereas according to C. Guarner-Argente et al. (2010) it reaches 40.0 % [41–43]. In L. Sizova et al. (2016) it is claimed that the prevalence of Asp299Gly polymorphism among chronic hepatitis C patients is 15.2 % and exceeds population control data 4.5 times, which gives reason to consider its carrier as a risk factor for chronic hepatitis C infection with HCV [44].

A large number of existing studies show that carriers of the polymorphic genotype Asp299Gly of the TLR4 gene have a more severe course of chronic hepatitis C which means that the viral load registered is higher and susceptibility to bacterial infections is increased, which is associated with decreased production of IL-6 and IL-10 or with the development of encephalopathy and also the inflammation as a reaction which can block the translocation of bacterial antigens in cirrhosis [43,45–47]. However, in other papers, there is no significant influence of this polymorphism on the clinical and laboratory characteristics of chronic hepatitis C [48–50].

The scientific data on the effect of the TLR4 gene Asp299Gly polymorphism on the process of fibrosis in the liver and its rate in chronic hepatitis C are extremely controversial. Thus, a number of studies claim that it has a connection to a higher rate of progression of liver fibrosis and the risk of cirrhosis [43,51] as well, other studies, by contrast, claim that the ability of Asp299Gly can slow down the clinical progression of chronic hepatitis C and act as a protective factor for the development of cirrhosis and hepatocellular carcinoma [52,53], whereas A.A. Al-Qahtani et al. (2014), O. D. S. Pires-Neto et al. (2015), and G. Dubinskaya et al. (2016), independently of one another, concluded that there is no influence on this process [41–43,54].

The results of studies by M. Peris et al. (2015), G. M. Dubynska et al. (2016) and M. S. Iqbal et al. (2017) point to the association of the TLR4 gene Asp299Gly polymorphism with the low efficacy of interferon antiviral chronic hepatitis C therapy [46,55–56], but no similar effect was found in M. Emonts (2008) [49].

Scientific reports regarding the involvement of the TLR7 gene and its peculiarities in the pathogenesis of HCV infection are ambiguous. It is reported that through this gene the induction of innate immunity in HCV-infected is induced, the blocking of HCV RNA, the stimulation of production of antiviral cytokine IFN- α by dendritic cells [57–58], and in the presence of Gln11Leu polymorphism, TLR7 expression is reduced by hepatocytes with the lack of recognition of the virus, thereby limiting the production of IFN- α and IFN- λ , while the synthesis of IL-6 remains unchanged [39]. Another hypothesis concerns the ability of HCV to impair the expression and/or function of TLR7, whereas a higher level of expression of this gene by hepatocytes is observed in individuals with advanced liver fibrosis [59].

The prevalence of Gln11Leu polymorphism of TLR7 gene among chronic hepatitis C patients according to E. Ascar (2010) and E. Schott et al. (2007) generally exceeds 30.0 %, according to the research of S. A. Taghavi et al. (2009) is 15.2 %, and according to Y. S. Elsedawy et al. (2016) and T. I. Koval et al. (2018) it reaches 41.7 % and 30.9 % among women with chronic hepatitis C, and among men – 17.6 % and 14.4 %, respectively [35–37,60–61].

In the works of E. Ascar (2010) and L. M. Sizova (2016), no significant associations of this polymorphism were found with the clinical and laboratory characteristics of chronic hepatitis C [37,50].

Information on the effect of the TLR7 gene Gln11Leu polymorphism on the rate of progression of liver fibrosis is extremely controversial. Some authors point to the ab-

sence of associations between its presence and the progression of liver fibrosis in chronic hepatitis C [36–37,62], others to the protective role of polymorphism in this process in chronic hepatitis C [54], whereas in the study of F. Z. Fakhir (2018), this polymorphism is described as a profibrogenic factor [63].

E. Schott et al. (2008), M. El-Bendary et al. (2018) and S. I. Malov et al. (2018) report a correlation of the presence of the Gln11Leu polymorphism of the TLR7 gene with increased susceptibility to HCV and adverse response to interferon antiviral therapy in chronic hepatitis C patients [64–66], as confirmed by a study by S. A. Taghavi et al. (2009), but without the gender dependence of this fact [34], but it is denied in the works of Y. M. Mosaad et al. (2019) and S. S. Sleptsova et al. (2019) [62,67].

Thus, the analysis of scientific works of domestic and foreign authors shows that the susceptibility to HCV, as well as the formation of complications in humans are genetically determined and genes of the immune response and inflammation play an important role in this. In this regard, the creation of differential diagnostic and prognostic criteria for the course and consequences of chronic hepatitis C, developed on the basis of the study and analysis of the genetic material of each patient, is of particular importance.

Conclusions

1. The innate immune system plays a prominent role in the primary protection of the body against pathogens whose recognition depends on the TLRs family, and genetic analysis is a promising method of preventive and personalized medicine

2. The advantage of genetic markers is that, regardless of age and other factors, they carry information about the susceptibility to multifactorial diseases, which can be used to create a «genetic passport».

3. Perceptions about the impact of the Asp299Gly polymorphism of the TLR4 gene and Gln11Leu of the TLR7 gene on chronic hepatitis C immunopathogenesis are ambiguous and require further study, which will allow optimizing the therapeutic and diagnostic tactics for this disease based on a comprehensive evaluation of the features of immunoreactivity.

Prospects for further research. Future studies could fruitfully explore this issue further by studying the immunopathogenetic mechanisms of TLR4 impact as well as TLR7 genes impact on the course of chronic hepatitis C and other infectious pathologies.

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

Надійшла до редакції / Received: 02.02.2020
Після доопрацювання / Revised: 23.02.2020
Прийнято до друку / Accepted: 26.02.2020

Information about authors:

Syzova L. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Infectious Diseases with Epidemiology, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.
ORCID ID: 0000-0002-8335-3295

Koval T. I., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Head of the Department of Infectious Diseases with Epidemiology, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.

ORCID ID: 0000-0003-2685-8665

Ilchenko V. I., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Endocrinology with Childhood Infectious Diseases, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.

ORCID ID: 0000-0002-1451-442X

Zviahol'ska I. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.

ORCID ID: 0000-0001-7531-3966

Izium'ska O. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Infectious Diseases with Epidemiology, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava.

ORCID ID: 0000-0002-9480-8988

Відомості про авторів:

Сизова Л. М., канд. мед. наук, доцент каф. інфекційних хвороб з епідеміологією, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава.

Коваль Т. І., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. інфекційних хвороб з епідеміологією, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава.

Ільченко В. І., канд. мед. наук, доцент каф. ендокринології з дитячими інфекційними хворобами, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава.

Звягольська І. М., канд. мед. наук, доцент каф. мікробіології, вірусології та імунології, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава.

Ізюмська О. М., канд. мед. наук, доцент каф. інфекційних хвороб з епідеміологією, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава.

Сведения об авторах:

Сизова Л. М., канд. мед. наук, доцент каф. инфекционных болезней с эпидемиологией, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава.

Коваль Т. И., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. инфекционных болезней с эпидемиологией, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава.

Ильченко В. И., канд. мед. наук, доцент каф. эндокринологии с детскими инфекционными болезнями, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава.

Звягольская И. Н., канд. мед. наук, доцент каф. микробиологии, вирусологии та иммунологии, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава.

Изюмская Е. М., канд. мед. наук, доцент каф. инфекционных болезней с эпидемиологией, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава.

References

- [1] Volchenkov, R., Sprater, F., Vogelsang, P., & Appel, S. (2012). The 2011 Nobel Prize in physiology or medicine. *Scand J Immunol.*, 75(1), 1-4. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2011.02663.x>
- [2] Takeda, K., & Akira, S. (2015). Toll-Like receptors. *Current Protocols in Immunology*, 2015, 14.12.1-14.12.10. <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1412s109>
- [3] Sasai, M., & Yamamoto, M. (2013). Pathogen Recognition Receptors: Ligands and Signaling Pathways by Toll-Like Receptors. *International Reviews of Immunology*, 32(2), 116-133. <https://doi.org/10.3109/08830185.2013.774391>
- [4] Dowling, J. K., & Mansell, A. (2016). Toll-like receptors: the swiss army knife of immunity and vaccine development. *Clinical & Translational Immunology*, 5, Article UNSP e85. <https://doi.org/10.1038/cti.2016.22>
- [5] Vijay, K. (2018). Toll-like receptors in immunity and inflammatory diseases: Past, present, and future. *International Immunopharmacology*, 59, 391-412. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.03.002>
- [6] Kawai, T., & Akira, S. (2011). Toll-like Receptors and Their Crosstalk with Other Innate Receptors in Infection and Immunity. *Immunity*, 34(5), 637-650. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.05.006>
- [7] Lester, S. N., & Li, K. (2014). Toll-Like Receptors in Antiviral Innate Immunity. *Journal of Molecular Biology*, 426(6), 1246-1264. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.11.024>
- [8] Medvedev, A. E. (2013). Toll-Like Receptor Polymorphisms, Inflammatory and Infectious Diseases, Allergies, and Cancer. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 33(9), 467-484. <https://doi.org/10.1089/jir.2012.0140>

- [9] Izmailova, O. (2018). Analysis of association between the polymorphic variants of the TLR2 (RS5743708) and TLR4 (RS4986790, RS4986791) genes with the health status of apparently healthy individual. *Problemy ekologii ta medytsyny*, 22(1-2), 17-22. <https://doi.org/10.31718/mep.2018.22.1-2.03>
- [10] Kordjazay, N., Haj-Mirzaian, A., Rohani, M. M., Gelfand, E. W., Rezaei, N., & Abdolghaffari, A. H. (2018). Role of toll-like receptors in inflammatory bowel disease. *Pharmacological Research*, 129, 204-215. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.11.017>
- [11] Lebedeva, O. P., & Qirko, R. (2018). Ekspresiya toll-podobnykh retseptorov v zhenskoy reproduktivnoy trakte i ee gormonal'naya regulatsiya (obzor) [Expression of TOLL-like receptors in the female reproductive tract and its hormone regulation (review)]. *Research Results in Biomedicine*, 4(3), 3-17. [in Russian]. <https://doi.org/10.18413/2313-8955-2018-4-3-0-1>
- [12] Netea, M. G., Wijmenga, C., & O'Neill, L. A. J. (2012). Genetic variation in Toll-like receptors and disease susceptibility. *Nature Immunology*, 13(6), 535-542. <https://doi.org/10.1038/ni.2284>
- [13] Tartey, S., & Takeuchi, O. (2017). Pathogen recognition and Toll-like receptor targeted therapeutics in innate immune cells. *International Reviews of Immunology*, 36(2), 57-73. <https://doi.org/10.1080/08830185.2016.1261318>
- [14] Hacine-Gherbi, H., Denys, A., Carpentier, M., Heysen, A., Duflot, P., Lanos, P., & Allain, F. (2017). Use of Toll-like receptor assays for the detection of bacterial contaminations in icodextrin batches released for peritoneal dialysis. *Toxicology Reports*, 4, 566-573. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.10.004>
- [15] Pettengill, M. A., van Haren, S. D., Li, N., Dowling, D. J., Bergelson, I., Jans, J., Ferwerda, G., & Levy, O. (2016). Distinct TLR-mediated cytokine production and immunoglobulin secretion in human newborn naive B cells. *Innate Immunity*, 22(6), 433-443. <https://doi.org/10.1177/1753425916651985>
- [16] Gesuete, R., Kohama, S. G., & Stenzel-Poore, M. P. (2014). Toll-Like Receptors and Ischemic Brain Injury. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 73(5), 378-386. <https://doi.org/10.1097/nen.0000000000000068>
- [17] Saxena, M., & Bhardwaj, N. (2018). Re-Emergence of Dendritic Cell Vaccines for Cancer Treatment. *Trends in Cancer*, 4(2), 119-137. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2017.12.007>
- [18] Jimenez-Dalmaroni, M. J., Gerswhin, M. E., & Adamopoulos, I. E. (2016). The critical role of toll-like receptors – From microbial recognition to autoimmunity: A comprehensive review. *Autoimmunity Reviews*, 15(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.08.009>
- [19] Wang, S., Charbonnier, L. M., Rivas, M. N., Georgiev, P., Li, N., Gerber, G., Bry, L., & Chatila, T. A. (2015). MyD88 Adaptor-Dependent Microbial Sensing by Regulatory T Cells Promotes Mucosal Tolerance and Enforces Commensalism. *Immunity*, 43(2), 289-303. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.06.014>
- [20] Khakpour, S., Wilhelmsen, K., & Hellman, J. (2015). Vascular endothelial cell Toll-like receptor pathways in sepsis. *Innate Immunity*, 21(8), 827-846. <https://doi.org/10.1177/1753425915606525>
- [21] Dmytriiev, D. V., & Nazarchuk, O. A. (2015). Suchasni uiavlennia pro rol Toll-podobnykh retseptoriv v imunofiziologichnomu homeostazi ta pry patolohii [Modern views on the role of Toll-like receptors in immune and physiological homeostasis and pathology]. *Aktualni Problemy Suchasnoi Medytsyny Visnyk Ukrainshoi Medychnoi Stomatologichnoi Akademii*, 15(3, part 2), 313-319. [in Ukrainian].
- [22] Stewart, E. A., Wei, R. X., Branch, M. J., Sidney, L. E., & Amoaku, W. M. (2015). Expression of Toll-like receptors in human retinal and choroidal vascular endothelial cells. *Experimental Eye Research*, 138, 114-123. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2015.06.012>
- [23] Petrov, R. V., Haitov, R. M., & Chereshev, V. A. (2017). Fiziologiya immunoj sistemy: kletochnye i molekulyarno-biologicheskie mekhanizmy [Physiology of the Immune System: Cellular and Molecular-Biological Mechanisms]. In M. A. Ostrovsky (Ed.), *100 Years of Physiology in Russia on the 100th Anniversary of the Pavlov Physiological Society* (pp. 96-119). Russian Foundation for Basic Research. [in Russian]. <https://doi.org/10.22204/2410-4639-2017-094-025-96-119>
- [24] Kawasaki, T., & Kawai, T. (2014). Toll-like receptor signaling pathways. *Frontiers in Immunology*, 5, 461. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00461>
- [25] Funk, E., Kottlitz, S., Gilliam, B., & Talwani, R. (2014). Tickling the TLR7 to cure viral hepatitis. *Journal of Translational Medicine*, 12, Article 129. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-12-129>
- [26] Howell, J., Angus, P., Gow, P., & Visvanathan, K. (2013). Toll-like receptors in hepatitis C infection: Implications for pathogenesis and treatment. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 28(5), 766-776. <https://doi.org/10.1111/jgh.12170>
- [27] Tizaoui, K., Kaabachi, W., Hamzaoui, K., & Hamzaoui, A. (2015). Association of Single Nucleotide Polymorphisms in Toll-like Receptor Genes With Asthma Risk: A Systematic Review and Meta-analysis. *Allergy Asthma & Immunology Research*, 7(2), 130-140. <https://doi.org/10.4168/air.2015.7.2.130>
- [28] Skevaki, C., Pararas, M., Kostelidou, K., Tsakris, A., & Routsias, J. G. (2015). Single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptors and susceptibility to infectious diseases. *Clinical and Experimental Immunology*, 180(2), 165-177. <https://doi.org/10.1111/cei.12578>
- [29] Bordignon, M., Bargagli, E., Agostini, C., Cinetto, F., Baldo, V., Alaibac, M., & Rottoli, P. (2013). TLR7 Gln11Leu single nucleotide polymorphism in patients with sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasculitis and Diffuse Lung Diseases*, 30(2), 157-161.
- [30] Vesnina, L. E., Izmailova, O. V., Shlykova, O. A., & Kidashev, I. (2015). Features of NF- κ B-mediated signaltransduction and development of systemic inflammation in patients with diseases of internal organs are determined by microbial factor and individual reactivity of the body (review of own research findings). *Problemy ekologii ta medytsyny*, 19(3-4), 30-37.
- [31] David, S. P. (2017). *Genomic and Precision Medicine: Primary Care: Third Edition*. London: Academic Press.
- [32] Mukherjee, S., Huda, S., & Babu, S. P. S. (2019). Toll-like receptor polymorphism in host immune response to infectious diseases: A review. *Scandinavian Journal of Immunology*, 90(1), Article UNSP e12771. <https://doi.org/10.1111/sji.12771>
- [33] Ziakas, P. D., Prodromou, M. L., El Khoury, J., Zintzaras, E., & Mylonakis, E. (2013). The Role of TLR4 896 A > G and 1196 C > T in Susceptibility to Infections: A Review and Meta-Analysis of Genetic Association Studies. *Plos One*, 8(11), Article UNSP e81047. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081047>
- [34] Rudenko, K. A., Tuguz, A. R., Anokhina, E. N., & Muzhenya D. V. (2014). Polimorfizmy genov Toll-podobnykh retseptorov, assotsirovannye s nasledstvennoj otyagoshennostyu i vozrastom manifestatsii bronhial'noj astmy [Gene polymorphisms of Toll-like receptors associated with hereditary abnormalities and age of asthma onset]. *Immunologiya*, 35(3), 160-163. [in Russian].
- [35] Taghavi, S. A., Damangir, H., Kamali Sarvestani, E., & Eshraghian, A. (2009). Relation between C. 32A> T polymorphism in TLR7 and response to treatment in chronic HCV-infection. *Armaghane danesh*, 14(2), 105-116.
- [36] Schott, E., Witt, H., Neumann, K., Taube, S., Oh, D. Y., Schreier, E., Vieri, S., Puhl, G., Bergk, A., Halangk, J., Weich, V., Wiedenmann, B., & Berg, T. (2007). A Toll-like receptor 7 single nucleotide polymorphism protects from advanced inflammation and fibrosis in male patients with chronic HCV-infection. *Journal of Hepatology*, 47(2), 203-211. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2007.03.021>
- [37] Askar, E., Ramadori, G., & Mihm, S. (2010). Toll-Like Receptor 7 rs179008/Gln11Leu Gene Variants in Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Journal of Medical Virology*, 82(11), 1859-1868. <https://doi.org/10.1002/jmv.21893>
- [38] Mei, S., Burchell, J., Skinner, N., Millen, R., Matthews, G., Hellard, M., Dore, G. J., Desmond, P. V., Sundarajan, V., Thompson, A. J., Visvanathan, K., & Sasadeusz, J. (2016). Toll-like Receptor Expression and Signaling in Peripheral Blood Mononuclear Cells Correlate With Clinical Outcomes in Acute Hepatitis C Virus Infection. *Journal of Infectious Diseases*, 214(5), 739-747. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw235>
- [39] Lee, C. M., Hu, T. H., Lu, S. N., Wang, J. H., Hung, C. H., Chen, C. H., & Yen, Y. H. (2016). Peripheral blood toll-like receptor 4 correlates with rapid virological response to pegylated-interferon and ribavirin therapy in hepatitis C genotype 1 patients. *Bmc Gastroenterology*, 16, Article 73. <https://doi.org/10.1186/s12876-016-0492-6>
- [40] Mohamed, S. Y., Mostafa, E. F., Hanafy, A. S., Atia, H., Metwally, A., & Marei, A. M. (2017). The relationship between expression of Toll-like receptor 4 in chronic hepatitis C patients and different stages of liver fibrosis. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*, 10(4), 278-283. <https://doi.org/10.22037/gfbb.v0i0.1079>
- [41] Pires-Neto, O. D., de Sa, K. S. G., Santana, B. B., Gomes, S. T. M., Amoras, E. D. G., Conde, S. R. D., Demackki, S., Azevedo, V. N., Martins-Feitosa, R. N., Ishak, M. D. G., Ishak, R., & Vallinoto, A. C. R. (2015). Lack of Association between Polymorphisms of the TLR4 Gene and Infection with the Hepatitis B and C Viruses. *Mediators of Inflammation*, Article 150673. <https://doi.org/10.1155/2015/150673>
- [42] Al-Qahtani, A. A., Al-Anazi, M. R., Al-Zoghaibi, F., Abdo, A. A., Sana, F. M., Khan, M. Q., Albenmoussa, A., Al-Ashgar, H. I., & Al-Ahdal, A. N. (2014). The Association of Toll-Like Receptor 4 Polymorphism with Hepatitis C Virus Infection in Saudi Arabian Patients. *Biomed Research International*, Article 357062. <https://doi.org/10.1155/2014/357062>
- [43] Guarner-Argente, C., Sanchez, E., Vidal, S., Roman, E., Concepcion, M., Poca, M., Sanchez, D., Juarez, C., Soriano, G., & Guarnier, C. (2010). Toll-like receptor 4 D299G polymorphism and the incidence of infections in cirrhotic patients. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 31(11), 1192-1199. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2010.04291.x>
- [44] Sizova, L., Koval, T., Kaidashchev, I., Ilchenko, V., & Dubinskaya, G. (2016). Rol geneticheskogo polimorfizma Toll-like retseptorov 4 i 7 v razvitii khronicheskogo gepatita s i gendernye osobennosti ikh raspredeleniya [The role of genetic polymorphisms Toll-like receptor 4 and 7 in the chronic hepatitis c and gender features of their distribution]. *Georgian Medical News*, (250), 51-56. [in Russian].

- [45] Nieto, J. C., Sanchez, E., Roman, E., Vidal, S., Oliva, L., Guarner-Argente, C., Poca, M., Torras, X., Juarez, C., Guarner, C., & Soriano, G. (2014). Cytokine production in patients with cirrhosis and TLR4 polymorphisms. *World Journal of Gastroenterology*, 20(46), 17516-17524. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i46.17516>
- [46] Peric, M., Bosnjak, Z., Sarkanj, B., Barbic, J., Antolovic-Pozgain, A., Ruzman, N., Roksandic-Krizan, I., & Vukovic, D. (2015). Polymorphisms of Toll-like receptors 2 and 4 in chronically infected hepatitis C patients from north-east Croatia. *Archives of Virology*, 160(1), 297-304. <https://doi.org/10.1007/s00705-014-2283-0>
- [47] Pinero, P., Juanola, O., Caparros, E., Zapater, P., Gimenez, P., Gonzalez-Navajas, J. M., Such, J., & Frances, R. (2017). Toll-like receptor polymorphisms compromise the inflammatory response against bacterial antigen translocation in cirrhosis. *Scientific Reports*, 7, Article 46425. <https://doi.org/10.1038/srep46425>
- [48] Alvarado-Tapias, E., Guarner-Argente, C., Oblitas, E., Sanchez, E., Vidal, S., Roman, E., Concepcion, M., Poca, M., Gely, C., Pavel, O., Nieto, J. C., Juarez, C., Guarner, C., & Soriano, G. (2018). Toll-like receptor 4 polymorphisms and bacterial infections in patients with cirrhosis and ascites. *World Journal of Hepatology*, 10(1), 124-133. <https://doi.org/10.4254/wjgh.v10.i1.124>
- [49] Emonts, M. (2008). *Polymorphisms in immune response genes in infectious diseases and autoimmune diseases*. (Doctoral Dissertation). Erasmus University Rotterdam.
- [50] Sizova, L. M. (2016). Osoblyvosti kliniko-laboratorykh kharakterystyk khronichnoho hepatytu S u khvorykh z polimorfizmom Asp299Gly henu TLR4 ta Gln11Leu henu TLR7 [Features of clinical and laboratory characteristics of chronic hepatitis C in patient with polymorphism Asp-299Gly of TLR4 gene and Gln11Leu of TLR7 gene]. *Aktualni problemy suchasnoi medytyny*, 16(4), 182-187. [in Ukrainian].
- [51] Zhu, Q., Zou, L., Jagavelu, K., Simonetto, D. A., Huebert, R. C., Jiang, Z. D., ... Shah, V. H. (2012). Intestinal decontamination inhibits TLR4 dependent fibronectin-mediated cross-talk between stellate cells and endothelial cells in liver fibrosis in mice. *Journal of Hepatology*, 56(4), 893-899. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2011.11.013>
- [52] Guo, J., & Friedman, S. L. (2010). Toll-like receptor 4 signaling in liver injury and hepatic fibrogenesis. *Fibrogenesis and Tissue Repair*, 3(1) <https://doi.org/10.1186/1755-1536-3-21>
- [53] Guo, J. S., Loke, J., Zheng, F., Hong, F., Yea, S., Fukata, M., Tarocchi, M., Abar, O. T., Huang, H. J., Sninsky, J. J., & Friedman, S. L. (2009). Functional Linkage of Cirrhosis-Predictive Single Nucleotide Polymorphisms of Toll-like Receptor 4 to Hepatic Stellate Cell Responses. *Hepatology*, 49(3), 960-968. <https://doi.org/10.1002/hep.22697>
- [54] Dubinskaya, G., Sizova, L., Koval, T., Kovalyova, E., & Kaydashv, I. (2016). Clinical and genetic predictors and prognostic model of rapidly progressive hepatic fibrosis in chronic hepatitis C. *Georgian Medical News*, (256-257), 37-45.
- [55] Dubinskaya, G. M., Koval, T. I., Sizova, L. M., Izyumskaya, E. M., Kotelevskaya, T. M., Sviridenko, N. P., Voloshina, L. G., & Voitenko, L. L. (2016). Analiz effektivnosti protivovirusnoi terapii khronicheskogo gepatita C u patsientov Poltavskoi oblasti [Analysis of antiviral therapy effectiveness for chronic hepatitis C patients in Poltava region]. *Klinicheskaya infektologiya i parazitologiya*, 5(4), 440-448. [in Russian].
- [56] Iqbal, M. S., Ashfaq, U. A., Khaliq, S., Masoud, M. S., Qasim, M., Haque, A., Ghani, M. U., & Jahan, S. (2017). Toll-like receptor 4 polymorphism as pretreatment predictor of response to HCV genotype 3a interferon-based treatment. *Future Virology*, 12(12), 738-745. <https://doi.org/10.2217/fvl-2017-0076>
- [57] Zhang, Y. L., Guo, Y. J., Li, B., & Sun, S. H. (2009). Hepatitis C virus single-stranded RNA induces innate immunity via Toll-like receptor 7. *Journal of Hepatology*, 51(1), 29-38. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2009.03.012>
- [58] Dominguez-Molina, B., Machmach, K., Perales, C., Tarancon-Diez, L., Gallego, I., Sheldon, J. L., Leal, M., Domingo, E., & Ruiz-Mateos, E. (2018). Toll-Like Receptor 7 (TLR-7) and TLR-9 Agonists Improve Hepatitis C Virus Replication and Infectivity Inhibition by Plasmacytoid Dendritic Cells. *Journal of Virology*, 92(23), Article e01219-18. <https://doi.org/10.1128/jvi.01219-18>
- [59] Dehghan-Manshadi, M., Hadinedoushan, H., Amirbaigi, M. K., Zare, F., Eslami, G., Mirghanizade-Baghi, S. A., & Akhondi-Meybodi, M. (2015). Relative Expression of Toll-Like Receptors 2 and 7 mRNA in Peripheral Blood of Patients With Hepatitis C. *Hepatitis Monthly*, 15(11), Article e30427. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.30427>
- [60] Elsedawy, Y. S., Khattab, M. A., & El Hady, S. A. (2016). Single Nucleotide Polymorphisms of Toll-Like Receptor 7 in Hepatitis C Virus Infection and Hepatocellular Carcinoma Patients. *The Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 25(4), 73-80. <https://doi.org/10.12816/0037023>
- [61] Koval, T. I., Syzova, L. M., Dubynska, H. M., Pryimenko, N. O., Rudenko, S. S., Marchenko, O. H., & Shlykova, O. (2018). TLR4 and TLR7 genetic polymorphism in patients with HIV/HCV-coinfection: prevalence and gender-related features. *Wiadomosci Lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*, 71(8), 1566-1570.
- [62] Mosaad, Y. M., Metwally, S. S., Farag, R. E., Lotfy, Z. F., & Abdel-Twab, H. E. (2019). Association between Toll-Like Receptor 3 (TLR3) rs3775290, TLR7 rs179008, TLR9 rs352140 and Chronic HCV. *Immunological Investigations*, 48(3), 321-332. <https://doi.org/10.1080/08820139.2018.1527851>
- [63] Fakhir, F. Z., Lkhider, M., Badre, W., Alaoui, R., Meurs, E. F., Pineau, P., ... Benjelloun, S. (2018). Genetic variations in toll-like receptors 7 and 8 modulate natural hepatitis C outcomes and liver disease progression. *Liver International*, 38(3), 432-442. <https://doi.org/10.1111/liv.13533>
- [64] Schott, E., Witt, H., Neumann, K., Bergk, A., Halang, J., Weich, V., ... Berg, T. (2008). Association of TLR7 single nucleotide polymorphisms with chronic HCV-infection and response to interferon- α -based therapy. *Journal of Viral Hepatitis*, 15(1), 71-78. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2007.00898.x>
- [65] El-Bendary, M. E., Neamatallah, M., Elalfy, H., Besheer, T., Elkholi, A., El-Diasty, M. E., Elsareef, M., Zahran, M., El-Aarag, B. E., Gomaa, A., Elhamady, D., El-Setouhy, M. E., Hegazy, A., & Esmat, G. (2018). The association of single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptor 3, Toll-like receptor 7 and Toll-like receptor 8 genes with the susceptibility to HCV infection. *British Journal of Biomedical Science*, 75(4), 175-181. <https://doi.org/10.1080/09674845.2018.1492186>
- [66] Malov, S. I., Baatarkhuu, O., Garkov, O. B., Ariunaa, S., Baigalmaa, J., Davaakhuu, B., Munk-Orshikh, D., Ouynbileg, J., Stepanenko, L. A., Savilov, E. D., Zherbanova, L. V., Symbelova, T. A., & Malov, I. V. (2018). The Role of Human Genetic Factors in the Natural Selection of Hepatitis C Virus' Dominant Genotype in Ethnically Close Populations of Buryats and Khalkha-Mongols. *Sovremennye Tehnologii V Meditsine*, 10(3), 21-30. <https://doi.org/10.17691/stm2018.10.3.3>
- [67] Sleptsova, S. S., Bilyukina, I. F., Malov, S. I., Semenov, S. I., Stepanenko, L. A., Ogarkov, O. B., Savilov, Y. D., & Malov, I. V. (2019). Polymorphism of genes localized on the X-chromosome as a marker of predisposition to infectious process chronicity at hepatitis C in the ethnic group of male Yakuts. *Yakut Medical Journal*(2), 64-67. <https://doi.org/10.25789/ymj.2019.66.19>

Псевдоперитоніт на тлі кетоацидотичного стану у вагітної (клінічний випадок)

Д. О. Говсєєв  *1,2,A,E,F, О. І. Крижановська  1,2,A-D, В. О. Берестовий  1,2,A,C,E

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна, ²Київський міський пологовий будинок № 5, 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:

вагітність,
кетацидоз,
гострий живіт,
псевдоперитоніт.

Патологія. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 122-126

*E-mail:
nm@proffkom.com

Мета роботи – надати відомості щодо гестаційного цукрового діабету, його причин, клініко-лабораторних проявів і рідкісних особливостей перебігу.

Наведено клінічний випадок діагностики псевдоперитоніту на тлі кетоацидозу у вагітної з симптомами, що імітували гострий апендицит. Своєчасна правильна діагностика дала змогу уникнути операції в пацієнтки на 34 тижні вагітності. Наведені основи диференційної діагностики гострого абдомінального синдрому в жінок під час вагітності. Клінічний випадок викликає інтерес у зв'язку з недостатністю даних фахової літератури щодо цієї патології у вагітних, а також її рідкістю в загальній популяції.

Висновки. Ретельне динамічне спостереження за вагітною та правильна інтерпретація лабораторних даних дають змогу своєчасно встановити діагноз кетоацидозу з абдомінальним больовим синдромом та уникнути небажаного оперативного втручання під час вагітності.

Key words:

pregnancy,
ketoacidosis,
acute abdomen,
pseudoperitonitis.

Pathologia
2020; 17 (1), 122-126

Pseudoperitonitis on the background of a ketoacidotic state in a pregnant woman (clinical case)

D. O. Hovsieiev, O. I. Kryzhanovska, V. O. Berestovyi

Aim. To present information regarding gestational diabetes mellitus, its causes, clinical and laboratory manifestations, and rare course features.

The article presents information regarding gestational diabetes mellitus, its causes, clinical and laboratory manifestations, and rare course features. The article deals with the clinical case of the diagnosis of pseudoperitonitis against the background of ketoacidosis in a pregnant woman with symptoms that mimic acute appendicitis; timely correct diagnosis has been made possible to avoid surgery for the patient (the 34th week of pregnancy). The basics of differential diagnosis of acute abdominal syndrome in women during pregnancy are introduced. The described clinical case is of interest in connection with insufficient literature data on this pathology in pregnant women, as well as in connection with its rarity in the general population.

Conclusions. Careful dynamic monitoring of the pregnant woman and correct interpretation of the laboratory data allow timely diagnosis of ketoacidosis with abdominal pain and avoid unwanted surgery during pregnancy.

Ключевые слова:

беременность,
кетацидоз,
острый живот,
псевдоперитонит.

Патология. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 122-126

Псевдоперитонит на фоне кетоацидотического состояния у беременной (клинический случай)

Д. А. Говсеев, О. И. Крыжановская, В. О. Берестовой

Цель работы – представить данные о гестационном сахарном диабете, его причинах, клинко-лабораторных проявлениях и редких особенностях течения.

Описан клинический случай диагностики псевдоперитонита на фоне кетоацидоза у беременной с симптомами, имитирующими острый аппендицит. Своевременная правильная диагностика дала возможность избежать операции у пациентки на 34 неделе беременности. Представлены основы дифференциальной диагностики острого абдомінального синдрома у женщин во время беременности. Описанный клинический случай представляет интерес в связи с недостаточностью данных научной литературы об этой патологии у беременных, а также в связи с ее редкостью в общей популяции.

Выводы. Тщательное динамическое наблюдение за беременной и правильная интерпретация лабораторных данных позволяют своевременно установить диагноз кетоацидоза с абдомінальным болевым синдромом и избежать нежелательного оперативного вмешательства во время беременности.

Гестаційний цукровий діабет – будь-який ступінь непереносності до глюкози, що почалась чи вперше була виявлена під час вагітності. Цю патологію діагностують у 2–10 % усіх вагітних жінок [11].

Під час вагітності відбувається поступове збільшення резистентності до інсуліну. У II триместрі

високий рівень плацентарних гормонів, а також підвищення утворення кортизолу корою наднирників спричиняє поглиблення фізіологічної периферійної інсулінорезистентності. Підвищення рівня пролактину, прогестерону, кортикостероїдів призводить до зменшення зв'язування рецепторів з інсуліном.

Після 28 тижня інсулінорезистентність збільшується внаслідок діабетогенної дії плацентарних гормонів і прогестерону. Спостерігають підвищення глікемії після їди з компенсаторною гіперінсулінемією. З настанням вагітності резистентність тканин до інсуліну, що нарастає, призводить до збільшення необхідності в інсуліні. У більшості жінок ця потреба швидко задовільняється, а отже встановлюється баланс між інсулінорезистентністю та продукцією інсуліну. Але якщо резистентність починає домінувати внаслідок порушення секреції інсуліну, розвивається гіперглікемія [2].

Унаслідок недостатності інсуліну активуються процеси ліполізу з утворенням кетонів, що подразнюють рецептори очеревини з появою клініки перитоніту. У доступній фаховій літературі не виявили епідеміологічні дані щодо діабетичного псевдоперитоніту, особливо серед вагітних. Трапляються тільки поодинокі описи випадків псевдоабдомінального синдрому у хворих на цукровий діабет [7].

Фактори ризику: підвищена маса тіла (індекс маси тіла більше або дорівнює 25); зниження фізичної активності; наявність родича першого ступеня спорідненості, який хворий на діабет; належність до етнічної групи з високою поширеністю діабету (афроамериканці, латиноамериканці); діагностований гестаційний діабет під час попередніх вагітностей або народження дитини вагою понад 4 кг; синдром полікістозних яєчників; рівень HbA1C 5,7 % чи більше; порушення толерантності до глюкози або порушення глікемії натще в минулому; серцево-судинні захворювання в анамнезі [6].

Гіперглікемія під час вагітності призводить до ускладнень як у матері, так і у плода. Материнські ускладнення включають гіпертензію, прееклампсію, підвищений ризик кесарського розтину і розвитку цукрового діабету після вагітності. Ускладнення для плода передбачають макросомію, гіпоглікемію новонароджених, поліцитемію, підвищену перинатальну смертність, вроджені вади розвитку, гіпербілірубінемію, респіраторний дистрес-синдром, гіпокальціємію; пізніше дитина матиме схильність до нестерпності глюкози, діабету, ожиріння [12].

Мета роботи

Надати відомості щодо гестаційного цукрового діабету, його причин, клініко-лабораторних проявів і рідкісних особливостей перебігу.

Клінічний випадок

Хвора К., 26 років, надійшла в Київський міський пологовий будинок № 5 із діагнозом: вагітність I, пологи I, 34 тиждень гестації, гострий апендицит. Під час первинного огляду скаржилася на тупий, дуже інтенсивний біль у правій здухвинній ділянці. Загальний стан середньої важкості, положення вимушене (на правому боці). Артеріальний тиск 125/80 мм рт. ст., температура тіла 37,7 °C. Шкіра та слизові оболонки блідо-рожеві, чисті. Зір ясний. Симптом Пастернацького негативний з обох боків. Живіт збільшений через вагітну матку, під час пальпації різко болючий, особливо в правій здухвинній

ділянці, симптоми подразнення очеревини (симптом Щоткіна–Блюмберга) різко позитивні. Пологова діяльність відсутня. Серцебиття плода чітке, ритмічне, з частотою 150 ударів за 1 хв. Фізіологічні випорожнення в нормі. З анамнезу відомо, що на 25 тижні вагітності пацієнтка пройшла глюкозотолерантний тест: рівень глюкози натще становив 4,3 ммоль/л; рівень глюкози через 2 години після навантаження глюкозою (75 мг) – 9,3 ммоль/л. Згідно з наказом МОЗ України від 29 грудня 2014 р. № 1021 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при цукровому діабеті 1 типу в молодих людей і дорослих» встановили діагноз: гестаційний цукровий діабет. Пацієнтка щоденно виконувала глюкометрію та підтримувала належний рівень глюкози завдяки корекції режиму харчування. У день госпіталізації через 3 години після їди у вагітної з'явилися неприємні відчуття в епігастрії, що змінилися інтенсивним больовим синдромом унизу живота. Взяті аналізи, результати яких наведені в *таблицях 1–3*.

Під час ультразвукового дослідження органів черевної порожнини на момент госпіталізації патологічних змін не було, привертала увагу посиленна перистальтика кишечника.

На підставі клініки захворювання, даних анамнезу та лабораторних досліджень припустили наявність псевдоперитоніту на тлі кетоацидозу при гестаційному цукровому діабеті. Для диференційної діагностики між гострою хірургічною патологією черевної порожнини та псевдоперитонітом ухвалили встановити динамічне спостереження за вагітною (контроль пульсу, артеріального тиску, частоти дихання, температури), дослідити кислотно-основний стан крові, розпочати інфузійну терапію, призначена консультація хірурга. Інфузійна терапія передбачала внутрішньовенне введення 1200 мл 0,9 % розчину NaCl та 400 мл розчину Рінгера лактатного протягом першої години та внутрішньовенне введення 800 мл 0,9 % розчину NaCl протягом наступних 2 годин. Дані кислотно-основного стану наведені в *таблиці 4*.

Через 1 годину після госпіталізації під час чергового огляду пацієнтки виявили, що біль у животі минув, зникли симптоми гострого живота (симптоми подразнення очеревини). Виключили іншу гостру хірургічну патологію черевної порожнини. На 5 добу вагітна виписана зі стаціонара в задовільному стані.

На 40 тижні вагітності пацієнтка надійшла у стаціонар із регулярними переймами. Пологи фізіологічні. Народила здорову доношену дівчинку. Післяпологовий період минув без ускладнень.

Обговорення

Відомо, що кетоацидоз як ускладнення цукрового діабету може викликати розвиток симптомів хилого «гострого живота», який у низці випадків призводить до необґрунтованого оперативного втручання, що може негативно позначитися на клінічному прогнозі [3].

Біль у животі під час цукрового діабету пов'язують із дегідратацією очеревини, що прогресує, появою дрібних крововиливів у ній, подразненням вегетативної нервової системи продуктами діабетичного ацидозу [4].

Таблиця 1. Показники загального аналізу крові

Час визначення	Hb, г/л	RBC, $\times 10^{12}/л$	HCT, %	PLT, $10^9/л$	WBC, $10^9/л$	юні, %	п/я, %	с/я, %	EOS, %	LYM, %	MON, %
Під час госпіталізації	129	4,32	38,7	163	14,4	–	10	65	2	18	5
Через 3 години після госпіталізації	132	4,63	41,2	193	21,0	4	15	65	2	11	3
На ранок наступного дня	119	4,14	36,8	185	15,5	–	6	66	2	18	8

Таблиця 2. Показники загального аналізу сечі

Час визначення	Питома вага	Кількість, мл	Колір	Прозорість	Реакція (pH)	Білок якісний	Ацетон	Глюкоза	Еритроцити	Лейкоцити
Під час госпіталізації	1012	50	жовт.	прозора	сл. кисла	–	++++	–	1–2	2–3
Через 3 години після госпіталізації	1013	90	св.-жовт.	прозора	кисла	–	++++	–	2–3	3–4
На ранок наступного дня	1014	90	св.-жовт.	прозора	кисла	–	–	–	0–1	1–2

Таблиця 3. Концентрація глюкози сироватки крові

На момент госпіталізації	6,0 ммоль/л
На ранок наступного дня	5,1 ммоль/л
Рівень прокальцитоніну на момент госпіталізації	0,1 нг/мл

Таблиця 4. Показники кислотно-лужного стану

Час визначення	pH	pCO ₂	HCO ₃	BE	SBC
У день госпіталізації	7,27	37,5	15	-6,0	17
На ранок наступного дня	7,42	40,0	24	-0,5	22,8

Таблиця 5. Псевдоабдомінальний синдром у клініці захворювань різних органів і систем

Захворювання органів черевної порожнини	Захворювання шлунка: гострий гастрит, загострення виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки, ковзна діафрагмальна кіла, що зумовлює виникнення шлунково-стравохідного рефлюксу. Патології кишечника: гострий ентероколіт, неспецифічні коліти, хвороба Крона. Хвороби печінки: гострий гепатит, гостра дистрофія печінки, цироз печінки.
Захворювання дихальної системи	Плеввропневмонія, плеврит, спонтанний пневмоторакс.
Захворювання серцево-судинної системи	Гострий напад стенокардії, інфаркт міокарда, інфаркти інших органів (нирок, селезінки), хронічні порушення кровообігу кишечника, гострий перикардит.
Патологія сечовидільної системи	Пієлонефрит, паранефрит, сечокам'яна хвороба, гостра затримка сечі, ниркова колька, кортикальний некроз нирки.
Захворювання й ураження центральної та периферичної нервової систем	Менінгіт, енцефаліт, пухлини, субарахноїдальний крововилив, забій головного мозку, гострий грудний чи попереково-крижовий радикуліт, оперізувальний герпес, мігреберна невралгія.
Гематологічні захворювання	Хвороба Шенляйн–Геноха, серпоподібна клітинна анемія, лейкоз.
Інфекційні захворювання	Грип, харчова токсикоінфекція, кір, скарлатина, вітряна віспа, шигельоз, сифіліс, сальмонельоз, черевний тиф, аденовірусна інфекція, кишковий ерсініоз, вісцеральний лейшманіоз, амебіаз, абдомінальна форма туляремії, глистяна інвазія (аскаридоз, стронгілоїдоз).
Гінекологічні захворювання	Ендометріоз, кіста яєчника, овуляторний біль, сальпінгіт.
Ендокринна патологія	Аддісоновий криз, тиреотоксичний криз, цукровий діабет.
Інтоксикація	Свинцем, талієм.

Підтвердження стану кетоацидозу може бути отримане за наявності гіперглікемії, ацидозу та кетонемії. Рівень глюкози зазвичай становить понад 10 ммоль/л, рівень pH зазвичай менше ніж 7,3, концентрація бікарбонату в сироватці крові не більше ніж 15 ммоль/л [16].

Встановили, що діабетичний кетоацидоз (ДКА) у вагітних виникає при значно нижчих рівнях глюкози сироватки крові. Під час дослідження 11 жінок із підтвердженим кетоацидозом відзначили, що в 4 із них рівень глюкози менше ніж 11,1 ммоль/л. Ацидемія у матері супроводжується зниженням кровоплину в матці, зумовлюючи плацентарну гіперперфузію, що призводить до зниженого надходження кисню до плода. Зниження pH артеріальної крові матері призводить до зсуву кривої дисоціації оксигемоглобіну вправо, що погіршує оксигенацію плода. Материнська смертність при такому стані становить менше ніж 1 %, але рівень смертності плода – 9–36 %. Діабетичний кетоацидоз у вагітної також асоціюється з підвищеним ризиком передчасних пологів. Отже, ДКА є справжньою акушерською надзвичайною ситуацією [9,13].

У хворих на цукровий діабет кетоацидоз може спричинити гострий біль в епігастральній ділянці. Клініка захворювання супроводжується нудотою, блюванням, болючістю під час пальпації, напруженням м'язів, прискоренням пульсу. Лейкоцитоз у пацієнтів із кетоацидозом може досягати $25 \times 10^9/л$, етіологія якого досі точно не встановлена [8]. Клінічна картина може нагадувати гостру хірургічну патологію черевної порожнини. На наявність ацидозу вказують виснаження, суха шкіра, зміна настрою, запах ацетону з рота, сухість у роті, сильна спрага, відсутність апетиту, нудота, блювання, іноді прискорене глибоке дихання, почастішання серцебиття, різке зниження артеріального тиску, біль у грудній клітці й черевній порожнині. Діагноз підтверджується наявністю ацетону і/або цукру в сечі, гіперглікемії, наявністю ацетону в крові. Але діагноз кетоацидотичного псевдоперитоніту під час цукрового діабету має бути діагнозом виключення, оскільки виражені симптоми подразнення очеревини можуть вказувати на одночасний прояв захворювання черевної порожнини, що потребує екстреної операції. Це цілком можливо, тим більше, що нерідко гострі загальні захворювання спричиняють прояв цукрового діабету або його ускладнення. Так, уперше цукровий діабет може виявитися під час захворювання на гострий деструктивний апендицит. У сумнівних випадках хворі потребують госпіталізації в хірургічний стаціонар, де діагностичну й лікувальну тактику визначають хірург, ендокринолог [1].

У пацієнтів із діабетичним кетоацидозом можуть бути нудота, блювання та біль у животі. Під час аналізу

189 випадків кетоацидозу 46 % хворих відзначали біль у животі. Наявність болю корелювала з виразністю метаболічного ацидозу (біль наявний у 86 % осіб, які мали рівень бікарбонату сироватки ≤ 5 ммоль/л; також біль наявний у 13 % осіб, які мали рівень бікарбонату сироватки ≤ 15 ммоль/л; норма бікарбонату сироватки крові – 23–29 ммоль/л), але зовсім не мала залежності від рівня глікемії та ступеня дегідратації організму [10,15].

J. Csomor, J. Jirkovska et al. описали випадок псевдоперитоніту в пацієнта із гіпоглікемією, що передувало, на тлі сильного кетоацидозу. Авторами з'ясували, що при клініці гострого живота у хворих на цукровий діабет треба припускати наявність кетоацидозу, адже це може врятувати пацієнта від непотрібної для нього операції. Діабетичний псевдоперитоніт має бути серед диференційних діагнозів у пацієнтів із клінікою гострого живота, у яких наявний цукровий діабет із кетоацидозом [7]. Під час диференційної діагностики слід враховувати, що псевдоабдомінальний синдром може бути викликаний різними причинами, найчастіше з них наведені в таблиці 5 [5,14].

Висновки

У вагітних із гестаційним цукровим діабетом кетоацидоз може виникати на тлі нормоглікемії з лейкоцитозом і проявлятися гострим псевдоабдомінальним синдромом. Ретельне динамічне спостереження за вагітною та правильна інтерпретація лабораторних даних дають змогу своєчасно встановити діагноз кетоацидозу з абдомінальним больовим синдромом та уникнути небажаного оперативного втручання під час вагітності.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 27.12.19

Після доопрацювання / Revised: 10.02.2020

Прийнято до друку / Accepted: 16.02.2020

Відомості про авторів:

Говсєєв Д. О., канд. мед. наук, доцент каф. акушерства та гінекології післядипломної освіти, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Київський міський пологовий будинок № 5, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-9669-0218

Крижановська О. І., Київський міський пологовий будинок № 5, каф. акушерства та гінекології післядипломної освіти, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-6544-5439

Берестовий В. О., асистент каф. акушерства та гінекології післядипломної освіти, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Київський міський пологовий будинок № 5, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-5880-770X

Information about authors:

Hovsieiev D. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology of Postgraduate Education, Bohomolets National Medical University, Kyiv City Maternity Hospital No 5, Kyiv, Ukraine.

Kryzhanovska O. I., Kyiv City Maternity Hospital No 5, Department of Obstetrics and Gynecology of Postgraduate Education, Bohomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Berestovyi V. O., Assistant of the Department of Obstetrics and Gynecology of Postgraduate Education, Bohomolets National Medical University, Kyiv City Maternity Hospital No 5, Kyiv, Ukraine.

Сведения об авторах:

Говсєєв Д. А., канд. мед. наук, доцент каф. акушерства и гинекологии последипломного образования, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Киевский городской родильный дом № 5, Украина.

Крыжановская О. И., Киевский городской родильный дом № 5, каф. акушерства и гинекологии последипломного образования, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

Список літератури

- [1] Псевдоабдомінальний синдром у практиці лікаря загальної практики – сімейної медицини / Л. С. Бабінець, Б. О. Мігенько, Н. І. Корильчук та ін. *Семейная медицина*. 2018. № 3. С. 40-44.
- [2] Гормональні механізми розвитку гестаційного діабету та роль антиінсулінових антитіл у виникненні цієї патології / С. О. Бичкова, В. І. Медведь, З. Б. Хомінська, З. В. Близнюк. *Здоров'я жінчини*. 2011. № 2. С. 128-133.
- [3] Кулешов Е. В. Причины возникновения, клинические проявления, дифференциальная диагностика и лечение ложного «острого живота» при декомпенсации сахарного диабета. *Медико-социальные проблемы инвалидности*. 2013. № 1. С. 91-97.
- [4] Малков И. С. Заболевания, имитирующие острый живот. *Практическая медицина*. 2011. № 1. С. 7-11.
- [5] Феськов А. Э. Дифференциальная диагностика хирургической абдоминальной патологии на догоспитальном этапе. *Медицина неотложных состояний*. 2006. № 6. С. 15-21.
- [6] Standards of medical care in diabetes-2011. *Diabetes Care*. 2011. Vol. 34, Suppl. 1. P. S11-61. <https://doi.org/10.2337/dc11-S011>
- [7] Diabetic ketoacidosis with an acute abdomen as a first manifestation of type 1 diabetes mellitus / J. Csomor, J. Jirkovska, L. Verdrilova et al. *Acta Endocrinologica-Bucharest*. 2017. Vol. 13, Iss. 4. P. 509-511. <https://doi.org/10.4183/aeb.2017.509>
- [8] Gosmanov A. R., Gosmanova E. O., Kitabchi A. E. Hyperglycemic Crises: Diabetic Ketoacidosis (DKA), and Hyperglycemic Hyperosmolar State (HHS). (Eds.). *Endotext* [Internet] / eds. K. R. Feingold, B. Anawalt, A. Boyce et al. 2018. South Dartmouth (MA): MDText.com. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279052/>
- [9] Reversal of fetal distress following intensive treatment of maternal diabetic-ketoacidosis / Z. J. Hagay, A. Weissman, S. Lurie, V. Insler. *American Journal of Perinatology*. 1994. Vol. 11, Iss. 6, P. 430-432. <https://doi.org/10.1055/s-2007-994613>
- [10] Kitabchi A. E., Hirsch I. B., Emmet M. Diabetic ketoacidosis and hyperosmolar hyperglycemic state in adults: clinical features, evaluation, and diagnosis. *UpToDate* / ed. T. W. Post. Waltham: UpToDate, 2018.
- [11] Metzger B. E., Coustan D. R. Proceeding of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 1998. Vol. 21, Suppl. 2. P. B1-B167.
- [12] Setji T. L., Brown A. J., Feinglos M. N. Gestational Diabetes Mellitus. *Clinical Diabetes*. 2005. Iss. 30. P. 17-24. <http://dx.doi.org/10.2337/diaclin.23.1.17>
- [13] Sibai B. M., Viteri O. A. Diabetic ketoacidosis in pregnancy. *Obstetrics & Gynecology*. 2014. Vol. 123, Iss. 1. P. 167-178. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000000060>
- [14] Tripathi B. K., Jain N., Kansra U. C. Acute abdomen non-surgical disorders. *Medicine Update*. 2007. P. 364-368. URL: http://www.apiindia.org/contents_mu_2007.html
- [15] Umpierrez G., Freire A. X. Abdominal pain in patients with hyperglycemic crises. *Journal of Critical Care*. 2002. Vol. 17, Iss. 1. P. 63-67. <https://doi.org/10.1053/jccr.2002.33030>
- [16] ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Diabetic ketoacidosis and the hyperglycemic hyperosmolar state / J. I. Wolfsdorf, N. Glaser, M. Agus et al. *Pediatric Diabetes*. 2018. Vol. 19. P. 155-177. <https://doi.org/10.1111/pedi.12701>

References

- [1] Babynets, L. S., Myhenko, B. O., Korylchuk, N. I., Botsyuk, N. E., Myhenko, L. M., Starodub, E. M., & Yasnyy, O. R. (2018). Psevdoabdominalnyi syndrom u praktysli likaria zahalnoi praktyki – simeinoi

- medytsyny [Pseudo-abdominal syndrome in the practice of a general practitioner – family medicine]. *Semeinaya meditsina*, (3), 40-44. [in Ukrainian].
- [2] Bichkova, Y. O., Medved, V. I., Hominska, Z. B., & Bliznuk, Z. V. (2011). Hormonalni mekhanizmy rozvytku hestatsiinoho diabetu ta rol antyinsulinovykh antytil u vynyknenni tsiei patolohii [Hormonal mechanisms in the development of gestational diabetes mellitus and the role of anti-insulin antibodies in the origin of this pathology]. *Zdorov'e zhenshchyny*, (2), 128-133. [in Ukrainian].
 - [3] Kuleshov, E. V. (2013). Prichyny vozniknoveniya, klinicheskie proyavleniya, differentsial'naya diagnostika i lechenie lozhnogo "ostrogo zhivota" pri dekompensatsii sakharnogo diabeta [The causes of a rise, clinical manifestations, differential diagnostics and treatment of the false "acute abdomen" in decompensation of diabetes mellitus]. *Mediko-sotsial'nye problemy invalidnosti*, (1), 91-97. [in Russian].
 - [4] Malkov, I. S. (2011). Zabolevaniya, simuliruyushchie ostryi zhivot [Diseases simulating acute abdomen]. *Prakticheskaya meditsina*, (1), 7-11. [in Russian].
 - [5] Fes'kov, A. E. (2006). Differentsial'naya diagnostika khirurgicheskoi abdominal'noi patologii na dogospital'nom etape [Differential diagnosis of surgical abdominal pathology at the prehospital stage]. *Meditsina neotlozhnykh sostoyanii*, (6), 15-21. [in Russian].
 - [6] Standards of medical care in diabetes-2011. (2011). *Diabetes Care*, 34(Suppl. 1), S11-61. <https://doi.org/10.2337/dc11-S011>
 - [7] Csomor, J., Jirkovska, J., Vedralova, L., Solar, S., Grega, T., Urbánek, P., & Zavoral, M. (2017). Diabetic ketoacidosis with an acute abdomen as a first manifestation of type 1 diabetes mellitus. *Acta Endocrinologica-Bucharest*, 13(4), 509-511. <https://doi.org/10.4183/aeb.2017.509>
 - [8] Gosmanov, A. R., Gosmanova, E. O., & Kitabchi, A. E. (2018). Hyperglycemic Crises: Diabetic Ketoacidosis (DKA), and Hyperglycemic Hyperosmolar State (HHS). In K. R. Feingold, B. Anawalt, A. Boyce et al. (Eds.). *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279052/>
 - [9] Hagay, Z. J., Weissman, A., Lurie, S., & Insler, V. (1994). Reversal of fetal distress following intensive treatment of maternal diabetic-ketoacidosis. *American Journal of Perinatology*, 11(6), 430-432. <https://doi.org/10.1055/s-2007-994613>
 - [10] Kitabchi A. E., Hirsch I. B., Emmet M. (2018). Diabetic ketoacidosis and hyperosmolar hyperglycemic state in adults: clinical features, evaluation, and diagnosis. In T. W. Post (Ed.). *UpToDate*. Waltham : UpToDate.
 - [11] Metzger, B. E., Coustan, D. R. (1998). Proceeding of the Fourth International Work-shop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 21(Suppl. 2), B1-B167.
 - [12] Setji, T. L., Brown, A. J. & Feinglos, M. N. (2005). Gestational Diabetes Mellitus. *Clinical Diabetes*, (30), 17-24. <http://dx.doi.org/10.2337/diaclin.23.1.17>
 - [13] Sibai, B. M., Viteri, O. A. (2014). Diabetic ketoacidosis in pregnancy. *Obstetrics & Gynecology*, 123(1), 167-178. <https://doi.org/10.1097/AOG.000000000000060>
 - [14] Tripathi, B. K., Jain, N., & Kansra, U. C. (2007). Acute abdomen in non-surgical disorders. *Medicine Update*. http://www.apiindia.org/contents_mu_2007.html
 - [15] Umpierrez, G., & Freire, A. X. (2002). Abdominal pain in patients with hyperglycemic crises. *Journal of Critical Care*, 17(1), 63-67. <https://doi.org/10.1053/jcrc.2002.33030>
 - [16] Wolfsdorf, J. I., Glaser, N., Agus, M., Fritsch, M., Hanas, R., Rewers, A., ... Codner, E. (2018). ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Diabetic ketoacidosis and the hyperglycemic hyperosmolar state. *Pediatric Diabetes*, 19, 155-177. <https://doi.org/10.1111/pedi.12701>

Clinical cases of management and treatment of women with chemoresistant tuberculosis during pregnancy

O. M. Raznatovska¹*, V. H. Siusiuka^{1,A,C,E}, A. V. Fedorec^{2,B,C}, A. I. Pyroh^{2,B,C},
H. I. Makurina^{1,E,F}

¹Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine, ²Municipal Institution "Zaporizhzhia Regional TB Clinical Dispensary", Ukraine

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

Importance of chemoresistant tuberculosis (CRTB) is undoubted both in Ukraine and all over the world. Especially alarming fact is that together with high CRTB sickness rate among young working-age people there is the low efficiency of therapy (55 %). Data of many researchers show, that tuberculosis of pregnant women is the reason of many significant complications which make serious maternal and perinatal danger. The problem of CRTB for pregnant woman is especially dangerous because the patient should take antimycobacterial drugs of II grade for a long period and these drugs have teratogenic effect.

Purpose. Familiarization of physician-practitioners with the clinical features of the course and treatment of CRTB in women during pregnancy.

Materials and methods. 4 clinical cases of own observations of the course and treatment of CRTB in women during pregnancy were described.

Results. Among our investigations the artificial termination of pregnancy was inevitable in 3 of 4 presented clinical cases. The first patient had tubal pregnancy. The second patient: together with medical indications for artificial termination of pregnancy (multiresistant tuberculosis, unstable position of fetus), the absence of the patient's tendency for treatment of multiresistant tuberculosis and problem social factor were observed. The patient informed that pregnancy was undesirable. The third patient had polyresistant tuberculosis and generalized destructive tuberculosis in lungs and besides the artificial termination of pregnancy was also her decision. The fourth patient had medical indications for artificial termination of pregnancy (multiresistant tuberculosis, negative clinical and radiological dynamics) but she refused. With regard to refusal antimicrobial therapy was corrected and aminoglycosides were excluded. The patient was responsible as to her own health and treatment of multiresistant tuberculosis. Under complex simultaneous control of phthisiatrician, obstetrician-gynecologist and neonatologist she terminated complete course of antimicrobial therapy with successful treatment result and gave birth to healthy baby.

Conclusions. Summarizing our own observations of the pregnant patients with CRTB the following conclusion can be made: if patients with CRTB have tendency to antimicrobial therapy and desire to give birth the positive results such as CRTB treatment and delivery of healthy baby will be obtained under complex simultaneous control of phthisiatrician, obstetrician-gynecologist and neonatologist.

Key words:
chemoresistant tuberculosis, pregnancy.

Pathologia
2020; 17 (1), 127-132

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

Клінічні випадки ведення та лікування жінок, які хворі на хіміорезистентний туберкульоз під час вагітності

О. М. Разнатовська, В. Г. Сюсюка, А. В. Федорець, А. І. Пирог, Г. І. Макуріна

Беззаперечною нині є актуальність хіміорезистентного туберкульозу (ХРТБ) в Україні й усьому світі. Особливе занепокоєння викликає те, що на тлі високого захворювання на ХРТБ молодого працездатного населення відзначають низьку ефективність лікування (55 %). Результати багатьох досліджень показують, що туберкульоз у вагітних жінок – причина багатьох серйозних ускладнень, які становлять серйозну материнську та перинатальну небезпеку. Особливо небезпечною є проблема ХРТБ у вагітній, оскільки пацієнтці необхідно тривало приймати антимікобактеріальні препарати II ряду, що мають значущий тератогенний вплив.

Мета роботи – ознайомлення фахівців-практиків із клінічними особливостями перебігу та лікування ХРТБ у жінок під час вагітності.

Матеріали та методи. Описали 4 клінічні випадки власних спостережень перебігу та лікування ХРТБ у жінок під час вагітності.

Результати. 3-поміж 4 наведених клінічних випадків у 3 жінок штучне переривання вагітності було неминучим. В однієї пацієнтки була трубна вагітність. В іншій жінки на тлі медичних показань до штучного переривання вагітності (мультирезистентний туберкульоз, нестійке положення плоду) визначали відсутність схильності до лікування мультирезистентного туберкульозу та несприятливий соціальний фактор; крім того, сама пацієнтка відзначила, що вагітність небажана. У третій пацієнтки діагностували полірезистентний туберкульоз і поширений деструктивний туберкульоз у легенях; жінка сама мала бажання штучно перервати вагітність. У четвертій пацієнтки до штучного переривання вагітності були медичні показання (мультирезистентний туберкульоз, негативна клінічно-рентгенологічна динаміка), від якого вона відмовилася. Враховуючи відмову, скорегували схему антимікобактеріальної терапії зі скасуванням аміноглікозидів. Хвора відповідально ставилася до власного здоров'я та лікування мультирезистентного туберкульозу. Під комплексним одночасним контролем фізіатра, акушера-гінеколога та неонатолога завершила повний курс антимікобактеріальної терапії, у результаті мала успішне лікування та народила здорову дитину.

Ключові слова:
хіміорезистентний туберкульоз, вагітність.

Патологія. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 127-132

Висновки. Підсумовуючи власні клінічні спостереження за вагітними, які хворі на ХРТБ, можна зробити висновок: за наявності у них схильності до антимікобактеріальної терапії і бажання народити дитину, під комплексним одночасним контролем фтизіатра, акушера-гінеколога та неонатолога можна досягти позитивних результатів – лікування ХРТБ і народження здорової дитини.

Ключевые слова:
химиорезистентный
туберкулез,
беременность.

Патология. 2020.
Т. 17, № 1(48).
С. 127-132

Клинические случаи ведения и лечения женщин, больных химиорезистентным туберкулезом во время беременности

Е. Н. Разнатовская, В. Г. Сюсюка, А. В. Федорец, А. И. Пирог, Г. И. Макурина

Бесспорна актуальность химиорезистентного туберкулеза (ХРТБ) в Украине и в мире. Особенно настораживает то, что на фоне высокой заболеваемости ХРТБ молодого трудоспособного населения отмечают низкую эффективность лечения (55 %). Результаты многих исследований показывают, что туберкулез у беременных – причина многих серьезных осложнений, которые являются серьезной материнской и перинатальной опасностью. Особенно опасна проблема ХРТБ у беременной, поскольку пациентке необходимо длительно принимать антимикобактериальные препараты II ряда, которые имеют значительное тератогенное влияние.

Цель работы – ознакомление специалистов-практиков с клиническими особенностями течения и лечения ХРТБ у женщин во время беременности.

Материалы и методы. Описаны 4 клинических случая собственных наблюдений течения и лечения ХРТБ у женщин во время беременности.

Результаты. Из 4 представленных клинических случая у трех женщин искусственное прерывание беременности было неизбежным. У одной пациентки была трубная беременность. У другой женщины на фоне медицинских показаний к искусственному прерыванию беременности (мультирезистентный туберкулез, неустойчивое положение плода) установлено отсутствие приверженности к лечению мультирезистентного туберкулеза и неблагоприятный социальный фактор; кроме того, сама пациентка указывала, что беременность нежелательная. У третьей пациентки диагностировали полирезистентный и распространенный деструктивный туберкулез в легких, женщина сама потребовала искусственного прерывания беременности. У четвертой пациентки для проведения искусственного прерывания беременности были медицинские показания (мультирезистентный туберкулез, отрицательная клинко-рентгенологическая динамика), от которого она отказалась. Учитывая отказ, проведена коррекция схемы антимикобактериальной терапии с отменой аминогликозидов. Больная ответственно относилась к собственному здоровью и лечению мультирезистентного туберкулеза. Под комплексным одновременным контролем фтизиатра, акушера-гинеколога и неонатолога завершила полный курс антимикобактериальной терапии, результат которой – успешное лечение и рождение здорового ребенка.

Выводы. Подытоживая собственные клинические наблюдения за беременными, больными ХРТБ, можно сделать вывод: при наличии приверженности к антимикобактериальной терапии у беременных и желания родить ребенка, под комплексным одновременным контролем фтизиатра, акушера-гинеколога и неонатолога можно достичь положительных результатов – лечения ХРТБ и рождения здорового ребенка.

Importance of chemoresistant tuberculosis (CRTB) is undoubted both in Ukraine and all over the world. Especially alarming fact is that together with high CRTB sickness rate among young working-age people there is the low efficiency of therapy (55 %) [1] and majority of cases of transferring the patients to palliative therapy are observed [2]. Data of many researchers show, that tuberculosis of pregnant women is the reason of many significant complications which make serious maternal and perinatal danger [3,4]. The problem of CRTB for pregnant woman is especially dangerous because the patient should take antimicrobacterial drugs of II grade for a long period and these drugs have teratogenic effect [1,5–7].

Today the specified definitions as to approach of pregnancy management of women with CRTB are absent in the world. In available literature sources we found only small part of works where the medical cases of own observations of such patients are described [8–11].

Aim

Familiarization of physician-practitioners with the clinical features of the course and treatment of CRTB in women during pregnancy.

Materials and methods

4 clinical cases of own observations of the course and treatment of CRTB in women during pregnancy were described. Patients had hospital treatment in pulmonary tuberculosis division No. 3 of phthisiology and pulmonology department of Zaporizhzhia State Medical University (ZSMU) in municipal institution “Zaporizhzhia Regional TB Clinical Dispensary” (ZRTBCD) within 2015–2019 years.

Results of our own observations

Patient 1: woman, 33 years old, was admitted to division of ZRTBCD with diagnosis: multiresistant tuberculosis (MRTB) (2019) of operated right lung (infiltrative). Destruction+, tuberculosis mycobacterium (MBT)+, smear (S)+, culture (C)+, resistance I (isoniazid (H), rifampicin (R), pirazinamide (Z), ethambutol (E)), resistance II (moxifloxacin (Mfx), levofloxacin (Lfx), ofloxacin (Ofx)). Category 4 (ineffectively treated tuberculosis (IETT), chemotherapy 1–2 grade, recurrent course). Condition after operation (2017) – resection of the upper part of right lung due to fibrotic and cavernous tuberculosis. Pulmonary failure (PF) of I level.

General condition at the moment of hospitalization was moderately severe. During skin examination the attention was paid to available small edema of the face skin, papulopustular rash in zone of forehead, cheeks and chin. The rash became stronger in summer under the sunlight and during taking of hot drinks. The patient had been examined by dermatovenerologist who made the diagnosis: rosacea, papulopustular form. Except for dietary habits, the external therapy with use of 15 % azelaic acid gel was prescribed for the patient.

The patient mentioned that she had delay of menstruation. Pregnancy test was made. It was positive. From anamnesis it was known that 4 years ago the patient had tubal pregnancy in left tube and it ended with left-side tubectomy. The patient had 4 pregnancies, 3 deliveries, 1 abortion.

Pelvic organs (PO) ultrasound examination (USE) (transabdominal method) was prescribed by physician. From USE it was known that anechogenic formation of 28×26 mm in diameter with distinct outline and non-homogeneous structure (Fig. 1) was diagnosed in right ovary. Conclusion of PO USE: echo signs of focal mass of right ovary (according to follicular cyst type).

In 2 days control PO USE (transabdominal method) was made: anechogenic formation of 28×27 mm in diameter with distinct outline and homogeneous structure (data as to embryo is absent) (Fig. 2.1), anechogenic formation of 17 mm in diameter with homogeneous structure appeared in the left ovary (Fig. 2.2). Conclusion of PO USE: echo signs of focal masses of both ovaries (according to follicular cyst type).

Control PO USE (transabdominal + vaginal methods) on the 8th day of hospitalization: true data as to available "mistaken" gestational sac in endometrium was not revealed; in area of the left tube left ovary the anechogenic formation of 27 mm in diameter with distinct outline was diagnosed, near to which the anechogenic formation up to 23 mm with hyperechogenic inclusion up to 8 mm in diameter (embryo?) was diagnosed, obvious painfulness was available during compression with sensor. Conclusion of PO USE: echo signs of focal masses of the left ovary, left tubal pregnancy.

The patient was consulted by gynecologist. Provisional diagnosis: tubal pregnancy (on the left side).

On the 9th day of hospitalization the recurrent PO USE (vaginal method) was made: close to the right ovary the formation of 25×21 mm with distinct smooth outline, hyperechogenic walls up to 5 mm – gestational sac of 13×11 mm, embryo of 7–8 mm, heartbeat + and yolk sac up to 2.5 mm were diagnosed. Structure of the left ovary is presented by anechogenic formation up to 23×22 mm in diameter with distinct smooth outline, insufficiently homogenous structure close to follicle up to 15 mm. Conclusion of PO USE: echo signs of progressing extrauterine pregnancy (on the right side) of 5–6 weeks; cyst formation of the left ovary.

After getting results of the last PO USE the patient was operated in Zaporizhzhia Regional Clinical Hospital: laparotomy, right-side tubectomy. Post-operative period passed without peculiarities. In 4 days the patient was transferred to ZRTBCD for proceeding with antimicrobial therapy (AMBT) of MRTB according to scheme of category 4 with consideration of medical sensibility test

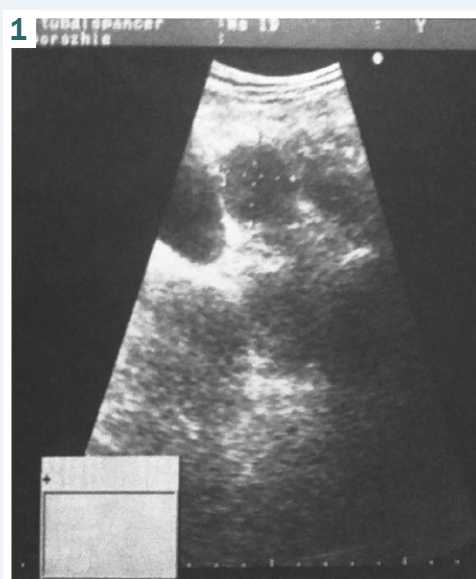


Fig. 1. PO USE: the right ovary.

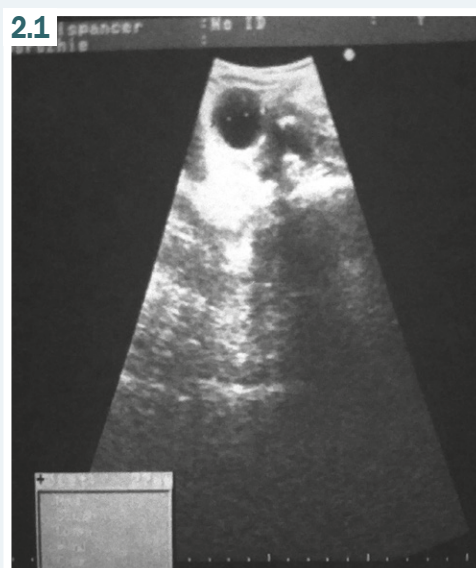
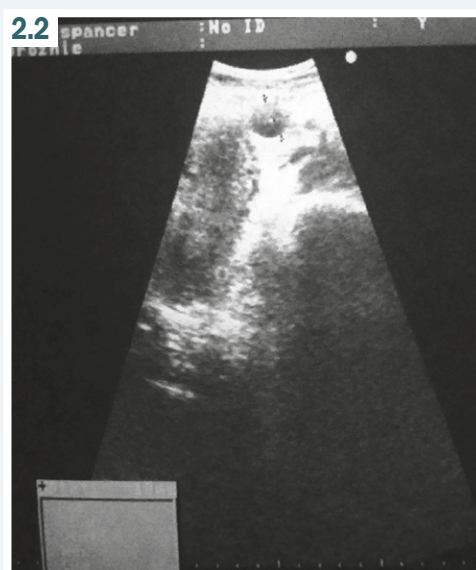


Fig. 2. PO USE:
2.1: the right ovary,
2.2: the left ovary.



(MST). But in 3 month the patient left hospital without permission due to this fact she was discharged from hospital.

Patient 2: woman, 22 years old. She had tuberculosis for one year. At first it was revealed during preventative examination in maternity hospital. Then she had ambulatory treatment course of firstly diagnosed tuberculosis (FDTB) under scheme of category I. But during control examination after termination of maintaining phase MBT was revealed in sputum. Based on this fact the patient was transferred to category 2 for proceeding with therapy due to IETTB. But the patient didn't have tendency for treatment thus she started treatment only in 3 months. Within this period the results of molecular genetic test (MG), sputum culture for liquid medium: MBT+, MG+, rifampicin (Rif)+, resistance I (HRZ, streptomycin (S)) were obtained. Considering obtained data the diagnosis was made: MRTB of the upper part of the left lung (infiltrative). Destruction-, MBT + M- MG+ Rif+ C+, resistance I (HRZS). Category 4 (IETTB).

During 2 months the patient was in waiting list till formation of tendency for treatment. In 2 months the patient willingly came for hospitalization treatment in regional antituberculosis clinical dispensary where AMBT according to category 4 with consideration of MST.

In 2 weeks the patient informed that she was obviously pregnant and pregnancy is undesirable. She was consulted by gynecologist. PO USE was made: in the uterine cavity one fetus id revealed; heart rate (HR) is 140 beats per minute, pregnancy term is 17 weeks. Due to this fact correction of AMBT was made. Aminoglycosides were excluded from the scheme. The patient was transferred to ZRTBCD for determination of approach of further patient management.

The patient condition at the moment of hospitalization in ZRTBCD was satisfactory. From anamnesis it was known that social state of the patient is problem (she lived in private house with 3 children, mother and 3 sisters). It was her fifth pregnancy.

The patient was consulted by gynecologist. PO USE was made: in the uterine cavity one fetus was revealed; heart rate (HR) was 140 beats per minute, pregnancy term was 18 weeks, fetus position was unstable. In one week after treatment in ZRTBCD there was made decision of artificial abortion for medical reasons (MRTB, unstable position of fetus) + undesirable pregnancy, absence of the patient's tendency for treatment of MRTB and problem social factor. For this purpose the patient was transferred to Regional Perinatal Center (RPC).

In 3 days the patient had been transferred again to ZRTBCD where after correction of AMBT she was transferred to district tuberculosis dispensary according to the residence registration in order to proceed with AMBT under the scheme of category 4 with consideration of MST.

Patient 3: woman, 24 years old. Earlier she didn't have tuberculosis. But 1.5 years earlier she had contact with tubercular cohabitant.

Tuberculosis was revealed while visiting the doctor with complaints on long-term cough, subfebrile temperature in the evening during 2 weeks, weight loss for 4 kg within last month, pain in right scapula area. After additional examination of the patient the changes of thoracic

organs (TO) on X-ray film were revealed: in the right lung the cavity of destruction of 4 cm in diameter associated with focal and small focus shadows, fibrosis were revealed; the right root of lung and cupula of diaphragm were deformed. MBT was revealed in sputum. Based on this fact the patient was transferred to hospital treatment in ZRTBCD.

The patient condition at the moment of hospitalization in ZRTBCD was satisfactory. Due to the face skin rash the patient was consulted by dermatologist.

During examination the hyperpigmented marks with distinct outlines and diameter up to 4–5 cm looking like geographical map were revealed on the skin of temporal region, forehead and upper lip. Hyperpigmentation was more obvious during examination under ultraviolet Wood's lamp. Diagnosis of the patient was determined: chloasma. Due to this fact the external therapy with use of azelaic acid was recommended.

By means of MG-method MBT (MBT+ MG+ Rif+) resistant to rifampicin were revealed in sputum. In result the diagnosis was determined: tuberculosis resistant to rifampicin (RifTB), infiltrative tuberculosis of the right lung. Destruction+, MBT+ MG+ Rif+. Category 4 (FDTB).

Analysis of blood for antibodies (AB) against human immunodeficiency virus (HIV) was negative. AMBT was prescribed under category 4 with consideration of MST data.

The patient mentioned that she had delay of menstruation during 1 month. The patient was examined by gynecologist: pregnancy test and PO USE were prescribed.

Pregnancy test was positive.

During PO USE (transabdominal method): the anechogenic focus up to 28 mm (gestational sac) containing one embryo was diagnosed. Conclusion of PO USE: echo signs of pregnancy of 7–8 weeks. From anamnesis: pregnancy I.

During sputum culture for liquid medium MBT resistance to HESZ was revealed. Based on this factor the diagnosis was determined: polyresistant tuberculosis (PRTB), infiltrative tuberculosis of the right lung. Destruction+, MBT+ M+ MG+ Rif+. Category 4 (FDTB). Correction of AMBT with consideration of MST data was made.

According to medical indications (PRTB, generalized destructive tuberculosis in lungs) and at the discretion of patient the artificial termination of pregnancy at the term of 9 weeks was made. Post-operative period passed without peculiarities.

The patient proceeded with AMBT according to the scheme of category 4 with consideration of MST data. The patient was in hospital during whole intensive phase of treatment (6 months). In result the bacterioexcretion stopped in 2 months. During transfer to maintaining phase of AMBT clinical and radiological dynamics was positive.

Patient 4: woman, 23 years old. Earlier she didn't have tuberculosis. Possible contact with tubercular patient was denied. During preventative examination focal lung lesions were revealed in the upper part of the right lung. After additional examination MBT was revealed in sputum. Then the patient was transferred to ZRTBCD for hospital treatment. In ZRTBCD she was additionally examined. The right lung destruction of 0.8 cm in diameter was revealed in tomographic image.

There was determined diagnosis: FDTB of the upper part of the right lung (infiltrative). Destruction+, MBT+ M+. Category 1. The patient started course of AMBT according to scheme of category I.

In 3 weeks after obtaining the result of MST which indicated available resistivity of MBT to HRS the patient was presented to MRTB-council. Diagnosis was determined: MRTB of the upper part of the right lung (infiltrative). Destruction+, MBT+ M+ MG0 C+, resistivity I (HRS). Category 4 (FDTB). Course of AMBT according to scheme of category 4 with consideration of MST data was prescribed.

In 2 months of hospitalization the patient's X-ray picture showed negative dynamics: increase of size of focus in the upper part of the right lung and destruction dimensions in focus from 0.8 cm up to 2 cm in diameter.

In 6 months the patient informed doctor that she had visited her local gynecologist and possibly she was pregnant (9–10 weeks). Then the patient was examined by gynecologist of ZRTBCD: pregnancy of 10 weeks and bacterial vaginosis. PO USE was prescribed.

PO USE (transabdominal method): anechogenic focus up to 50 mm (gestational sac) contains one embryo. Conclusion of PO USE: echo signs of pregnancy of 10–11 weeks. From anamnesis: pregnancy I.

Considering medical indications (MRTB, negative clinical and radiological dynamics) the patient was proposed to make artificial termination of pregnancy. But she refused. Due to refusal AMBT was corrected and aminoglycosides were excluded. The patient was hospitalized within intensive phase of AMBT (8 months). During this period the positive clinical and radiological dynamics was observed: bacterioexcretion stopped in 4 months, destruction was healed.

The patient was discharged for ambulatory treatment and further treatment in maintaining phase.

The patient was responsible as to her own health and treatment of MRTB. According to the information of her local phthisiatrician she gave birth to healthy baby and finished complete course of AMBT with successful treatment result.

Discussion

Having made analysis of literature sources we found that recommendations as to management of pregnant women with CRTB are rather contradictory. With regard to unsuccessful results of treatment and delivery of the patients with MBTB A. Dudnyk and O. Pavel'chuk [7] indicate necessity of artificial termination of pregnancy term of which makes from 12 to 22 weeks [12]. However the part of researchers recommends to perform AMBT of pregnant women with CRTB [8–12] without abortion. Besides the attention is drawn to the fact that management of such patients should be under complex simultaneous control of such specialists as phthisiatrician, obstetrician-gynecologist and neonatologist. Treatment course of CRTB should be complete and appropriate. Moreover all these researchers indicate safety and efficiency of AMBT during pregnancy. According to recommendations of World Health Organization [1] such drugs as amikacin, streptomycin, prothionamide and ethionamide are ex-

cluded from treatment scheme due to their teratogenic effect on fetus.

Among our investigations the artificial termination of pregnancy was inevitable in 3 of 4 presented clinical cases. The first patient had tubal pregnancy. The second patient: together with medical indications for artificial termination of pregnancy (MRTB, unstable position of fetus), the absence of the patient's tendency for treatment of MRTB and problem social factor were observed. The patient informed that pregnancy was undesirable. The third patient had PRTB and generalized destructive tuberculosis in lungs and besides the artificial termination of pregnancy was also her decision. The fourth patient had medical indications for artificial termination of pregnancy (MRTB, negative clinical and radiological dynamics) but she refused. With regard to refusal AMBT was corrected and aminoglycosides were excluded. The patient was responsible as to her own health and treatment of MRTB. Under complex simultaneous control by phthisiatrician, obstetrician-gynecologist and neonatologist she terminated complete course of AMBT with successful treatment result and gave birth to healthy baby.

Conclusions

Summarizing our own observations of the pregnant patients with CRTB the following conclusion can be made: if patients with CRTB have tendency to AMBT and desire to give birth the positive results such as CRTB treatment and delivery of healthy baby will be obtained under complex simultaneous control by phthisiatrician, obstetrician-gynecologist and neonatologist.

Prospects for further research. Further observations over the pregnant women with CRTB including patients with co-infection CRTB/HIV.

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

Надійшла до редакції / Received: 04.07.2019

Після доопрацювання / Revised: 30.10.2019

Прийнято до друку / Accepted: 27.02.2020

Information about authors:

Raznatovska O. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Phthisiology and Pulmonology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0003-2252-9063

Siusiuka V. H., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Fedorec A. V., MD, Phthisiatrician of Pulmonary Tuberculosis Department No. 3, Municipal Institution "Zaporizhzhia Regional TB Clinical Dispensary", Ukraine.

Pyroh A. I., Deputy Chief Medical Officer, Municipal Institution "Zaporizhzhia Regional TB Clinical Dispensary", Ukraine.

Makurina H. I., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Head of the Department of Dermatovenereology and Cosmetology with the Course of Dermatovenereology and Aesthetic Medicine of Postgraduate Education Faculty, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Разнатовська О. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. фізіатрії і пульмонології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сюсюка В. Г., д-р мед. наук, доцент каф. акушерства і гінекології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Федорець А. В., лікар-фтизіатр відділення легеневого туберкульозу № 3, КУ «Запорізький обласний протитуберкульозний клінічний диспансер», Україна.

Пирог А. І., заступник головного лікаря з медичної частини, КУ «Запорізький обласний протитуберкульозний клінічний диспансер», Україна.

Макурина Г. І., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. дерматовенерології та косметології з курсом дерматовенерології і естетичної медицини ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Разнатовская Е. Н., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. фтизиатрии и пульмонологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Сюсюка В. Г., д-р мед. наук, доцент каф. акушерства и гинекологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Федорец А. В., врач-фтизиатр отделения легочного туберкулеза № 3, КУ «Запорожский областной противотуберкулезный клинический диспансер», Украина.

Пирог А. И., заместитель главного врача по медицинской части, КУ «Запорожский областной противотуберкулезный клинический диспансер», Украина.

Макурина Г. И., д-р мед. наук, доцент, зав. каф. дерматовенерологии и косметологии с курсом дерматовенерологии и эстетической медицины ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

- [12] Cabinet of Ministers of Ukraine. (2006, February 15). *Pro realizatsiiu statii 281 Tsyvylnoho kodeksu Ukrainy* 15.02.2006 No. 144 [On the implementation of Article 281 of the Civil Code of Ukraine (No. 144)]. [in Ukrainian]. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/144-2006-%D0%B-F?lang=en>

References

- [1] World Health Organization. (2019). Global tuberculosis report 2019. http://www10.who.int/tb/publications/global_report/en/
- [2] Raznatovska, O. M., & Khudyakov, G. V. (2018). Factors of chemoresistant pulmonary tuberculosis progression in patients receiving palliative treatment. *Zaporozhye medical journal*, 20(3), 388-391. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.3.130829>
- [3] Chopra, S., Siwatch, S., Aggarwal, N., Sikka, P., & Suri, V. (2017). Pregnancy outcomes in women with tuberculosis: a 10-year experience from an Indian tertiary care hospital. *Tropical Doctor*, 47(2), 104-109. <https://doi.org/10.1177/0049475516665765>
- [4] El-Messidi, A., Czuzoj-Shulman, N., Spence, A. R., & Abenhaim, H. A. (2016). Medical and obstetric outcomes among pregnant women with tuberculosis: a population-based study of 7.8 million births. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 215(6), 797-799. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.08.009>
- [5] Rai, D. (2017). Tuberculosis in pregnancy. *Eastern Journal of Medical Sciences*, 1(2), 42-45. <https://atharvapub.net/EJMS/article/view/300>
- [6] Prasad, R., Gupta, N., Singh, A., & Gupta, P. (2015). Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis (M/XDR-TB): management in special situations. *International Journal of Medical Science and Public Health*, 4(12), 1626-1633. <https://doi.org/10.5455/ijmsph.2015.01082015364>
- [7] Dudnyk, A., & Pavel'chuk, O. (2016). Multidrug-resistant tuberculosis in pregnant women: Treatment and birth outcomes. *European Respiratory Journal*, 48. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2016.PA1912>
- [8] Ünlü, M., Çimen, P., Ari, G., & Şevket, Dereli M. (2015). A Successfully Treated Severe Case of Extensively Drug-Resistant Tuberculosis During Pregnancy. *Respiratory Case Reports*, 4(1), 67-71. <https://doi.org/10.5505/respircase.2015.32932>
- [9] Tabarsi, P., Moradi, A., Baghaei, P., Marjani, M., Shamaei, M., Mansouri, N., Chitsaz, E., Farnia, P., Mansouri, D., Masjedi, M., & Velayati, A. (2011). Standardised second-line treatment of multidrug-resistant tuberculosis during pregnancy. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 15(4), 547-550. <https://doi.org/10.5588/ijtld.10.0140>
- [10] Rohilla, M., Joshi, B., Jain, V., Kalra, J., & Prasad, G. R. V. (2016). Multidrug-Resistant Tuberculosis during Pregnancy: Two Case Reports and Review of the Literature. *Case Reports in Obstetrics and Gynecology*, 2016, Article ID 1536281. <https://doi.org/10.1155/2016/1536281>
- [11] Laniado-Laborin, R., Carrera-Lopez, K., & Hernandez-Perez, A. (2018). Unexpected Pregnancy during Treatment of Multidrug-resistant Tuberculosis. *Turkish Thoracic Journal*, 19(4), 226-227. <https://doi.org/10.5152/TurkThoracJ.2018.17062>