

Патологія

Том 14, № 1(39), січень–квітень 2017 р.



Редакційна колегія

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

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

Редакційна рада

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

Pathologia

Volume 14 No. 1 January–April 2017

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

Submit papers are peer-reviewed

© Патологія, 2017

Editorial Board

Editor-in-Chief – V.A. Tumanskiy
Deputy Editor-in-Chief – A.V. Abramov
Executive secretary – S.I. Tertyshniy
T.M. Boichuk (Chernivtsi, Ukraine)
O.V. Gancheva (Zaporizhzhia, Ukraine)
V.I. Cherniy (Kyiv, Ukraine)
S.G. Gichka (Kyiv, Ukraine)
Yu.M. Kolesnik (Zaporizhzhia, Ukraine)
V.D. Markovsky (Kharkiv, Ukraine)
N.S. Mykhailovska (Zaporizhzhia, Ukraine)
A.G. Reznikov (Kyiv, Ukraine)
A.M. Romanenko (Kyiv, Ukraine)
V.A. Shavrin (Zaporizhzhia, Ukraine)
G.A. Shifrin (Zaporizhzhia, Ukraine)
I.S. Shpon'ka (Dnipropetrovsk, Ukraine)
G.G. Skibo (Kyiv, Ukraine)
T.D. Zadorozhnaya (Kyiv, Ukraine)
S.M. Zavorodniy (Zaporizhzhia, Ukraine)
D.D. Zerbino (Lviv, Ukraine)

Scientific Editorial Board

Samir S. Amr (Dhahran, Saudi Arabia)
N.M. Anichkov (St. Petersburg, Russia)
Ya.Ya. Bodnar (Ternopil, Ukraine)
Ch. Busch (Uppsala, Sweden)
P.I. Cherviak (Kyiv, Ukraine)
I.S. Davidenko (Chernivtsi, Ukraine)
O.O. Dyadyk (Kyiv, Ukraine)
Sh. Fukushima (Kanagawa, Japan)
A.S. Gavrich (Kyiv, Ukraine)
A.I. Gozhenko (Odessa, Ukraine)
M. Jelen (Wroclaw, Poland)
F. Joubert (Paris, France)
L.V. Kaktursky (Moscow, Russia)
O.M. Kamyshny (Zaporizhzhia, Ukraine)
M.O. Klimenko (Mykolaiv, Ukraine)
G. Kontogeorgos (Athens, Greece)
G.O. Lezhenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
I.O. Michailiuk (Ivano-Frankivsk, Ukraine)
V.F. Mislitskiy (Chernivtsi, Ukraine)
B. Nathwani (Los Angeles, USA)
M.K. Nedz'ved' (Minsk, Belarus)
M.A. Paltsev (Moscow, Russia)
Yu.A. Pospishil (Lviv, Ukraine)
I.S. Reshetnikova (Kaliningrad, Russia)
V.P. Silchenko (Kyiv, Ukraine)
I.V. Sorokina (Kharkiv, Ukraine)
V.P. Tereschenko (Kyiv, Ukraine)
M.A. Voloshyn (Zaporizhzhia, Ukraine)

Mayakovsky Avenue, 26, Zaporizhzhia,
69035, UKRAINE
Tel./fax: +38 (061) 233-02-34
e-mail: med.jur@zsmu.zp.ua
http://pat.zsmu.edu.ua

Науково-практичний медичний журнал Запорізького державного медичного університету

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

Атестований

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

Журнал включений до WEB OF SCIENCE™

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

Ліцензія Creative Commons



Редакція може публікувати
матеріали, не поділяючи
думки авторів.

Рекомендовано до друку

Вченою радою ЗДМУ
протокол № 10 від 21.03.2017 р.
Підписано до друку
27.03.2017 р.

Редакція:

Начальник редакційно-
видавничого відділу
В.М. Миклашевський
Літературний редактор
І.І. Гаркавцева
Технічний редактор
Ю.В. Полулан

Адреса редакції і видавця:

69035, Україна,
м. Запоріжжя,
пр. Маяковського, 26, ЗДМУ,
тел./факс: +38 (061) 233-02-34,
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. № 4/17.

Оригінальні дослідження

Туманский В. А., Христенко Т. А.

Сравнительная характеристика транскрипционной активности генов *CDH1*, *CTNNB1* и экспрессии кодируемых ими белков E-кадгерина, β -катенина в аденокарциноме желудка кишечного типа

Букина Ю. В., Камышный А. М., Полищук Н. Н., Топол И. А.

Сальмонелла-индуцированные изменения кишечной микробиоты и транскриптома генов иммунного ответа на фоне введения ванкомицина и *Bacteroides fragilis*

Тертишний С. І., Шаврін В. О., Вотева В. Є., Дикий К. Л.

Ультроструктурна характеристика доброякісних та анапластичних менингіом

Завгородний С. Н., Рылов А. И., Данилюк М. Б., Макусий Т. В.

Ретроспективная оценка эффективности тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии в постановке диагноза папиллярный рак щитовидной железы

Моргун В. В., Черненко О. Г., Маловичко И. А., Руденко С. А., Малышева Т. А., Сильченко В. П., Вербова Л. Н.

Медуллобластомы мозжечка у детей: клинко-морфологические сопоставления

Колесник Ю. М., Ганчева О. В., Тищенко С. В.

Патерн експресії ізоформ NOS в аркуатному ядрі гіпоталамуса при експериментальній артеріальній гіпертензії

Сиволап В. В., Курілець Л. О., Добровольська Н. Є., Матсалаєва В. А.

Залежність електричної ектопічної активності серця від надмірної ваги тіла у хворих на гіпертонічну хворобу в поєднанні з ішемічною хворобою серця (за даними добового моніторингу ЕКГ)

Москаленко Р. А., Романюк А. М., Яцишин І. О., Закорко І.-М. С., Піддубний А. М., Чернов Є. О., Морозова-Роше Л. О.

Участь прозапальних білків S100A9/A8 у атерокальцинозі аортальних клапанів

Щербаків А. Ю., Меликова Т. А.

Мониторинг эффективности применения натурального антикоагулянта сулодексид у беременных с аутоиммунным гипертиреозом на фоне гипергомоцистеинемии

Михайловська Н. С., Міняйленко Л. Є.

Стан судинного ендотелію та клініко-метаболическі особливості хворих на ішемічну хворобу серця, що поєднана з неалкогольною жировою хворобою печінки

Жеманюк С. П., Сиволап В. В.

Особливості адреналін-індукованої агрегації тромбоцитів у хворих на есенціальну гіпертензію в гострому періоді півкульного ішемічного інсульту за даними турбідиметричної агрегатометрії

Григорівський В. В., Грицай М. П., Гордій А. С., Лютко О. Б., Григорівська А. В.

Патогістологічні особливості та кореляційні залежності між морфологічними показниками ураження за форми гематогенного остеомієліту абсцес Броді

Щокін О. В.

Консервативне лікування природженого хибного суглоба гомілки в дітей молодшого віку

Original research

4 Tumanskiy V. A., Khrystenko T. A.

Comparative characteristics of the transcriptional activity of *CDH1*, *CTNNB1* genes and the expression levels of E-cadherin, β -catenin proteins, coded by these genes, in intestinal-type gastric adenocarcinoma

12 Bukina Yu. V., Kamyshnyi A. M., Polishchuk N. N., Topol I. A.

Salmonella-induced changes in the gut microbiota and immune response genes transcriptome during administration of vancomycin and *Bacteroides fragilis*

20 Tertishnyi S. I., Shavrin V. A., Voteva W. Ye., Diky K. L.

Ultrastructural characteristic of benign and anaplastic meningiomas

27 Zavgorodny S. N., Rylov A. I., Danyluk M. B., Makusii T. V.

Retrospective evaluation of the efficiency of fine needle aspiration biopsy in the diagnosis of papillary carcinoma of the thyroid gland

31 Morgun V. V., Chernenko O. G., Malovichko I. A., Rudenko S. O., Malysheva T. A., Sil'chenko V. P., Verbova L. M.

Medulloblastomas of the Cerebellum in Children: Clinicopathologic Comparison

38 Kolesnyk Yu. M., Gancheva O. V., Tishchenko S. V.

The pattern of the NOS isoforms expression in arcuate nucleus of hypothalamus in experimental hypertension

43 Syvolap V. V., Kurilets L. O., Dobrovolska N. Ye., Matsalaeva V. A.

The dependence of the ectopic electrical activity of the heart on the excess body weight in patients with essential hypertension in combination with ischemic heart disease (according to the daily ECG monitoring)

49 Moskalenko R. A., Romaniuk A. M., Iashchishyn I. O., Zakorko I.-M. S., Piddubnyi A. M., Chernov Ye. O., Morozova-Roche L. O.

Involvement of proinflammatory S100A9/A8 in the atherocalcinosis of aortic valves

57 Scherbakov A. Yu., Mielikova T. A.

Monitoring the effectiveness of the natural anticoagulant sulodexide in pregnant women with autoimmune hyperthyroidism on the background of hyperhomocysteinemia

62 Mykhailovska N. S., Miniaienko L. Ye.

The state of vascular endothelium, clinical and metabolic features of patients with coronary heart disease combined with nonalcoholic fatty liver disease

68 Zhemanyuk S. P., Syvolap V. V.

Adrenalin-induced platelet aggregation in essential hypertensive patients in the acute phase of hemispheric ischaemic stroke: LTA results

75 Hryhorovskiy V. V., Hrytsai M. P., Hordii A. S., Liutko O. B., Hryhorovska A. V.

Pathohistological features and correlations between morphological indices of damage in the form of hematogenous osteomyelitis – Brodie abscess

83 Shchokin O. V.

Conservative treatment of congenital false joint of shin in newborns and infants

Оригінальні дослідження

Пономаренко О. В.

Лікувальна тактика у хворих із дефектами покривних тканин тулуба та кінцівок травматичного генезу

Андрейчин Ю. М., Коваленко І. С.

Імуногістохімічні зміни слизової оболонки верхньощелепного синуса при аденоматозному поліпозі

Зябіцев С. В., Стародубська О. О.

Стан нейро-гормональних систем при черепно-мозковій травмі та вплив на нього карбацетаму

Школьніков В. С., Вернигородський С. В.

Особливості структурної організації сегментів спинного мозку плодів людини з аненцефалією 17–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку

Чугунов В. В., Ткаченко О. В., Данілевська Н. В.

Особливості астеничного синдрому у хворих на цукровий діабет 2 типу у клінічному та медико-психологічному контексті

Огляди

Рябоконт О. В., Усачова О. В., Камишний О. М., Задирака Д. А., Ткачова О. Л.

Сучасний погляд на ентеровірусну інфекцію як поліетіологічне захворювання (огляд літератури)

Original research

87 Ponomarenko O. V.

Therapeutic management for patients with trunk and extremities integumentary tissues defects of traumatic genesis

91 Andreychyn Yu. M., Kovalenko I. S.

Immunohistochemical changes of maxillary sinus mucosa with underlying adenomatous polyposis

95 Ziablitsev S. V., Starodubskaya O. O.

Condition of neuro-hormonal systems in traumatic brain injury and influence of Carbacetam

100 Shkolnikov V. S., Vernygorodskiy S. V.

Peculiarities of spinal cord segments structural organization in human fetuses with anencephaly of 17–18 weeks of intrauterine development

106 Chugunov V. V., Tkachenko O. V., Danilevska N. V.

Peculiarities of asthenic syndrome in patients with diabetes mellitus type 2 in the clinical and medical-psychological context

Review

110 Riabokon E. V., Usacheva E. V., Kamysheyni O. M., Zadiraka D. A., Tkacheva E. L.

Modern idea of enteroviral infection as a polietiological disease (review of literature)

Журнал «Патологія» включений до «Web of Science»!

Другий науковий медичний журнал Запорізького державного медичного університету «Патологія» увійшов до найпрестижнішої міжнародної наукометричної бази даних Web of Science!

Web of Science:

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

Включення до Web of Science свідчить про визнання міжнародними експертами високого рівня журналів і наукової роботи у ЗДМУ. Новий порядок присудження вчених звань і наукових ступенів, який почав діяти з 1 січня 2016 р., вимагає від здобувачів публікації у виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз, зокрема Web of Science. Журнал «Патологія» повністю відповідає вимогам МОН щодо таких видань.



WEB OF SCIENCE®

Міжнародна індексація журналу / Indexing

Ulrich's Periodicals Directory (США)

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

The National Library of Medicine (США): http://locatorplus.gov/cgi-bin/Pwebrecon.cgi?v1=1&ti=1,1&SearchArg=Pathologia&Search_Code=JALL&SL=None&CNT=25&PID=gATyrKW75IFCFItXUc1ajaR9n&SEQ=20141105025042&SID=3

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Сравнительная характеристика транскрипционной активности генов *CDH1*, *CTNNB1* и экспрессии кодируемых ими белков Е-кадгерина, β -катенина в аденокарциноме желудка кишечного типа

В. А. Туманский, Т. А. Христенко

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

Ключевые слова:

рак желудка, аденокарцинома, *CDH1*, *CTNNB1*, Е-кадгерин, β -катенин.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 4–11

DOI:

10.14739/2310-1237.2017.1.97490

E-mail:

hristenkoTA@i.ua

Молекулярно-генетические аномалии, которые лежат в основе aberrантной экспрессии Е-кадгерина и β -катенина в злокачественных опухолях, изучены недостаточно.

Цель работы – сравнение уровней экспрессии мРНК генов *CDH1* и *CTNNB1* и экспрессии Е-кадгерина и β -катенина опухолевыми клетками аденокарциномы желудка кишечного типа (АКЖКТ).

Материалы и методы. Проведено молекулярно-генетическое (ПЦР–РВ) и иммуногистохимическое исследование АКЖКТ I, II и III клинических стадий у 30 пациентов 49–86 лет, а также 10 образцов нормальной слизистой оболочки желудка.

Результаты. Аденокарцинома желудка кишечного типа в сравнении со слизистой оболочкой желудка обычного гистологического строения характеризуется сниженными показателями экспрессии мРНК гена *CDH1* [$Me=0,14$ (0,03; 0,40)], которые коррелируют с низким уровнем экспрессии опухолевыми клетками Е-кадгерина [$Me=27,59$ УЕОП (23,14; 37,19)], коэффициент корреляции Спирмена = 0,73], а также повышенными показателями экспрессии мРНК гена *CTNNB1* [$Me=4,32$ (2,11; 11,43)], которые коррелируют с высоким уровнем экспрессии опухолевыми клетками β -катенина [$Me=116,65$ УЕОП (110,34; 151,32)], коэффициент корреляции Спирмена = 0,94]. Установлена обратная корреляция между показателями уровня экспрессии мРНК гена *CDH1* и снижением степени гистологической дифференцировки опухоли от G_1 до G_3 (коэффициент корреляции $\gamma = -0,44$); прямая корреляция между сниженными показателями уровня экспрессии мРНК гена *CDH1* и повышенными показателями уровня экспрессии мРНК гена *CTNNB1* в АКЖКТ I клинической стадии; прямая корреляция между показателями уровней экспрессии Е-кадгерина и β -катенина, а также между показателями уровней экспрессии мРНК гена *CTNNB1* и экспрессии Е-кадгерина в АКЖКТ I–II клинической стадии.

Выводы. Снижение транскрипционной активности гена *CDH1* и уровня экспрессии Е-кадгерина, а также повышение транскрипционной активности гена *CTNNB1* и уровня экспрессии β -катенина опухолевыми клетками АКЖКТ играют важную роль в прогрессии карциномы желудка.

Ключові слова:

рак шлунка, аденокарцинома, *CDH1*, *CTNNB1*, Е-кадгерин, β -катенін.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 4–11

Порівняльна характеристика транскрипційної активності генів *CDH1*, *CTNNB1* та експресії кодованих ними білків Е-кадгерину та β -катеніну в аденокарциномі шлунка кишкового типу

В. О. Туманський, Т. О. Христенко

Молекулярно-генетичні аномалії, що є основою aberrантної експресії Е-кадгерину та β -катеніну у злоякісних пухлинах, усе ще залишаються невивченими.

Мета роботи – порівняння рівнів експресії мРНК генів *CDH1* і *CTNNB1* із рівнями експресії кодованих ними білків Е-кадгерину та β -катеніну в аденокарциномі шлунка кишкового типу (АКШКТ).

Матеріали та методи. Здійснено молекулярно-генетичне (ПЛР–РЧ) та імуногістохімічне дослідження АКШКТ I, II та III клінічних стадій у 30 пацієнтів 49–86 років, а також 10 зразків нормальної слизової оболонки шлунка.

Результати. АКШКТ порівняно з нормальною слизовою оболонкою шлунка характеризується зниженими показниками експресії мРНК гена *CDH1* [$Me=0,14$ (0,03; 0,40)], що корелюють із низьким рівнем експресії Е-кадгерину пухлинними клітинами [$Me=27,59$ УЕОП (23,14; 37,19)], коефіцієнт кореляції Спірмена = 0,73], а також підвищеними показниками експресії мРНК гена *CTNNB1* [$Me=4,32$ (2,11; 11,43)], що корелюють із високим рівнем експресії β -катеніну пухлинними клітинами [$Me=116,65$ УЕОП (110,34; 151,32)], коефіцієнт кореляції Спірмена = 0,94]. Виявлена зворотна кореляція між показниками рівня експресії мРНК гена *CDH1* і зниженням ступеня гістологічного диференціювання пухлини від G_1 до G_3 (коефіцієнт кореляції $\gamma = -0,44$); пряма кореляція між зниженими показниками рівня експресії мРНК гена *CDH1* і підвищеними показниками рівня експресії мРНК гена *CTNNB1* в АКШКТ I клінічної стадії; пряма кореляція між показниками рівнів експресії Е-кадгерину та β -катеніну, а також між показниками рівнів експресії мРНК гена *CTNNB1* та експресії Е-кадгерину в АКШКТ I–II клінічних стадій.

Висновки. Зниження транскрипційної активності гена *CDH1* і рівня експресії Е-кадгерину, а також підвищення транскрипційної активності гена *CTNNB1* і рівня експресії β -катеніну пухлинними клітинами АКШКТ відіграють важливу роль у прогресії карциноми шлунка.

Comparative characteristics of the transcriptional activity of *CDH1*, *CTNNB1* genes and the expression levels of E-cadherin, β -catenin proteins, coded by these genes, in intestinal-type gastric adenocarcinoma

V. A. Tumanskiy, T. A. Khrystenko

Molecular genetics abnormalities, underlying aberrant expression of E-cadherin and β -catenin in malignant tumors, are still unclear.

Aim: to compare the mRNA expression levels of *CDH1* and *CTNNB1* genes and the immunohistochemical expression levels of E-cadherin and β -catenin proteins in intestinal-type gastric adenocarcinoma.

Materials and methods. The molecular genetic (real-time PCR) and immunohistochemical studies of the intestinal-type gastric adenocarcinoma (30 patients; I, II and III clinical stages were included) and of the normal stomach mucosa (10 samples) were conducted.

Results. In comparison with the normal stomach mucosa, the intestinal-type gastric adenocarcinoma differs by the reduced transcriptional activity of the *CDH1* gene [Me of relative normalized ratio of mRNA expression level is 0.14 (0.03; 0.40)], which correlates with the low expression level of E-cadherin in cancer cells [Me is 27.59 CUOD (23.14; 37.19), Spearman's correlation coefficient = 0.73], and also by the heightened transcriptional activity of the *CTNNB1* gene [Me of relative normalized ratio of mRNA expression level is 4.32 (2.11; 11.43)], which correlates with the high expression level of β -catenin in cancer cells [Me is 116.65 CUOD (110.34; 151.32), Spearman's correlation coefficient = 0.94]. There is a reverse correlation between the *CDH1* mRNA expression level and the degree of histological differentiation of intestinal-type gastric adenocarcinoma (correlation coefficient $\gamma = -0.44$); there is a direct correlation between the *CTNNB1* and *CDH1* mRNA expression levels (only for the I clinical stage cases); there are a direct correlations between the E-cadherin and β -catenin expression levels, and also between the *CTNNB1* mRNA expression level and the E-cadherin expression level (only for the I-II clinical stage cases).

Conclusion. The data indicate that decrease of transcriptional activity of the *CDH1* gene and E-cadherin expression level, and also increase of transcriptional activity of the *CTNNB1* gene and β -catenin expression level in the cancer cells play a critical role in the process of progression of intestinal-type gastric adenocarcinoma.

Key words:

gastric cancer, adenocarcinoma, *CTNNB1* protein human, *CDH1* protein human, β -catenin, E-Cadherin.

Pathologia

2017; 14 (1), 4–11

Согласно современным представлениям, ключевую роль в поддержании тканевой архитектоники, а также обеспечении межклеточной адгезии играет кадгерин-катениновый комплекс. Изменения в структуре либо функции данного комплекса приводят к утрате адгезионных межклеточных контактов, что, в свою очередь, может стать одним из этапов опухолевой прогрессии [1].

Е-кадгерин (эпителиальный кадгерин) – это трансмембранный гликопротеин, который кодируется геном *CDH1* и является основой кадгерин-катенинового комплекса [2]. Молекула Е-кадгерина включает экстрацеллюлярный и интрацеллюлярный домены: внеклеточный компонент обеспечивает связь между молекулами Е-кадгерина соседних клеток, в то время как внутриклеточный компонент обеспечивает связь молекул Е-кадгерина с молекулами катенина (α -, β -, γ -). Катенины выполняют роль своеобразных «мостиков», связывающих кадгериновые молекулы с актиновым цитоскелетом клетки. Таким образом, интактный кадгерин-катениновый комплекс является основой адгезионных межклеточных контактов, а его нормальное функционирование препятствует реализации инвазивных свойств эпителиоцитов [3]. В целом ряде карцином, включая рак желудка (РЖ), была выявлена aberrantная экспрессия Е-кадгерина. Кроме того, известно, что со снижением степени дифференцировки карциномы снижается и уровень экспрессии Е-кадгерина: утрата адгезионных межклеточных контактов определяет «рассыпной» тип роста низкодифференцированных карцином [1,4].

β -катенин – это протеин, который кодируется геном *CTNNB1* и, помимо участия в поддержании адгезионных межклеточных контактов, функционирует в качестве фактора транскрипции [5]. Свободные молекулы

β -катенина, которые не входят в состав кадгерин-катенинового комплекса, подвергаются протеасомной деградации с участием так называемого «комплекса деструкции» (the β -catenin destruction complex). В случаях, когда посредством Wnt-лиганда клетка получает сигнал к делению, комплекс деструкции блокируется и свободные молекулы β -катенина не подвергаются протеасомной деградации. β -катенин накапливается в цитоплазме и транспортируется в ядро, после чего связывается с комплексом TCF/LEF-1, активируя транскрипцию Wnt-таргетных генов. Как следствие, клетка переходит из фазы G_0 в фазу G_1 с последующей сменой периодов интерфазы [1,5]. Известно, что в карциномах, включая РЖ, выявляются аномальные паттерны экспрессии β -катенина: ядерная экспрессия, цитоплазматическая гиперэкспрессия, утрата мембранной экспрессии. Аберрантная экспрессия β -катенина признана неблагоприятным прогностическим фактором для больных РЖ ввиду наличия тесной взаимосвязи между активностью Wnt/ β -катенинового сигнального пути, уровнем экспрессии β -катенина, а также индексом пролиферации опухолевых клеток [4,5].

Молекулярно-генетические аномалии, которые лежат в основе aberrantной экспрессии Е-кадгерина и β -катенина в злокачественных опухолях, изучены недостаточно. Утрата локуса гена Е-кадгерина *CDH1* на длинном плече 16 хромосомы (16q22) была обнаружена в 24 % РЖ, в 66 % рака пищевода, в 50 % гепатоцеллюлярного рака и в 50–100 % случаев рака молочной железы [1]. Считается, что мутации гена *CDH1* в РЖ отмечаются в меньшей части случаев РЖ, преимущественно в РЖ диффузного типа [2,3]. Мутации гена β -катенина *CTNNB1* выявляются в 60–70 % случаев колоректальных аденом и в РЖ кишечного

типа [1]. При этом наибольший интерес современных исследователей вызывают сбои в эпигенетических механизмах регуляции генов *CDH1* и *CTNNB1*, включающие гиперметилирование и изменение активности малых не кодирующих РНК (miRNA/miR) [3,6].

Цель работы

Сравнить уровни экспрессии мРНК генов *CDH1* и *CTNNB1* с уровнями экспрессии кодируемых ими белков Е-кадгерина и β -катенина в аденокарциноме желудка кишечного типа разной степени гистологической дифференцировки, а также в I, II и III клинической стадии развития опухоли.

Материалы и методы исследования

Проведено комплексное патоморфологическое исследование аденокарциномы желудка кишечного типа (АКЖКТ) в резецированном желудке 30 пациентов 49–86 лет. На основании действующей классификации TNM (TNM Classification of Malignant Tumours, 7th ed.) [7] с учётом клинической стадии развития рака выделены 3 группы наблюдения: I группа – 10 наблюдений – рак желудка I клинической стадии ($T_1 N_{0-1} M_0$, $T_2 N_0 M_0$), II группа – 10 наблюдений – рак желудка II клинической стадии ($T_1 N_2 M_0$, $T_2 N_1 M_0$, $T_3 N_0 M_0$) и III группа – 10 наблюдений – рак желудка III клинической стадии ($T_2 N_2 M_0$, $T_3 N_{1-2} M_0$, $T_4 N_0 M_0$). Группу контроля составили 10 образцов слизистой оболочки желудка обычной гистологической структуры. В исследованных АКЖКТ высокодифференцированные (G_1) карциномы составили 6,67 %, умеренно дифференцированные (G_2) карциномы – 26,66 %, низкодифференцированные (G_3) аденокарциномы – 66,67 %.

Образцы опухоли фиксировали в 10 % нейтральном забуференном формалине и заливали в парафин. Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование проводили по стандартной методике [8] с использованием моноклональных антител против Е-кадгерина (Clone NCH-38, DAKO, USA), β -катенина (Clone β -Catenin-1, DAKO, USA), а также системы визуализации EnVisionFLEX с диаминобензидином (DAKO, USA). Уровень экспрессии Е-кадгерина и β -катенина клетками аденокарциномы желудка оценивали методом фотоцифровой морфометрии [9] с использованием программы Image J [10] в условных единицах оптической плотности (УЕОП) и градуировали на 4 уровня: 0–20 УЕОП – негативная реакция, 21–50 УЕОП – низкий уровень экспрессии, 51–100 УЕОП – умеренный уровень экспрессии, более 100 УЕОП – высокий уровень экспрессии.

Молекулярно-генетические исследования проводили в 30 образцах АКЖКТ и в 10 образцах слизистой оболочки желудка обычной гистологической структуры, фиксированных в формалине и залитых в парафин. Для получения тотальной РНК ткани депарафинировали в ксилоле и регидратировали в этаноле нисходящих концентраций (100 %, 96 %, 70 %). Далее полученные образцы гомогенизировали пестиком в ступке и помещали в пробирки «Ахуген» (USA) для проведения повторной депарафинизации и регидратации. Выделение

тотальной РНК проводили с помощью набора «Trizol RNA Prep 100» (Isogen Lab., LTD, Russia).

Для проведения обратной транскрипции и получения кДНК использовали набор «ОТ-1» (Syntol, Russia). Реакционная смесь общим объёмом 25 мкл содержала 1 мкл Random-6 праймера, 2 мкл тотальной РНК, 8,5 мкл деионизированной H_2O , очищенной от нуклеаз, 12,5 мкл реакционной смеси (2,5x) и 1 мкл ревертазы MMLV-RT. Обратную транскрипцию проводили при 45 °C в течение 45 минут с последующим нагреванием в течение 5 минут при 92 °C.

Для определения уровня экспрессии мРНК использовали амплификатор CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», USA) и набор реактивов для проведения ПЦР–РВ в присутствии SYBR Green R-402 (Syntol, Russia). Финальная реакционная смесь для амплификации включала краситель SYBR Green, ДНК-полимеразу SynTaq с антителами, подавляющими активность фермента, по 0,2 мкл прямого и обратного специфических праймеров, dNTP-дезоксинуклеозидтрифосфат, 1 мкл матрицы (кДНК). Реакционную смесь доводили до общего объёма 25 мкл путём добавления деионизированной H_2O . Специфические пары праймеров (5'–3') для анализа исследуемых и референтного гена были подобраны при помощи программного обеспечения Primer-Blast и изготовлены фирмой Thermo Scientific, USA (табл. 1).

Амплификация состояла из 45–50 циклов и проводилась при следующих условиях: денатурация – 95 °C, 15 секунд; отжиг – 59–61 °C, 30–60 секунд; элонгация – 72 °C, 30 секунд. В качестве референт-гена был использован ген β -актина (*ACTB* gene). Относительное нормализованное количество кДНК целевых генов определяли методом $\Delta\Delta Ct$. Статистический анализ данных ПЦР проводили при помощи программного обеспечения CFX Manager™ (Bio-Rad, USA). В эксперимент были включены негативные контроли: без добавления кДНК матрицы в реакцию ПЦР, без добавления мРНК матрицы в синтез кДНК, без добавления фермента в синтез кДНК. Каждая реакция амплификации была выполнена на индивидуальных образцах в трёх повторах.

Статистическую обработку полученных данных проводили в персональном компьютере в программе «Statistica® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., лицензия № AXXR712D833214FAN5). Вычисляли медиану (Me), нижний и верхний квартили (Q_1 , Q_3); сравнение проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни, а также непараметрического критерия Краскела–Уоллиса; изучение связей между исследуемыми параметрами проводили с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Результаты считали статистически значимыми на уровне 95 % ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

В результате молекулярно-генетического исследования установлено, что АКЖКТ в сравнении со слизистой оболочкой желудка обычного гистологического строения отличается пониженной транскрипционной активностью гена Е-кадгерина *CDH1*: медиана относительного нормализованного соотношения уровня экспрессии мРНК гена Е-кадгерина *CDH1* составила

0,14 (0,03; 0,40). При этом выявлены статистически значимые различия между медианами уровня экспрессии мРНК гена *CDH1* в АЖКТ I, II и III клинической стадии, в которых медиана экспрессии мРНК гена *CDH1* составила 0,12 (0,04; 0,14), 0,48 (0,38; 0,67) и 0,02 (0,01; 0,15), соответственно (рис. 1).

Полученные данные согласуются с результатами проведенного ИГХ исследования (табл. 2), в ходе которого установлено, что АЖКТ характеризуется низким уровнем мембранно-цитоплазматической экспрессии опухолевыми клетками Е-кадгерина: медиана экспрессии данного маркера составила 27,59 УЕОП (23,14; 37,19). Кроме этого, выявлены статистически значимые различия между медианами уровня экспрессии Е-кадгерина в АЖКТ I, II и III клинической стадии, в которых медиана экспрессии Е-кадгерина составила 28,03 УЕОП (24,55; 30,42), 41,86 УЕОП (28,26; 52,23) и 22,30 УЕОП (20,68; 25,56) соответственно ($p < 0,05$).

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что в АЖКТ транскрипционная активность гена *CDH1* и уровень ИГХ экспрессии кодируемого им Е-кадгерина значительно снижены по сравнению с таковыми в слизистой оболочке желудка обычного строения. Согласно современным литературным данным, ген *CDH1* является опухолевым супрессорным геном, снижение уровня его экспрессии наблюдается в целом ряде злокачественных новообразований, включая РЖ [1–3, 11]. Снижение уровня ИГХ экспрессии Е-кадгерина варьирует в широком диапазоне, что связано с неоднородностью исследуемого материала, включающего РЖ кишечного и диффузного типов. При этом авторы сходятся во мнении, что снижение уровня экспрессии Е-кадгерина характерно преимущественно для РЖ диффузного типа [11], в то время как вопрос об экспрессии гена *CDH1* и белка Е-кадгерина в РЖ кишечного типа слабо освещен в научной литературе. Большинство современных авторов связывают значительное снижение уровня экспрессии Е-кадгерина в процессе желудочного канцерогенеза с эпигенетическими аномалиями [3, 11]. В частности, гиперметилирование CpG-островков внутри проксимального промотора 50 гена *CDH1* ассоциируется со снижением транскрипционной активности соответствующего гена, следовательно, и со снижением экспрессии молекул Е-кадгерина. В настоящее время данная аномалия признана «классическим» механизмом деактивации Е-кадгерина, работающим в РЖ диффузного типа [3]. Возрастающая активность miR-200 была предложена в качестве альтернативного механизма, регулирующего уровень экспрессии Е-кадгерина. Известно, что представители семейства miR-200 способны регулировать активность ZEB1 and ZEB2 – факторов, подавляющих транскрипцию гена *CDH1* [12, 13]. Кроме того, J. Carvalho et al. (2012) установили, что деактивация miR-101 служит механизмом, подавляющим транскрипцию гена *CDH1* в АЖКТ [14]. Снижение уровня экспрессии Е-кадгерина в клетках РЖ ассоциировано с активацией инвазивного роста, а также процессов клеточной миграции [1, 3].

В результате молекулярно-генетического исследования было установлено, что АЖКТ в сравнении со слизистой оболочкой желудка обычного гистологи-

Таблица 1. Специфические пары праймеров, которые были использованы для анализа исследуемых и референтного генов

Ген	Праймер	Tm, °C	Product length (bp)	Exon junction
E-cadherin (<i>CDH1</i>)	F = CAGTACAACGACCCCAACCCA	59.89	63	2060/2061
	R = ACCCACCTCTAAGGCCATCT	59.96		
β -catenin (<i>CTNNB1</i>)	F = CCTGTTCCCTGAGGGTATT	58.4	66	220/221
	R = CCATTGTCCACGCTGGATT	58.82		
β -actin (<i>ACTB</i>)	F = CCTTTGCCGATCCGCCG	61.30	59	78/79
	R = GATATCATCATCCATGGTGAGCTGG	61.15		

Таблица 2. Уровни относительной нормализованной экспрессии мРНК генов *CDH1*, *CTNNB1*, а также иммуногистохимической экспрессии кодируемых ими Е-кадгерина и β -катенина

Ген/ кодируемый белок	Медиана уровня экспрессии мРНК генов	Медиана уровня экспрессии кодируемых генами белков в УЕОП
<i>CDH1</i> /Е-кадгерин	0,14 (0,03; 0,40)	27,59 УЕОП (23,14; 37,19)
<i>CTNNB1</i> /β-катенин	4,32 (2,11; 11,43)	116,65 УЕОП (110,34; 151,32)

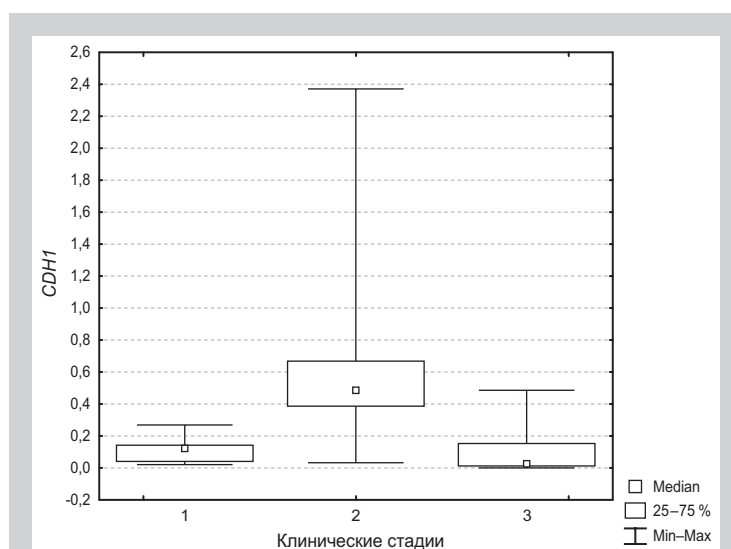
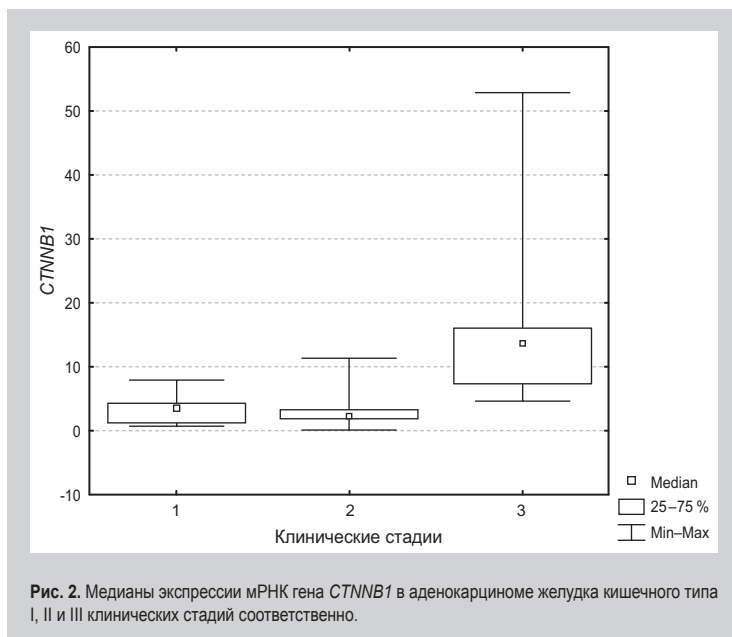


Рис. 1. Медианы экспрессии мРНК гена *CDH1* в аденокарциноме желудка кишечного типа I, II и III клинических стадий соответственно.

ческого строения отличается повышенной транскрипционной активностью гена β -катенина *CTNNB1*, о чём свидетельствует повышенный уровень экспрессии опухолевыми клетками мРНК гена β -катенина *CTNNB1* (медиана относительного нормализованного соотношения уровня экспрессии мРНК гена *CTNNB1* клетками АЖКТ составила 4,32 (2,11; 11,43)) (табл. 2). При этом установлены статистически значимые различия между медианами уровня экспрессии мРНК гена *CTNNB1* в АЖКТ I, II и III клинической стадии, в которых медиана экспрессии мРНК этого гена составила 3,63 (1,21; 4,36), 2,42 (1,91; 3,20) и 13,80 (7,37; 16,11), соответственно (рис. 2).

Полученные данные согласуются с результатами ИГХ исследования (табл. 2). Установлено, что АЖКТ характеризуется высоким уровнем мембранно-цитоплазматической экспрессии опухолевыми клетками β -катенина, медиана экспрессии которого составила 116,65 УЕОП (110,34; 151,32). Выявлены также статистически значимые различия между медианами уровня



экспрессии β -катенина в АЖКТ I, II и III клинической стадии, в которых медиана экспрессии β -катенина составила 114,92 УЕОП (109,57; 118,19), 110,76 УЕОП (108,46; 114,45) и 162,60 УЕОП (132,29; 170,81) соответственно ($p < 0,05$).

Таким образом, нами получены данные о том, что в АЖКТ повышенная транскрипционная и трансляционная активность гена *CTNNB1* с повышенным уровнем ИГХ экспрессии β -катенина значительно превышают таковые в слизистой оболочке желудка обычного строения. Литературные данные, касающиеся особенностей экспрессии мРНК гена *CTNNB1* и кодируемых им молекул β -катенина в РЖ, варьируют. В ряде исследований отмечено значительное повышение уровня экспрессии мРНК гена *CTNNB1*, а также иммуногистохимической экспрессии β -катенина в АЖКТ [1,6,15], что согласуется с полученными нами данными. Вместе с тем были получены данные о том, что для РЖ характерно снижение уровня ИГХ экспрессии β -катенина, при этом авторы отмечают, что данная тенденция характерна преимущественно для диффузной формы РЖ, а в кишечной форме РЖ может иметь место как нормальный, так и повышенный уровень экспрессии данного маркера [4,16]. Повышение уровня иммуногистохимической экспрессии β -катенина в АЖКТ может быть связано с мутациями гена *CTNNB1*, следствием которых являются структурные изменения NH_2 -терминального домена β -катенина, ассоциированные с утратой Ser33, Ser37 и Tre41 аминокислот. В результате таких изменений не происходит фосфорилирования свободных молекул β -катенина киназой GSK3 β , входящей в состав комплекса деструкции, следовательно, эти молекулы не подвергаются протеасомной деградации и накапливаются в цитоплазме, а затем и в ядре опухолевых клеток [1,17]. Другой возможной причиной повышения уровня транскрипционной активности гена *CTNNB1* и ИГХ экспрессии β -катенина может быть активация Wnt/ β -катенинового сигнального пути, вследствие

которой работа комплекса деструкции блокируется, а молекулы β -катенина, накапливаясь в цитоплазме и клеточном ядре, выполняют функцию активаторов транскрипции Wnt-таргетных генов [16]. Последние, в свою очередь, ответственны за митотическую активность, процессы пролиферации и дифференцировки новых клеточных поколений. В настоящее время известно, что для многих карцином, включая РЖ, колоректальный рак, рак молочной железы, характерна избыточная активность Wnt/ β -катенинового сигнального пути, приводящая к усилению процессов роста и пролиферации опухолевых клеток [6].

В результате корреляционного анализа в АЖКТ выявлена прямая сильная корреляционная связь между повышенным значением относительной нормализованной экспрессии мРНК гена *CTNNB1* и высоким показателем уровня экспрессии опухолевыми клетками β -катенина: коэффициент корреляции Спирмена составил 0,94. Имеет место прямая сильная корреляционная связь между повышенной экспрессией мРНК гена *CTNNB1* и высокими показателями уровня экспрессии опухолевыми клетками β -катенина в АЖКТ I, II и III клинической стадии: коэффициент корреляции Спирмена в АЖКТ I клинической стадии составил 0,92, в АЖКТ II клинической стадии – 0,97 и в АЖКТ III клинической стадии – 0,90.

Полученные в нашем исследовании данные отражают тесную ассоциацию между уровнями транскрипционной активности генов *CTNNB1*, *CDH1*, а также уровнями экспрессии кодируемых ими молекул. В АЖКТ выявлена прямая сильная корреляционная связь между сниженным значением относительной нормализованной экспрессии мРНК гена *CDH1* и низким показателем уровня экспрессии опухолевыми клетками Е-кадгерина: коэффициент корреляции Спирмена составил 0,73. Установлена прямая сильная корреляционная связь между сниженным значением экспрессии мРНК гена *CDH1* и низким показателем уровня экспрессии опухолевыми клетками Е-кадгерина в АЖКТ I, II и III клинической стадии: коэффициент корреляции Спирмена в АЖКТ I клинической стадии составил 0,95, в АЖКТ II клинической стадии – 0,92 и в АЖКТ III клинической стадии – 0,89.

Взаимосвязь между aberrантными уровнями экспрессии Е-кадгерина и β -катенина находит обоснование в устоявшихся представлениях о кадгерин-катениновом комплексе и Wnt/ β -катениновом сигнальном пути: снижение уровня экспрессии Е-кадгерина влечёт за собой возрастание количества свободных молекул β -катенина в цитоплазме, что, в свою очередь, приводит к аккумуляции молекул β -катенина в ядре с последующей активацией транскрипции Wnt-таргетных генов [1]. Кроме того, L. A. Aparicio et al. (2012) установили, что активация протоонкогенов c-Met и Src, относящихся к Wnt-таргетным генам, влечёт за собой запуск фосфорилирования цитоплазматического домена Е-кадгерина с последующей его убиквитин-зависимой деградацией [18]. Таким образом, формируется *circulus vitiosus*: снижение уровня экспрессии Е-кадгерина приводит к накоплению β -катенина с последующей активацией Wnt-таргетных генов, которая, в свою очередь, приводит к снижению экспрессии Е-кадгерина.

В результате проведённого L. Li-Fu et al. (2014) мета-анализа показано, что снижение уровня экспрессии Е-кадгерина и/или aberrантная экспрессия β -катенина в РЖ ассоциируются с ослаблением адгезионных межклеточных контактов, инфильтративным ростом и метастазированием опухолевых клеток [5].

Кроме этого, нами выявлена корреляционная связь между снижением уровня относительной нормализованной экспрессии мРНК гена *CDH1* в АЖКТ ($Me=0,14$ (0,03; 0,40)) и ухудшением степени гистологической дифференцировки опухоли от G1 до G3. Коэффициент корреляции γ для вышеназванных параметров составил -0,44. В настоящее время известно, что низкий уровень экспрессии Е-кадгерина в наибольшей мере характерен для РЖ диффузного типа, а также для низкодифференцированных карцином [1,11]. Ассоциация между утратой молекул Е-кадгерина опухолевыми клетками и степенью гистологической дифференцировки РЖ находит отражение в микроскопическом строении низкодифференцированной карциномы, для которой характерны солидные пласты раковых клеток, а также разобщённые опухолевые клетки, утратившие адгезионные связи [4].

В АЖКТ I и II клинических стадий нами выявлен ряд дополнительных корреляций между транскрипционной активностью генов *CTNNB1* и *CDH1* и уровнем продукции опухолевыми клетками кодируемых ими β -катенина и Е-кадгерина. Установлено, что для АЖКТ I клинической стадии характерна прямая сильная корреляционная связь между показателями относительной нормализованной экспрессии мРНК генов *CTNNB1* и *CDH1* (коэффициент корреляции Спирмена составил 0,97). Имеет место прямая сильная корреляционная связь между показателями относительной нормализованной экспрессии мРНК гена *CTNNB1* и экспрессии опухолевыми клетками Е-кадгерина в АЖКТ I и II клинической стадии: коэффициент корреляции Спирмена составил 0,92 для обеих исследуемых групп. В АЖКТ I и II клинической стадии выявлена также прямая сильная корреляционная связь между показателями уровня ИГХ экспрессии β -катенина и Е-кадгерина: в АЖКТ I и II клинических стадий коэффициент корреляции Спирмена составил 0,90 и 0,93 соответственно.

Согласно современным литературным данным, имеется связь между уровнем иммуногистохимической экспрессии Е-кадгерина и глубиной инвазии опухоли (T1/T2 vs T3/T4), наличием метастазов в лимфатических узлах, а также отдалённых метастазов [19]. X. B. Xing et al. (2013) установили, что снижение уровня экспрессии Е-кадгерина ассоциировано со снижением общей выживаемости больных РЖ [19]. Кроме того, имеется связь между aberrантной экспрессией β -катенина в РЖ и степенью гистологической дифференцировки опухоли, наличием метастазов в лимфатических узлах, а также отдалённых метастазов [5]. Согласно результатам нашего исследования, ассоциация между уровнем экспрессии β -катенина в АЖКТ и степенью гистологической дифференцировки опухоли не была выявлена, при этом имеются статистически значимые различия между уровнями экспрессии исследованных протеинов в АЖКТ I, II, III клинических стадий.

Не вызывает сомнений тот факт, что нарушения экспрессии молекул межклеточной адгезии Е-кадгерина и β -катенина играют немаловажную роль в прогрессии РЖ. Для АЖКТ характерны изменения не только уровня экспрессии мРНК генов *CTNNB1* и *CDH1*, но и изменения уровня экспрессии кодируемых ими белков. При этом молекулярно-генетические механизмы дисрегуляции функционирования кадгерин-катенинового комплекса, а также Wnt/ β -катенинового сигнального пути в желудочном канцерогенезе пока ещё не уточнены. Изучение данных механизмов может сыграть решающую роль в совершенствовании подходов к диагностике и прогнозированию течения РЖ.

Выводы

1. Аденокарцинома желудка кишечного типа характеризуется сниженными показателями экспрессии мРНК гена *CDH1* [$Me=0,14$ (0,03; 0,40)], которые коррелируют с низким уровнем мембранно-цитоплазматической экспрессии опухолевыми клетками Е-кадгерина [$Me=27,59$ УЕОП (23,14; 37,19), коэффициент корреляции Спирмена=0,73].

2. Для аденокарциномы желудка кишечного типа характерно возрастание транскрипционной активности гена *CTNNB1* [$Me=4,32$ (2,11; 11,43)], которое ассоциировано с высоким уровнем мембранно-цитоплазматической экспрессии опухолевыми клетками β -катенина [$Me=116,65$ УЕОП (110,34; 151,32), коэффициент корреляции Спирмена=0,94].

3. Снижение уровня экспрессии мРНК гена *CDH1* в аденокарциноме желудка кишечного типа ассоциировано с ухудшением степени гистологической дифференцировки опухоли от G1 до G3 (коэффициент корреляции $\gamma=-0,44$).

4. Аденокарциному желудка кишечного типа I клинической стадии отличает наличие прямой сильной корреляционной связи между сниженными показателями относительной нормализованной экспрессии мРНК гена *CDH1* и повышенными показателями относительной нормализованной экспрессии мРНК гена *CTNNB1* (коэффициент корреляции Спирмена=0,97).

5. Аденокарциному желудка кишечного типа I и II клинических стадий отличает наличие прямой сильной корреляционной связи между низким уровнем иммуногистохимической экспрессии Е-кадгерина и высоким уровнем иммуногистохимической экспрессии β -катенина (коэффициент корреляции Спирмена=0,90 и 0,93 соответственно), а также наличие прямой сильной корреляционной связи между повышенными показателями относительной нормализованной экспрессии мРНК гена *CTNNB1* и низким уровнем иммуногистохимической экспрессии Е-кадгерина (коэффициент корреляции Спирмена=0,92 в обеих исследуемых группах).

Благодарность: авторы выражают благодарность профессору А. М. Камышному и сотрудникам ПЦР-лаборатории учебного медико-лабораторного центра Запорожского государственного медицинского университета, с участием которых выполнены молекулярно-генетические исследования.

Список литературы

- [1] Caveolin-1, E-cadherin and β -catenin in Gastric Carcinoma, Precancerous Tissues and Chronic Non-atrophic Gastritis / G. Sun, J. Wu, J. Wu et al. // Chinese Journal of Cancer Research. – 2012. – Vol. 24. – P. 23–28.
- [2] Liu X. E-Cadherin and Gastric Cancer: Cause, Consequence, and Applications / X. Liu, K. Chu // BioMed Research International. – 2014. – №2014. – P. 89–98.
- [3] E-cadherin dysfunction in gastric cancer – cellular consequences, clinical applications and open questions / P. Carneiro, M.S. Fernandes, J. Figueiredo et al. // FEBS Letters. – 2012. – Vol. 586. – Issue 18. – P. 2981–9.
- [4] Clinicopathological significance of E-cadherin, b-catenin and p53 expression in gastric adenocarcinoma / M.R. Zali, O. Moaven, H. Asadzadeh Aghdai et al. // Journal of Research in Medical Sciences. – 2009. – Vol. 14. – P. 239–247.
- [5] Abnormal β -catenin immunohistochemical expression as a prognostic factor in gastric cancer: A meta-analysis / Li-Fu Li, Zheng-Jie Wei, Hong Sun, Bo Jiang // World Journal of Gastroenterology. – 2014. – Vol. 20. – P. 12313–12321.
- [6] Expression of the E-cadherin/ β -catenin/tcf-4 pathway in gastric diseases with relation to Helicobacter pylori infection: clinical and pathological implications / X.W. Yu, Q. Xu, Y. Xu et al. // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. – 2014. – Vol. 15. – P. 215–220.
- [7] Sobin L.H. International Union Against Cancer (UICC). TNM Classification of Malignant Tumours / L.H. Sobin, M.K. Gospodarowicz, C. Wittekind. – New York : Wiley-Blackwell, 2009. – 50 pp.
- [8] Diagnostic Immunohistochemistry / ed. by D.J. Dabbs. – 3rd ed. – Philadelphia: Saunders/Elsevier, 2010. – 951 pp.
- [9] Патент України на корисну модель № 99314 Україна, МПК (2015) G01N 21/00, G06K 9/00. Спосіб фотоцифрової морфометрії імуністохімічних препаратів / В.О. Туманський, А.В. Євсєєв, І.С. Коваленко, М.Д. Зубко; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – №1014 14 103; заявл. 29.12.2014; опубл. 25.05.11 // Бюлетень. – №10.
- [10] Rasband W.S. National Institutes of Health [Електронний ресурс] / W.S. Rasband, J. Image. – Bethesda, Maryland. – Режим доступу: USA – <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997–2016.
- [11] Chan A.O. E-cadherin in gastric cancer / A.O. Chan // World Journal of Gastroenterology. – 2006. – Vol. 12. – P. 199–203.
- [12] The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer cell migration by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2 / M. Korpai, E.S. Lee, G. Hu, Y. Kang // The Journal of Biological Chemistry. – 2008. – Vol. 283. – P. 14910–14914.
- [13] The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2 / S.M. Park, A.B. Gaur, E. Lengyel, E.M. Peter // Genes & Development. – 2008. – Vol. 22. – P. 894–907.
- [14] Lack of microRNA-101 causes E-cadherin functional deregulation through EZH2 up-regulation in intestinal gastric cancer / J. Carvalho, N.C. van Grieken, P.M. Pereira et al. // The Journal of Pathology. – 2012. – Vol. 228. – P. 31–44.
- [15] b-Catenin (CTNNB1) Gene Amplification: A New Mechanism of Protein Overexpression in Cancer / G. Suriano, N. Vrcelj, J. Senz et al. // Genes, Chromosomes and Cancer. – 2005. – №42. – P. 238–246.
- [16] Expression of E-cadherin and WNT-pathway proteins β -catenin, APC, TCF-4 and surviving in gastric adenocarcinoma: clinical and pathological implication / R.R. Lins, C.T. Oshima, L.A. de Oliveira et al. // Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo). – 2016. – №29. – P. 227–231.
- [17] β -Катенин: структура, функции и роль в опухолевой трансформации эпителиальных клеток / А.В. Исаева, А.П. Зима, И.П. Шабалова и др. // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2015. – Т. 70. – №4. – С. 475–483.
- [18] Biological influence of Hakai in cancer: a 10-year review / L.A. Aparicio, M. Valladares, M. Blanco et al. // Cancer and Metastasis Reviews. – 2012. – Vol. 31. – P. 375–386.
- [19] The prognostic value of E-cadherin in gastric cancer: A meta-analysis / X.B. Xing, Y.B. Tang, G. Yuan et al. // International Journal of Cancer. – 2013. – №132. – P. 2589–2596.
- [4] Zali, M. R., Moaven, O., Asadzadeh Aghdai, H., Ghafarzadegan, K., Ahmadi, K. J., Farzadnia, M., et al. (2009) Clinicopathological significance of E-cadherin, b-catenin and p53 expression in gastric adenocarcinoma. *Journal of Research in Medical Sciences*, 14, 239–247.
- [5] Li, L. F., Wei, Z. J., Sun, H., & Jiang, B. (2014) Abnormal β -catenin immunohistochemical expression as a prognostic factor in gastric cancer: A meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology*, 20(34), 12313–12321. doi: 10.3748/wjg.v20.i34.12313.
- [6] Yu, X. W., Xu, Q., Xu, Y., Gong, Y. H., & Yuan, Y. (2014) Expression of the E-cadherin/ β -catenin/tcf-4 pathway in gastric diseases with relation to Helicobacter pylori infection: clinical and pathological implications. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(1), 215–220. doi: 10.7314/APJCP.2014.15.1.215.
- [7] Sobin, L. H., Gospodarowicz, M. K., & Wittekind, C. (2009) International Union Against Cancer (UICC). TNM Classification of Malignant Tumours. New York: Wiley-Blackwell.
- [8] Dabbs, D. J. (Ed.) (2010). Diagnostic Immunohistochemistry. Philadelphia: Saunders/Elsevier.
- [9] Tumanskyi, V. O., Yevsieiev, A. V., Kovalenko, I. S., & Zubko, M. D. (patentee) (2015) Patent Ukrainy na korysnu model №9 9314 Ukraina, MPK (2015) G01N 21/00, G06K 9/00. Sposib fototsyfrovoy morfometrii imunohistokhimichnykh preparativ [Ukraine patent for utility model №99314 Ukraine, IPC (2015) G01N 21/00, G06K 9/00. Method of photo digital morphometrical study of immunohistochemical micropreparations]. *Biuletyn*, 10. [in Ukrainian].
- [10] Rasband, W. S. (1997–2016) Image. J. Bethesda, Maryland. Retrieved from: <http://imagej.nih.gov/ij/>.
- [11] Chan, A. O. (2006) E-cadherin in gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 12(2), 199–203. doi: 10.3748/wjg.v12.i2.199.
- [12] Korpai, M., Lee, E. S., Hu, G., & Kang, Y. (2008) The miR-200 family inhibits epithelial-mesenchymal transition and cancer cell migration by direct targeting of E-cadherin transcriptional repressors ZEB1 and ZEB2. *The Journal of Biological Chemistry*, 283(22), 14910–14914. doi: 10.1074/jbc.C800074200.
- [13] Park, S. M., Gaur, A. B., Lengyel, E., & Peter, E. M. (2008) The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2. *Genes & Development*, 22(7), 894–907. doi: 10.1101/gad.1640608.
- [14] Carvalho, J., van Grieken, N. C., Pereira, P. M., Sousa, S., Tijssen, M., Buffart, T. E., et al. (2012) Lack of microRNA-101 causes E-cadherin functional deregulation through EZH2 up-regulation in intestinal gastric cancer. *The Journal of Pathology*, 228(1), 31–44. doi: 10.1002/path.4032.
- [15] Suriano, G., Vrcelj, N., Senz, J., Ferreira, P., Masoudi, H., Cox, K., et al. (2005) b-Catenin (CTNNB1) Gene Amplification: A New Mechanism of Protein Overexpression in Cancer. *Genes, Chromosomes and Cancer*, 42, 238–46. doi: 10.1002/gcc.20135.
- [16] Lins, R. R., Oshima, C. T., de Oliveira, L. A., Silva, M. S., Mader, A. M., & Waisberg, G. (2016) Expression of E-cadherin and WNT-pathway proteins β -catenin, APC, TCF-4 and surviving in gastric adenocarcinoma: clinical and pathological implication. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*, 29, 227–231. doi: 10.1590/0102-6720201600040004.
- [17] Isaeva, A. V., Zima, A. P., Shabalova, I. P., Ryazantseva, N. V., Vasil'eva, O. A., Kasoayn, K. T., et al. (2015) β -Katenin: struktura, funkci i rol' v opukholevoj transformacii e'pitelial'nykh kletok [SS-catenin: structure, function and role in malignant transformation of epithelial cells]. *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk*, 70(4), 475–483. [in Russian].
- [18] Aparicio, L. A., Valladares, M., Blanco, M., Alonso, G., & Figueroa, A. (2012) Biological influence of Hakai in cancer: a 10-year review. *Cancer and Metastasis Reviews*, 31(1), 375–386. doi: 10.1007/s10555-012-9348-x.
- [19] Xing, X., Tang, Y. B., Yuan, G., Wang, Y., Wang, J., Yang, Y., & Chen, M. (2013) The prognostic value of E-cadherin in gastric cancer: A meta-analysis. *International Journal of Cancer*, 132, 2589–2596. doi: 10.1002/ijc.27947.

Сведения об авторах:

Туманский В. А., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, проректор по научной работе, Запорожский государственный медицинский университет, заслуженный деятель науки и техники Украины.
Христенко Т. А., аспирант 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 і судової медицини, проректор з наукової роботи, Запорізький державний медичний університет, заслужений діяч науки і техніки України.

References

- [1] Sun, G., Wu, J., Wu, J., Pan, Y., & Jin, R. (2012) Caveolin-1, E-cadherin and β -catenin in Gastric Carcinoma, Precancerous Tissues and Chronic Non-atrophic Gastritis. *Chinese Journal of Cancer Research*, 24, 23–28. doi: 10.1007/s11670-012-0023-0.
- [2] Liu, X., & Chu, K. (2014) E-Cadherin and Gastric Cancer: Cause, Consequence, and Applications. *BioMed Research International*, 2014, 89–98. doi: 10.1155/2014/637308.
- [3] Carneiro, P., Fernandes, M. S., Figueiredo, J., Caldeira, J., Carvalho, J., Pinheiro, H., et al. (2012) E-cadherin dysfunction in gastric cancer – cellular consequences, clinical applications and open questions. *FEBS Letters*, 586(18), 2981–9.

Христенко Т. О., аспірант каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Information about authors:

Tumanskiy V. A., MD, PhD, DSc, Professor, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Pro-rector for Scientific Work, Zaporizhzhia State Medical University, Honorary Science and Engineering Worker of Ukraine. Khrystenko T. A., PhD student, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Фінансування: Дослідження виконано в рамках держбюджетної НДР «Раннє молекулярно-генетичне та імуногістохімічне прогнозування схильності до прогресування раку легенів та органів травлення» (0117U002580), 2017–2019, що фінансується МОЗ України.

Funding: The research was carried out within the state budget scientific-research work “Early molecular genetic and immunohistochemical prediction of propensity to progression of lung and digestive cancer” (0117U002580), 2017–2019, funded by the Ministry of Health of Ukraine.

Надійшло до редакції / Received: 15.02.2017

Після доопрацювання / Revised: 17.02.2017

Прийнято до друку / Accepted: 28.02.2017

Сальмонелла-индуцированные изменения кишечной микробиоты и транскриптома генов иммунного ответа на фоне введения ванкомицина и *Bacteroides fragilis*

Ю. В. Букина, А. М. Камышный, Н. Н. Полищук, И. А. Топол

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

Ключевые слова:

микробиом, сальмонелла, ванкомицин, бактериоиды, экспрессия, ПЦР-РВ.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 12–19

DOI: 10.14739/2310-1237.2017.1.97504

E-mail: lingvus@mail.ru

Цель работы – изучить сальмонелла-индуцированные изменения пристеночной кишечной микробиоты, экспрессии эффекторных белков сальмонелл *SipA*, *SopB*, *SopE2* и транскрипционной активности генов *FFAR2*, *Foxp3*, *RORγt* в кишечно-ассоциированной лимфоидной ткани (КАЛТ) крыс на фоне введения ванкомицина и *B. fragilis*.

Материалы и методы. Проведены исследования количественного и качественного состава пристеночной микробиоты тонкого кишечника и определён уровень экспрессии генов крыс *Foxp3*, *Rorc* (*Royt*), *FFAR2* и эффекторных белков сальмонелл *SipA*, *SopB* и *SopE2* методом ПЦР-РВ, установлены взаимосвязи между группами микроорганизмов.

Результаты. Введение *B. fragilis* на фоне предобработки ванкомицином и инфицирование сальмонеллами изменяет количественный состав микробиоты в пристеночном содержимом тонкого кишечника: наблюдается уменьшение *Salmonella* spp., *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. и *Shigella* spp., а также увеличение *Bacteroides* spp., *E. faecalis*, *E. faecium* и *Peptostreptococcus anaerobius*. Уровень экспрессии эффекторных белков сальмонелл у животных при сочетанном введении ванкомицина и *S. enteritidis* (I группа), *S. typhimurium* (II группа) увеличился: *SopB* – в 101 и 20 раз; *SopE2* – в 80 и 2 раза; *SipA* – в 613 раз (II группа), также отмечалось уменьшение в 5 раз в I группе. Относительное нормализованное количество мРНК генов *FFAR2*, *Foxp3*, *RORγt* в КАЛТ крыс в III и IV группах увеличивалось: *FFAR2* – в 2,7 и 5,4 раза; *Foxp3* – в 2,5 и 85 раз, уровень *RORγt* снизился на 70 % и только в IV группе.

Выводы. Использование *B. fragilis* создаёт условия для коррекции сальмонелла-индуцированных изменений кишечного микробиома. Предобработка животных ванкомицином вызывает усиление транскрипционной активности генов *SipA*, *SopB* и *SopE2*, за исключением *SipA* после введений *S. enteritidis*. Введение *B. fragilis* повышает уровень мРНК генов *FFAR2* и *Foxp3* в КАЛТ, а также снижает *RORγt* после инфицирования *S. typhimurium*.

Ключові слова:

мікробіом, сальмонела, ванкоміцин, бактериоїди, експресія, ПЛР-РВ.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 12–19

Сальмонела-індуковані зміни кишкової мікробіоти та транскриптома генів імунної відповіді на тлі введення ванкоміцину й *Bacteroides fragilis*

Ю. В. Букіна, О. М. Камішний, Н. М. Поліщук, І. О. Топол

Мета роботи – вивчити сальмонела-індуковані зміни пристінкової кишкової мікробіоти, експресії ефекторних білків сальмонел *SipA*, *SopB*, *SopE2* й транскрипційної активності генів *FFAR2*, *Foxp3*, *RORγt* у кишково-асоційованій лімфоїдній тканині (КАЛТ) щурів на тлі введення ванкоміцину та *B. fragilis*.

Матеріали та методи. Здійснили дослідження кількісного та якісного складу пристінкової мікробіоти тонкого кишечника й визначили рівень експресії генів щурів *Foxp3*, *RORC* (*Royt*), *FFAR2* та ефекторних білків сальмонел *SipA*, *SopB* і *SopE2* методом ПЛР-РЧ, встановили взаємозв'язки між групами мікроорганізмів.

Результати. Введення *B. fragilis* на тлі передобробки ванкоміцином та інфікування сальмонелами змінює кількісний склад мікробіоти у пристінковому вмісті тонкого кишечника. Спостерігається зменшення *Salmonella* spp., *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. і *Shigella* spp., а також збільшення *Bacteroides* spp., *E. faecalis*, *E. faecium* і *Peptostreptococcus anaerobius*. Рівень експресії ефекторних білків сальмонел у тварин при одночасному введенні ванкоміцину та *S. enteritidis* (I група), *S. typhimurium* (II група) збільшився: *SopB* – у 101 і 20 разів; *SopE2* – у 80 і 2 рази; *SipA* – у 613 разів (II група), а також відзначалось зменшення в 5 разів у I групі. Відносна нормалізована кількість мРНК генів *FFAR2*, *Foxp3*, *RORγt* у КАЛТ щурів у III і IV групах збільшувалася: *FFAR2* – у 2,7 і 5,4 раза; *Foxp3* – у 2,5 і 85 разів, рівень *RORγt* знизився на 70 % і тільки в IV групі.

Висновки. Використання *B. fragilis* створює умови для корекції сальмонела-індукованих змін кишкового микробиома. Передобробка тварин ванкоміцином викликає посилення транскрипційної активності генів *SipA*, *SopB* і *SopE2*, за винятком *SipA* після введення *S. enteritidis*. Уведення *B. fragilis* підвищує рівень мРНК генів *FFAR2* та *Foxp3* в КАЛТ, а також знижує *RORγt* після інфікування *S. typhimurium*.

Key words:

microbiome, Salmonella, vancomycin, Bacteroides, Real-Time PCR.

Salmonella-induced changes in the gut microbiota and immune response genes transcriptome during administration of vancomycin and *Bacteroides fragilis*

Yu. V. Bukina, A. M. Kamyshnyi, N. N. Polishchuk, I. A. Topol

The aim. To study Salmonella-induced changes in the intestinal wall microbiota, the expression of *Salmonella* effector proteins *SipA*, *SopB*, *SopE2* and transcriptional activity of genes *FFAR2*, *Foxp3*, *RORγt* in rat GALT during administration of vancomycin and *B. fragilis*.

Methods. Investigations of qualitative and quantitative composition of the microbiota of the wall of the small intestine were carried out, and the expression level of rat genes *Foxp3*, *Rorc* (*Roryt*), *FFAR2* and *Salmonella* effector proteins *SipA*, *SopB* and *SopE2* were determined by RT-PCR, the relationship between groups of microorganisms was established.

Results. Administration of *B. fragilis* against the background pre-treatment with vancomycin and *Salmonella* infection alters the quantitative composition of the microbiota in the wall of the small intestine contents: a decrease in *Salmonella* spp., *E. coli*, *Paeruginosa*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. and *Shigella* spp., as well as increasing *Bacteroides* spp., *E. faecalis*, *E. faecium* and *Peptostreptococcus anaerobius*. The level of expression of *Salmonella* effector proteins in animals with the combined administration of vancomycin and *S. enteritidis* (I group), *S. typhimurium* (II group) increased: *SopB* – 101 and 20 times; *SopE2* – 80 and 2 times; *SipA* – 613 times (II group), and also 5-fold decrease was noted in the I group. Relative normalized number of mRNA of genes *FFAR2*, *Foxp3*, *RORYt* in GALT of rats in groups III and IV increased: *FFAR2* – 2.7 and 5.4 times; *Foxp3* – 2.5 and 85 times, *RORYt* level decreased by 70% and only in IV group.

Conclusions. Using *B. fragilis* creates conditions for the correction of *Salmonella*-induced changes of the intestinal microbiome. Pretreatment of animals with vancomycin causes increased transcriptional activity of genes *SipA*, *SopB* and *SopE2*, except *SipA* after administration of *S. enteritidis*. Administration of *B. fragilis* increases the level of mRNA of genes *FFAR2* and *Foxp3* in GALT and reduces *RORYt* after infection with *S. typhimurium*.

Молекулярные механизмы взаимодействия сальмонелл с клетками организма хозяина имеют важный практический интерес. При попадании патогенных микроорганизмов в кишечник происходит их тесное взаимодействие с представителями аутохтонной микрофлоры, что определяет характер активации врождённых и адаптивных звеньев кишечного-ассоциированной лимфоидной ткани (КАЛТ) и влияет на исход инфекционного заболевания [1,2]. Наши предыдущие исследования показали, что, несмотря на наличие генов резистентности *Van A* у 11,46 % и *Van B* у 6,25 %, у фенотипически резистентных штаммов микроорганизмов семейства *Enterococcaceae* [3] при отдельном введении крысам ванкомицина и сальмонелл наблюдается изменение состава кишечного микробиома, что свидетельствует о конкурентов представителей нормальной и патогенной микрофлоры за микробиоматерию кишечника [4]. Дальнейшие работы продемонстрировали, что при инфицировании крыс *Salmonella enteritidis* и *Salmonella typhimurium* на фоне предварительного введения ванкомицина отмечается резкое увеличение содержания сальмонелл и значительное уменьшение аутохтонных микроорганизмов.

Мы предполагаем, что ванкомицин-индуцированное усиление инвазии сальмонелл в КАЛТ может быть вызвано изменением экспрессии их эффекторных белков – *SipA*, *SopB* и *SopE2*, вызывающих деформацию цитоплазматической мембраны, перестройку цитоскелета, способствующим быстрому проникновению патогена в SCV (*Salmonella*-containing vacuole) энтероцитов [5,6]. Инвазия сальмонелл и дисбаланс комменсальной микрофлоры сопровождаются увеличением лигандов для Toll- и NOD-подобных рецепторов (TLR, NLR) врождённого иммунитета, активацией Nlrp3-инфламмосомы, а также усилением экспрессии генов провоспалительных цитокинов и молекул активации адгезии, T- и B-лимфоцитов, что клинически проявляется развитием энтероколитов [7].

В то же время функциональный состав КАЛТ и дифференцировка субпопуляций Т-клеток зависит от состава отдельных представителей кишечной микрофлоры. Так, сегментарные нитевидные бактерии (*Segmented filamentous bacteria*, SFB) индуцируют в КАЛТ дифференцировку провоспалительных Th17-клеток, а некоторые представители рода *Clostridium* (cluster IV и XIVa) и *Bacteroides fragilis* (полисахарид А (PSA)), стимулируют

образование Т-регуляторных клеток (Treg) и продукцию супрессорного цитокина ИЛ-10 [8]. Важными метаболитами *B. fragilis* являются короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), выполняющие роль связующего звена между микрофлорой и иммунной системой, которые активируют клетки КАЛТ через рецептор *FFAR2* [9]. Уменьшение концентрации таких КЦЖК, как бутират, пропионат и ацетат, снижает численность Treg в кишечнике и нарушает баланс Th17/Treg, а также изменяет уровень мРНК *FFAR2*, что приводит к развитию воспалительных заболеваний кишечника [10].

Цель работы

Изучить сальмонелла-индуцированные изменения пристеночной кишечной микрофлоры, экспрессии эффекторных белков сальмонелл *SipA*, *SopB*, *SopE2* и транскрипционной активности генов *FFAR2*, *Foxp3*, *RORYt* в КАЛТ крыс на фоне введения ванкомицина и *B. fragilis*.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены на 40 самцах крыс линии Вистар 3-месячного возраста, которые были разделены на 4 группы (по 10 в каждой): I – *Vancomycin* + *S. enteritidis* (животные, получившие при пероральном введении ванкомицин в дозе 50 мг/кг и через сутки получившие бактериальную нагрузку *S. enteritidis* в количестве 3×10^8 КОЕ/мл); II – *Vancomycin* + *S. typhimurium* (животные, получившие при введении *per os* ванкомицин в дозе 50 мг/кг и через сутки получившие бактериальную нагрузку *S. typhimurium* в количестве 3×10^8 КОЕ/мл); III – *Vancomycin* + *S. enteritidis* + *B. fragilis* (животные, получившие при пероральном введении ванкомицин в дозе 50 мг/кг, через сутки – бактериальную нагрузку *S. enteritidis* в количестве 3×10^8 КОЕ/мл и на следующий день получивших *B. fragilis* в количестве 3×10^8 КОЕ/мл); IV – *Vancomycin* + *S. typhimurium* + *B. fragilis* (животные, получившие при пероральном введении ванкомицин в дозе 50 мг/кг, через сутки – бактериальную нагрузку *S. typhimurium* в количестве 3×10^8 КОЕ/мл и на следующий день – *B. fragilis* в количестве 3×10^8 КОЕ/мл). На пятые сутки крыс выводили из эксперимента с соблюдением принципов эвтаназии.

Заражение животных проводили суточными культурами сальмонелл, выращенных на 1,5 % МПА, которые

получены из музея штаммов микроорганизмов «Украинского центра по контролю и мониторингу заболеваний» МОЗ Украины. Культуры бактериоидов выращивали на питательных средах, приготовленных согласно методическим рекомендациям «Лабораторная диагностика гнойно-воспалительных заболеваний, обусловленных аспорогенными анаэробными микроорганизмами» (Харьков, 2000). Бактериальные суспензии стандартизировали при помощи денситометра DEN-1B (Biosan) по МакФарланду (McF). Для введения крысам *S. enteritidis*, *S. typhimurium* и *B. fragilis* нами были приготовлены суспензии в концентрации 1,0 стандарта McF, что соответствует концентрации 3×10^8 КОЕ/мл. В качестве материала для ПЦР-РВ исследований микробиома использовали пристеночное содержимое подвздошной кишки крыс.

Выделение ДНК проводили набором реагентов «ДНК-ЭКСПРЕСС» («Литех», Российская Федерация). Для количественного определения специфических участков бактериальной ДНК методом ПЦР-РВ применяли наборы реактивов формата «ФЛУОРОПОЛ-РВ» и «СЕПТОСКРИН-РВ» комплекта «Нераскапанный»: колипол (обнаружение *E. coli*), аругипол (*P. aeruginosa*), бактопол (*Bacteroides fragilis, vulgatus, thetaiotaomicron, ovatus*), энкопол (*E. faecali* и *E. faecium*), протепол (*Proteus spp.*), энтеропол (*Enterobacter spp.* и *Klebsiella spp.*), пептострептококки (*Peptostreptococcus anaerobius*), сальмонеллы (*Salmonella spp.*), шигеллы (*Shigella spp.*). Все исследования выполнялись в соответствии с инструкциями изготовителя («Литех», Российская Федерация). Результаты амплификации анализировались с помощью программы Bio-Rad CFX Manager 3.0.

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью программ Microsoft Excel 2016 и StatSoft Statistica v12. При анализе распределений количественных данных определяли меры центральной тенденции – медиана (Me), и меры дисперсии – интерквартильный размах в виде 25 и 75 перцентилей. Для расчёта достоверности различий между средними

значениями использовали непараметрический критерий Mann–Whitney (U-test). Определение степени взаимосвязи между парами независимых признаков, выраженных в количественной шкале, осуществляли при помощи коэффициента ранговой корреляции Spearman (R). Статистически значимыми считали отличия при значении $p \leq 0,05$.

Молекулярно-генетические исследования проводились методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ПЦР-ОТ). РНК выделяли из сгруппированных лимфоидных узелков (Пейеровых бляшек) подвздошной кишки крыс. Выделение тотальной РНК проводили с использованием набора «Trizol RNA Prep 100» («Изоген», Российская Федерация), который содержит Trizol reagent и ExtraGene. Для проведения обратной транскрипции и получения кДНК использовали «Набор реагентов для проведения обратной транскрипции (ОТ-1)» («СИНТОЛ», Российская Федерация). Реакционная смесь общим объёмом 25 мкл содержала: 2 мкл тотальной РНК, 1 мкл Random-6 праймера, 8,5 мкл деионизированной H_2O , очищенной от нуклеаз, 12,5 мкл реакционной смеси и 1 мкл ревертазы MMLV-RT. Обратную транскрипцию проводили при 45 °C на протяжении 45 минут с последующим нагреванием, для инактивирования MMLV-RT – на протяжении 5 минут при 92 °C.

Для определения уровня экспрессии исследуемых генов крыс *Foxp3*, *Rorc* (*Royt*), *FFAR2* и эффекторных белков сальмонелл *SipA*, *SopB* и *SopE2* использовали набор реактивов Maxima SYBR Green/ROX qPCR MasterMix (2x) (Thermo Scientific, США) и амплификатор CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad, США). Финальная реакционная смесь для амплификации содержала краситель SYBR Green, ДНК – полимеразу Maxima HotStartTaq DNA Polymerase, по 0,2 мкл прямого и обратного специфических праймеров, 1 мкл матрицы (кДНК). Реакционную смесь доводили к общему объёму 25 мкл добавлением деионизированной H_2O . Специфические пары праймеров (5'–3') для анализа исследуемых и референсного генов были подобраны при помощи программного обеспечения PrimerBlast (www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast) и изготовлены фирмами Metabion (ФРГ) и ThermoScientific (США) (табл. 1, 2).

После начальной денатурации на протяжении 10 мин при 95 °C амплификация состояла из 45 циклов и проводилась при условиях: денатурация – 95 °C, 15 с, отжиг – 59–61 °C, 30–60 с, элонгация – 72 °C, 30 с. В качестве референс-гена для определения относительного значения изменения уровня экспрессии исследуемых генов крыс использован ген глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы (Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase GAPDH). В качестве референс-гена сальмонелл использовали ген энлазы STY3081 [11,12]. Относительное нормализованное количество кДНК целевых генов определяли сравнительным методом $\Delta\Delta Ct$. Статистический анализ данных ПЦР проводили при помощи программного обеспечения CFX Manager™ (Bio-Rad, США). В эксперимент включали отрицательные контроли без добавления кДНК матрицы в реакцию ПЦР, без добавления мРНК матрицы в синтезе кДНК, без добавления фрагмента в синтезе кДНК. Все реакции амплификации выполняли на индивидуальных образцах в трёх повторах.

Таблица 1. Праймеры для определения уровня экспрессии генов *FFAR2*, *Foxp3* и *Rorc* (*Royt*) крысы

Ген	Праймер
<i>FFAR2</i>	F = GGTCTCTTTTCGTCCCA R = GCATGATCATACAAGCGCC
<i>Foxp3</i>	F = CGAGACTTGAAGTCAGCCAC R = TCTGAGGCAGGCTGGATAACG
<i>Rorc</i> (<i>Royt</i>)	F = AACATCTCGGGAGTTGCTGG R = TCGATTGTGAGGTGTGGGT
<i>GAPDH</i>	F = GCCTGGAGAACTGCCAAG R = GCCTGCTTCAACACCTTCT

Таблица 2. Праймеры к эффекторным белкам сальмонелл

Ген	Праймер
<i>sipA</i>	F = TGTTTCGGCTATTATCAATCGTCT R = CGCAGCAATCTTACGCACCT
<i>sopB</i>	F = TGAGTAACCCGACGGATACCACT R = AGCATCAGAAAGCGCTTAACCCAC
<i>sopE2</i>	F = CGGCGTAACCTCTTTCATAACGA R = AGGGTAGGGCGGTATTAACCACT
<i>Enolase</i> <i>STY3081</i>	F = GCTCCGTCAGGTGCTCTAC R = GCGTCTTTGCCAAGAATAGC

Результаты и их обсуждение

Полученные в ходе исследований результаты анализа количественного и видового состава пристеночной микробиоты говорят о том, что при введении экспериментальным животным *B. fragilis* наблюдаются выраженные изменения (табл. 3). Так, в группах III и IV отмечается значительное уменьшение уровня *E. coli* и *P. aeruginosa* ($p \leq 0,05$), а количество представителей *Bacteroides spp.* достоверно увеличивается ($p \leq 0,05$) (табл. 3).

Уровень содержания *E. faecalis* и *E. faecium* увеличился в 17 раз только в третьей группе ($p \leq 0,05$), а количество *Proteus spp.* уменьшается в III группе в 77 раз ($p \leq 0,05$), но увеличивается в IV в 4 раза ($p \leq 0,05$). Также в III и IV группах отмечается резкое снижение содержания представителей *Enterobacter spp.* и *Klebsiella spp.* ($p \leq 0,05$). Количественный состав *Peptostreptococcus anaerobius* достоверно увеличился в 9 раз ($p \leq 0,05$) и только в четвертой группе. Показательно, что в III и IV группах отмечается интенсив-

ное уменьшение уровня *Salmonella spp.* на фоне менее выраженного снижения количества *Shigella spp.* (табл. 3). Оценка степени взаимосвязи между группами микроорганизмов при помощи коэффициента ранговой корреляции Spearman (R) показала, что в III и IV группах наблюдается прямая умеренная зависимость между числом *E. coli* и *Peptostreptococcus anaerobius* ($R = 0,73$ и $R = 0,69$), а также сильная прямая зависимость в IV группе между *Proteus spp.* и *Salmonella spp.* ($R = 0,9$). Умеренная обратная связь наблюдается в третьей группе между представителями *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* и *Peptostreptococcus anaerobius* ($R = -0,68$), *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* и *Salmonella spp.* ($R = -0,66$), а также в четвертой группе между *Bacteroides spp.* и *Peptostreptococcus anaerobius* ($R = -0,73$). Данные корреляционного анализа свидетельствуют о том, что введение бактериоидов оказывает существенное влияние на состояние между отдельными группами микроорганизмов, приводя к подавлению роста *E. coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.* и *Salmonella spp.*

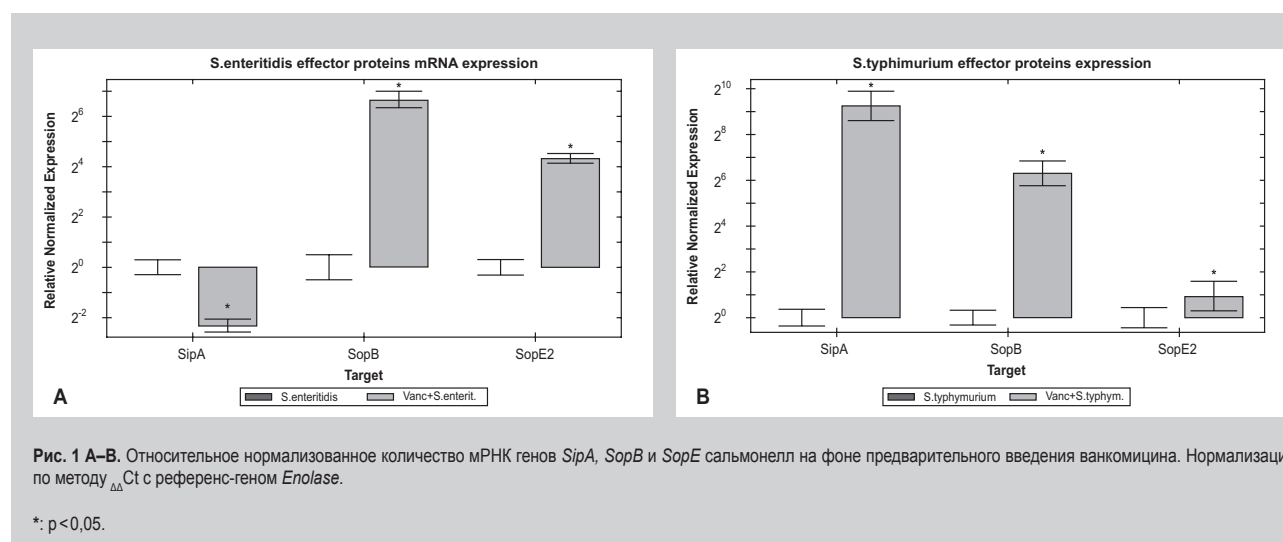


Таблица 3. Количественный состав пристеночной микробиоты подвздошной кишки экспериментальных крыс (ГЭ/обр.)

Группы микроорганизмов	Группы экспериментальных животных			
	Vancomycin + <i>S. enteritidis</i> (n=10)	Vancomycin + <i>S. typhimurium</i> (n=10)	Vancomycin + <i>S. enteritidis</i> + <i>B. fragilis</i> (n=10)	Vancomycin + <i>S. typhimurium</i> + <i>B. fragilis</i> (n=10)
	Количество микроорганизмов (Ме (Q25–Q75)) (ГЭ/обр.)			
<i>E. coli</i>	$7,91 \times 10^6$ ($6,53 \times 10^6$ – $8,88 \times 10^6$)	$3,67 \times 10^5$ ($3,30 \times 10^5$ – $4,56 \times 10^5$)	$3,16 \times 10^2$ ($2,33 \times 10^2$ – $3,84 \times 10^2$)	$4,64 \times 10^2$ ($3,97 \times 10^2$ – $4,96 \times 10^2$)
<i>P. aeruginosa</i>	$2,28 \times 10^6$ ($3,13 \times 10^5$ – $3,16 \times 10^6$)	$1,72 \times 10^6$ ($1,51 \times 10^6$ – $1,88 \times 10^6$)	$2,22 \times 10^2$ ($1,84 \times 10^2$ – $2,26 \times 10^2$)	$6,84 \times 10^2$ ($4,33 \times 10^2$ – $7,93 \times 10^2$)
<i>Bacteroides spp.</i>	$1,96 \times 10^2$ ($1,47 \times 10^2$ – $2,23 \times 10^2$)	$2,79 \times 10^2$ ($2,21 \times 10^2$ – $4,54 \times 10^2$)	$9,2 \times 10^5$ ($8,86 \times 10^5$ – $9,43 \times 10^5$)	$6,76 \times 10^6$ ($6,03 \times 10^6$ – $9,02 \times 10^6$)
<i>E. faecalis</i> и <i>E. faecium</i>	$3,15 \times 10^1$ ($3,04 \times 10^1$ – $3,41 \times 10^1$)	$1,62 \times 10^2$ ($7,43 \times 10^1$ – $5,43 \times 10^2$)	$5,27 \times 10^2$ ($4,46 \times 10^2$ – $5,99 \times 10^2$)	$5,01 \times 10^2$ ($4,07 \times 10^2$ – $6,18 \times 10^2$)
<i>Proteus spp.</i>	$7,62 \times 10^3$ ($6,43 \times 10^3$ – $5,03 \times 10^4$)	$3,41 \times 10^1$ ($3,15 \times 10^1$ – $4,2 \times 10^1$)	$9,88 \times 10^1$ ($5,05 \times 10^1$ – $21,3 \times 10^1$)	$1,47 \times 10^2$ ($1,28 \times 10^2$ – $2,18 \times 10^2$)
<i>Enterobacter spp.</i> и <i>Klebsiella spp.</i>	$1,25 \times 10^6$ ($9,94 \times 10^5$ – $1,98 \times 10^6$)	$7,07 \times 10^6$ ($3,98 \times 10^6$ – $8,18 \times 10^6$)	$4,86 \times 10^2$ ($2,38 \times 10^2$ – $7,18 \times 10^2$)	$4,23 \times 10^2$ ($3,98 \times 10^2$ – $4,43 \times 10^2$)
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	$2,38 \times 10^1$ ($2,2 \times 10^1$ – $2,47 \times 10^1$)	$3,14 \times 10^1$ ($2,89 \times 10^1$ – $5,15 \times 10^1$)	$2,0 \times 10^1$ ($1,44 \times 10^1$ – $2,21 \times 10^1$)	$2,85 \times 10^2$ ($2,53 \times 10^2$ – $3,16 \times 10^2$)
<i>Salmonella spp.</i>	$2,65 \times 10^7$ ($2,44 \times 10^7$ – $2,81 \times 10^7$)	$5,64 \times 10^7$ ($4,32 \times 10^7$ – $7,65 \times 10^7$)	$7,06 \times 10^1$ ($6,62 \times 10^1$ – $7,89 \times 10^1$)	$2,49 \times 10^2$ ($2,41 \times 10^2$ – $3,17 \times 10^2$)
<i>Shigella spp.</i>	$1,75 \times 10^3$ ($1,47 \times 10^3$ – $3,07 \times 10^3$)	$5,09 \times 10^3$ ($2,6 \times 10^3$ – $7,83 \times 10^3$)	$4,0 \times 10^2$ ($2,55 \times 10^2$ – $5,31 \times 10^2$)	$2,46 \times 10^2$ ($1,75 \times 10^2$ – $3,11 \times 10^2$)

*: достоверность отличий параметров $p \leq 0,05$ по отношению к группам Vancomycin + *S. enteritidis* и Vancomycin + *S. typhimurium*.

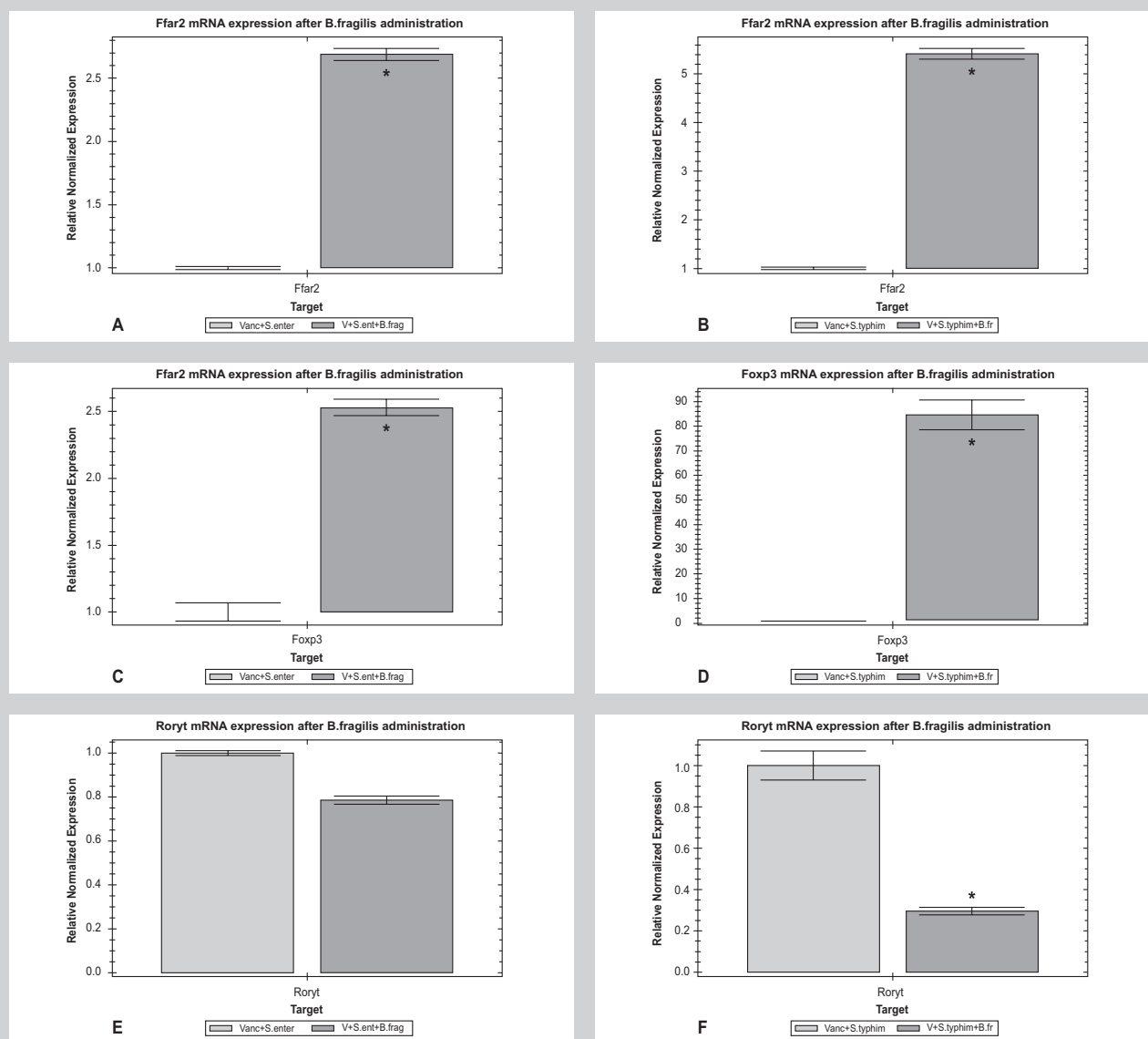


Рис. 2. Относительное нормализованное количество мРНК генов *FFAR2* (A–B), *Foxp3* (C–D) и *RORYt* (E–F) в сгруппированных лимфоидных узелках подвздошной кишки крыс после введения *B. fragilis*. Нормализация по методу $\Delta\Delta Ct$ с референс-геном *GAPDH*.

*: $p < 0,05$.

В ходе исследований нами были определены уровни экспрессии генов эффекторных белков *SipA*, *SopB* и *SopE2* *S. enteritidis* и *S. typhimurium* на фоне предварительного введения ванкомицина. Выяснилось, что предобработка животных ванкомицином вызывает усиление транскрипционной активности генов *SipA*, *SopB* и *SopE2*, за исключением *SipA* после введений *S. enteritidis*. Так, в группе *Vancomycin* + *S. enteritidis* уровень экспрессии гена *SipA* уменьшился в 5 раз ($p \leq 0,05$), а *SopB* и *SopE2* увеличился в 101 и 20 раз ($p \leq 0,05$) соответственно (рис. 1A). В группе *Vancomycin* + *S. typhimurium* наблюдалось увеличения уровня мРНК генов *SipA*, *SopB* и *SopE2* в 613, 80 и 2 раза соответственно ($p \leq 0,05$) (рис. 1B).

Учитывая, что *B. fragilis* являются одними из основных продуцентов КЦЖК, которые активируют клетки КАЛТ через рецептор *FFAR2*, мы также определили

уровень экспрессии мРНК гена, кодирующего рецепторы короткоцепочечных свободных жирных кислот *FFAR2*. Оказалось, что относительное нормализованное количество мРНК гена *FFAR2* в группах *Vancomycin* + *S. enteritidis* и *Vancomycin* + *S. typhimurium* + *B. fragilis* увеличилось в 2,7 и 5,4 раза соответственно ($p \leq 0,05$) (рис. 2 A–B). Данные изменения сопровождались увеличением уровня мРНК транскрипционного фактора *Foxp3*, направляющего дифференцировку Т-клеток в сторону Treg.

Так, транскрипционная активность гена *Foxp3* увеличилась в III и IV группах в 2,5 и 85 раз соответственно ($p \leq 0,05$) (рис. 2 C–D). Уровень экспрессии транскрипционного фактора *RORYt*, регулирующего дифференцировку субпопуляции Th17-клеток, не изменялся в третьей и достоверно снижался в четвертой группе (на 70 %, $p \leq 0,05$) (рис. 2 E–F).

Особый интерес представляет изучение молекулярных механизмов, которые используют сальмонеллы для изменения физиологии клеток хозяина, прежде всего, посредством продукции эффекторных белков, вызывающих внедрение, выживание и ауторепродукцию бактерий в пределах тканей организма, что приводит к воспалению кишечника. Колонизация тканей хозяина сальмонеллами зависит от синтеза ими целого ряда факторов, гены которых расположены в кластерах патогенности сальмонелл (Salmonella Pathogenicity Islands, SPI) [12]. SPI 1 и SPI 2 кодируют систему секреции 3-го типа (T3SS-1), своего рода “молекулярный шприц”, обеспечивающий перенос более 20 эффекторных белков из бактериальной клетки в цитоплазму клетки хозяина [13]. Транслокация белков *SipA*, *SopB* и *SopE2* является критической для эффективной инвазии сальмонелл в КАЛТ не только через М-клетки фолликуло-ассоциированного эпителия, а и через обычные энтероциты. При этом инозитолфосфатазная активность белка *SopB* за счёт активации ГТФазы RhoG влияет на реорганизацию актина. *SipA*, который прикрепляется непосредственно к актину, ингибирует его деполимеризацию, индуцирует активацию NF-κB и инфламмосомы через сигнальный путь NOD-подобных рецепторов врождённого иммунитета NOD1 и NOD2 [14]. *SopE2* напрямую не связывает актин, а влияет на цитоскелет опосредованно, путём активации малых ГТФаз CDC42 и RAC1, функционирующих как гуанин-обменные факторы [15,16]. После внедрения сальмонелл в энтероциты цитоскелет клетки восстанавливается и посредством протеосомальной деградации белки *SopB*, *SopE2* и *SipA* инактивируются [17].

Полученные нами результаты показали, что предобработка животных ванкомицином вызывает усиление транскрипционной активности генов *SipA*, *SopB* и *SopE2*, за исключением *SipA* после введений *S. enteritidis*, что способствует инвазии сальмонелл в кишечник. Похожие результаты были получены после предварительного введения стрептомицина в модели сальмонелла-индуцированного колита у мышей [18].

Результаты свидетельствуют о возможности использования *B. fragilis* для коррекции сальмонелла-индуцированных изменений кишечного микробиома. Мы наблюдали при этом уменьшение уровня *Salmonella* spp., *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. и *Shigella* spp., а также увеличение *Bacteroides* spp., *E. faecalis*, *E. faecium* и *Peptostreptococcus anaerobius*. Способность *B. fragilis* влиять на характер течения сальмонелла-индуцированных воспалительных заболеваний кишечника была показана и в ряде других работ [19]. *B. fragilis* являются одними из основных продуцентов КЦЖК, активирующих клетки посредством рецептора *FFAR2*, экспрессирующегося в клетках иммунной системы, эпителиоцитах кишечника и играющего важную роль в иммунной регуляции и метаболическом гомеостазе [20].

Активация *FFAR2* обуславливает снижение колит-ассоциированного воспаления, а у *FFAR2* мышей усиливается провоспалительная сигнализация в моделях острого и хронического колита, артрита и астмы [21]. Противовоспалительные эффекты КЦЖК опосредованы путём усиления секреции IL-10, угне-

тения продукции IL-12, TNF-α, IL-1β, оксида азота и снижения активности NF-κB [22]. Уменьшение концентрации КЦЖК в просвете кишечника способствует снижению числа Treg, но не влияет на количество Th1 и Th17 в толстом кишечнике [11,12]. Кроме того, полисахарид А (PSA) *B. fragilis* является важным индуктором дифференцировки Treg-клеток [23,24]. Поэтому обнаруженное нами увеличение уровня мРНК гена *FFAR2* в группах *Vancomycin* + *S. enteritidis* + *B. fragilis* и *Vancomycin* + *S. typhimurium* + *B. fragilis* закономерно сопровождается увеличением уровня мРНК транскрипционного фактора *Foxp3*, направляющего дифференцировку Т-клеток в сторону Treg и влияющего на баланс Treg/Th17 в КАЛТ.

Выводы

1. Введение *B. fragilis* экспериментальным животным, получавшим *S. enteritidis* или *S. typhimurium* на фоне предобработки ванкомицином, изменяет количественный состав микробиоты в пристеночном содержимом тонкого кишечника: наблюдается уменьшение уровня *Salmonella* spp., *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp. и *Shigella* spp., а также увеличение *Bacteroides* spp., *E. faecalis*, *E. faecium* и *Peptostreptococcus anaerobius*.

2. Предобработка животных ванкомицином вызывает усиление транскрипционной активности генов *SipA*, *SopB* и *SopE2*, за исключением *SipA* после введений *S. enteritidis*, что способствует инвазии сальмонелл в кишечник.

3. Введение *B. fragilis* повышает уровень мРНК генов *FFAR2* и *Foxp3* в КАЛТ, а также снижает *RORγt* после введений *S. typhimurium*.

Перспективы дальнейших исследований – изучение транскриптома генов иммунного ответа в кишечно-ассоциированной лимфоидной ткани крыс при сальмонелла-индуцированном воспалении.

Список литературы

- [1] Role of the intestinal microbiota and the immune system / F. Purchiaroni, A. Tortora, M. Gabrielli, et al. // Medical Pharmacology Science. – 2013. – Vol. 17. – P. 323–333.
- [2] Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease / N. Kamada, S.-U. Seo, G.Y. Chen, G. Núñez // Nature Reviews Immunology. – 2013. – Vol. 13. – P. 321–335.
- [3] Букина Ю.В. Определение спектра генов резистентности к антибиотикам у фенотипически резистентных штаммов пристеночной кишечной микробиоты у крыс методом ПЦР-РВ / Ю.В. Букина, А.М. Камышный, Н.Н. Полищук // Анналы Мечниковского института. – 2016. – №2. – С. 21–27.
- [4] Букина Ю.В. Визначення кількісного складу мікробіоти у пристінковому вмісті кишківника у щурів методом ПЛР-РЧ / Ю.В. Букина, О.М. Камішний, Н.М. Поліщук // Інфекційні хвороби. – 2016. – №3. – С. 78–81.
- [5] Agbor T.A. Salmonella effectors: important players modulating host cell function during infection / T.A. Agbor, B.A. McCormick // Cell Microbiology. – 2011. – Vol. 13. – P. 1858–69.
- [6] Exploiting host immunity: the Salmonella paradigm / J. Behnsen, A. Perez-Lopez, S.P. Nuccio, M. Raffatellu // Trends Immunology. – 2015. – Vol. 36. – P. 112–20.
- [7] Keestra-Gounder A.M. Now you see me, now you don't: the interaction of Salmonella with innate immune receptors / A.M. Keestra-Gounder, R.M. Tsois, A.J. Bäumlér // Nature Reviews Microbiology. – 2015. – Vol. 13. – P. 206–16.
- [8] Microbiome-Modulated Metabolites at the Interface of Host Immunity / E. Blacher, M. Levy, E. Tatirovsky, E. Elinav // Immunology. – 2017. – Vol. 15. – P. 572–580.

- [9] Short-chain fatty acids activate GPR41 and GPR43 on intestinal epithelial cells to promote inflammatory responses in mice / M.H. Kim, S.G. Kang, J.H. Park, et al. // *Gastroenterology*. – 2013. – Vol. 145. – P. 396–410.
- [10] The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis / P.M. Smith, M.R. Howitt, N. Panikov, et al. // *Science*. – 2013. – Vol. 341. – P. 569–573.
- [11] In Vivo Expression of Salmonella enterica Serotype Typhi Genes in the Blood of Patients with Typhoid Fever in Bangladesh / A. Sheikh, R.C. Charles, N. Sharmeen, et al. // *PLoS Neglected Tropical Diseases*. – 2011. – Vol. 5(12). – e1419.
- [12] The inflammatory cytokine tumor necrosis factor modulates the expression of Salmonella typhimurium effector proteins / J. Ma, Y.G. Zhang, Y. Xia, J.J. Sun // *Inflammation*. – 2010. – Vol. 12. – P. 42.
- [13] Que F. Salmonella pathogenicity island 1 (SPI-1) at work / F. Que, S. Wu, R. Huang // *Curr Microbiology*. – 2013. – Vol. 66. – P. 582–7.
- [14] LaRock D.L. Salmonellae interactions with host processes / D.L. LaRock, A. Chaudhary, S.I. Miller // *Nature Review Microbiology*. – 2015. – Vol. 13. – P. 191–205.
- [15] Keestra A.M. Detection of enteric pathogens by the nodosome / A.M. Keestra, A.J. Bäumlér // *Trends Immunology*. – 2014. – Vol. 35. – P. 123–130.
- [16] Manipulation of small Rho GTPases is a pathogen-induced process detected by NOD1 / A.M. Keestra, M.G. Winter, J.J. Auburger et al. // *Nature*. – 2013. – Vol. 496. – P. 233–237.
- [17] Narayanan L.A. Ubiquitination as an efficient molecular strategy employed in salmonella infection / L.A. Narayanan, M.J. Edelmann // *Frontiers Immunology*. – 2014. – Vol. 25. – P. 558.
- [18] Hapfelmeier S. Role of the Salmonella pathogenicity island 1 effector proteins SipA, SopB, SopE, and SopE2 in Salmonella enterica subspecies 1 serovar Typhimurium colitis in streptomycin-pretreated mice / S. Hapfelmeier // *Infection Immunology*. – 2004. – Vol. 72. – P. 809.
- [19] The Bactericidal Lectin RegIII β Prolongs Gut Colonization and Enteropathy in the Streptomycin Mouse Model for Salmonella Diarrhea / T. Miki, R. Goto, M. Fujimoto, et al. // *Cell Host Microbe*. – 2017. – Vol. 21. – Issue 2. – P. 130–131.
- [20] Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids / R. Corrêa-Oliveira, J.L. Fachi, A. Vieira, et al. // *Clinical & Translational Immunology*. – 2016. – Vol. 22.5(4). – e73.
- [21] Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43 / K.M. Maslowski, A.T. Vieira, A. Ng, et al. // *Nature*. – 2009. – Vol. 29. – P. 1282–6.
- [22] Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases / M. Sun, W. Wu, Z. Liu, Y. Cong // *Gastroenterology*. – 2017. – Vol. 52. – P. 1–8.
- [23] Surana N.K. The yin yang of bacterial polysaccharides: lessons learned from B. fragilis PSA / N.K. Surana, D.L. Kasper // *Immunology Review*. – 2012. – Vol. 245. – P. 13–26.
- [24] Zeng H. Metabolic control of regulatory T cell development and function / H. Zeng, H. Chi // *Trends Immunology*. – 2015. – Vol. 36. – P. 3–12.
- [9] Kim, M. H., Kang, S. G., Park, J. H., Yanagisawa, M., & Kim, C. H. (2013) Short-chain fatty acids activate GPR41 and GPR43 on intestinal epithelial cells to promote inflammatory responses in mice. *Gastroenterology*, 145, 396–410. doi: 10.1053/j.gastro.2013.04.056.
- [10] Smith, P. M., Howitt, M. R., Panikov, N., Michaud, M., Gallini, C. A., Bohlooly, Y. M., et al. (2013) The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science*, 341, 569–573. doi: 10.1126/science.1241165.
- [11] Sheikh, A., Charles, R. C., Sharmeen, N., Rollins, S. M., Harris, J. B., Bhuiyan, M. S., et al. (2011) In Vivo Expression of Salmonella enterica Serotype Typhi Genes in the Blood of Patients with Typhoid Fever in Bangladesh. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 5, e1419. doi: 10.1371/journal.pntd.0001419.
- [12] Ma, J., Zhang, Y. G., Xia, Y., & Sun, J. (2010) The inflammatory cytokine tumor necrosis factor modulates the expression of Salmonella typhimurium effector proteins. *Inflammation*, 12, 42. doi: 10.1186/1476-9255-7-42.
- [13] Que, F., Wu, S., & Huang, R. (2013) Salmonella pathogenicity island 1 (SPI-1) at work. *Curr Microbiology*, 66, 582–7. doi: 10.1007/s00284-013-0307-8.
- [14] LaRock, D. L., Chaudhary, A., & Miller, S. I. (2015) Salmonellae interactions with host processes. *Nature Review Microbiology*, 13, 191–205. doi: 10.1038/nrmicro3420.
- [15] Keestra, A. M., & Bäumlér, A. J. (2014) Detection of enteric pathogens by the nodosome. *Trends Immunology*, 35, 123–130. doi: 10.1016/j.it.2013.10.009.
- [16] Keestra, A. M., Winter, M. G., Auburger, J. J., Frässle, S. P., Xavier, M. N., Winter, S. E., et al. (2013) Manipulation of small Rho GTPases is a pathogen-induced process detected by NOD1. *Nature*, 496, 233–237. doi: 10.1038/nature12025.
- [17] Narayanan, L. A., & Edelmann, M. J. (2014) Ubiquitination as an efficient molecular strategy employed in salmonella infection. *Frontiers Immunology*, 25, 558. doi: 10.3389/fimmu.2014.00558.
- [18] Hapfelmeier, S. (2004) Role of the Salmonella pathogenicity island 1 effector proteins SipA, SopB, SopE, and SopE2 in Salmonella enterica subspecies 1 serovar Typhimurium colitis in streptomycin-pretreated mice. *Infection Immunology*, 72, 795–809.
- [19] Miki, T., Goto, R., Fujimoto, M., Okada, N., & Hardt, W. D. (2017) The Bactericidal Lectin RegIII β Prolongs Gut Colonization and Enteropathy in the Streptomycin Mouse Model for Salmonella Diarrhea. *Cell Host Microbe*, 21(2), 130–131.
- [20] Corrêa-Oliveira, R., Fachi, J. L., Vieira, A., Sato, F. T., & Vinolo, M. A. (2016) Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clinical & Translational Immunology*, 22, 73. doi: 10.1038/cti.2016.17.
- [21] Maslowski, K. M., Vieira, A. T., Ng, A., Kranich, J., Sierro, F., Yu, D., et al. (2009) Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature*, 29, 1282–6. doi: 10.1038/nature08530.
- [22] Sun, M., Wu, W., Liu, Z., & Cong, Y. (2017) Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, 52, 1–8. doi: 10.1007/s00535-016-1242-9.
- [23] Surana, N. K., & Kasper, D. L. (2012) The yin yang of bacterial polysaccharides: lessons learned from B. fragilis PSA. *Immunology Review*, 245, 13–26. doi: 10.1111/j.1600-065X.2011.01075.x.
- [24] Zeng, H., & Chi, H. (2015) Metabolic control of regulatory T cell development and function. *Trends Immunology*, 36, 3–12. doi: 10.1016/j.it.2014.08.003.

References

- [1] Purchiaroni, F., Tortora, A., Gabrielli, M., Bertucci, F., Gigante, G., Ianiro, G., et al. (2013) Role of the intestinal microbiota and the immune system. *Medical Pharmacology Science*, 17, 323–333.
- [2] Kamada, N., Seo, S.-U., Chen, G. Y., & Núñez, G. (2013) Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology*, 13, 321–335. doi:10.1038/nri3430.
- [3] Bukina, Y. V., Kamyshny, A. M., & Polishchuck, N. N. (2016) Opredelenie spektra genov rezistentnosti k antibiotikam u fenotipicheski rezistentnykh shtammov pristenochnoj kishhechnoj mikrobyoty u krys metodom PCR-RV [Determination of the spectrum of antibiotic resistance genes have phenotypic resistant strains of parietal intestinal microbiota in rats by RT-PCR]. *Annaly Mechnikovskogo instituta*, 2, 21–27. [in Russian].
- [4] Bukina, Yu. V., Kamyshnyi, O. M., & Polishchuck, N. M. (2016) Vyznachennia kilisnoho skladu mikrobyoty u prystinkovomu vmisti kyshtkivnyka u shchuriv metodom PLR-RCh [Determination quantitative composition of the microbiota in parietal intestinal surface in rats by PCR real-time]. *Infektsiini khvoroby*, 3, 78–81. [in Ukrainian].
- [5] Agbor, T. A., & McCormick, B. A. (2011) Salmonella effectors: important players modulating host cell function during infection. *Cell Microbiology*, 13, 1858–69. doi: 10.1111/j.1462-5822.2011.01701.x.
- [6] Behnsen, J., Perez-Lopez, A., Nuccio, S. P., & Raffatellu, M. (2015) Exploiting host immunity: the Salmonella paradigm. *Trends Immunology*, 36, 112–20. doi: 10.1016/j.it.2014.12.003.
- [7] Keestra-Gounder, A. M., Tsois, R. M., & Bäumlér, A. J. (2015) Now you see me, now you don't: the interaction of Salmonella with innate immune receptors. *Natura Review Microbiology*, 13, 206–16. doi: 10.1038/nrmicro3428.
- [8] Blacher, E., Levy, M., Tatirovsky, E., & Elinav, E. (2017) Microbiome-Modulated Metabolites at the Interface of Host Immunity. *Immunology*, 15, 572–580. doi: 10.4049/jimmunol.1601247.

Сведения об авторах:

Букина Ю. В., ассистент каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Камышный А. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Полищук Н. Н., канд. мед. наук, старший преподаватель каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Топол И. А., канд. биол. наук, ассистент каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Відомості про авторів:

Букіна Ю. В., асистент каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Камішний О. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Поліщук Н. М., канд. мед. наук, старший викладач
каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький
державний медичний університет, Україна.

Топол І. О., канд. біол. наук, асистент каф. мікробіології,
вірусології та імунології, Запорізький державний медичний
університет, Україна.

Information about authors:

Bukina Yu. V., Assistant of the Department of Microbiology, Virology
and Immunology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kamyshnyi A. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the
Department of Microbiology, Virology and Immunology,
Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Polishchuck N. N., MD, PhD, Senior Lecturer of the Department
of Microbiology, Virology and Immunology, Zaporizhzhia State
Medical University, Ukraine.

Topol I. A., PhD, Assistant of the Department of Microbiology,
Virology and Immunology, Zaporizhzhia State Medical University,
Ukraine.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Надійшло до редакції / Received: 20.02.2017

Після доопрацювання / Revised: 01.03.2017

Прийнято до друку / Accepted: 02.03.2017

Ульт्राструктурна характеристика доброякісних та анапластичних менингіом

С. І. Тертишний, В. О. Шаврін, В. Є. Вотева, К. Л. Дикий

Запорізький державний медичний університет, Україна

Ключові слова:

менингіома, електронна мікроскопія, ульт्राструктура пухлинних клітин.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 20–26

DOI: 10.14739/2310-1237.2017.1.97326

E-mail: tertishnyi@i.ua

Враховуючи чималу поширеність менингіом (до 35 %) серед інших внутрішньочерепних пухлин і різноманітність їхньої гістологічної будови, використання електронної мікроскопії (ЕМ) може давати важливу діагностичну інформацію та суттєво доповнювати дані світлооптичних та імуногістохімічних досліджень.

Мета роботи – вивчити ульт्राструктурні зміни при доброякісних та анапластичних менингіомах і встановити основні ульт्राструктурні диференційно-діагностичні особливості менингіом різного ступеня злоякісності.

Матеріали та методи. Світлооптичне та ЕМ-дослідження менингіом здійснене на матеріалі 33 спостережень.

Результати. Дані ЕМ, що отримані, дають можливість виділити характерні ульт्राструктурні зміни в різних варіантах доброякісних менингіом. Зокрема, менинготеліоматозний варіант пухлини містив однорідні за будовою клітини зі світлими овальними ядрами, з рівномірним розташуванням дрібногранулярного хроматину, добре диференційованими міжклітинними контактами типу десмосом. Цитоплазматичні мембрани поруч розташованих клітин щільно прилягали одна до одної, іноді формуючи дрібні інвагінації, які проникали в сусідні клітини, що значно збільшувало контактну поверхню поруч розташованих клітин. У фібробластичних менингіомах переважали видозмінені фібробласти, які містили химерні, неправильної форми ядра з компактним розміщенням хроматину біля ядерної мембрани, а також спостерігалася велика кількість пучків колагенових фібрил як із впорядкованим ходом колагенових волокон, так і з хаотичним розташуванням. Перехідні менингіоми характеризувались поєднанням ділянок менинготеліоматозного типу та ділянок із типовим фібробластичним диференціюванням. При ЕМ зміни були подібні менинготеліоматозним і фіб्रोцитним менингіомам.

Анапластичні менингіоми характеризувались збільшенням розміру або пікнозом ядер, наявністю ядер із глибокими інвагінаціями, зі значним розрідженням структури хроматину, вогнищевими порушеннями цілісності каріолеми, явищами вакуолізації внутрішньоклітинних мембранних структур і позаклітинного набряку, значною редукцією міжклітинних контактів.

Висновки. Ульт्राструктурні особливості доброякісних менингіом проявляються наявністю десмосомних контактів у менинготеліоматозних варіантах, чималою кількістю пучків колагенових фібрил у фібробластичних варіантах, що підтверджує подвійний епітеліально-мезенхімальний гістогенез цих пухлин. Клітини анапластичних менингіом характеризувались ознаками вираженого ядерного поліморфізму, процесами альтерації у вигляді каріопікнозу, апоптозу, а також великою редукцією міжклітинних контактів, що може сприяти розвитку рецидивів і можливих метастазів.

Ключевые слова:

менингиома, электронная микроскопия, ульт्राструктура опухолевых клеток.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 20–26

Ульт्राструктурная характеристика доброкачественных и анапластических менингиом

С. И. Тертышный, В. А. Шаврин, В. Е. Вотева, К. Л. Дикий

Учитывая значительную распространённость менингиом (до 35 %) среди других внутричерепных опухолей и разнообразие их гистологического строения, использование электронной микроскопии (ЭМ) может давать важную диагностическую информацию и существенно дополнять данные светоптических и иммуногистохимических исследований.

Цель работы – изучить ульт्राструктурные изменения при доброкачественных и анапластических менингиомах и установить основные ульт्राструктурные дифференциально-диагностические особенности менингиом различной степени злокачественности.

Материалы и методы. Светоптическое и ЭМ-исследование менингиом проведено на материале 35 наблюдений.

Результаты. Данные ЭМ позволяют выделить характерные ульт्राструктурные изменения в различных вариантах доброкачественных менингиом. В частности, менинготеліоматозный вариант опухоли содержал однородные по строению клетки со светлыми овальными ядрами, с равномерным расположением мелкогранулярного хроматина, хорошо дифференцированными межклеточными контактами типа десмосом. Цитоплазматические мембраны рядом расположенных клеток плотно прилегали друг к другу, иногда формируя мелкие инвагинации, которые проникали в соседние клетки, что значительно увеличивало контактную поверхность рядом расположенных клеток. В фибробластических менингиомах преобладали видоизменённые фибробласты, содержащие необычные, неправильной формы ядра с компактным размещением хроматина у ядерной мембраны, а также наблюдалось большое количество пучков коллагеновых фибрилл как с упорядоченным ходом коллагеновых волокон, так и с хаотичным расположением. Переходные менингиомы характеризовались сочетанием участков менинготеліоматозного типа и участков с типичной фибробластической дифференцировкой. При ЭМ изменения были подобны менинготеліоматозным и фибробластическим менингиомам.

Анапластические менингиомы характеризовались увеличением размера или пикнозом ядер, наличием ядер с глубокими инвагинациями, со значительным разрежением структуры хроматина, очаговыми нарушениями целостности каріолеммы, явлениями вакуолизации внутриклеточных мембранных структур и внеклеточного отёка, значительной редукцией межклеточных контактов.

Выводы. Ультраструктурные особенности доброкачественных менингиом проявляются наличием десмосомных контактов в менинготелиоматозных вариантах, значительным количеством пучков коллагеновых фибрилл в фибробластических вариантах, что подтверждает двойной эпителиально-мезенхимальный гистогенез этих опухолей. Клетки анапластических менингиом характеризовались признаками выраженного ядерного полиморфизма, процессами альтерации в виде кариопикноза и апоптоза, а также значительной редукцией межклеточных контактов, что может способствовать развитию рецидивов и возможных метастазов.

Ultrastructural characteristic of benign and anaplastic meningiomas

S. I. Tertishnyi, V. A. Shavrin, W. Ye. Voteva, K. L. Dikiy

Taking into account high prevalence of meningiomas (35 %) among other intracranial tumors and variety of their histological structure, electron microscopy (EM) can provide important diagnostic information and be substantially complementary to light microscopy data and immunohistochemical studies.

Objective: to study ultrastructural changes in benign and anaplastic meningiomas and to establish the main differential diagnostic ultrastructural features of meningiomas of different grades.

Material and Methods: light microscopy and EM studies were conducted using 35 cases of meningioma.

Results. Our EM data allow highlighting the characteristic ultrastructural changes in different subtypes of benign meningiomas. In particular, meningothelial subtype comprised of cells with homogeneous structure with light oval nuclei, with evenly arranged finely granular chromatin, well differentiated cell-cell contacts such as desmosomes. Cytoplasmic membranes of adjacent cells adhered to one another, forming small intussusceptions sometimes, which penetrated into the neighboring cells, which significantly increased the contact area of adjacent cells. Fibroblastic meningiomas were rich in modified fibroblasts, which contained bizarre nuclei of irregular shape with compact chromatin arrangement near the nuclear membrane. Also there were plenty bundles of collagen fibrils with the orderly assembled collagen fibers as well as with a chaotic arrangement. Transitional meningiomas were characterized by the combination of meningothelial like areas and areas of typical fibroblastic differentiation. EM changes were similar to meningothelial and fibrous meningiomas.

Anaplastic meningiomas were characterized by increased in size or pyknotic nuclei, presence of nuclei with deep intussusceptions, a significant dilution of chromatin structure, focal disturbances of karyolemma integrity, vacuolization of intracellular membrane structures and extracellular edema, a significant reduction of cell-cell contacts.

Conclusions. The ultrastructural features of benign meningiomas are reflected in the presence of desmosomes in meningothelial subtypes, a significant number of collagen fibrils in the fibroblastic subtypes, which confirms the double epithelial-mesenchymal histogenesis of these tumors. The cells of anaplastic meningiomas were characterized by marked signs of nuclear polymorphism, processes of alteration such as karyopyknosis and apoptosis, as well as a significant reduction of cell-cell contacts, which can promote recurrence and possible metastasizing.

Key words:

meningioma, electron microscopy, ultrastructure of tumor cells.

Pathologia

2017; 14 (1), 20–26

З огляду на те, що останнім часом у патоморфологічній діагностиці та наукових дослідженнях широко використовуються імуногістохімічні методи, кількість робіт з електронно-мікроскопічного (ЕМ) вивчення пухлин і, зокрема пухлин ЦНС, значно скоротилось [1]. Безумовно, ЕМ іноді має деякі діагностичні обмеження, так, за її допомогою часто не можна визначити лінію диференціювання пухлинних клітин [2]. Однак у деяких випадках використання в нейроонкології ЕМ може давати важливу діагностичну інформацію [3,4] та суттєво доповнювати дані світлооптичних, імуногістохімічних досліджень.

Чимала частина ЕМ досліджень останніх років присвячена вивченню внутрішньомозкових пухлин [5,6,7] і тільки в одиничних роботах останніх років є відомості з ультраструктури менингіом [8]. Проте менингіоми головного мозку є найпоширенішими внутрішньочерепними новоутвореннями, на частку яких припадає майже 35 % первинних внутрішньочерепних пухлин. У деяких випадках під час вивчення світлооптичних препаратів виникають діагностичні труднощі, що пов'язані з подвійним диференціюванням пухлин. Наприклад, окремим анапластичним менингіомам притаманні епітеліоподібні риси, тому вони помилково можуть прийматися за метастатичні карциноми. Отже, використання ЕМ в окремих випадках може дати важливу інформацію

стосовно злоякісності пухлини, можливості її клінічного перебігу, рецидиву.

Мета роботи

Вивчити ультраструктурні зміни при доброякісних та анапластичних менингіомах, встановити основні ультраструктурні диференційно-діагностичні особливості менингіом різного ступеня злоякісності.

Матеріали і методи дослідження

Світлооптичне та ЕМ дослідження менингіом здійснене на матеріалі 33 спостережень, до яких включили: 8 менинготелиоматозних варіантів менингіом, 7 фібробластичних, 7 перехідних, 5 ангиоматозних і 6 анапластичних менингіом. Середній вік хворих у групі доброякісних менингіом (grade I) становив $59,21 \pm 9,84$ року. У групі анапластичних менингіом (grade III) середній вік хворих – $56,88 \pm 11,71$ року. Доброякісні менингіоми у 81,48 % випадків мали супратенторіальну конвекситуальну локалізацію, субтенторіальна локалізація виявлялась у 18,52 % випадків. Анапластичні пухлини розташовувались супратенторіально у 83,33 % випадків і 33,33 % – субтенторіально на конвекситуальній поверхні мозочка.

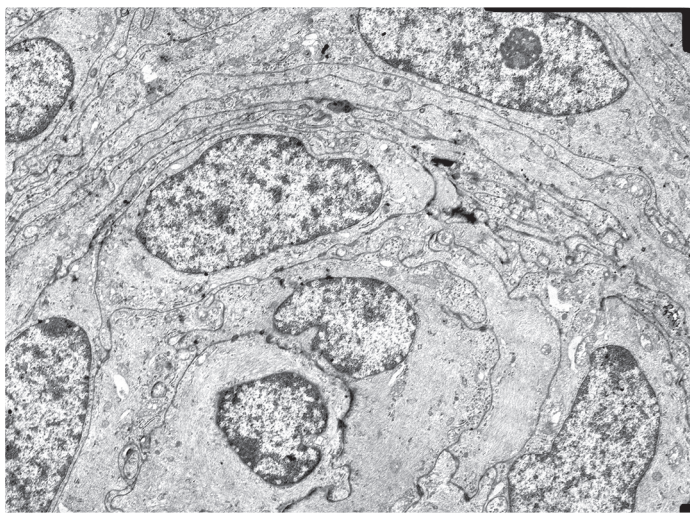


Рис. 1. Менінгеліоматозна менінгіома. Ультраструктура концентричної структури в пухлині. ЕМ. 36. $\times 4000$.

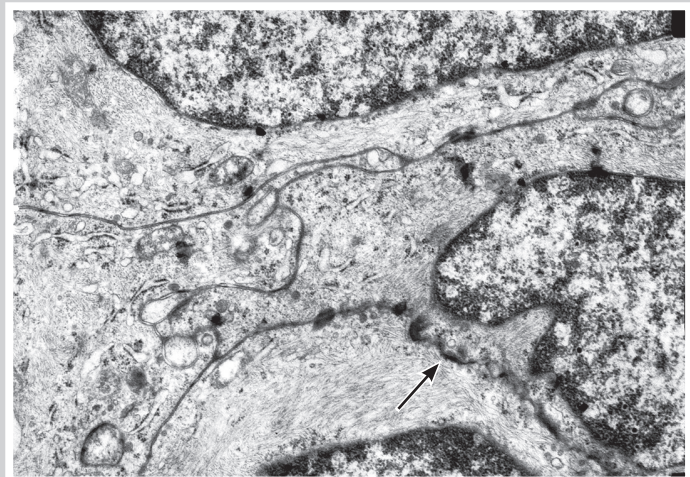


Рис. 2. Менінгеліоматозна менінгіома. Стрілкою вказано десмосомний контакт. Коментарі в тексті. ЕМ. 36. $\times 6000$.

Для оглядової світлової мікроскопії після стандартної обробки матеріалу гістологічні зрізи забарвлювалися гематоксиліном та еозином, досліджувалися за допомогою мікроскопа Axioplan 2 («Carl Zeiss», ФРН). Гістологічний варіант і ступінь злоякісності менінгіом встановлений на світлооптичному рівні відповідно до гістологічної класифікації пухлин ЦНС за ВООЗ (2016) [9]. Етапи обробки матеріалу для ЕМ дослідження виконані за загальноприйнятою методикою, що викладена у відповідному керівництві [10]. Ультратонкі зрізи вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-100 при прискорюючій напрузі 75 кВ.

Результати та їх обговорення

Для менінгеліоматозних менінгіом здебільшого притаманний епітеліоїдноклітинний тип будови ($84,8 \pm 6,4\%$ площі вивчених полів зору) з великими клітинами, чіткими

контурами. При ЕМ менінгеліоматозні менінгіоми характеризувалися однорідними за будовою клітинами зі світлими, частіше овальної форми ядрами, з рівномірним розташуванням дрібногранулярного хроматину в нуклеоплазмі. Більшість ядер клітин цього варіанта менінгіом мали дифузно розташований хроматин із незначними ділянками конденсованого хроматину біля ядерної мембрани, що характерно як для малоспеціалізованих клітин, так і для клітин, які інтенсивно діляться.

В усіх спостереженнях об'єм ядра переважав над об'ємом цитоплазми. У клітинах, котрі формували концентричні структури, питома вага конденсованого хроматину збільшувалася (рис. 1). Біля ядерної мембрани реєструвалися численні зони з більш щільним розташуванням хроматину (маргінація хроматину), що вважається як ознакою активності ядра, так і проявом його пошкодження. Збільшення конденсованого хроматину в ядрі пухлинних клітин позитивно корелювало зі збільшенням вмісту проміжних філаментів у цитоплазмі (рис. 1). Поодинокі клітини містили ядерце.

Об'єм цитоплазми був невеликим, у більшості клітин вона вузьким обідком оточувала ядро клітин і містила переважно вільні рибосоми, дрібні ізольовані вузькі профілі зернистого ендоплазматичного ретикулу, незначну кількість дрібних мітохондрій округлої форми. У клітинах із більш значним об'ємом цитоплазматичного сектора гранулярний ендоплазматичний ретикулум був доволі розвинений, часто з розширеними цистернами. Чималу частину цитоплазматичного сектора заповнювали тонкі проміжні філаменти (рис. 2), які рівномірно розташовувалися в перинуклеарній зоні, а також заповнювали відростки клітин, в яких були практично відсутні органели. У ділянках, що перебували в безпосередній близькості до цитоплазматичної мембрани, розташовувалися оточені мембраною фрагменти колагенових волокон.

Цитоплазматичні мембрани поруч розташованих клітин щільно прилягали одна до одної, іноді формуючи дрібні інвагінації, котрі проникали в сусідні клітини, що значно збільшувало контактну поверхню поруч розташованих клітин. Такі види простих контактів переважали в усіх вивчених доброякісних менінгіомах. По ходу прилеглих одна до одної цитоплазматичних мембран також визначалась незначна кількість десмосомних контактів у вигляді дрібних електронно-щільних ділянок (рис. 2). У цитоплазмі пухлинних клітин траплялись поодинокі лізосоми.

У відділах пухлини, що межують із мозковими оболонками, переважали, як правило, витягнуті фібробластоподібні клітини з чіткими контурами ядер і більш щільним дифузним розташуванням хроматину. Ядра таких клітин також мали витягнуту форму, каріолема часто мала складчастість, ділянки зі значною щільністю хроматину розташовувалися біля ядерної мембрани. Клітинний поліморфізм у пухлині не був виражений, фігури мітозу спостерігались вкрай рідко. Однак траплялись обмежені ділянки пухлинної паренхіми з помірно вираженим клітинним поліморфізмом у вигляді збільшення діаметра клітин, що мали неправильні, загострені контури та відзначались більш гіперхромним забарвленням. Такі ділянки характеризувалися змішаною будовою та були схожі з перехідними менінгіомами.

Дистрофічні зміни, в основному, представлені мікровакуолізацією цитоплазматичного сектора та перинуклеарного простору (рис. 3 А). Відзначалась вакуолізація мітохондрій із частковим руйнуванням крист (рис. 3 Б).

Зазначимо, що популяція мітохондрій у пухлинних клітинах була доволі гетерогенною. Виявлялись електронно-світлі мітохондрії з просвітленим матриксом і контрастними мембранами, а також велика кількість дрібних мітохондрій з електронно-щільним матриксом і погано помітною внутрішньою мітохондріальною мембраною, що, ймовірно, відбивало різний функціональний стан органел.

Перехідні менингіоми характеризувались поєднанням ділянок менинготеліоматозного, синцитіального типу та ділянок із типовим фібробластичним диференціюванням. Ділянки менинготеліоматозної будови відрізнялись дещо меншою кількістю концентричних структур, на відміну від типових менингомеліоматозних варіантів пухлини.

У ділянках синцитіальної будови переважали структури стромального компонента, що формували сітчасті, значні за поширеністю ділянки. Такі структури оточували мікросудини та дрібні острівці пухкої пухлинної тканини або окремі скупчення пухлинних клітин, в яких нерідко виявлялись ознаки незначного клітинного поліморфізму. При ЕМ зміни були подібні менинготеліоматозним і фіброзним менингіомам.

У фібробластичних менингіомах переважаючим типом клітин були фібробластоподібні арахноідентеліоцити з овальними, витягнутими ядрами, що містили дрібнозернистий хроматин, нерідко ядра були гіперхромними. У пухлині переважало дифузне розташування пухлинних клітин і колагенових волокон по всій площі зрізу. Доволі характерні зміни спостерігались при ЕМ, що відрізняло цей варіант менингіом від інших гістологічних варіантів. У пухлині можна було виявити різні за морфологією клітини, але переважали видозмінені фібробласти, які містили химерні, неправильної форми ядра з компактним розміщенням хроматину біля ядерної мембрани (рис. 4). Центральна частина ядра була менш електронно-щільною та містила ядерце, яке мало неоднорідну структуру в різних клітинах, що відбивало їхню різну функціональну активність. У цитоплазмі розташовувалась незначна кількість цистерн шорсткого ендоплазматичного ретикулуму, дрібні мітохондрії, лізосоми та велика кількість пучків колагенових фібрил (рис. 4), що посідали більшу частину цитоплазматичного сектора.

Необхідно відзначити, що в одиничних роботах, в яких висвітлюються дані щодо ультраструктури менингіом, можемо знайти аналогічні дані [11]. Автори описують характерні округлі або видовжені клітини з міжклітинними контактами, заповнення клітин проміжними філаментами, наявність у міжклітинному просторі великої кількості фібрил колагену.

Велика кількість пучків колагенових волокон розташовувалась між вузькими профілями відростків пухлинних клітин. Ділянки з упорядкованим ходом колагенових волокон, які характеризувалися доволі щільним компактним упакуванням окремих фібрил,

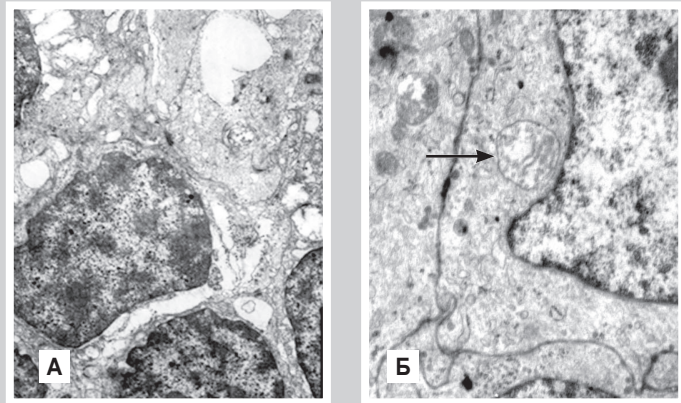


Рис. 3. Менинготеліоматозна менингіома. Дистрофічні зміни пухлинних клітин. (А): мікровакуолізація цитоплазматичного сектора та перинуклеарного простору. ЕМ. 36. ×4000. (Б): вакуолізація та часткове руйнування крист мітохондрії (показано стрілкою). ЕМ. 36. ×8000.

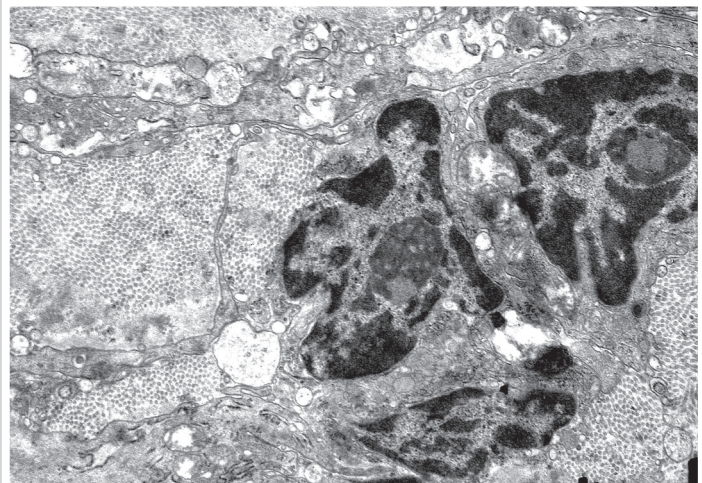


Рис. 4. Фібозна менингіома. Фібробласти пухлини з великим вмістом пучків колагенових волокон у цитоплазмі. ЕМ. 36. ×4000.

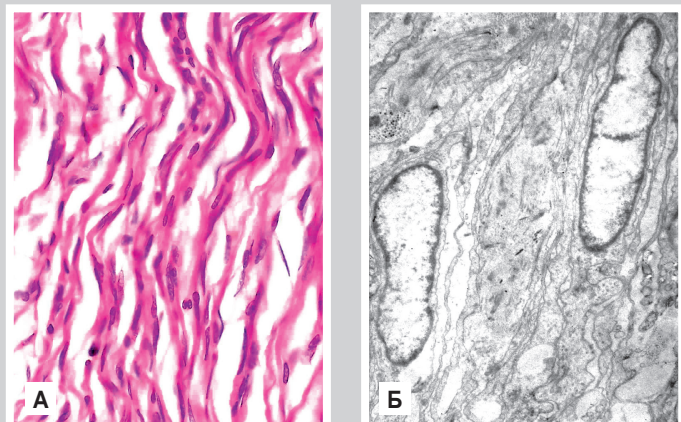


Рис. 5. Фібозна менингіома. (А): ділянка з односпрямованим поширенням колагенових волокон. Забарвлення гематокси-ліном та еозином. 36. ×400. (Б): аналогічна ділянка менингіоми при ЕМ. 36. ×4000.

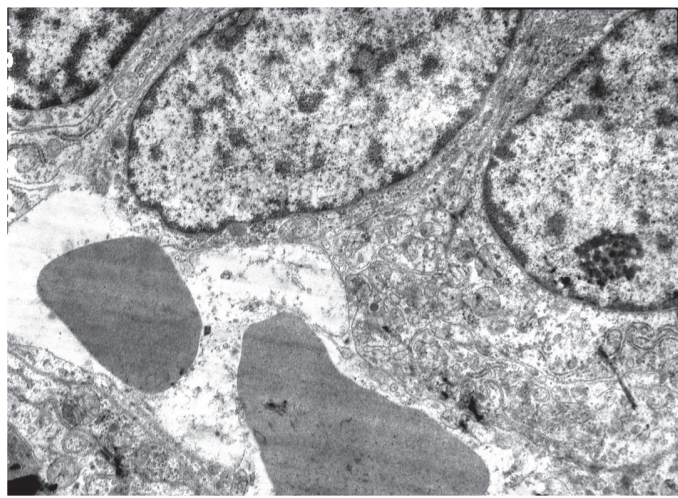


Рис. 6. Ангіоматозна менингіома. Скупчення пухлинних клітин навколо мікросудини. EM. 36. $\times 4000$.

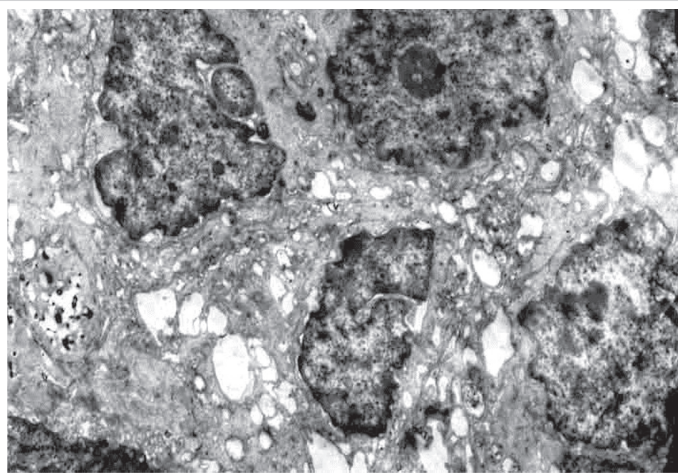


Рис. 7. Анапластична менингіома. Поліморфізм ядер пухлинних клітин, мікровакуолізація внутрішньоцитоплазматичного сектора та внутрішньоклітинних мембранних структур. EM. 36. $\times 4500$.

чергувались із більш пухкими ділянками, які містили різноспрямовані, різної довжини фрагменти волокон, що відповідало на світлооптичних препаратах ділянкам хаотичного розташування волокон колагену. Поряд із фібробластами типової будови виявлялась велика кількість клітин із різко подовженими ядрами з низькою електронною щільністю.

Ділянки однорідної будови з односпрямованим поширенням колагенових волокон на світлооптичних препаратах при електронній мікроскопії також характеризувались однорідною будовою у вигляді рівномірного розташування клітин із подовженими ядрами з низькою оптичною щільністю (рис. 5). Такі клітини містили незначний обсяг цитоплазматичного сектора з рідкісними цистернами гранулярної ендоплазматичної мережі, мізерною кількістю вільних рибосом і полісом, розрізненими цитоплазматичними філаментами та пучками колагенових волокон.

Паренхіма ангіоматозних менингіом представлена великою кількістю хаотично розташованих тонкостінних судин, між якими розташовувався сполучно-тканинний матрикс із ділянками пухлинної тканини. За клітинним складом ангіоматозна менингіома була подібна до менинготеліоматозних варіантів пухлини. Ядра клітин переважно були великі, з рівними контурами ядерної мембрани, включали ядерце або дифузно розташований хроматин, що підтверджувалося даними електронної мікроскопії (рис. 6). У цитоплазмі містились дрібні мітохондрії, розрізнені цистерни гранулярної ендоплазматичної мережі. Крім великої кількості судин, ділянок солідної, типової менинготеліоматозної будови виявлялись численні поля більш пухкої будови з сітчастою структурою, що містили нечисленні скупчення темних лімфоцитоподібних клітин. У цих ділянках також виявлялись клітини з гіперхромними ядрами й вакуолізованою цитоплазмою, крововиливи, незначні скупчення гемосидерофагів.

Анапластичні менингіоми в усіх спостереженнях характеризувались чималим клітинним атипізмом. Неоднорідність тканинної та клітинної будови в межах однієї пухлини була виражена значно менше порівняно з доброякісними варіантами менингіом. Незважаючи на це, варіанти будови анапластичних менингіом відрізнялися доволі великою різноманітністю. При ЕМ контури ядерної мембрани пухлинних клітин були нерівні, множинні випинання ядра в цитоплазму пов'язані зі збільшенням ядерної поверхні та свідчать про синтетичну активність ядра. Визначалась груба структура ядерного хроматину, що є ознакою злоякісності пухлинних клітин.

Ядра пухлинних клітин дуже різнилися за розмірами, траплялись різко збільшені ядра зі збільшенням розміру й кількості ядерця, що свідчить про підвищення функціональної активності клітин. Виявлялись також і пікнотичні ядра, що є ознакою загибелі клітин, ядра з вираженими глибокими інвагінаціями, зі значущим розрідженням структури хроматину та явищами вакуолізації, а також ядра з вогнищевими порушеннями цілісності каріолеми.

На відміну від доброякісних варіантів менингіом, в анапластичних менингіомах практично не виявлялись міжклітинні контакти, що пов'язують із втратою молекул міжклітинної адгезії. Деструкція міжклітинних контактів може сприяти набуттю інвазивних властивостей і подальшому рецидивуванню цих пухлин. В анапластичних менингіомах реєструвалась також чимала вакуолізація внутрішньоцитоплазматичного сектора та внутрішньоклітинних мембранних структур пухлинних клітин, що, ймовірно, пов'язано з порушенням колоїдно-осмотичного тиску цитоплазми внаслідок гальмування транспорту іонів через мембрану клітини (рис. 7).

У ділянках некротичних змін також відзначався міжклітинний набряк, стирались чіткі контури мембранних структур, виявлявся апоптоз окремих клітин (рис. 8) із фрагментованістю ядра та щільним конденсованим хроматином по периферії апоптотичних тілець, з'являлась безліч вторинних лізосом.

Руйнації піддавались і колагенові волокна, котрі виявлялись в анапластичних менингіомах. До того ж між пучками колагенових волокон часто розташовувались множинні осміофільні ділянки, що являли собою аморфні зони фібриноїдного некрозу.

Висновки

1. Дані ЕМ дають можливість виділити характерні ультраструктурні зміни в різних варіантах доброякісних менингіом. Зокрема, менинготеліоматозний варіант пухлини містить однорідні за будовою клітини зі світлими овальними ядрами, з рівномірним розташуванням дрібногранулярного хроматину, добре диференційованими міжклітинними контактами. У фібробластичних менингіомах переважають видозмінені фібробласти з ядрами неправильної форми, з компактним розташуванням хроматину біля ядерної мембрани, а також велика кількість пучків колагенових фібрил, що розташовані як внутрішньо-, так і позаклітинно.

2. Анапластичні менингіоми характеризуються вираженими процесами альтерації, про що свідчить на ультраструктурному рівні збільшення розміру або пікноз ядер, наявність ядер із глибокими інвагінаціями, значущим розрідженням структури хроматину, вогнищевими порушеннями цілісності каріолеми, вакуолізацією внутрішньоклітинних мембранних структур і позаклітинного набряку, чималою редукцією міжклітинних контактів, що може сприяти розвитку рецидивів і можливих метастазів.

3. Ультраструктурні особливості менингіом, що проявляються наявністю десмосомних контактів у менинготеліоматозних варіантах, підтверджують епітеліальний напрям диференціювання, а чимала кількість пучків колагенових фібрил у фібробластичних варіантах виявляють ознаки мезенхімального походження цих пухлин, що підтверджує теорію подвійного епітеліально-мезенхімального гістогенезу менингіом.

Список літератури

- [1] Uematsu Y. The role of electron microscopy in the diagnosis of surgical pathology in the central nervous system / Y. Uematsu // *Med. Mol. Morphol.* – 2006. – Vol. 39(3). – P. 127–135.
- [2] Kim N.R., Ha, S. Y., & Cho, H. Y. (2015). Utility of transmission electron microscopy in small round cell tumors. *J. Pathol. Transl. Med.*, 49(2), 93–101. doi: 10.4132/jptm.2015.01.30.
- [3] Baloyannis S.J. The fine structure of ependymomas / S.J. Baloyannis, I.S. Baloyannis // *CNS Oncol.* – 2014. – Vol. 3(1). – P. 49–59.
- [4] Zhu J. Craniopharyngioma: Survivin expression and ultrastructure / J. Zhu, C. You // *Oncol Lett.* – 2015. – Vol. 9(1). – P. 75–80.
- [5] Ultrastructural pathology of anaplastic and grade II ependymomas reveals distinctive ciliary structures-electron microscopy redux / C. Alfaro-Cervelló, M. Soriano-Navarro, M. Ramírez et al. // *Ultrastruct. Pathol.* – 2015. – Vol. 39(1). – P. 23–29.
- [6] Ependymomas with neuronal differentiation: a morphologic and immunohistochemical spectrum / F. J. Rodriguez, B.W. Scheithauer, P.D. Robbins et al. // *Acta Neuropathol.* – 2007. – Vol. 113(3). – P. 313–324.
- [7] Chordoid glioma of the third ventricle: a report of two cases, one with ultrastructural findings / K. Kawasaki, M. Kohno, C. Inenaga et al // *Neuropathology.* – 2009. – Vol. 29(1). – P. 85–90.
- [8] Pediatric rhabdoid meningioma: a morphological, immunohistochemical, ultrastructural and molecular case study / A.M. Buccoliero, F. Castiglione, D. Rossi, et al. // *Neuropathology.* – 2011. – Vol. 31(1). – P. 59–65.
- [9] The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary / D.N. Louis, A. Perry, G. Reifenberger et al. // *Acta Neuropathol.* – 2016. – Vol. 131(6). – P. 803–820.
- [10] Микроскопическая техника: Руководство / под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Перова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
- [11] Ultrastructure of meningiomas: autophagy is involved in the pathogenesis of "intranuclear vacuoles" / D. Jaskólski, T. Papierz, P.P. Liberski et al. // *Folia Neuropathol.* – 2012. – Vol. 50(2). – P. 187–193.

References

- [1] Uematsu, Y. (2006). The role of electron microscopy in the diagnosis of surgical pathology in the central nervous system. *Med. Mol. Morphol.*,

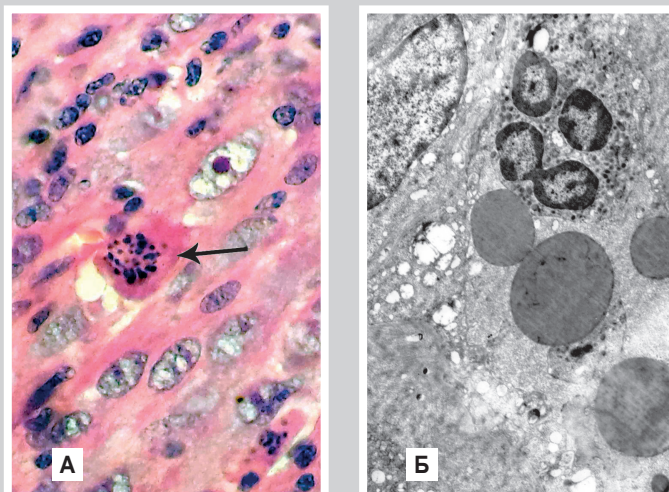


Рис. 8. Анапластична менингіома. Апоптоз пухлинної клітини.

(А): забарвлення гематоксиліном та еозином. 36. ×600.

(Б): Ультраструктура перифокальної зони некрозу з апоптозом клітини та накопиченням вторинних лізосом. ЕМ. 36. ×6000.

- 39(3), 127–135. doi: 10.1007/s00795-006-0331-x.
- [2] Kim, N. R., Ha, S. Y., & Cho, H. Y. (2015). Utility of transmission electron microscopy in small round cell tumors. *J. Pathol. Transl. Med.*, 49(2), 93–101. doi: 10.4132/jptm.2015.01.30.
- [3] Baloyannis, S. J., & Baloyannis, I. S. (2014). The fine structure of ependymomas. *CNS Oncol.*, 3(1), 49–59. doi: 10.2217/cns.13.64.
- [4] Zhu, J., & You, C. (2015). Craniopharyngioma: Survivin expression and ultrastructure. *Oncol Lett.*, 9(1), 75–80. doi: 10.3892/ol.2014.2690.
- [5] Alfaro-Cervelló, C., Soriano-Navarro, M., Ramírez, M., Bernet, L., Martínez, Banaclocha, M., et al. (2015). Ultrastructural pathology of anaplastic and grade II ependymomas reveals distinctive ciliary structures-electron microscopy redux. *Ultrastruct. Pathol.*, 39(1), 23–29. doi: 10.3109/01913123.2014.906526.
- [6] Rodriguez, F. J., Scheithauer, B. W., Robbins, P. D., Burger, P. C., Hessler, R. B., Perry, A., et al. (2007). Ependymomas with neuronal differentiation: a morphologic and immunohistochemical spectrum. *Acta Neuropathol.*, 113(3), 313–324. doi: 10.1007/s00401-006-0153-x.
- [7] Kawasaki, K., Kohno, M., Inenaga, C., Sato, A., Hondo, H., Miwa, A., et al. (2009). Chordoid glioma of the third ventricle: a report of two cases, one with ultrastructural findings. *Neuropathology*, 29(1), 85–90. doi: 10.1111/j.1440-1789.2008.00925.x.
- [8] Buccoliero, A. M., Castiglione, F., Rossi, D., Franchi, A., Sanzo, M., Cetica, V., et al. (2011). Pediatric rhabdoid meningioma: a morphological, immunohistochemical, ultrastructural and molecular case study. *Neuropathology*, 31(1), 59–65. doi: 10.1111/j.1440-1789.2010.01113.x.
- [9] Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., von Dörmeling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W. K., et al. (2016). The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol.*, 131(6), 803–820. doi: 10.1007/s00401-016-1545-1.
- [10] Sarkisov, D. S., & Perov, Yu. L. (Eds) (1996). *Микроскопическая техника* [Microscopic technique]. Moscow: Medicina. [in Russian].
- [11] Jaskólski, D., Papierz, T., Liberski, P.P., & Sikorska, B. (2012). Ultrastructure of meningiomas: autophagy is involved in the pathogenesis of "intranuclear vacuoles". *Folia Neuropathol.*, 50(2), 187–193.

Відомості про авторів:

Тертишний С. І., д-р мед. наук, професор, зав. 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.

Вотєва В. Є., асистент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Дикий К. Л., старший науковий співробітник, зав. лабораторії електронної мікроскопії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Тертышный С. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Шаврин В. А., д-р мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Вотева В. Е., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Дикий К. Л., старший научный сотрудник, зав. лабораторией электронной микроскопии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Tertishniy S. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Shavrin V. A., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Voteva W. Ye., Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Dikiy K. L., Senior Researcher, Head of the Laboratory of Electron Microscopy, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 22.02.2017

Після доопрацювання / Revised: 24.02.2017

Прийнято до друку / Accepted: 01.03.2017

Ретроспективная оценка эффективности тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии в постановке диагноза папиллярный рак щитовидной железы

С. Н. Завгородний^{1, 2}, А. И. Рылов^{1, 2}, М. Б. Данилюк^{1, 2}, Т. В. Макусий³

¹Запорожский государственный медицинский университет, Украина, ²КУ «Городская клиническая больница экстренной и скорой медицинской помощи г. Запорожья», Украина, ³ООО «Диасервис», Запорожье, Украина

Морфологическое исследование клеточного состава узла щитовидной железы, полученного при тонкоигольной аспирационной биопсии, является краеугольным камнем в дооперационной дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных узлов щитовидной железы.

Внедрение тонкоигольной биопсии в медицинскую практику существенно повлияло на изменение тактики при лечении узловых заболеваний щитовидной железы. В настоящее время тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия получила широкое распространение.

Цель работы – установить достоверность тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии в постановке предварительного диагноза папиллярный рак щитовидной железы.

Материалы и методы. За период с 2014 по 2016 год в клинику поступило 122 больных с предварительным диагнозом папиллярный рак щитовидной железы. Всем пациентам на догоспитальном этапе проводилось ультразвуковое исследование шеи с тонкоигольной аспирационной пункционной биопсией узлов щитовидной железы, а в случае метастатического поражения – и лимфатических узлов. Окрашивание мазков проводили по методу Романовского–Гимзы с использованием фосфатного буфера, в достижении pH 6,0–6,3 (оптимальным считали pH 6,2) и фиксацией в метиловом спирте.

Результаты. Всем пациентам выполнено оперативное лечение согласно протоколу лечения высокодифференцированной карциномы щитовидной железы. При постановке предварительного диагноза T1a-vN0M0 больным проводились тиреоидэктомия, центральная лимфодиссекция, в остальных случаях выполнялись тиреоидэктомия, центральная (удаление 6 групп лимфатических узлов шеи) и латеральная (удаление 3, 4 шейных лимфатических коллекторов) со стороны поражённой доли щитовидной железы. Нами выполнено 46 тиреоидэктомий с центральной лимфодиссекцией (37,7 %) и 76 тиреоидэктомий с центральной и односторонней латеральной лимфатической диссекцией шеи (62,3 %). По полученным результатам, из 122 больных у 114 установлен диагноз папиллярный рак, который подтверждён гистологическим заключением (93,4 %). Остальным 8 пациентам (6,6 %) выставлен диагноз микро-, макрофолликулярный коллоидный зоб. Данный диагноз во всех случаях был подтверждён путём проведения иммуногистохимического исследования.

Выводы. Тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия является достоверным методом в постановке диагноза папиллярный рак щитовидной железы (93,4 %). Морфологическое исследование биоптата квалифицированным специалистом минимизирует необходимость в интраоперационной дополнительной экспресс-биопсии узлов.

Ключевые слова: папиллярный рак, щитовидная железа, тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 27–30

DOI: 10.14739/2310-1237.2017.1.97358

E-mail: em_de@mail.ru

Ретроспективне оцінювання ефективності тонкоголкової аспіраційної пункційної біопсії в установленні діагнозу папілярний рак щитоподібної залози

С. М. Завгородній, А. І. Рілов, М. Б. Данилюк, Т. В. Макусій

Морфологічне дослідження клітинного складу вузла щитоподібної залози, що отриманий під час тонкоголкової аспіраційної пункційної біопсії, є вирішальним етапом у доопераційній диференційній діагностиці доброякісних і злоякісних вузлів щитоподібної залози.

Впровадження тонкоголкової біопсії в медичну практику значно вплинуло на зміну тактики під час лікування вузлових захворювань щитоподібної залози. Натеper тонкоголкова аспіраційна пункційна біопсія набула значного поширення.

Мета роботи – встановити вірогідність тонкоголкової аспіраційної пункційної біопсії в установленні діагнозу папілярний рак щитоподібної залози.

Матеріали та методи. За період із 2014 по 2016 рік у клініку надійшли 122 пацієнти з попереднім діагнозом папілярний рак щитоподібної залози. Усім пацієнтам на догоспітальному етапі виконували ультразвукографічне дослідження шиї з тонкоголковою аспіраційною пункційною біопсією вузлів щитоподібної залози, а у випадку метастатичного враження – й лімфатичних вузлів. Фарбування мазків здійснювали за методом Романовського–Гімзи з використанням фосфатного буфера, при досягненні pH 6,0–6,3 (оптимальним вважали pH 6,2) та фіксацією в метиловому спирті.

Результати. Усім пацієнтам виконали оперативне лікування згідно з протоколом лікування вискодиференційованої карциноми щитоподібної залози. Під час установлення попереднього діагнозу T1 a-vN0M0 хворим виконували тиреоїдектомію, центральну лімфодиссекцію, в решті випадків – тиреоїдектомію, центральну та латеральну диссекцію шиї з боку пухлинного процесу. Виконали 46 тиреоїдектомій із центральною лімфодиссекцією (37,7 %) та 76 тиреоїдектомій із центральною та однобічною латеральною лімфатичною диссекцією шиї (62,3 %). Згідно з результатами, серед 122 хворих у 114 діагноз папілярний рак щитоподібної залози підтверджений гістологічно (93,4 %). 8 пацієнтам (6,6 %) виставлений діагноз мікро-, макрофолікулярний колоїдний зоб. Цей діагноз у всіх випадках підтверджений імуногістохімічним аналізом.

Ключові слова: папілярний рак, щитоподібна залоза, тонкоголкова аспіраційна пункційна біопсія.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 27–30

Висновки. Тонкоігольова аспіраційна пункційна біопсія є вірогідним методом у встановленні діагнозу папілярний рак щитоподібної залози (93,4 %). Морфологічне дослідження біоптату кваліфікованим спеціалістом мінімізує необхідність у додатковій інтраопераційній експрес-біопсії вузлів.

Key words:
papillary carcinoma,
thyroid,
fine-needle
aspiration biopsy.

Pathologia
2017; 14 (1), 27–30

Retrospective evaluation of the efficiency of fine needle aspiration biopsy in the diagnosis of papillary carcinoma of the thyroid gland

S. N. Zavgorodniy, A. I. Rylov, M. B. Danyluk, T. V. Makusii

Morphological examination of the cellular composition of the thyroid gland node obtained with fine needle aspiration biopsy is an important stage in the preoperative differential diagnosis of benign and malignant thyroid nodules. At present, fine needle aspiration puncture biopsy has become widespread.

The objective of the research: To establish the reliability of fine needle aspiration puncture biopsy in the formulation of a preliminary diagnosis of papillary thyroid cancer.

Materials and methods. During the period from 2014 to 2016, the clinic received 122 patients with a preliminary diagnosis of papillary thyroid cancer. All patients in the prehospital stage were subjected to ultrasound examination of the neck with fine needle aspiration puncture biopsy of the thyroid nodules, and in case of metastatic lesions – and lymph nodes. Staining of smears were performed by the method of Romanovsky–Giemsa with phosphate buffer to achieve pH 6.0–6.3 (optimal pH 6.2) and fixation in methanol.

Results. All patients underwent surgical treatment according to the protocol of the treatment of highly differentiated thyroid carcinoma. With the preliminary diagnosis T1a-vN0M0, patients underwent thyroidectomy, central lymphatic nodes dissection, in the remaining cases, thyroidectomy, central and lateral lymphatic nodes dissection from the affected side of thyroid gland. We performed 46 thyroidectomies with central lymphatic dissection (37.7 %) and 76 thyroidectomy with central and unilateral lymphatic dissection of the neck (62.3 %). Received results, out of 122 patients, 114 had a diagnosis of papillary cancer, which was confirmed by the histological conclusion (93.4 %). The remaining 8 patients (6.6 %) were diagnosed with micro-macrofollicular goiter. This diagnosis was confirmed in all the cases by immunohistochemical examination.

Conclusions. Fine needle aspiration puncture biopsy is a reliable method in diagnosing papillary thyroid cancer (93.4 %). Morphological examination of a biopsy by a qualified specialist minimizes the need for intraoperative additional rapid biopsy of the nodes.

Высокодифференцированный рак щитовидной железы – наиболее часто встречаемая онкопатология эндокринной системы. За последние 10 лет заболеваемость раком щитовидной железы выросла более чем в два раза. Прирост заболевания по некоторым регионам нашей страны составил до 300 % [3,4]. Эффективность лечения и прогноз заболевания зависят не только от распространённости процесса, но и от гистологического варианта рака [3].

Морфологическое исследование клеточного состава узла, полученного при тонкоигольной аспирационной биопсии, является краеугольным камнем в дооперационной дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных узлов щитовидной железы. Внедрение тонкоигольной биопсии в медицинскую практику существенно повлияло на изменение тактики при лечении узловых заболеваний щитовидной железы [1,5]. В настоящее время тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия получила широкое распространение [1,2]. Этот метод позволяет практически безошибочно выявить доброкачественные коллоидные узлы и такие виды злокачественных опухолей, как папиллярный, медуллярный и анапластический раки. Преимуществами метода являются его простота, доступность, безопасность, возможность повторной пункции первичной опухоли и регионарных метастазов [5].

Цель работы

Установить достоверность тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии в постановке предварительного диагноза папиллярный рак щитовидной железы.

Материалы и методы исследования

За период с 2014 по 2016 год в КУ «ГКБЭ и СМП г. Запорожье» поступило 122 больных с предварительным диагнозом папиллярный рак щитовидной железы. Женщин было 119 (97,5 %), мужчин – 3 (2,5 %). Средний возраст пациентов – 52,4 ± 12,1 (возраст от 21 до 80 лет).

Всем пациентам на догоспитальном этапе проводилось ультразвуковое исследование шеи аппаратом ультразвуковой диагностики SLE-101 PC с тонкоигольной аспирационной пункционной биопсией узлов щитовидной железы, а в случае метастатического поражения и лимфатических узлов – иглой G 21. Окрасивание мазков проводили по методу Романовского–Гимзы с использованием фосфатного буфера, в достижении pH 6,0–6,3 (оптимальным считали pH 6,2) и фиксацией в метиловом спирте.

Морфологическое исследование мазков пунктата данной группы пациентов проводилось одним врачом – морфологом высшей категории.

Результаты и их обсуждение

Всем пациентам выполнено оперативное лечение согласно протоколу лечения высокодифференцированной карциномы щитовидной железы. При постановке предварительного диагноза T1a-vN0M0 больным проводились тиреоидэктомия, центральная лимфодиссекция, в остальных случаях – тиреоидэктомия, центральная (удаление 6 группы лимфатических узлов шеи) и латеральная (удаление 3, 4 шейных

лимфатических коллекторов) со стороны поражённой доли щитовидной железы.

Нами выполнено 46 тиреоидэктомий с центральной лимфодиссекцией (37,7 %) и 76 тиреоидэктомий с центральной и односторонней латеральной лимфатической диссекцией шеи (62,3 %), результаты по годам представлены в *таблице 1*.

Все препараты в послеоперационном периоде направлены на патогистологическое исследование, которое проводилось в Запорожском областном патологоанатомическом бюро на базе кафедры патологической анатомии и судебной медицины Запорожского государственного медицинского университета.

Согласно результатам, в 114 случаях (93,4 %) выставлен диагноз папиллярный рак.

Все результаты были стадированы соответственно TNM седьмой классификации UICC и AJCC 2009 года (*табл. 2*).

По полученным результатам гистологического заключения, среди 122 больных с предварительным диагнозом папиллярный рак, который был выставлен путём проведения тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии, у 114 пациентов диагноз подтверждён гистологическим заключением (93,4 %). Остальным 8 больным (6,6 %) выставлен диагноз микро-, макрофолликулярный коллоидный зоб, данный диагноз во всех случаях подтверждён путём иммуногистохимического исследования, результаты по годам представлены в *таблице 3*.

Таким образом, тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия в постановке предварительного диагноза папиллярный рак щитовидной железы является методом высокой степени качества диагностики (93,4 %), что, в свою очередь, минимизирует необходимость интраоперационной экспресс-биопсии для подтверждения данного диагноза, и может считаться

Таблица 1. Количество и виды оперативных вмешательств

Год	Тиреоидэктомия и центральная лимфодиссекция		Тиреоидэктомия, центральная и односторонняя латеральная лимфодиссекция		Всего	
	количество	%	количество	%	количество	%
2014	8	6,5	23	18,9	31	25,4
2015	23	18,9	22	18,0	45	36,9
2016	15	12,3	31	25,4	46	37,7
Всего	46	37,7	76	62,3	122	100

Таблица 2. Стадирование папиллярной карциномы щитовидной железы по TNM седьмой классификации UICC и AJCC 2009 г.

Стадирование по классификации TNM	Критерии оценки	Год			Всего	
		2014	2015	2016	количество	%
T1aN0M0	Количество	6	11	11	28	24,5
T1aN1aM0	Количество	7	8	1	16	14,0
T1aN1bM0	Количество	–	3	–	3	2,6
T1bN0M0	Количество	3	7	7	17	14,9
T1bN1aM0	Количество	4	–	9	13	11,4
T1bN1bN0	Количество	4	6	4	14	12,3
T2N0M0	Количество	2	–	4	6	5,3
T2N1aM0	Количество	1	2	1	4	3,5
T2N1bM0	Количество	2	3	2	7	6,1
T3N0M0	Количество	–	–	1	1	0,9
T3N1aM0	Количество	–	1	–	1	0,9
T3N1bM0	Количество	–	1	1	2	1,8
T4N0M0	Количество	–	–	1	1	0,9
T4N1aM0	Количество	–	–	–	–	–
T4N1bM0	Количество	1	–	–	1	0,9
Всего	Количество	30	42	42	114	
	%	26,4	36,8	36,8	100	

Таблица 3. Процентное соотношение папиллярного рака и узлового зоба по годам

Год	Гистологическое заключение			
	Папиллярный рак		Узловой коллоидный зоб	
	количество	%	количество	%
2014	30	24,6	1	0,8
2015	42	34,4	3	2,5
2016	42	34,4	4	3,3
Всего	114	93,4	8	6,6

достоверным в постановке предварительного дооперационного диагноза ($p < 0,01$).

Выводы

1. Тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия является достоверным методом в постановке диагноза папиллярный рак щитовидной железы (93,4 %).

2. Цитоморфологическое исследование биоптата квалифицированным специалистом минимизирует необходимость в интраоперационной дополнительной экспресс-биопсии.

Перспективы дальнейших исследований. Планируется изучение достоверности тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии в других группах высокодифференцированного рака щитовидной железы, а также анализ группы «случайно выявленный рак».

Список литературы

- [1] Метод жидкостной цитологии в диагностике заболеваний щитовидной железы / О.В. Брынова, К.Т. Касоян, И.П. Шабалова и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – Т. 61. – №4. – С. 225–228.
- [2] Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению дифференцированного рака щитовидной железы у взрослых. Проект. Редакция 2016 г. / В.Э. Ванушко, Д.Г. Бельцевич, А.Г. Мельниченко и др. // Эндокринная хирургия. – 2015. – Т. 9. – №3. – С. 7–14.
- [3] Нужно ли выполнять центральную лимфодиссекцию при высокодифференцированной микрокарциномой щитовидной железы / С.Н. Завгородний, М.Б. Данилюк, А.И. Рылов, О.С. Доля // Клиническая хирургия. – 2016. – №8(889). – С. 44–46.
- [4] Подходы к лечению рака щитовидной железы на фоне беременности / А.С. Ларин, С.М. Черненко, Ю.В. Давидова и др. // Сучасні медичні технології. – 2013. – №3. – С. 102–105.
- [5] Guidelines for the management of thyroid cancer / P. Perros, K. Boelaert, S. Colley et al. // Clin Endocrinol. – 2014. – Vol. (81)1. – P. 122.

References

- [1] Brynova, O. V., Kasoyan, K. T., Shabalova, I. P., Zima, A. P., Isaieva, A. V., & Saprina, T. V. (2016). Metod zhidkostnoj citologii v diagnostike zaboolevanij shchitovidnoj zhelezy [The technique of fluid cytology in diagnostic of thyroid diseases]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 61(4), 225–228. [in Russian]. doi: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-225-228.
- [2] Bel'tsevich, D. G., Vanushko, V. E., Mel'nichenko, G. A., Mudunov, A. M., Rummyantsev, P. O., & Sleptsov, I. V. (2015). Rossijskie klinicheskie rekomendacii po diagnostike i lecheniyu differencirovannogo raka shchitovidnoj zhelezy u vzroslykh. Proye'kt. Redakciya 2016 g. [Russian clinical practice guidelines for diagnosis and treatment of differentiated thyroid cancer]. *Endokrinnaia khirurgiya*, 9(3), 7–14. [in Russian].
- [3] Zavgrodnij, S. N., Danilyuk, M. B., Rylov, A. I., & Dolya, O. S. (2016). Nuzhno li vypolnyat' central'nyu limfodissekciju pri vysokodifferencirovannoj mikrokarcinome shchitovidnoj zhelezy [Do we need to carry out the central lymph node dissection with highly differentiated thyroid microcarcinoma]. *Klinichna khirurgija*, 8(889), 44–46. [in Russian].
- [4] Larin, A. S., Cherenko, S. M., Davidova, Yu. V., & Fedorchenko, G. A. (2013). Podkhody k lecheniyu raka shchitovidnoj zhelezy na fone beremennosti [Approaches to treatment of thyroid cancer detected during pregnancy]. *Suchasni midychni tehnologii*, 3, 102–105. [in Russian].
- [5] Perros, P., Boelaert, K., Colley, S., Evans, C., Evans Rhodri, M., Gerrard, G., et al. (2014) Guidelines for the management of thyroid cancer. *Clin Endocrinol.*, (81)1, 122. doi: 10.1111/cen.12515.

Сведения об авторах:

Завгородний С. Н., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. хирургии и анестезиологии ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Рылов А. И., канд. мед. наук, доцент каф. общей хирургии с уходом за больными, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Данилюк М. Б., клинический ординатор, каф. общей хирургии с уходом за больными, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Макусий Т. В., врач ультразвуковой диагностики, ООО «Диасервис», г. Запорожье, Украина.

Відомості про авторів:

Завгородній С. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. хірургії та анестезіології ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Рилов А. І., канд. мед. наук, доцент каф. загальної хірургії з доглядом за хворими, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Данилюк М. Б., клінічний ординатор, каф. загальної хірургії з доглядом за хворими, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Макусій Т. В., лікар ультразвукової діагностики, ТОВ «Діасервіс», м. Запоріжжя, Україна.

Information about authors:

Zavgorodniy S. N., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Surgery and Anesthesiology of FPE, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Rylov A. I., MD, PhD, Associate Professor, Department of General Surgery with Patient Care, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Danylyuk M. B., Clinical Intern, Department of General Surgery with Patient Care, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Makusii T. V., Doctor of ultrasonic diagnostics, "Diaservis", Zaporizhzhia, Ukraine.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Надійшло до редакції / Received: 02.02.2017
Після доопрацювання / Revised: 13.02.2017
Прийнято до друку / Accepted: 28.02.2017

Медуллобластомы мозжечка у детей: клиничко-морфологические сопоставления

В. В. Моргун¹, О. Г. Черненко¹, И. А. Маловичко², С. А. Руденко³,
Т. А. Малышева¹, В. П. Сильченко³, Л. Н. Вербова¹

¹ГУ «Институт нейрохирургии имени академика А. П. Ромоданова НАМН Украины», г. Киев, ²Запорожский государственный медицинский университет, Украина, ³Национальная медицинская академия последилового образования имени П. Л. Шупика МОЗ Украины, г. Киев.

Нейроэпителиальные опухоли головного мозга эмбрионального типа, IV степени злокачественности встречаются преимущественно у детей и характеризуются быстрым метастазированием и частыми рецидивами.

Цель работы – провести сопоставления структурных особенностей медуллобластом мозжечка у детей разных возрастных групп с учётом их локализации, метастазирования и результатов лечения.

Материалы и методы. Проанализированы результаты комплексного обследования и хирургического лечения 289 больных детей с МБ мозжечка в отделении нейрохирургии детского возраста Института нейрохирургии имени академика А. П. Ромоданова за период 1993–2013 гг. Возраст детей – от 1 месяца до 17 лет, пики выявления МБ отмечены в возрасте 4 и 7 лет.

Результаты. В ходе исследования всех больных распределили на четыре возрастные группы. У детей младшего возраста редко отмечали поражение ствола мозга. В более взрослом возрасте был поражён ствол мозга, отмечалось прорастание опухоли в водопровод среднего мозга с развитием окклюзионной гидроцефалии. Тотальное удаление МБ у детей младшего возраста произведено в 40 % наблюдений, субтотальное – в 42 %, частичное – в 18 %. У детей старшего возраста тотальное удаление МБ выполнено в 36 %, субтотальное – в 52 %, частичное – в 12 % наблюдений. При гистологическом анализе опухолей учитывали морфологические признаки общей гистоархитектоники, соотношение паренхиматозного и стромального компонентов, наличие псевдорозеток Хомера–Райта, коллоидных структур, бледных островков, истинных эпендимарных розеток, формирование пучковых коллоидных структур, преобладание мелких низкодифференцированных структур, количество митозов, неоангиогенез и ангиопрлиферацию, наличие колликационных некрозов и коагуляционных некрозов, признаки и характер инвазии, лимфоцитарную инфильтрацию опухолевой ткани. Гистологически определённые варианты: классический – 9470/3 в 34 наблюдениях (17,9 %), десмопластический/нодулярный – 9471/3 в 17 наблюдениях (8,9 %), вариант с выраженной нодулярностью – 9471/3 в 59 наблюдениях (31,2 %), крупноклеточный/анпластический – 9474/3 в 51 наблюдении (26,9 %), не относится ни к одному из вышеуказанных (переходный/смешанный) – 9470/3 в 28 наблюдениях (15,1 %).

Выводы. Установлено, что показатели выживаемости после тотального и субтотального удаления опухоли существенно не различались, негативным прогностическим фактором было только частичное удаление опухоли.

Ключевые слова: медуллобластома, головной мозг, опухоль.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 31–37

DOI:
10.14739/2310-1237.2017.1.97171

E-mail:
rudenko-7@ukr.net

Медуллобластомы мозочка в дітей: клініко-морфологічні зіставлення

В. В. Моргун, О. Г. Черненко, І. А. Маловичко, С. О. Руденко, Т. А. Малишева, В. П. Сильченко, Л. М. Вербова

Нейроепітеліальні пухлини головного мозку ембріонального типу, IV ступеня злоякісності виявляються переважно в дітей і характеризуються швидким метастазуванням і частими рецидивами.

Мета роботи – здійснити зіставлення структурних особливостей медуллобластом мозочка в дітей різних вікових груп з урахуванням їхньої локалізації, метастазування та результатів лікування.

Матеріали та методи. Проаналізовані результати комплексного обстеження та хірургічного лікування 289 хворих дітей із МБ мозочка у відділенні нейрохірургії дитячого віку Інституту нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова за період 1993–2013 рр. Вік дітей – від 1 місяця до 17 років, пік виявлення МБ – діти 4 і 7 років.

Результати. Під час обстеження всіх хворих поділили на чотири вікові групи. У дітей молодшого віку рідко відзначали враження стовбура головного мозку. У старшому віці був вражений стовбур головного мозку, відзначалося проростання пухлини у водопровід середнього мозку з розвитком оклюзійної гідроцефалії. Тотальне видалення МБ у дітей молодшого віку проведено в 40 % спостережень, субтотальне – 42 %, часткове – у 18 %. У дітей старшого віку тотальне видалення МБ виконано у 36 %, субтотальне – в 52 %, часткове – у 12 % спостережень. Під час гістологічного аналізу пухлин враховували морфологічні ознаки загальної гістоархитектоники, співвідношення паренхіматозного та стромального компонентів, наявність псевдорозеток Хомера–Райта, колоидних структур, блідих острівців, природних епендимарних розеток, формування пучкових колоидних структур, переважання дрібних низкодиференційованих структур, кількість митозів, неоангіогенез та ангиопроліферацію, наявність колікаційних некрозів і коагуляційних некрозів, ознаки й характер інвазії, лімфоцитарну інфільтрацію пухлинної тканини. Гістологічно виявлені варіанти: класичний – 9470/3 у 34 спостереженнях (17,9 %), десмопластичний/нодулярний – 9471/3 в 17 спостереженнях (8,9 %), варіант із вираженою нодулярністю – 9471/3 в 59 спостереженнях (31,2 %), великоклітинний/анпластичний – 9474/3 в 51 спостереженні (26,9 %), не належать до жодного із вказаних вище (перехідний/змішаний) – 9470/3 у 28 спостереженнях (15,1 %).

Висновки. Встановили, що показники виживаності після тотального та субтотального видалення пухлин суттєво не відрізнялись, негативним прогностичним чинником було тільки часткове видалення пухлини.

Ключові слова: медуллобластома, головний мозок, пухлина.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 31–37

Key words:

medulloblastoma,
brain,
neoplasms.

Pathologia

2017; 14 (1), 31–37

Medulloblastomas of the Cerebellum in Children: Clinicopathologic Comparison

V. V. Morgun, O. G. Chernenko, I. A. Malovichko, S. O. Rudenko, T. A. Malysheva, V. P. Sil'chenko, L. M. Verbova

Embryonal neuroepithelial tumours of the brain, grade IV are mainly observed in children and are characterized by rapid metastatic spread and frequent recurrence.

The aim of the work is to compare structural features of medulloblastomas of the cerebellum in children of different age groups taking into account localization, metastatic spread and treatment outcomes.

Materials and methods. The results of complete examination and surgical treatment of 289 children with medulloblastoma of the cerebellum at the Department of Pediatric Neurosurgery of Institute of neurosurgery named after A. P. Romodanov over the period of 1993–2013 were analysed. The children's age ranged from 1 month to 17 years: peak of medulloblastoma detection was registered at the age of 4–7.

Results. As part of the study all the patients were divided into four age groups. Younger children rarely had brainstem lesion. In children of older age brainstem lesion, invasion into cerebral aqueduct with the development of noncommunicating hydrocephalus were registered. Total resection of medulloblastoma in younger children was performed in 40 % of cases, subtotal – in 42 %, partial – in 18 %. In children of older age total resection of medulloblastoma was carried out in 36 %, subtotal – in 52 %, partial – in 12 % of cases. Histological analysis of tumours involved morphological characteristics of general histoarchitecture, correlation between parenchymal and stromal component, presence of Homer Wright pseudorosettes, collarar structures, pale insulas, true ependymal rosettes, formation of braided collarar structures, prevalence of small low-differentiated structures, number of mitoses, neoangiogenesis and angioproliferation, presence of colliquative and coagulation necroses, evidence and type of invasion, lymphocytic infiltration of tumour tissue. The following variations were defined histologically: classical – 9470/3 in 34 cases (17.9 %), desmoplastic/nodular – 9471/3 in 17 cases (8.9 %), with extensive nodularity – 9471/3 in 59 cases (31.2 %), large-cell (anaplastic) – 9474/3 in 51 cases (26.9 %), does not belong to any of the above (transitional/combined) – 9470/3 in 28 cases (15.1 %).

Conclusions. It was established that survival index after total and subtotal tumour resection was not significantly different; a negative prognostic factor was only a partial removal of the tumour.

Медуллобластомы (МБ) мозжечка – нейроэпителиальные опухоли мозга эмбрионального типа, IV степени злокачественности [1], которые выявляются преимущественно у детей и характеризуются быстрым метастазированием и частым рецидивированием. Данные большинства авторов свидетельствуют об особенностях течения и результатов лечения МБ мозжечка в зависимости от возраста ребенка [2–5,8]. Показатели выживаемости детей старшего возраста при наличии МБ без наличия метастазов при комбинированном лечении значительно улучшились за последние годы. Разница в сроках рецидивирования у пациентов с МБ, которые получали лечение по стандартной схеме, свидетельствует о биологической гетерогенности этих новообразований. Новейшие молекулярные исследования доказывают, что использование для прогнозирования течения и осложнений МБ только клинических факторов является недостаточным для определения риска продолженного роста и метастазирования, более корректны клиничко-морфологические сопоставления, что свидетельствует об актуальности таких корреляций. Однако у детей раннего возраста, несмотря на применение различных режимов химиотерапии, в том числе и высокодозированной, отдаленные результаты лечения требуют оптимизации и теоретического обоснования [9–12].

Цель работы

Провести сопоставление структурных особенностей медуллобластом мозжечка у детей разных возрастных групп с учётом их локализации, метастазирования и результатов лечения.

Материалы и методы исследования

Проанализированы результаты комплексного обследования и хирургического лечения 289 больных детей с МБ мозжечка в отделении нейрохирургии детского возраста Института нейрохирургии имени академика А. П. Ромоданова за период 1993–2013 гг. Возраст детей – от 1 месяца до 17 лет, пики выявления МБ отмечены в возрасте 4 и 7 лет. Всем пациентам проведено хирургическое удаление опухоли с гистологической верификацией и адъювантная терапия согласно существующим стандартам [2–5]. Диагноз МБ (WHO Grade IV) поставлен на основании критериев, принятых в последней и наиболее широко используемой редакции классификации опухолей ЦНС ВОЗ [1,7]. Гистологические препараты изготовили из биоптатов опухолей с применением стандартных обзорных и специальных нейроморфологических и иммуногистохимических методик. Микроскопическое исследование клеток МБ проводилось в серийных срезах с парафиновых блоков, окрашенных гематоксилином и эозином, тионином по Нисслю, гематоксилин-пикрофуксин по Ван-Гизону. Для определения индекса пролиферации использовали моноклональные антитела Ki-67 (клон MIB-1). Исследование проводили на депарафинизированных срезах с нанесением антител в рабочей концентрации и кипячении в микроволновой печи во влажной камере. Гистологические срезы докрашивали гематоксилином и заключали в канадский бальзам. В качестве позитивного контроля использовали срезы, окрашенные МКАТ анти-CD45, экспрессирующие на клетках лимфоидного ряда. Негативным контролем служили срезы, инкубированные с нормальной сывороткой кроля. Иммуногистохимическая реакция учитывалась только в ядрах. Иммунопозитивными

были ядра, находящиеся в стадии деления (кроме G0), и имели оттенки от коричнево-желтоватого до темно-коричневого. Морфометрию иммунопозитивных ядер проводили на аппаратно-программном комплексе с программным модулем обработки и анализа цифровых изображений «Leica Microsystems CMS GmbH» в 10 полях зрения при увеличении 400. Количественные данные обрабатывали методами вариативной статистики.

Статистическая обработка полученных данных проводилась методами дисперсионного, корреляционного и регрессионного анализа с помощью программного обеспечения Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США).

Результаты и их обсуждение

Всем детям с МБ проведено оперативное вмешательство в отделении нейрохирургии детского возраста Института нейрохирургии имени академика А. П. Ромоданова НАМН Украины. Тотальное удаление опухоли осуществлено у 37 % больных, субтотальное – у 52 %, частичное – у 11 %. Вростание опухоли в ствол мозга было фактором, ограничивающим возможность радикального удаления опухоли. У 56 % детей удаление опухоли было дополнено ликворошунтирующими операциями.

Анализ особенностей влияния возраста на течение заболевания выявил определённые особенности. В младшую возрастную группу (0–3 года) включены 25,2 % детей, в группу 4–7 лет – 36,3 %, в группу 8–12 лет – 24,2 %, в группу 13–18 лет – 14,3 %. По результатам нейровизуализирующих исследований, диаметр опухоли превышал 3 см в 74,4 % наблюдений, при этом опухоль распространялась в IV желудочек и ствол мозга (в 33,7 % наблюдений).

Дети младшего возраста в последние годы оперированы в 2 раза чаще, чем в предыдущее пятилетие. У детей до 3 лет МБ располагалась в черве мозжечка с частичным блокированием IV желудочка, у этой возрастной группы сравнительно редко отмечали поражение ствола мозга. Ещё реже отмечали распространение опухоли супратенториально в полость III желудочка или в верхние отделы позвоночного канала.

В более взрослом возрасте (4–18 лет) при анализе особенностей микротопографии МБ значительных внутригрупповых различий не обнаруживали. В то же время в стадиях T3a и T3b по Chang, при которых тампонирован IV желудочек, как правило, был также поражён ствол мозга; отмечалось прорастание опухоли в водопровод среднего мозга с развитием окклюзионной гидроцефалии. Эти изменения были характерны для детей старшего возраста и выявлялись почти в 2 раза чаще в сравнении с пятилетней группой. Это свидетельствовало о том, что у детей младшего возраста расположение МБ можно расценивать как более благоприятное для возможности радикального удаления. Тотальное удаление МБ у этих детей произведено в 40 % наблюдений, субтотальное – в 42 %, частичное – в 18 %. У детей старшего возраста тотальное удаление МБ выполнено в 36 %, субтотальное – 52 %, частичное – в 12 % наблюдений.

Во всех наблюдениях гистологический диагноз детализирован с учётом варианта МБ и выявления типа и степени инвазии в окружающие структуры головного мозга.

При гистологическом анализе опухолей мы учитывали морфологические признаки общей гистоархитектоники, соотношение паренхиматозного и стромального компонентов, наличие псевдорозеток Хомера–Райта, коллонарных структур, бледных островков, истинных эпендимарных розеток, формирования пучковых коллонарных структур, преобладание мелких низкодифференцированных структур, количество митозов, неоангиогенез и ангиопрлиферацию, наличие колликативных некрозов и коагуляционных некрозов, признаки и характер инвазии, лимфоцитарную инфильтрацию опухолевой ткани. Устанавливали гистологический вариант опухоли в соответствии с гистологической классификацией [7]. Гистологически определённые варианты: классический – 9470/3, десмопластический/нодулярный – 9471/3, вариант с выраженной нодулярностью – 9471/3, крупноклеточный/анапластический – 9474/3, не относится ни к одному из вышеуказанных (переходный/смешанный) – 9470/3.

В новой редакции классификации ВОЗ опухолей ЦНС выделены определённые генетические варианты МБ: WNT-activated – 9475/3, SHH-activated & TP53-mutant – 9476/3, SHH-activated & TP53-wildtype – 9471/3, non-WNT/non-SHH: group 3, group 4 – 9477/3 [1].

МБ «классического» типа (34 наблюдения, 17,9 % из всех изученных случаев) образованы плотно расположенными мелкими гиперхромными клетками с монофазными ядрами округлой, овальной или вытянутой формы, которые содержат умеренное количество хроматина. Цитоплазма этих клеток нечёткая, плохо прокрашена, иногда выделяется один из полюсов клетки, вытянутый в форме хвоста (конусоподобный). Клетки формируют солидные скопления, среди них определяются псевдорозетки Хомера–Райта, образованные ядрами опухолевых клеток, которые расположены в виде неправильного кольца вокруг бессосудистого зоинофильного центра (переплетение цитоплазматических отростков) (рис. 1). Количество митозов в таком варианте МБ незначительно, некрозы нехарактерны. Ангиоархитектоника МБ «классического» типа характеризуется умеренным количеством сосудов преимущественно мелкого калибра, которые слабо выделяются на общем фоне обзорного гистологического препарата и рассеяны по всей ткани опухоли независимо от её зоны. Стенки большинства сосудов тонкие, просветы неширокие, активация эндотелия нетипична. Обращает на себя внимание упрощённый (примитивный) тип строения сосудов, которые образованы одним слоем эндотелиальных клеток и напоминают капилляры (рис. 1).

Десмопластические МБ (17 наблюдений, 8,9 % среди всех случаев) отличались наличием в структуре опухоли большого количества нежнвоволокнистых соединительнотканых волокон, которые имеют тесную связь с сосудистыми стенками и стромальными элементами. На некоторых участках они расположены рыхло, окружая отдельные комплексы опухолевых клеток, в других местах формируют выраженные

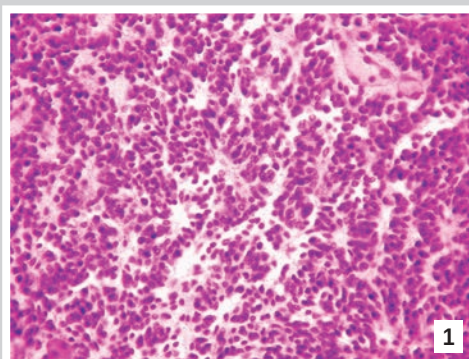


Рис. 1. МБ классического типа. Псевдо- и истинные розетки, коллонарные структуры. Окраска тионином. $\times 200$.

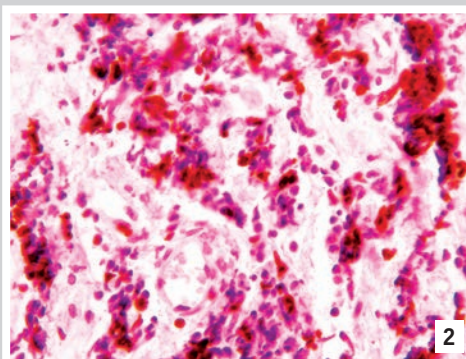


Рис. 2. МБ десмопластического типа. Гиперплазия стромального компонента. Экспрессия Ki-67 (37 %). Доокраска гематоксилином. $\times 200$.

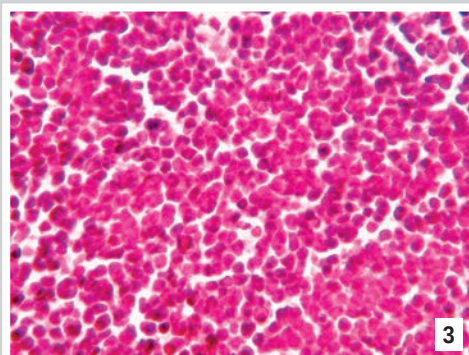


Рис. 3. МБ анапластического типа. Отмечается клеточный и ядерный полиморфизм, диффузно-рассеянные лимфоцитоподобные клетки. Окраска гематоксилин-пикрофуксином. $\times 250$.

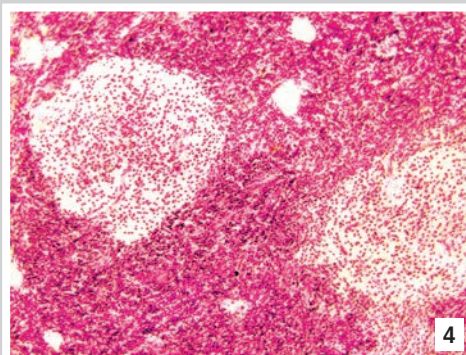


Рис. 4. МБ с выраженной нодулярностью. Различная клеточная плотность в разных зонах, стромальная реакция и ангиодистония. Окраска тионином. $\times 125$.

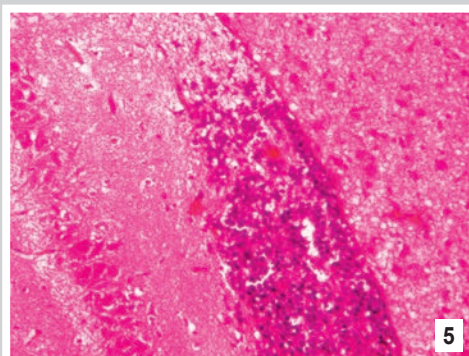


Рис. 5. Инвазия МБ в толщу полушария (область зубчатого ядра). Окраска гематоксилин-эозином. $\times 125$.

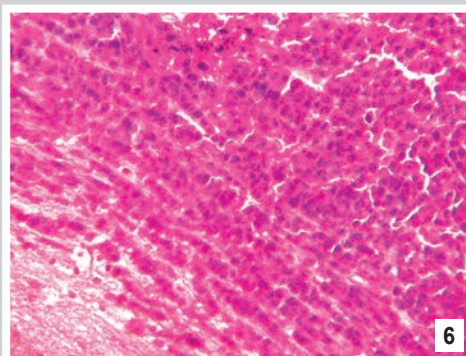


Рис. 6. Интерстициальная инвазия МБ. Кластерная диффузная пролиферация медуллобластов в межклеточных пространствах. Окраска гематоксилин-эозином. $\times 200$.

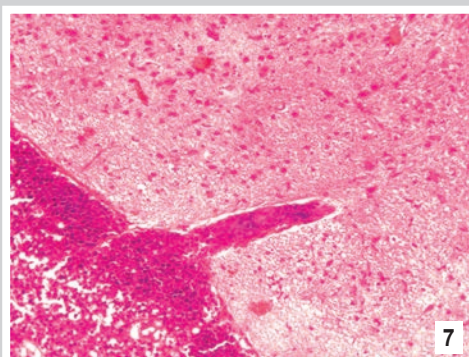


Рис. 7. Инвазия МБ по ММО и перивазальным пияльным пространствам. Окраска гематоксилин-эозином. $\times 125$.

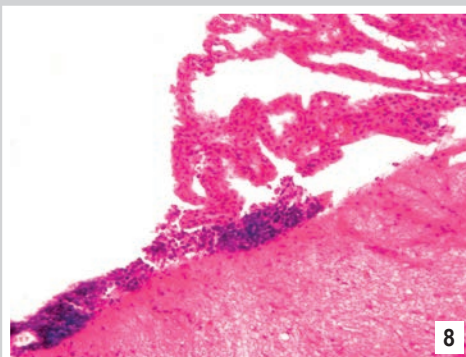


Рис. 8. Имплантационная инвазия МБ в структуры сосудистого сплетения. Окраска гематоксилин-эозином. $\times 125$.

стромальные септы, опухоль при этом может приобретать дольчатое строение. Другой характерной чертой десмопластических МБ является значительное количество свободных от волокон «бледных островков» с менее плотным расположением клеток, подобных нейронам, в рыхлом волокнистом матриксе. Клетки, которые определяются между островками, более полиморфны и гиперхромны. Сосуды имеют расширенный просвет и распределяются преимущественно

по периферии светлых зон в волокнистой строме, в некоторых из них отмечается утолщение адвентиции за счёт склероза, при окраске пикрофуксином дают позитивную реакцию (рис. 2).

Крупноклеточный (анапластический) вариант (51 наблюдение, 26,9 % среди всех случаев) характеризовался преобладанием полиморфных клеток с резко гиперхромными уродливыми ядрами округлой или овальной формы, большинство из которых – со

скудной цитоплазмой (лимфоцитоподобные). Клетки расположены беспорядочно, иногда мелкие тёмные клетки группируются мелкими островками или образуют плотные клеточные тяжи, которые граничат с менее плотноклеточными участками. Определяются резко пикнотические и дегенеративно изменённые опухолевые элементы, преимущественно вокруг некротических очагов. Определяется достаточно много клеток в состоянии апоптоза (кариопикноз и кариорексис). Клетки в состоянии митотического деления редки, при этом митозы – патологические. Сосудистый рисунок невыразительный, образован сосудах преимущественно мелкого калибра, с явлениями стаза и мелкими диапедезными геморрагиями, именно в этих зонах выявлялись очаги некрозов и мелкие кисты распада. В некоторых наблюдениях МБ такого гистотипа встречаются участки со значительно выраженным клеточным полиморфизмом, такие опухоли по клеточному составу напоминают глиобластомы. Наряду с опухолевыми клетками средней величины с ядрами округло-овальной неправильной формы встречаются большие, а иногда гигантские многоядерные клетки. На участках с клеточным полиморфизмом определяются небольшие некротические очаги с формированием псевдопапилл. Сосуды опухоли – с активацией и гиперплазией эндотелия, с очагами кровоизлияний. Для этих наблюдений было характерно большое количество митозов (рис. 3).

Вариант МБ с выраженной нодулярностью – 59 наблюдений (31,2 %) характеризовались чередованием зон со значительно выраженным клеточным полиморфизмом и зон пролиферации мелкоклеточных лимфоцитоподобных медуллобластов. Степень развития стромы также неравномерная, в результате чего опухоль приобретает узловатую бугристую структуру и на большем протяжении имеет условную границу (рис. 4).

Значение митотического и пролиферативного индекса (ИМ по показателям иммуноэкспрессии с антителами Ki-67 на материале первых операций колебалось от 17,9 % до 42,3 % ($M \pm m$ 29,54 $\pm$ 2,32), медиана составила 32,15; у детей младшего возраста (до 5 лет) 18,1–39,6 % (30,14 $\pm$ 2,75), медиана – 34,5.

Рост МБ – инвазивно-инфильтративный, ширина зоны инфильтрации может быть больше или меньше выраженной, поэтому границы опухолевого узла при визуальном макроскопическом исследовании имеют нечёткие границы. Зоны некрозов и геморрагий подчёркивают границу инвазии. Однако в случаях инвазии дна четвёртого желудочка глубина, как правило, значительная, до 2 мм, а тип инвазии – интерстициальный. Данное обстоятельство делает невозможным радикальное удаление опухоли такого типа новообразований. Это подтверждается и микроскопическим исследованием, когда оказывается, что опухолевые клетки проникают в мозговое вещество, которое окружает опухоль, на небольшую глубину, или глубокое диффузное прорастание (рис. 5–8). При прорастании опухоли в мягкие мозговые оболочки последние теряют свою прозрачность, значительно утолщаются (рис. 7).

В сроке до 30 дней после удаления опухоли умерло 49 (7,5 %) детей. Основной причиной смерти

были нарастающий отёк ствола головного мозга – у 32 больных, кровоизлияние в остатки опухоли – у 11, внесозговые осложнения – у 6. Чёткая корреляционная связь установлена между показателями летальности и радикальностью хирургического вмешательства: при тотальном удалении она составила 6,2 %, субтотальном – 12,2 %, частичном – 44,1 %. При этом, по данным исследований, проведённых и опубликованных ранее [6,7], за последние 10 лет этот показатель снизился до 6 %.

Комплексное лечение МБ мозжечка после операции у детей старше 3 лет включало полихимиотерапию и облучение всего аксиса в соответствии с протоколами HIT-91, HIT-2000, P-HIT 2000-BIS4, PO/02-04, SKK 92-00. Детям в возрасте до 3 лет проводили химиотерапию в соответствии с протоколом MET-HIT 2000-BIS4. Им вводили карбоплатин и этопозид, а при «положительном ответе» – дополнительно тиотеру и циклофосфан. Продолженный рост опухоли или метастазирование были констатированы у 167 пациентов, в основном в первый год (63,7 %) после операции, в последующие годы этот показатель значительно снижался: во второй год – до 22,5 %, третий – до 7,5 %, пятый – до 6,2 %.

При анализе показателей выживаемости в зависимости от радикальности операции и объёма адъювантной терапии обнаружены интересные данные. После тотального и субтотального удаления опухоли они существенно не различались. Негативным прогностическим фактором было только частичное удаление опухоли.

Нельзя не отметить, что главное нововведение новой редакции классификации ВОЗ опухолей ЦНС – необходимость определения молекулярно-генетического подтипа опухоли при постановке диагноза [1]. Это, безусловно, значительный шаг на пути персонализации и определения тактики лечения и прогноза в рутинной практике, но проблема точной гистологической диагностики – отсутствие широких технологических возможностей. Основная реконструкция группы МБ отличается объединением в определённые молекулярно-генетические формы.

Выводы

1. В случаях инвазии опухоли глубина проникновения и деструкции мозгового вещества достигает 2 мм, а тип инвазии – преимущественно интерстициальный.

2. При анализе показателей выживаемости в зависимости от радикальности операции и объёма адъювантной терапии обнаружено, что после тотального и субтотального удаления опухоли они существенно не различались. Негативным прогностическим фактором было только частичное удаление опухоли.

3. У детей младшего возраста локализация МБ позволяет чаще осуществлять их радикальное удаление, но относительно более высокая частота частичного удаления, раннего метастазирования и неполный объём адъювантной терапии (без лучевого лечения) нивелируют влияние радикальности вмешательства на показатели общей и безрецидивной выживаемости.

4. При МБ мозжечка у детей определяющим фактором длительности выживания является своевремен-

ность и объём адъювантной терапии, что коррелирует с возрастом пациентов.

5. Сводные данные выживаемости разных возрастных групп у детей с МБ за период 1993–2013 гг. демонстрируют тенденцию снижения летальности и увеличения сроков общей выживаемости. Пятилетняя выживаемость составила: за период с 1993 по 1999 год – 21,1%; с 2000 по 2006 год – 27,7%; с 2007 по 2013 год – 35,4 %, что свидетельствует о повышении качества лечения этой категории пациентов.

Список литературы

- [1] The 2016 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System / D.N. Louis, A. Perry, G. Reifenberger, et al. // *Acta Neuropathol.* – 2016. – Vol. 131. – Issue 6. — P. 803–820.
- [2] Кумирова Э.В. Эмбриональные опухоли центральной нервной системы у детей: оптимизация лечения и результаты : автореф. дис. на соискание ученой степени д-ра мед. наук: спец. 14.01.08 – педиатрия, 14.01.12 – онкология / Э.В. Кумирова. – М., 2010. – С. 28.
- [3] Орлов Ю.А. Медуллобластомы мозжечка у детей (возрастной аспект) / Ю.А. Орлов, А.В. Шаверский, В.В. Моргун, Л.П. Марущенко // *Український нейрохірургічний журнал.* – 2015. – №3. – С. 50–53.
- [4] Медуллобластомы у детей / А.Е. Соловьев, В.В. Моргун, И.А. Маловичко, А.П. Пахольчук // *Онкопедиатрия.* – 2015. – №2. – С. 158–161.
- [5] Диагностика и лечение медуллобластом мозжечка у детей / А.В. Шаверский, Ю.А. Орлов, В.С. Михайлюк и др. // *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика.* – 2013. – Вип. 22(3). – С. 34–41.
- [6] Мацко Д.Е. Атлас опухолей центральной нервной системы / Д.Е. Мацко, А.Г. Коршунов. – СПб. : РНХИ, 1998. – 197 с.
- [7] The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System / D. Louis, H. Ohgaki, O. Wiestler, et al. // *Acta Neuropathol.* – 2007. – Vol. 114(2). – P. 97–109.
- [8] Hyperfractionated craniospinal radiochemotherapy followed by maintenance chemotherapy in children older than 4 years with supratentorial central nervous system primitive neuroectodermal tumor (STPNET) and pineoblastoma / N.U. Gerber, K. von Hoff, C. Friedrich, et al. // *Abstracts from the 15th International Symposium on Pediatric Neuro-Oncology.* – Toronto, Ontario, Canada. – 2012. – Vol. 14. – Suppl 1. – MB-52.
- [9] Шаверский А.В. Пухлины головного мозга у детей молодого віку : автореф. дис. на соискание ученой степени д-ра. мед. н. : спец. 14.01.05 – нейрохирургия / А.В. Шаверский. – К., 2014. – 34 с.
- [10] Supratentorial primitive neuroectodermal tumors: a Canadian pediatric brain tumor consortium report / D. Johnston, L. Daniel, L. Keene, et al. // *J Neurooncol.* – 2007. – Vol. 86(1). – P. 101–108.
- [11] Epidemiology management and treatment outcome of medulloblastoma Singapore / M.Y. Chan, W.Y. Teo, W.T. Seow, A.M. Tan // *Ann Acad Med Singapore.* – 2007. – Vol. 36(5). – P. 314–318.
- [12] Rutkowski S. Chemotherapeutic strategies for young children with brain tumors / S. Rutkowski // *SIOP Abstract Book, 40th Congress of the SIOP.* – Berlin, 2008. – P. 7.

References

- [1] Louis, D. N., Perry, A., Reifenberger, G., von Deimling, A., Figarella-Branger, D., Cavenee, W. K., et al. (2016) The 2016 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol*, 131(6), 803–820. doi:10.1007/s00401-016-1545-1.
- [2] Kumorova, E. V. (2010). *Embrionalnye opukholi centralnoj nervnoj sistemy u detej: optimizaciya lecheniya i rezultaty* (Avtoref. dis. doc. med. nauk). [Embryonic tumors of the central nervous system in children: optimization of treatment and results Dr. med. sci. diss.]. Moscow [in Russian].
- [3] Orlov, Y., Shaversky, A., Morgun, V. & Marushchenko, L. (2015). *Medulloblastomy mozhechka u detej (vozrastnoj aspekt)* [Cerebellar medulloblastomas in children (age-related aspect)]. *Ukrainskij neirohirurgicheskij zhurnal*, 3, 50–53. [in Russian].
- [4] Solovev, A. E., Morgun, V. V., Malovichko, I. A., & Pakholchuk, A. P. (2015). *Medulloblastomy u detej*. [Medulloblastomas in children]. *Onkopediatrija*, 2, 158–161. [in Russian].
- [5] Shavers'kyi, A. V., Orlov, Yu. A., Mykhaliuk, V. S., Svyst, A. A., Plavs'kyi, P. N., Ziabchenko, V. I., et al. (2013) Diagnostika i lecheniye medulloblastom mozhechka u detej [Diagnostics and treatment of medulloblastoma of cerebellum in children]. *Zbirnyk naukovykh prats spivrobitynykiv NMAPO im. P. L. Shupyka*, 22(3), 34–41. [in Russian].
- [6] Macko, D. E. & Korshunov, A. G. (1998). *Atlas opukholej centralnoj nervnoj sistemy* [Atlas of tumors of the central nervous system]. Saint Petersburg [in Russian].

- [7] Louis, D. N., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., Cavenee, W. K., Burger, P. C., Jouvet, A., et al. (2007) The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol.*, 114(2), 97–109. doi: 10.1007/s00401-007-0243-4.
- [8] Gerber, N. U., von Hoff, K., Friedrich, C. et al. (2012). Hyperfractionated craniospinal radiochemotherapy followed by maintenance chemotherapy in children older than 4 years with supratentorial central nervous system primitive neuroectodermal tumor (STPNET) and pineoblastoma. *Abstracts from the 15th International Symposium on Pediatric Neuro-Oncology*, 14(1), MB-52. doi:10.1093/neuonc/nos093.
- [9] Shaverskyi, A. V. (2014). *Pukhlyny holovnoho mozku u ditei molodshoho viku* (Avtoref. dis... dokt. med. nauk) [Brain tumors in young children Dr. med. sci. diss.]. Kyiv. [in Ukrainian].
- [10] Johnston, D. L., Keene, D. L., Lafay-Cousin, L., Steinbok, P., Sung, L., Carret, A. S., et al. (2007). Supratentorial primitive neuroectodermal tumors: a Canadian pediatric brain tumor consortium report. *J Neurooncol*, 86(1), 101–108. doi: 10.1007/s11060-007-9440-1.
- [11] Chan, M. Y., Teo, W. Y., Seow, W. T., & Tan, A. M. (2007). Epidemiology management and treatment outcome of medulloblastoma Singapore. *Ann Acad Med Singapore*, 36(5), 314–318.
- [12] Rutkowski, S. (2008). Chemotherapeutic strategies for young children with brain tumors. *SIOP Abstract Book, 40th Congress of the SIOP.* Berlin.

Сведения об авторах:

Моргун В. В., заочный аспирант, ГУ «Институт нейрохирургии имени академика А.П. Ромоданова НАМН Украины», г. Киев.
Черненко О. Г., канд. мед. наук, старший научный сотрудник отдела нейрорепатоморфологии, ГУ «Институт нейрохирургии имени академика А. П. Ромоданова НАМН Украины», г. Киев.
Маловичко И. А., канд. мед. наук, ассистент каф. детской хирургии и анестезиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Руденко С. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологической и топографической анатомии, Национальная медицинская академия последилового образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина.
Малышева Т. А., д-р мед. наук, начальник отдела нейрорепатоморфологии, ГУ «Институт нейрохирургии имени академика А. П. Ромоданова НАМН Украины», г. Киев.
Сильченко В. П., д-р мед. наук, профессор каф. патологической и топографической анатомии, Национальная медицинская академия последилового образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина.
Вербова Л. Н., д-р мед. наук, профессор, начальник отдела нейрохирургии детского возраста, ГУ «Институт нейрохирургии имени академика А. П. Ромоданова НАМН Украины», г. Киев.

Відомості про авторів:

Моргун В. В., заочний аспірант, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академіка А. П. Ромоданова НАМН України», м Київ.
Черненко О. Г., канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділу нейрорепатоморфології, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академика А. П. Ромоданова НАМН України», м Київ.
Маловичко І. А., канд. мед. наук, асистент каф. дитячої хірургії і анестезіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Руденко С. О., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної та топографічної анатомії, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м Київ, Україна.
Малишева Т. А., д-р мед. наук, начальник відділу нейрорепатоморфології, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академика А. П. Ромоданова НАМН України».
Сильченко В. П., д-р мед. наук, професор каф. патологічної та топографічної анатомії, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м Київ, Україна.
Вербова Л. М., д-р мед. наук, професор, начальник відділу нейрохірургії дитячого віку, ДУ «Інститут нейрохірургії імені академика А. П. Ромоданова НАМН України», м Київ.

Information about authors:

Morgun V. V., Post-graduate Student of the Department of Pediatric Neurosurgery of "Institute of neurosurgery named after A. P. Romodanov of the NAMS of Ukraine", Kyiv.
Chernenko O. G., MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Neuropathomorphology of "Institute of neurosurgery named after A. P. Romodanov of the NAMS of Ukraine", Kyiv.

Malovichko I. A., MD, PhD, Assistant of Department of Pediatric Surgery and Anesthesiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Rudenko S. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological and Topographic Anatomy of the P. L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Malysheva T. A., MD, PhD, DSci, Head of the Department of Neuropathomorphology of "Institute of neurosurgery named after A. P. Romodanov of the NAMS of Ukraine", Kyiv.

Sil'chenko V. P., MD, PhD, DSci, Professor of the Department of Pathological and Topographic Anatomy of the P. L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Verbova L. M., MD, PhD, DSci, Professor, Head of the Department of Pediatric Neurosurgery of "Institute of neurosurgery named after A. P. Romodanov of the NAMS of Ukraine", Kyiv.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Надійшло до редакції / Received: 12.12.2016

Після доопрацювання / Revised: 23.12.2016

Прийнято до друку / Accepted: 30.12.2016

The pattern of the NOS isoforms expression in arcuate nucleus of hypothalamus in experimental hypertension

Yu. M. Kolesnyk, O. V. Gancheva, S. V. Tishchenko

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Key words:

hypothalamus,
expression,
nitric oxide,
hypertension,
rats.

Pathologia

2017; 14 (1), 38–42

DOI:

10.14739/2310-1237.
2017.1.97790

E-mail:

serjzdmu@gmail.com

It is known, that one of the main regulators of the blood pressure (BP) is hypothalamus. The efficiency of the BP regulation in a changeable environment is dependable on its coherence and coordination. This intrahypothalamic coordinator is an arcuate nucleus. One of the main conditions of the proper neuronal function is combination of their functional stability and plasticity, which is strictly dependable on adequate blood supply, metabolic and trophic processes. One of the key regulators of the above mentioned features is nitric oxide (NO).

The purpose was to establish the pathogenetic link of NO synthases isoforms imbalance in Arc of hypothalamus with formation of hypertension in etiologically different models of essential hypertension (SHR) and endocrine-saline model (ESM).

Materials and methods. Study was conducted on 48 mature male rats with weight of 250–270 gram and age of 13–14 months, which were allocated into 3 experimental groups of 16 animals: the 1st group was control with Wistar rats; the 2nd group comprised of Wistar rats with ESM and the 3rd was made of SHR.

Results. Formation of the hypertension in ESM and SHR rats led to similar changes of the pattern of NOS isoforms expression. We found the significant increase of the IRM content to nNOS and iNOS, but decrease to eNOS. In the same time, the constitutive isoforms concentration (nNOS and eNOS) was significantly lower compared with control group, and iNOS concentration in both groups with hypertension was higher than in control group (6 % and 9 %, $p < 0.05$, respectively).

Conclusions: In rats with normal BP in Arc, the most expressed NOS isoform was the endothelial one. We found the typical changes in the pattern of the NOS isoforms allocation. We also found the increase of the content of all isoforms with the decrease of the concentration of constitutional ones (nNOS and eNOS), but the increase of the iNOS concentration.

Ключові слова:

гіпоталамус,
експресія,
оксид азоту,
артеріальна
гіпертензія,
щури.

Патологія. – 2017. –

Т. 14, № 1(39). –
С. 38–42

Патерн експресії ізоформ NOS в аркуатному ядрі гіпоталамуса при експериментальній артеріальній гіпертензії

Ю. М. Колесник, О. В. Ганчева, С. В. Тищенко

Відомо, що основним центральним регулятором артеріального тиску (АТ) є гіпоталамус та його ядра. Від злагодженості та скоординованості їхніх дій залежатиме ефективність регуляції артеріального тиску в умовах, що змінюються. Таким внутрішньогіпоталамічним координатором є аркуатне ядро. Важливою умовою ефективності роботи нейронів у структурі є поєднання функціональної стабільності з пластичністю нейрональних процесів, що забезпечується адекватним кровопостачанням, обмінними та трофічними процесами. Одним із ключових регуляторів описаних вище процесів у ЦНС є оксид азоту (NO).

Мета роботи – встановити патогенетичний зв'язок дисбалансу ізоформ NOS в АрЯ гіпоталамуса з формуванням артеріальної гіпертензії при етіологічно різних її моделях – есенціальній (щури лінії SHR) та ендокринно-сольовій (ЕСГ).

Матеріали та методи. Дослідження здійснили на 48 статевозрілих щурах-самцях масою 250–270 г, віком 13–14 місяців, які були поділені на три експериментальні групи по 16 тварин у кожній: 1 контрольна – щури лінії Wistar, 2 – щури лінії Wistar з ендокринно-сольовою моделлю гіпертензії; 3 – щури лінії SHR зі спонтанною гіпертензією.

Результати. Сформована АГ у щурів лінії SHR і ЕСГ призводила до однакових змін у патерні експресії ізоформ NOS. Спостерігалось вірогідне збільшення вмісту IPM до nNOS та iNOS, але зниження його до eNOS. При цьому концентрації конститутивних ізоформ ферменту nNOS та eNOS ставали вірогідно нижчими, ніж у контролі, а концентрація iNOS в обох групах з АГ перевищила значення щурів із нормальним артеріальним тиском на 9 % ($p < 0,05$) у SHR і в щурів з ЕСГ – на 6 % ($p < 0,05$).

Висновки. У щурів із нормальним артеріальним тиском в АрЯ гіпоталамуса найбільш представленою з ізоформ є ендотеліальна форма ферменту. При різних за етіологічним фактором АГ (есенціальна або ендокринно-сольова) в АрЯ гіпоталамуса спостерігаються однотипні зміни в патерні розподілу ізоформ NOS. Характерно збільшення вмісту у структурі ядра всіх трьох форм ферменту зі зниженням концентрації IPM до конститутивних ізоформ nNOS та eNOS, але збільшенням її до iNOS.

Ключевые слова:

гипоталамус,
экспрессия,
оксид азота,
артериальная
гипертензия,
крысы.

Паттерн экспрессии изоформ NOS в аркуатном ядре гипоталамуса при экспериментальной артериальной гипертензии

Ю. М. Колесник, О. В. Ганчева, С. В. Тищенко

Известно, что основным центральным регулятором артериального давления (АД) является гипоталамус и его ядра. От согласованности и скоординированности их действия будет зависеть эффективность регуляции АД в изменяющихся

условиях. Таким внутригипоталамическим координатором является аркуатное ядро. Важным условием эффективности работы нейронов в структуре является сочетание функциональной стабильности с пластичностью нейрональных процессов, что обеспечивается адекватным кровоснабжением, обменными и трофическими процессами. Одним из ключевых регуляторов вышеописанных процессов в ЦНС является оксид азота (NO).

Цель работы – установить патогенетическую связь дисбаланса изоформ NOS в АрЯ гипоталамуса с формированием артериальной гипертензии при этиологически разных её моделях – эссенциальной (крысы линии SHR) и эндокринно-солевой (ЭСГ).

Материалы и методы. Исследование было проведено на 48 половозрелых крысах-самцах массой 250–270 г, возраст – 13–14 месяцев, которые были разделены на три экспериментальные группы по 16 животных в каждой: 1 контрольная – крысы линии Wistar, 2 – крысы линии Wistar с эндокринно-солевой моделью гипертензии; 3 – крысы линии SHR со спонтанной гипертензией.

Результаты. Сформированная АГ у крыс линии SHR и с ЭСГ приводила к однотипным изменениям в паттерне экспрессии изоформ NOS. Наблюдалось достоверное увеличение содержания ИРМ к nNOS и iNOS, но снижение его к eNOS. При этом концентрации конститутивных изоформ фермента nNOS и eNOS становились достоверно ниже, чем контроль, а концентрация iNOS в обеих группах с АГ превысила значения крыс с нормальным АД на 9 % ($p < 0,05$) у SHR и у крыс с ЭСГ – на 6 % ($p < 0,05$).

Выводы. У крыс с нормальным АД в АрЯ гипоталамуса наиболее представленной из изоформ является эндотелиальная форма фермента. При разных по этиологическому фактору АГ (эссенциальная или эндокринно-солевая) в АрЯ гипоталамуса наблюдаются однотипные изменения в паттерне распределения изоформ NOS. Характерно увеличение содержания в структуре ядра всех трёх форм фермента со снижением концентрации ИРМ к конститутивным изоформам nNOS и eNOS, но увеличением её к iNOS.

It is known, that hypothalamus is one of the main central regulators of the blood pressure (BP) [1]. A great number of its nuclei are involved in this function: ventromedial, paraventricular, supraoptic, periventricular, and arcuate (Arc) nucleus [2]. The BP regulation in changing conditions is dependable from coordination and consistency of these nuclei. The intrahypothalamic coordinator is arcuate nucleus [3]. Due to the topographical features and the abundance of the projections to other nuclei, this structure is considered as integrative and commutative center, which maintains interaction of both intra- and extrahypothalamic structures, which regulate autonomic function. Peruzzo called Arc the "window to hypothalamus" [4]. The important precondition of the effective neuronal activity is the combination of functional stability and plasticity provided by the adequate blood supply, metabolic and trophic processes [5].

It is proved for now, that one of the key regulators of the processes stated above in central nervous system (CNS) is nitric oxide (NO) [2,5,6]. There are data about the NO involvement into the sympathetic regulation, neurotransmission, vasodilation and apoptosis induction [2,6,7]. The implementation and direction of the NO effects depends not only on the amount and place of its synthesis, but also on the enzyme isoform mediated this synthesis. There are three isoforms of NO synthases: neuronal (nNOS), inducible (iNOS) and endothelial (eNOS). Thus, nNOS modulates a lot of physiological processes including learning, memory formation, and neurotransmission. Additionally, there are data about the involvement of nNOS into central BP regulation [8–10]. eNOS is a powerful vasodilator, also well-known inhibitor of platelets adhesion and aggregation, thus playing an important role in adequate blood supply [11]. In CNS, iNOS produced by activated macrophages and glial cells provides the toxic effect on microorganisms and tumor cells, but in the case of hyperactivity it also induces apoptosis and necrosis [12,13]. Thus, it was proved the NO produced with the iNOS activity causes peroxynitrite-mediated neuronal apoptosis [12–14].

We assume the change of the balance of NOS isoforms in the Arc may lead to violation of central hypothalamic domain of BP regulation and, probably, to the formation and development of hypertension (HT).

Considering stated above we believe that deep and detailed study of the NOS isoforms balance in Arc in HT caused by different factors will contribute to understanding the pathophysiological mechanisms of HT formation and to the search of new molecular targets of antihypertensive therapy.

The purpose of our study was to find out the pathogenetic link between the NOS isoforms imbalance and the formation of hypertension in etiologically different models: the essential in spontaneously hypertensive rats (SHR) and endocrine-saline model (ESM).

Materials and methods

Study was performed on 48 mature male rats with weight of 250–270 gram in age of 13–14 month, which were allocated to 3 experimental groups of 16 animals: the 1st control group comprised of Wistar rats; the 2nd consisted of Wistar rats with endocrine-saline model of hypertension; the 3rd group – of SHR. Experiment was performed according to the national "General ethical principles of the animal experiments" (Ukraine, 2001), concerted with Council 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.

For modelling of ESM the Wistar rats were treated with prednisolone intramuscularly at 7 o'clock in dose of 2 mg/kg and at 20 o'clock in dose of 4 mg/kg during 30 days combined with the force watering with 5 ml of saline (2.3 %). From the beginning of the experiment and each 7 days we performed the BP assessment using the non-invasive system BP-2000 (Visitech Systems, USA). Rats of the 1st group showed the systolic pressure of 110 ± 5 mm Hg. The 2nd group showed 110 ± 5 mm Hg at the beginning of experiment, 145 ± 5 mm Hg on the 7th day and 165 ± 5 since

21 days of the modelling. The systolic pressure in the 3rd group was 165 ± 5 mm Hg.

The object of the study was hypothalamus of experimental animals. We performed the immunofluorescence assessment of the NOS isoforms expression in serial paraffin-embedded slices, which were incubated with rabbit IgG (Santa Cruz Biotechnology, USA) to nNOS, iNOS and eNOS, respectively in dilution of 1:200. Then slices were incubated in plastic chambers during 24 hours ($T = +4$ °C), then we applied mouse anti-rabbit IgG conjugated with FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) in dilution of 1:200 and incubated them 2 times ($T = +37$ °C) during 45 minutes, and then covered them in glycerol/FBS (9:1). The specificity control was performed as described, but with previous application of blocking peptide to the corresponding antibodies in dilution of 1:50.

The assessment of immunofluorescence was performed in ultraviolet spectrum of emission 390 nm using 38HE light filter with high emission (Carl Zeiss) in Axioscope microscope (Carl Zeiss). The images obtained using 8-bit camera AxioCam-ERC5s (Carl Zeiss) were analyzed with ImageJ in interactive way. We marked the regions of interest

in the field of view of $15\,000\ \mu\text{m}^2$, where we calculated the contain of the immunoreactive material (IRM) in conditional units of immunofluorescence (U_{if}) as well as IRM concentration in $1\ \mu\text{m}^2$ ($U_{if}/\mu\text{m}^2$). We assessed no less than 200 areas of view in each series. The obtained data was analyzed in EXCEL-7.0 (Microsoft Corp). We counted the mean and its standard error. With the aim to assess the differences in the study results we used Student's t-criterion with evaluation of significant differences according to Student's tables. Statistically significant difference was considered at $p < 0.05$.

Results and discussion

During the immunofluorescence analysis of hypothalamus of rats with topographic identification of anterior hypothalamic field [15] we found that IRM to NOS isoforms were allocated predominantly in dorsolateral of Arc diffusely in neuronal cytoplasm and axons. High intensity of fluorescence was found in granules of IRM in neurons of control group and ESM on the periphery of cytoplasm and in axons (Fig. 1–3), whereas in SHR we found no granules to nNOS (Fig. 1B).

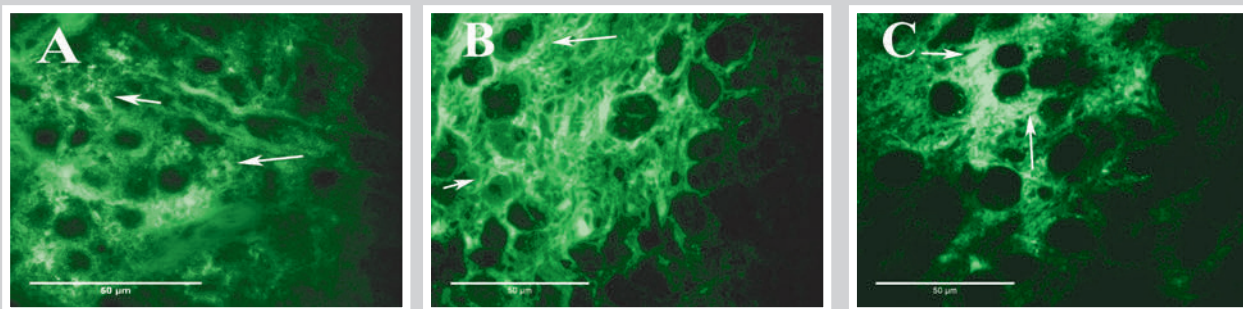


Fig. 1. Pattern of the nNOS expression in neurons of Arc in Wistar (A), SHR (B) and ESM (C). Indirect immunofluorescence, 400 $\times$. Arrows show IRM to nNOS.

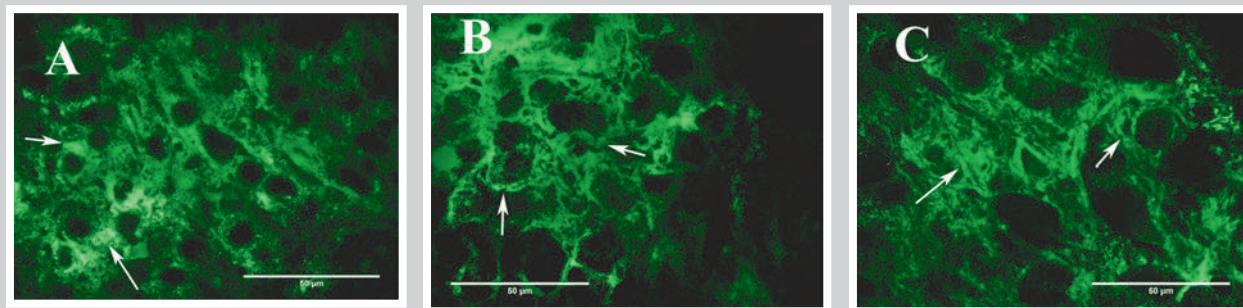


Fig. 2. Pattern of the eNOS expression in neurons of Arc in Wistar (A), SHR (B) and ESM (C). Indirect immunofluorescence, 400 $\times$. Arrows show IRM to nNOS.

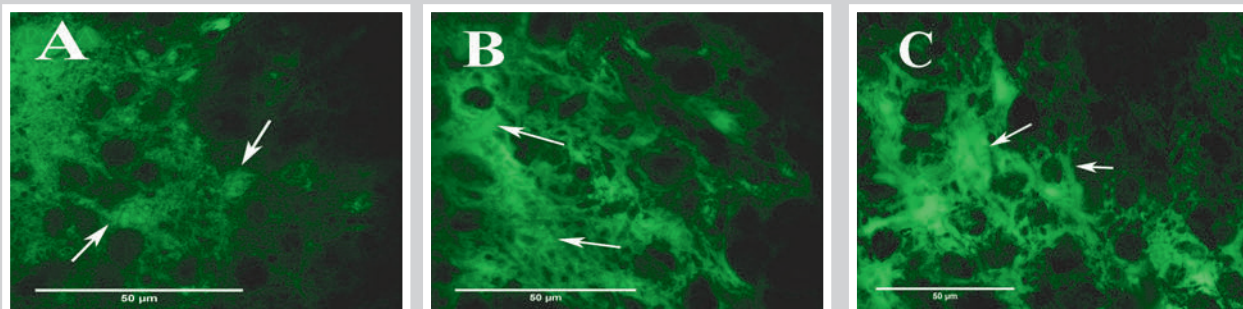


Fig. 3. Pattern of the iNOS expression in neurons of Arc in Wistar (A), SHR (B) and ESM (C). Indirect immunofluorescence, 400 $\times$. Arrows show IRM to nNOS.

After the statistical analysis of the expression of NOS isoforms in control group we found that the highest figures of IRM contain and concentration were for eNOS. The lowest IRM contain was for nNOS compared with eNOS and iNOS (45.8 % and 24.7 % respectively, $p < 0.05$). The lowest IRM concentration was found for iNOS (Table 1).

Hypertension in rats of SHR and ESM groups leads to the same type of changes in the expression pattern of NOS isoforms. We observed significant increase of IRM concentration and contain both to nNOS and iNOS, but decrease to eNOS (Table 1). The concentration of constitutive isoforms of nNOS and eNOS were significantly lower than in the control group, and iNOS concentration in both hypertensive groups were higher than in Wistar (9 % for SHR and 6 % for ESM, $p < 0.05$, Table 1).

Comparison of the NOS isoforms expression in SHR and ESM groups showed the absence of significant of IRM contain of all isoforms, whereas the IRM concentration to nNOS was significantly lower (4 %, $p < 0.05$) in ESM compared with SHR (Table 1).

The predominance of the eNOS expression in Arc seems to be logic and expected. It is well known, that the main role of its isoform is local production of vasodilative NOS [5], which is necessary for the regulation of cerebral blood supply and neurotrophic processes [5,6].

The fact of the same type changes of the expression of all isoforms in etiologically different hypertension became discussible. Both in essential and endocrine-saline models we found increase of both neuronal and inducible isoforms. However, in majority of clinical and bench studies the another consistent pattern was found: the forms of hypertension were accompanied with the decrease of activity and contain of constitutive isoforms and with the increase of iNOS [16,17]. We believe in could be explained with short term and absence of affection of target organs in our experiment. Additionally, the prevalence of iNOS isoform was found also in our data, and the concentration was only higher in iNOS, and constitutive ones were decreased (Table 1). Finally, due to features of functioning, vascularization and innervation of hypothalamus [2–4] we assume that higher contain of all the isoforms in hypertensive rats, and first of all, the constitutive ones, are compensatory with aim to provide adequate blood supply and interneuronal interactions and plasticity [5], whereas the iNOS hyperexpression is pathologic and provides the induction of nitrosative and oxidative stress, exhaustion of antioxidant defense, leads to violation of DNA repair mechanisms and to the neurodegeneration progression [18–20].

Conclusions

1. In normotensive rats, the most predominant form of NOS in Arc is endothelial.

2. In etiologically different hypertension, there are the same type changes in the expression pattern of NOS isoforms to be observed in Arc. The increase of contain of all the isoforms with the decreased concentration to constitutive isoforms but the increase of iNOS is typical.

Perspectives. We plan to study the features of expression of pressor and depressor neuropeptides in Arc and find out the pathogenetical link of their state with hypertension formation.

Table 1. Indexes of the expression of NOS isoforms in Arc in rats of experimental groups ($M \pm m$)

Expression figures	Groups		
	Wistar, n=16	SHR, n=16	ESM, n=16
nNOS			
IRM contain, U_g	967.7 $\pm$ 21.3	1304.5 $\pm$ 16.7 ¹	1272.6 $\pm$ 18.4 ¹
IRM concentration, $U_g / \mu m^2$	78.6 $\pm$ 1.8	73.3 $\pm$ 1.2 ¹	70.2 $\pm$ 0.9 ^{1,2}
iNOS			
IRM contain, U_g	1207.5 $\pm$ 25.1	1371.3 $\pm$ 26.1 ¹	1395.4 $\pm$ 15.3 ¹
IRM concentration, $U_g / \mu m^2$	74.5 $\pm$ 1.7	81.6 $\pm$ 1.7	78.8 $\pm$ 0.9 ¹
eNOS			
IRM contain, U_g	1410.1 $\pm$ 46.4	1289.77 $\pm$ 18.1 ¹	1296.7 $\pm$ 20.5 ¹
IRM concentration, $U_g / \mu m^2$	80.9 $\pm$ 2.6	73.3 $\pm$ 1.1 ¹	72.9 $\pm$ 1.2 ¹

¹: significant differences ($p < 0.05$) compared with control group;

²: significant differences ($p < 0.05$) compared with SHR group.

Authors contribution. Kolesnyk Yu. M.; supervision, made critical revision of the manuscript for key intellectual content, final approval of the version to be published. Gancheva O. V.: conceived and designed the research, made critical revision of the manuscript for key intellectual content. Tischenko S. V.: conceived and designed the research; acquired and processed the data; performed statistical analysis; drafted the manuscript; made critical revision of the manuscript for key intellectual content.

References

- [1] Kawabe, T., Kawabe, K., & Sapru, H. (2012). Cardiovascular Responses to Chemical Stimulation of the Hypothalamic Arcuate Nucleus in the Rat: Role of the Hypothalamic Paraventricular Nucleus. *Plos ONE*, 7(9), e45180. doi: 10.1371/journal.pone.0045180.
- [2] Parati, G. & Esler, M. (2012). The human sympathetic nervous system: its relevance in hypertension and heart failure. *European Heart Journal*, 33(9), 1058–1066. doi: 10.1093/eurheartj/ehs041.
- [3] Chronwall, B. (1985). Anatomy and physiology of the neuroendocrine arcuate nucleus. *Peptides*, 6, 1–11. doi: 10.1016/0196-9781(85)90128-7.
- [4] Peruzzo, B., Pastor, F., Blazquez, J., Amat, P., & Rodriguez, E. (2004). Polarized endocytosis and transcytosis in the hypothalamic tanocytes of the rat. *Cell And Tissue Research*, 317(2). doi: 10.1007/s00441-004-0899-1.
- [5] Forstermann, U. & Sessa, W. (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *European Heart Journal*, 33(7), 829–837. doi: 10.1093/eurheartj/ehs304.
- [6] Wang, Y. & Golledge, J. (2012). Neuronal Nitric Oxide Synthase and Sympathetic Nerve Activity in Neurovascular and Metabolic Systems. *Current Neurovascular Research*, 10(1), 81–89. doi: 10.2174/156720213804805963.
- [7] Liu, Y. & Feng, Q. (2012). NOing the heart: Role of nitric oxide synthase-3 in heart development. *Differentiation*, 84(1), 54–61. doi: 10.1016/j.diff.2012.04.004.
- [8] Koh, P. (2012). Ferulic acid modulates nitric oxide synthase expression in focal cerebral ischemia. *Laboratory Animal Research*, 28(4), 273. doi: 10.5625/lar.2012.28.4.273.
- [9] Li, Y., Zhang, W., & Stern, J. (2003). Nitric oxide inhibits the firing activity of hypothalamic paraventricular neurons that innervate the medulla oblongata: role of GABA. *Neuroscience*, 118(3), 585–601. doi: 10.1016/S0304-4522(03)00042-3.
- [10] Kantzides, A. & Badoer, E. (2005). nNOS-containing neurons in the hypothalamus and medulla project to the RVLM. *Brain Research*, 1037(1–2), 25–34. doi: 10.1016/j.brainres.2004.11.032.
- [11] Kishi, T. & Hirooka, Y. (2012). Oxidative stress in the brain causes hypertension via sympathoexcitation. *Frontiers In Physiology*, 3, 335. doi: 10.3389/fphys.2012.00335.
- [12] Brown, G. & Neher, J. (2010). Inflammatory Neurodegeneration and Mechanisms of Microglial Killing of Neurons. *Molecular Neurobiology*, 41(2–3), 242–247. doi: 10.1007/s12035-010-8105-9.
- [13] Villanueva, C. & Giulivi, C. (2010). Subcellular and cellular locations of nitric oxide synthase isoforms as determinants of health and disease. *Free Radical Biology And Medicine*, 49(3), 307–316. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.04.004.

- [14] Amitai, Y. (2010). Physiologic role for "inducible" nitric oxide synthase: A new form of astrocytic-neuronal interface. *Glia*, 58(15), 1775–1781. doi: 10.1002/glia.21057.
- [15] Paxinos, G. & Watson, C. (2014). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Amsterdam: Elsevier.
- [16] Nevzorova, V., Zakharchuk, N., Agafonov, I., & Sarafanova, N. (2013). Osobennosti razvitiya disfunktsii sosudov golovnoy mozga pri arterial'noy gipertensii i kurenii [Features of arterial hypertension and smoking-related cerebrovascular dysfunction]. *Tikhookeanskij medicinskij zhurnal*, 4(54), 9–16. [in Russian].
- [17] Kotsuba, A., Chertok, V., & Babich, E. (2010). Nitroksidergicheskie neyrony bulbarного vazomotornogo tsentra pri arterial'noy gipertenzii [Nitric oxideergic neurons of the human bulbar vasomotor center in arterial hypertension]. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im S.S. Korsakova*, 110(2), 61–65. [in Russian].
- [18] Pacher, P., Beckman, J., & Liaudet, L. (2007). Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. *Physiological Reviews*, 87(1), 315–424. doi: 10.1152/physrev.00029.2006.
- [19] Pacher, P., Beckman, J., & Liaudet, L. (2007). Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. *Physiological Reviews*, 87(1), 315–424. doi: 10.1152/physrev.00029.2006.
- [20] Kolesnyk, Yu. M., Kuzo, N. V., Hancheva, O. V., & Abramov, A. V. (2016). Features of the inducible nitric oxide synthase expression in paraventricular and supraoptic nuclei of hypothalamus in different models of arterial hypertension. *Zaporozhye medical journal*, 4, 4–10. doi: 10.14739/2310-1210.2016.4.79681.

Information about authors:

Kolesnyk Yu. M., MD, PhD, DSc, Professor, Department of Pathological Physiology, Rector of Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

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

Tishchenko S. V., Assistant Lecturer, Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології, ректор Запорізького державного медичного університету, Україна.

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

Тіщенко С. В., асистент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Колесник Ю. М., д-р мед. наук, профессор каф. патологической физиологии, ректор Запорожского государственного медицинского университета, Украина.

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

Тищенко С. В., ассистент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Конфлікт інтересів: відсутній

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

Фінансування: Дослідження виконано в рамках держбюджетної НДР «Роль пептидергічних структур гіпоталамуса та стовбура мозку в патогенезі артеріальної гіпертензії» (0117U002579), 2017–2019, що фінансується МОЗ України.

Funding: The research was carried out within the state budget scientific-research work "The role of peptidergic structures of the hypothalamus and brain stem in the pathogenesis of arterial hypertension" (0117U002579), 2017–2019, funded by the Ministry of Health of Ukraine.

Надійшло до редакції / Received: 27.02.2017

Після доопрацювання / Revised: 01.03.2017

Прийнято до друку / Accepted: 03.03.2017

Залежність електричної ектопічної активності серця від надмірної ваги тіла у хворих на гіпертонічну хворобу в поєднанні з ішемічною хворобою серця (за даними добового моніторування ЕКГ)

В. В. Сиволап¹, Л. О. Курілець¹, Н. Є. Добровольська², В. А. Матсалаєва¹

¹Запорізький державний медичний університет, Україна, ²КУ «Б міська лікарня» м. Запоріжжя, Україна

Ожиріння, артеріальна гіпертензія та ішемія міокарда внаслідок атеросклерозу вінцевих судин — найпоширеніша комбінація патологічних станів. Порушенням ритму (за винятком фібриляції передсердь) у хворих на ожиріння на тлі артеріальної гіпертензії у сполученні з ІХС надається недостатньо уваги.

Мета роботи — з'ясування впливу надмірної маси тіла на ектопічну електричну активність серця у хворих на гіпертонічну хворобу з супутньою ішемічною хворобою серця (за даними добового моніторування серцевого ритму).

Матеріали та методи. До дослідження залучили 91 хворого на гіпертонічну хворобу II стадії, II ступеня з супутньою ІХС віком 41–60 років, середній вік — $51,23 \pm 5,30$ року (чоловіків — 69 %). Залежно від індексу маси тіла пацієнтів поділили на 2 групи. До першої включили 70 пацієнтів віком 53 (48; 57) роки (38 % чоловіків), які мали індекс маси тіла понад 25 кг/м^2 (40 (44 %) хворих із надмірною вагою тіла та 30 (33 %) хворих з ожирінням). До другої групи включили 21 (23 %) хворого віком 50 (47; 54) років з індексом маси тіла від $18,5 \text{ кг/м}^2$ до $24,9 \text{ кг/м}^2$. Групи були зіставні за віком, статтю.

Результати. Групи хворих мали вірогідні розбіжності за показниками маси тіла (90 (80; 100) кг проти 69 (61; 73) кг, $p=0,001$), індексу маси тіла ($29,2 (26,6; 32,70 \text{ кг/м}^2)$ проти $23,4 (22,4; 24,2) \text{ кг/м}^2$, $p=0,001$). Однак групи хворих не розрізнялись за показниками росту ($173,86 \pm 8,73$ см проти $170,95 \pm 8,81$ см, $p=0,19$). Хворі на гіпертонічну хворобу, поєднану з ІХС і надмірною масою тіла/ожирінням, мали вірогідно більшу кількість хвилин елевації сегмента ST за добу, ніж хворі з нормальною масою тіла (12 (2; 180) хв проти 7 (2; 169) хв, $p=0,05$). Виявлено зворотний кореляційний зв'язок між кількістю шлуночкових екстрасистол за добу та середньодобовою ЧСС ($r=-0,5148$; $p=0,002$), середньою ЧСС за день ($r=-0,4839$; $p=0,004$), середньою ЧСС за ніч ($r=-0,4063$; $p=0,019$); та прямий кореляційний зв'язок між кількістю шлуночкових екстрасистол за добу та віком ($r=0,2880$; $p=0,047$); кількістю надшлуночкових екстрасистол за добу та ростом ($r=0,3073$; $p=0,034$); кількістю надшлуночкових екстрасистол за добу та вагою ($r=0,3271$; $p=0,023$); сумарною кількістю екстрасистол (надшлуночкових і шлуночкових) за добу та віком ($r=0,3415$; $p=0,018$); сумарною кількістю екстрасистол (надшлуночкових і шлуночкових) за добу та ростом ($r=0,3620$; $p=0,011$).

Висновки. У хворих із надмірною вагою тіла/ожирінням на тлі гіпертонічної хвороби з супутньою ІХС збільшення кількості шлуночкових екстрасистол за добу асоціюється з брадикардією та залежить від віку, а кількість надшлуночкових екстрасистол за добу залежить від росту та ваги. Ектопічна електрична активність у хворих із надмірною вагою тіла/ожирінням на тлі гіпертонічної хвороби із супутньою ІХС асоціюється з ішемічними змінами міокарда, але не залежить від індексу маси тіла.

Ключові слова:

ожиріння, гіпертонічна хвороба, ішемічна хвороба серця, надшлуночкова та шлуночкова екстрасистолія.

Патологія. — 2017. — Т. 14, № 1(39). — С. 43–48

DOI:

10.14739/2310-1237.2017.1.97795

E-mail:

vitaliysyvolap@rambler.ru

Зависимость электрической эктопической активности сердца от избыточного веса тела у больных гипертонической болезнью в сочетании с ишемической болезнью сердца (по данным суточного мониторирования ЭКГ)

В. В. Сыволап, Л. О. Курилец, Н. Е. Добровольская, В. А. Матсалаева

Ожирение, артериальная гипертензия и ишемия миокарда вследствие атеросклероза коронарных сосудов — наиболее распространенная комбинация патологических состояний. Нарушения ритма (за исключением фибрилляции предсердий) у больных ожирением на фоне артериальной гипертензии в сочетании с ИБС уделяется недостаточно внимания.

Цель работы — выяснение влияния избыточной массы тела на эктопическую электрическую активность сердца у больных гипертонической болезнью с сопутствующей ишемической болезнью сердца (по данным суточного мониторирования сердечного ритма).

Материалы и методы. В исследование включен 91 больной гипертонической болезнью II стадии, II степени с сопутствующей ИБС в возрасте 41–60 лет, средний возраст $51,23 \pm 5,30$ года (мужчин — 69 %). В зависимости от индекса массы тела пациенты разделены на 2 группы. В первую группу включены 70 пациентов в возрасте 53 (48; 57) лет (38 % мужчин), которые имели индекс массы тела более 25 кг/м^2 (40 (44 %) больных с избыточной массой тела и 30 (33 %) больных с ожирением). Во вторую группу вошел 21 (23 %) больной в возрасте 50 (47; 54) лет с индексом массы тела от $18,5$ до $24,9 \text{ кг/м}^2$. Группы были сопоставимы по возрасту и полу.

Результаты. Группы больных имели достоверные различия по показателям массы тела 90 (80; 100) кг против 69 (61; 73) кг, $p=0,001$, индекса массы тела ($29,2 (26,6; 32,70 \text{ кг/м}^2)$ против $23,4 (22,4; 24,2) \text{ кг/м}^2$, $p=0,001$). Группы больных не различались по росту ($173,86 \pm 8,73$ см против $170,95 \pm 8,81$ см, $p=0,19$). Больные гипертонической болезнью с сопутствующей ИБС и избыточной массой тела/ожирением имели достоверно большее количество минут подъёмов сегмента ST в сутки, чем больные с нормальной массой тела (12 (2; 180) мин против 7 (2; 169) мин, $p=0,05$). Выведена обратная

Ключевые слова:

ожирение, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, наджелудочковая и желудочковая экстрасистолія.

Патология. — 2017. — Т. 14, № 1(39). — С. 43–48

корреляційна зв'язь між кількістю желудочкових екстрасистол в сутки і середньої суточної ЧСС ($r = -0,5148$; $p = 0,002$), середньої ЧСС за день ($r = -0,4839$; $p = 0,004$), середньої ЧСС за ніч ($r = -0,4063$; $p = 0,019$) і пряма кореляційна зв'язь між кількістю желудочкових екстрасистол в сутки і віком ($r = 0,2880$; $p = 0,047$), кількістю наджелудочкових екстрасистол в сутки і ростом ($r = 0,3073$; $p = 0,034$), кількістю наджелудочкових екстрасистол в сутки і вагою ($r = 0,3271$; $p = 0,023$), сумарним кількістю екстрасистол (наджелудочкових і желудочкових) в сутки і віком ($r = 0,3415$; $p = 0,018$), сумарним кількістю екстрасистол (наджелудочкових і желудочкових) в сутки і ростом ($r = 0,3620$; $p = 0,011$).

Висновки. У хворих з избыточною масою тіла/ожирінням на фоні гіпертонічної хвороби з супутнією ІБС збільшення кількості желудочкових екстрасистол за сутки асоціюється з брадикардией і залежить від віку, а кількість наджелудочкових екстрасистол за сутки залежить від росту і ваги. Ектопічна електрична активність у хворих з избыточною масою тіла/ожирінням на фоні гіпертонічної хвороби з супутнією ІБС асоціюється з ішемічними змінами міокарда, але не залежить від індексу маси тіла.

Key words:

obesity,
hypertension,
ischemic heart,
supraventricular
and ventricular
premature beats.

Pathologia

2017; 14 (1), 43–48

The dependence of the ectopic electrical activity of the heart on the excess body weight in patients with essential hypertension in combination with ischemic heart disease (according to the daily ECG monitoring)

V. V. Syvolap, L. O. Kurilets, V. A. Matsalaeva, N. Ye. Dobrovolska

Background. Obesity, hypertension and myocardial ischemia due to coronary atherosclerosis are the most common combination of pathological conditions. Arrhythmias (except for atrial fibrillation) in patients with obesity and hypertension in combination with ischemic heart disease are neglected.

The aim of our study was to ascertain the impact of excess body weight on the ectopic electrical activity of the heart in hypertensive patients with concomitant coronary heart disease (according to the daily monitoring of heart rhythm).

Material and methods. The study involved 91 patients with essential hypertension stage II, degree II with concomitant coronary heart disease aged 41–60 years, mean age 51.23 ± 5.30 years (men 69 %). Depending on body mass index we divided patients into 2 groups. The first group included 70 patients aged 53 (48; 57) years (38 % men) who had the body mass index over 25 kg/m^2 (40 (44 %) patients with excess body weight, and 30 (33 %) patients with obesity). The second group included 21 (23 %) patients aged 50 (47; 54) years with the body mass index from 18.5 kg/m^2 to 24.9 kg/m^2 . The groups were comparable in age and sex.

Results. Groups of patients had probable differences in terms of body weight (90 (80, 100) to 69 kg (61; 73) kg, $p = 0.001$), BMI ($29.2 (26.6; 32.70 \text{ kg/m}^2$ vs. $23.4 (22.4; 24.2) \text{ kg/m}^2$, $p = 0.001$). However, the groups of patients did not differ in terms of height ($173.86 \pm 8.73 \text{ cm}$ to 170.95 cm , $p = 0.19$). Patients with hypertension combined with coronary artery disease and overweight / obesity had significantly greater number of minutes of ST-segment elevation per day than patients with normal weight (12 (2, 180) min. vs. 7 (2, 169) min., $p = 0.05$). Inverse correlation was found between the number of premature ventricular beats per day and average daily heart rate ($r = -0.5148$; $p = 0.002$), the average heart rate per day ($r = -0.4839$; $p = 0.004$), the average heart rate per night ($r = -0.4063$; $p = 0.019$); and direct correlation between the number of premature ventricular beats per day and age ($r = 0.2880$; $p = 0.047$); the number of premature supraventricular beats per day and height ($r = 0.3073$; $p = 0.034$); the number of premature supraventricular beats per day and weight ($r = 0.3271$; $p = 0.023$); the total number of premature beats (supraventricular and ventricular) per day and age ($r = 0.3415$; $p = 0.018$); the total number of premature beats (supraventricular and ventricular) per night and height ($r = 0.3620$; $p = 0.011$).

Conclusions. In patients with excessive body weight / obesity and hypertension with concomitant coronary artery disease increased number of premature ventricular beats per day is associated with bradycardia and depends on the age and the number of premature supraventricular beats per day depending on the height and weight. Ectopic electrical activity in patients with excessive body weight / obesity and hypertension with concomitant coronary heart disease is associated with myocardial ischemic changes, but independent of body mass index.

Ожиріння вважається проблемою світового масштабу. У світі поширеність ожиріння зросла більш ніж удвічі в період із 1980 по 2014 р. У 2014 році понад 1,9 мільярда дорослих людей віком від 18 років і старші мали надлишкову вагу, що становить 39 % дорослого населення (38 % чоловіків і 40 % жінок). З них понад 600 мільйонів дорослих страждали на ожиріння. Загалом у 2014 році майже 13 % дорослого населення світу (11 % чоловіків і 15 % жінок) страждали на ожиріння [1, 12]. Ожиріння сьогодні розглядається не тільки як самостійна нозологічна одиниця, а як фактор ризику цукрового діабету й серцево-судинних захворювань та їхніх ускладнень. У нормотензивних хворих на ожиріння виникають структурно-морфологічні зміни міокарда: ексцентрична гіпертрофія та дилатація лівого шлуночка, гіпертрофія правого шлуночка. Вищеперелічені зміни міокарда

зумовлені збільшенням об'єму циркулюючої крові для задоволення потреб перфузії підвищеної маси жирової тканини. Серцевий викид зростає при майже незмінній ЧСС спокою, а загальний периферичний судинний опір знижується. Через підвищення навантаження лівого шлуночка (ЛШ) збільшується споживання кисню, котре зростає лінійно зі збільшенням маси тіла [9, 10]. Об'ємне перевантаження та збільшення судинного опору для транзиту крові в капілярах, зокрема в судинах жирової тканини, сприяє підвищенню артеріального тиску. Дійсно, артеріальна гіпертензія частіше виявляється у хворих на ожиріння. Майже 50–60 % хворих мають легку та помірну гіпертензію та 5–10 % осіб – важку гіпертензію [5]. Чималий внесок у формування гіпертензії належить адипоцитам, що визнані безпосереднім джерелом гормонів, як-от передсердний натрійуретич-

ний пептид та ангіотензин-ренін, які регулюють об'єм рідини. Прозапальні адипоцитокіни, що синтезуються макрофагами білої жирової тканини (лептин, TNF α , IL6), беруть участь у розвитку інсулінорезистентності, формуванні підвищеного ризику серцево-судинної патології, асоційованої з надмірною вагою тіла. Гіперінсулінемія та резистентність тканин до інсуліну сприяють формуванню гіпертензії [3]. Гіперінсулінемія може стимулювати симпатичну нервову систему, викликаючи затримку натрію; резистентність до інсуліну може бути відповідальна за підвищення активності норадреналіну й ангіотензину-II [5]. Активнація симпатичної нервової системи, дисфункція ендотелію, порушення функції нирок і деякі гормони, як-от лептин, залучені в патофізіологію гіпертензії, пов'язаної з ожирінням [7].

Отже, ожиріння, артеріальна гіпертензія та ішемія міокарда внаслідок атеросклерозу вінцевих судин – найпоширеніша комбінація патологічних станів. Але переважна більшість досліджень змін ЕКГ стосується хворих на ожиріння без гіпертензії. Детально описані найхарактерніші ЕКГ зміни у хворих на ожиріння, які не мають підвищеного артеріального тиску: зниження вольтажу (11 %), вольтажні критерії гіпертрофії лівого шлуночка (66 %), неспецифічні зміни сегмента ST і зубця T (11 %). Ожиріння не асоціюється з інверсією зубця T [4].

Найчастіші порушення ритму у хворих на ожиріння – надшлуночкові та шлуночкові екстрасистолі, фібриляція передсердь. Шлуночкові екстрасистолі у 30 разів частіше виявляються у хворих на ожиріння, ніж в осіб із нормальною вагою тіла. Незалежно від наявності гіпертензії чи концентричної гіпертрофії лівого шлуночка хворі на ожиріння мають більшу кількість шлуночкових екстрасистол, ніж практично здорові пацієнти [6,11].

Однак порушенням ритму (за винятком фібриляції передсердь) у хворих на ожиріння на тлі артеріальної гіпертензії у сполученні з ІХС приділяється недостатньо уваги.

Мета роботи

З'ясування впливу надмірної ваги тіла на ектопічну електричну активність серця у хворих на гіпертонічну хворобу з супутньою ішемічною хворобою серця (за даними добового моніторування серцевого ритму).

Матеріали і методи дослідження

Після підписання інформованої згоди до дослідження залучили 91 хворого на гіпертонічну хворобу II стадії, II ступеня з супутньою ІХС віком 41–60 років, середній вік – $51,23 \pm 5,30$ року (69 % чоловіків). Дослідження здійснені в кардіологічному відділенні КУ «6 міська клінічна лікарня» м. Запоріжжя, що є клінічною базою кафедри пропедевтики внутрішніх хвороб Запорізького державного медичного університету (ЗДМУ). Усім хворим виконали загально-клінічне, клініко-лабораторне, біохімічне, інструментальне обстеження: трансторакальну ЕхоКГ, ЕКГ у 12 відведеннях, добове моніторування ЕКГ. Діагнози ГХ та ІХС встановлені відповідно до національних стандартів діагностики та лікування АГ та ІХС [13].

Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) класифікує ожиріння за індексом маси тіла (ІМТ) [8]. Класифікація передбачає такі градації: нормальний діапазон ($18,5\text{--}24,9$ кг/м²), надлишкова вага ($25,0\text{--}29,9$ кг/м²), м'яке ожиріння ($30,0\text{--}34,9$ кг/м²), помірне ожиріння ($35,0\text{--}39,9$ кг/м²), патологічне ожиріння ($\geq 40,0$ кг/м²). У нашій роботі користувалися цією класифікацією.

Залежно від індексу маси тіла всіх пацієнтів поділили на 2 групи. До першої включили 70 пацієнтів віком 53 (48; 57) роки (38 % чоловіків), які мали індекс маси тіла понад 25 кг/м². Пацієнти першої групи мали такий розподіл за індексом маси тіла: 40 (44 %) хворих із надмірною вагою тіла та 30 (33 %) хворих з ожирінням. До другої групи включили 21 (23 %) хворого віком 50 (47; 54) років з індексом маси тіла від 18,5 кг/м² до 24,9 кг/м². Групи зіставні за віком, статтю.

Статистичне опрацювання даних здійснили за допомогою Statistica версія 6.0 (StatSoft, Tulsa, OK., USA). Гіпотезу про нормальність розподілу кількісних показників аналізували з використанням Shapiro–Wilk test. Показники кількісних ознак наведені у вигляді середнього арифметичного (М) і стандартного відхилення (SD) за умов нормального розподілу або медіани (Me) та міжквартильного розмаху ($Q_{25}; Q_{75}$) у разі розподілу, що відрізняється від нормального. Показники якісних ознак подано у вигляді абсолютних і відносних частот. Різницю у групах за кількісними показниками визначали методом параметричної статистики (за критерієм Стюдента), непараметричної статистики (за критерієм Wilcoxon); за якісними показниками – критерій χ^2 . Статистична розбіжність показників визначалась на рівні $p < 0,05$, усі тести – двосторонні.

Результати та їх обговорення

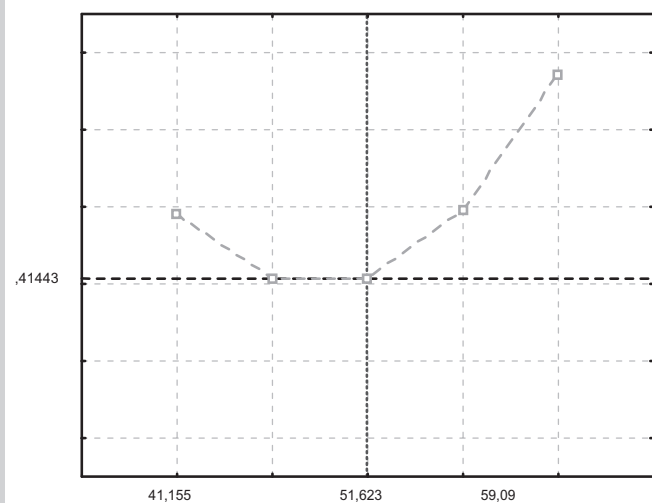
Групи хворих мали вірогідні розбіжності за показниками маси тіла (90 ($80; 100$) кг проти 69 ($61; 73$) кг, $p = 0,001$) та індексу маси тіла ($29,2$ ($26,6; 32,70$ кг/м² проти $23,4$ ($22,4; 24,2$) кг/м², $p = 0,001$). Проте групи хворих не розрізнялись за показниками зросту ($173,86 \pm 8,73$ см проти $170,95 \pm 8,81$ см, $p = 0,19$).

За результатами добового моніторування ЕКГ у хворих на гіпертонічну хворобу в поєднанні з ІХС із надмірною масою тіла/ожирінням і нормальною масою тіла не знайдено вірогідних розбіжностей показників середньої ЧСС за добу (73 ($67; 79$) уд./хв проти 77 ($69; 80$) уд./хв, $p = 0,31$), середньої ЧСС за день ($77,5$ ($72; 84$) уд./хв проти 84 ($74; 86$) уд./хв, $p = 0,23$), середньої ЧСС за ніч (63 ($58; 67$) уд./хв проти 64 ($60; 67$) уд./хв, $p = 0,58$) відповідно. За даними фахової літератури, в осіб, які страждають на ожиріння ЧСС спокою, зазвичай у межах норми синусова брадикардія у спокої реєструється в 5–19 % випадків, водночас коли тахікардія – лише в 0,5 % випадків [4].

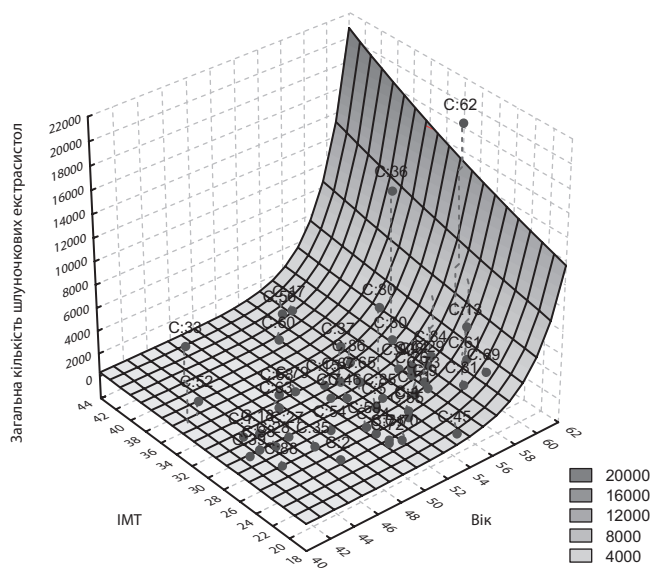
У хворих на гіпертонічну хворобу, поєднану з ІХС, які мали надмірну масу тіла/ожиріння, спостерігалась тенденція ($p = 0,48$) до збільшення сумарної кількості екстрасистол (шлуночкових і надшлуночкових) за добу (1718 ± 3965 ударів) порівняно з аналогічним показником у хворих із нормальною масою тіла (1068 ± 2925 ударів).

Таблиця 1. Кореляційні зв'язки між кількістю екстрасистол за добу та основними антропометричними показниками (r; p)

Показник, одиниця вимірювання	Вік	Зріст	Вага	ІМТ
Кількість шлуночкових екстрасистол за добу, шт.	0,2880 p=0,047	0,2781 p=0,056	0,1057 p=0,475	0,0196 p=0,895
Кількість надшлуночкових екстрасистол за добу, шт.	0,2287 p=0,118	0,3073 p=0,034	0,3271 p=0,023	0,2193 p=0,134
Сумарна кількість екстрасистол (надшлуночкових і шлуночкових) за добу, шт.	0,3415 p=0,018	0,3620 p=0,011	0,2162 p=0,140	0,0645 p=0,663

**Рис. 1.** Залежність кількості шлуночкових екстрасистол від віку хворих на гіпертонічну хворобу з супутньою ІХС (функція поліному).

Model: Exponentialgrowth ($y = c + \exp(b_0 + b_1 * x_1 + b_2 * x_2 \dots)$)
 $z = 323,593 + \exp(-15,687 + (.39688) * x + (.02291) * y)$

**Рис. 2.** Залежність (модель експоненційного росту) добової кількості шлуночкових екстрасистол у хворих на гіпертонічну хворобу в поєднанні з ІХС від віку та індексу маси тіла.

Аналогічна тенденція стосувалась і кількості надшлуночкових (918 ± 2634 ударів проти 752 ± 2477 ударів, $p=0,81$) і шлуночкових (1410 ± 4012 ударів проти 804 ± 1592 удари, $p=0,61$) екстрасистол за добу, тобто у хворих на серцево-судинні захворювання з надмірною масою тіла/ожирінням спостерігається тенденція до збільшення кількості екстрасистол порівняно з хворими з нормальною масою тіла. Але ми не знайшли кореляційних зв'язків між кількістю екстрасистол (надшлуночкових, шлуночкових) та індексом маси тіла (табл. 1). Водночас кореляційні зв'язки виявлено для пар: кількість шлуночкових екстрасистол за добу – вік ($r=0,2880$; $p=0,047$); кількість надшлуночкових екстрасистол за добу – зріст ($r=0,3073$; $p=0,034$); кількість надшлуночкових екстрасистол за добу – вага ($r=0,3271$; $p=0,023$); сумарна кількість екстрасистол (надшлуночкових і шлуночкових) за добу – вік ($r=0,3415$; $p=0,018$); сумарна кількість екстрасистол (надшлуночкових і шлуночкових) за добу – зріст ($r=0,3620$; $p=0,011$).

За даними D. Conen et al. (2012), надшлуночкова екстрасистолія також асоціюється з низкою факторів: віком, зростом, серцево-судинними захворюваннями в анамнезі, вмістом натрійуретичного пептиду, але не з індексом маси тіла [2].

Відзначимо, що отримана нами залежність кількості шлуночкових екстрасистол від віку хворих на гіпертонічну хворобу з супутньою ІХС мала не лінійний, а J-подібний характер (рис. 1). Так, найменша кількість екстрасистол реєструвалась у хворих віком 51 рік, зростала у молодшому віці (41 рік) та особливо у старшому – 59 років.

Попри відсутність кореляційної залежності між індексом маси тіла та кількістю екстрасистол за добу графічний аналіз (модель експоненційного росту) асоціації кількості шлуночкових екстрасистол за добу від віку та індексу маси тіла хворих на гіпертонічну хворобу з супутньою ІХС дав змогу знайти залежність між цими показниками. З графіка на рисунках 2 та 3 наочно видно, що збільшення кількості шлуночкових екстрасистол за добу асоціюється зі збільшенням віку та індексу маси тіла (рис. 2), віку та росту (рис. 3).

Аналогічна залежність кількості шлуночкових екстрасистол за добу від віку та росту у хворих на гіпертонічну хворобу з супутньою ІХС підтверджена моделлю експоненційного росту (рис. 3).

Аналіз показників, що характеризують ішемічні зміни міокарда, виявив вірогідно більшу кількість хвилин елевачії сегмента ST за добу у хворих на гіпертонічну хворобу, поєднану з ІХС, які мали надмірну масу тіла/ожиріння, над аналогічним показником у хворих із нормальною масою тіла ($12 (2; 180)$ хв проти $7 (2; 169)$ хв, $p=0,05$). За показником максимальної елевачії сегмента ST групи хворих із надмірною масою тіла/ожирінням і нормальною масою тіла вірогідно не розрізнялись ($188 (146; 296)$ мВ проти $195 (127; 350)$ мВ, $p=0,79$) відповідно.

Нами не знайдено статистично вірогідних розбіжностей між показниками тривалості та максимальної депресії сегмента ST груп хворих, що досліджували. Не отримано також вірогідних кореляційних зв'язків між показниками тривалості та максимальної депресії сегмента ST і кількістю екстрасистол за добу. Можливо,

відсутність кореляційних зв'язків між цими показниками зумовлена відсутністю лінійної залежності. Водночас функція полінома (рис. 4) демонструє чітку залежність кількості шлуночкових екстрасистол за добу від тривалості депресії сегмента ST за добу.

Отже, аналіз результатів добового моніторування ЕКГ дав можливість виявити тенденцію до збільшення кількості надшлуночкових і шлуночкових екстрасистол у хворих на гіпертонічну хворобу, поєднану з ІХС, які мали надмірну масу тіла/ожиріння, над аналогічними показниками у хворих із нормальною масою тіла. Переважання за кількістю надшлуночкових і шлуночкових екстрасистол у хворих на гіпертонічну хворобу, поєднану з ІХС, які мали надмірну масу тіла/ожиріння, асоціювалось із вірогідним збільшенням тривалості ішемічних змін у міокарді.

У дослідженні [14] також показано, що у хворих як з ожирінням, так і з нормальною масою тіла стенокардія асоціюється зі збільшенням кількості надшлуночкових екстрасистол, у тому числі парних.

Дані, що одержали, свідчать: кількість шлуночкових екстрасистол у хворих на гіпертонічну хворобу, поєднану з ІХС, які мали надмірну масу тіла/ожиріння, крім залежності від елевачії сегмента ST, значною мірою залежить від частоти базального ритму (табл. 2).

Так, між кількістю шлуночкових екстрасистол за добу та середньою добовою ЧСС виявлено зворотний кореляційний зв'язок ($r = -0,5148$; $p = 0,002$), середньою ЧСС за день ($r = -0,4839$; $p = 0,004$) та середньою ЧСС за ніч ($r = -0,4063$; $p = 0,019$), тобто брадикардія асоціюється зі збільшенням кількості шлуночкових екстрасистол за добу.

Висновки

У хворих із надмірною вагою тіла/ожирінням на тлі гіпертонічної хвороби із супутньою ІХС кількість шлуночкових екстрасистол за добу залежить від віку ($r = 0,2880$; $p = 0,047$); кількість надшлуночкових екстрасистол за добу – від росту ($r = 0,3073$; $p = 0,034$) та ваги ($r = 0,3271$; $p = 0,023$); сумарна кількість екстрасистол (надшлуночкових і шлуночкових) за добу від віку ($r = 0,3415$; $p = 0,018$); сумарна кількість екстрасистол (надшлуночкових і шлуночкових) за добу – від росту ($r = 0,3620$; $p = 0,011$).

1. Ектопічна електрична активність у хворих із надмірною вагою тіла/ожирінням на тлі гіпертонічної хвороби з супутньою ІХС асоціюється з ішемічними змінами міокарда. Хворі на гіпертонічну хворобу, поєднану з ІХС з надмірною масою тіла/ожирінням, мають вірогідно більшу кількість хвилин елевачії сегмента ST за добу над аналогічним показником у хворих із нормальною масою тіла (12 (2; 180) хв проти 7 (2; 169) хв, $p = 0,05$).

2. Збільшення кількості шлуночкових екстрасистол за добу асоціюється із брадикардією у хворих із надмірною вагою тіла/ожирінням на тлі гіпертонічної хвороби з супутньою ІХС, про що свідчить зворотний кореляційний зв'язок між кількістю шлуночкових екстрасистол за добу та середньою добовою ЧСС ($r = -0,5148$; $p = 0,002$), середньою ЧСС за день ($r = -0,4839$; $p = 0,004$), середньою ЧСС за ніч ($r = -0,4063$; $p = 0,019$).

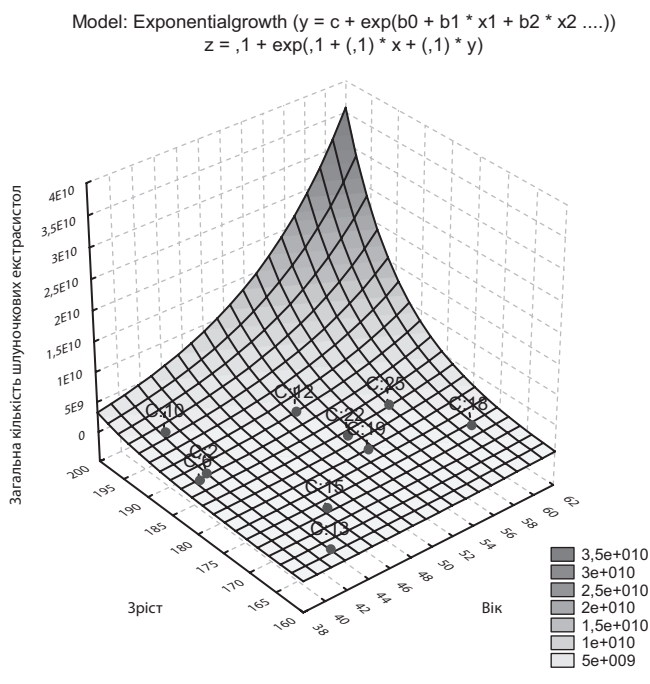


Рис. 3. Залежність (модель експоненційного росту) добової кількості шлуночкових екстрасистол у хворих на гіпертонічну хворобу в поєднанні з ІХС із надмірною масою тіла/ожирінням від віку та росту.

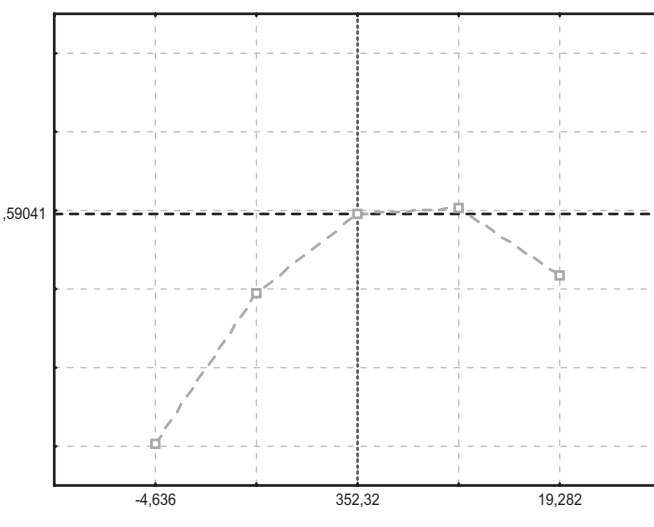


Рис. 4. Залежність кількості шлуночкових екстрасистол за добу від тривалості депресії сегмента ST за даними добового моніторування ЕКГ у хворих на гіпертонічну хворобу з супутньою ІХС (функція полінома).

Таблиця 2. Кореляційний зв'язок між кількістю шлуночкових екстрасистол за добу та середніми ЧСС за добу, день, ніч

Показник, одиниця вимірювання	Середня ЧСС за добу	Середня ЧСС за день	Середня ЧСС за ніч
Кількість шлуночкових екстрасистол, шт.	-0,5148	-0,4839	-0,4063
Вірогідність	$p = 0,002$	$p = 0,004$	$p = 0,019$

Перспективи подальших досліджень. Здійснити поглиблений аналіз змін кількості надшлункових і шлункових екstrasистол у хворих із надмірною вагою тіла/ожирінням на тлі гіпертонічної хвороби з супутньою ІХС.

Список літератури

- [1] Bhupathiraju, S. N. Epidemiology of Obesity and Diabetes and their Cardiovascular complications / S.N. Bhupathiraju, F.B. Hu // *Circulation Research*. – 2016. – Vol. 118. – P. 1723–1735.
- [2] Premature atrial contractions in the general population: frequency and risk factors / D. Conen, M. Adam, F. Roche, et al. // *Circulation*. – 2012. – Vol. 126. – P. 2302–2308.
- [3] Daruka K.M. Correlation of Body Fat Index with Insulin Resistance Across Normal, Overweight and Obese Individuals / K.M. Daruka // *Journal of Evidence based Medicine and Healthcare*. – 2015. – Vol. 2. – Issue 23. – P. 3422–3426.
- [4] Obesity and the electrocardiogram obesity reviews / M.A. Fraley, J.A. Bircham, N. Senkottaiyan, M.A. Alpert // *Obes Rev*. – 2005. – Vol. 6. – P. 275–281.
- [5] The Effects of Obesity on the Cardiopulmonary System: Implications for Critical Care Nursing, Disclosures Prog. / K. Garrett, K. Lauer, B.A. Christopher // *Cardiovasc. Nurs*. – 2004. – Vol. 19(4). – P. 155–161.
- [6] Diet-induced obesity causes long QT and reduces transcription of voltage-gated potassium channels / H. Huang, V. Amin, M. Gurin et al. // *J Mol Cell Cardiol*. – 2013. – Vol. 59. – P. 151–158.
- [7] Mechanisms of obesity-induced hypertension / V. Kotsis, S. Stabouli, S. Papakatsika, et al. // *Hypertens. Res*. – 2010. – Vol. 33(5). – P. 386–393.
- [8] Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation / World Health Organ Tech. Rep. Ser. – 2000. – Vol. 894. – №1-XII. – P. 1–253.
- [9] Peavy W.C. Cardiovascular effects of obesity: implication for critical care / W.C. Peavy // *Crit. Care Nurs Clin Norsh Am*. – 2009. – Vol. 21(3). – P. 293–300.
- [10] Obesity and Cardiovascular disease: Pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. An update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on obesity and heart disease from the obesity committee of the council on nutrition, physical activity, and metabolism / P. Poirier, T.D. Giles, G.A. Bray, et al. // *Circulation*. – 2006. – Vol. 113. – P. 898–918.
- [11] Schunkert H. Obesity and target organ damage: the heart / H. Schunkert // *Int J Obes Relat Metab Disord*. – 2002. – Suppl 4. – S15–20.
- [12] WHO. Obesity and overweight. 2011./Website.
- [13] Серцево-судинні захворювання. Класифікація, стандарти діагностики та лікування / Асоціація кардіологів України; за ред. акад. В. М. Коваленко та ін. – К.: Моріон, 2016. – 192 с.
- [14] Связь массы тела с особенностями сердечного ритма у мужчин с артериальной гипертензией / Н.С. Цыпленкова, Е.И. Панова, В.А. Кичигин, Т. Г. Доманова // *Вестник Чувашского университета*. – 2013. – №3. – С. 563–567.
- critical care. *Crit. Care Nurs Clin Norsh*, 21(3), 293–300. doi: 10.1016/j.ccell.2009.07.005.
- [10] Poirier, P., Giles, T. D., Bray, G. A., Hong, Y., Stern, J. S., Pi-Sunyer, F. X., et al. (2006) Obesity and Cardiovascular disease: Pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. An update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on obesity and heart disease from the obesity committee of the council on nutrition, physical activity, and metabolism. *Circulation*, 113, 898–918. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.171016.
- [11] Schunkert, H. (2002) Obesity and target organ damage: the heart. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 4, 15–20. doi: 10.1038/sj.ijo.0802214.
- [12] WHO. Obesity and overweight. 2011./Website.
- [13] Kovalenko, V. M. (2016). *Sertsevo-sudynni zakhvoriuvannia. Klastyfikatcia, standarty diahnostryky ta likuvannia [Cardiovascular disease. The classification standards for diagnosis and treatment]*. Kyiv: Morion.
- [14] Tsyplenkova, N. S., Panova, E. I., Kichigin, V. A., & Domanova, T. G. (2013) Svyaz' massy tela s osobennostyamy serdechnogo ritma u muzhchin s arteryal'noj gipertenziiej [Mass communication features of the body of heart rate in men with arterial hypertension]. *Vestnik Chuvashskogo universiteta*, 3, 563–567. [in Russian].

Відомості про авторів:

Сиволап В. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. пропедевтики внутрішніх хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.
 Курілець Л. О., канд. мед. наук, асистент каф. пропедевтики внутрішніх хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.
 Добровольська Н. Є., лікар-кардіолог кардіологічного відділення КУ «6 міська лікарня» м. Запоріжжя, Україна.
 Матсалаєва В. А., студентка 4 курсу І медичного факультету, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Сиволап В. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. пропедевтики внутренних болезней с уходом за больными, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
 Курилец Л. О., канд. мед. наук, ассистент каф. пропедевтики внутренних болезней с уходом за больными, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
 Добровольская Н. Е., врач-кардиолог кардиологического отделения, КУ «6 городская больница» г. Запорожья, Украина.
 Матсалаева В. А., студентка 4 курса I медицинского факультета, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Syvolap V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Propedeutics to Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
 Kurilets L. O., MD, PhD, Assistant of the Department of Propedeutics to Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
 Dobrovol'ska N. Ye., Cardiologist, Cardiology Department, CI «The 6th City Hospital», Zaporizhzhia, Ukraine.
 Matsalaeva V. A., 4th-year Student of the Medical Faculty №1, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 20.02.2017
 Після доопрацювання / Revised: 24.02.2017
 Прийнято до друку / Accepted: 28.02.2017

Involvement of proinflammatory S100A9/A8 in the atherocalcinosis of aortic valves

R. A. Moskalenko¹, A. M. Romaniuk¹, I. O. Iashchishyn^{1,2}, I.-M. S. Zakorko¹,
A. M. Piddubnyi¹, Ye. O. Chernov², L. O. Morozova-Roche²

¹Sumy State University, Ukraine, ²Umeå University, Sweden

According to the results of the Euro-Heart Survey on Vascular Heart Disease the most common pathology is nonrheumatic aortic stenosis, it is also called as calcific aortic valve stenosis (CAVS), as in its pathogenesis the process of biomineralization of valve cusps and ring plays the main role.

The aim of the work is the immunohistochemical study of mineralized tissue of aortic heart valves, which are affected by atherocalcinosis.

Materials and methods. 30 samples of mineralized aortic valves (I group) and 10 samples of aortic valve without evidence of biomineralization (II group – control) were studied. Immunohistochemical study of expression of collagen (Collagen I), CD68, myeloperoxidase (MPO), calgranulin A (S100A8), calgranulin B (S100A9), caspase 3 (Casp 3) and osteopontin (OPN) was conducted in AV tissue of both groups.

Results. In CAV tissues the fibrillar component (collagen I) growths was found, but the quantitative and qualitative compositions of CD68+ circulating inflammatory cells are not significantly different from the control group. CAVs contain much more MPO+ cells ($p < 0.001$) in comparison to the group of AVs without biomineralization.

Our data show a significant increase of the S100A9 and OPN expression in the mineralized tissue of AVs ($p < 0.01$). Also, a higher expression level of Casp3 and MPO was found in CAVs ($p < 0.05$). Comparing the first and the second groups of AVs connection between the expression of S100A8 was not determined.

Conclusion. High Casp 3 expression confirms the increased level of cell elimination in the CAVs tissue, which is obviously connected with the impact of high local concentrations of S100A9. These facts can contribute to the development of pathological biomineralization of AV. Since osteopontin inhibits the hydroxyapatite formation by binding to the surface of the crystals, its hyperproduction is a counteracting factor against biomineralization in AV tissue.

Key words:

aortic valves,
calgranulin A,
calgranulin B.

Pathologia

2017; 14 (1), 49–56

DOI:

10.14739/2310-1237.
2017.1.98183

E-mail:

r.moskalenko@
med.sumdu.edu.ua

Участь прозапальних білків S100A9/A8 у атерокальцинозі аортальних клапанів

Р. А. Москаленко, А. М. Романюк, І. О. Яцишин, І.-М. С. Закорко, А. М. Піддубний,
Є. О. Чернов, Л. О. Морозова-Роше

Згідно з результатами Європейського дослідження серцевих вад (Euro-Heart Survey on Vascular Heart Disease), серед уражень серцевих клапанів найпоширенішою патологією є неревматичний аортальний стеноз, який також називають кальцифікованим аортальним стенозом (КАС), бо у його патогенезі головна роль належить процесу біомінералізації стулок і кільця клапана. Демографічно-зумовлене зростання кількості людей старших вікових груп призводить до збільшення дегенеративно-метаболічних захворювань серцевих аортальних клапанів (АК), особливо спричинене атеросклеротичними процесами.

Мета роботи – імуногістохімічне дослідження мінералізованих тканин аортальних серцевих клапанів, що уражені атерокальцинозом.

Матеріали та методи. Усього дослідили 30 зразків мінералізованих аортальних клапанів (І група) та 10 зразків аортальних клапанів без ознак біомінералізації (ІІ група), які виступали як контроль. У тканині АК обох груп здійснили імуногістохімічне дослідження експресії колагену І (Collagen I), CD68, міelopероксидази (МРО), кальгрануліну А (S100A8), кальгрануліну В (S100A9), каспази 3 (Casp 3) та остеопонтину (OPN). Оцінювання статистичної вірогідності різниці результатів між групами зразків проводили за допомогою непараметричного критерію Манна–Уїтні. Результати вважали статистично вірогідними при ступені вірогідності понад 95 % ($p < 0,05$).

Результати. У тканині CAV виявлено розростання фібрилярного компонента (колаген І), але кількісний та якісний склад CD68+ циркулюючих запальних клітин істотно не відрізняється від контрольної групи АК. Кальцифіковані АК містять більше МРО+ клітин ($p < 0.001$) порівняно з групою АК без біомінералізації.

Наші дані показують значуще підвищення експресії S100A9 і ОПН у тканині мінералізованих АК ($p < 0,01$). Також у CAV виявлений вищий рівень експресії Casp3 ($p < 0,05$). Порівнюючи І та ІІ групи АК, не виявлено зв'язку між експресією S100A8.

Висновки. Висока експресія Casp3 підтверджує підвищений рівень елімінації клітин у тканині CAV, що, очевидно, пов'язано із впливом високої місцевої концентрації S100A9. Ці факти можуть сприяти розвитку патологічної біомінералізації АК. Оскільки остеопонтин інгібує утворення гідроксиапатиту, зв'язуючись з поверхнею кристалів, то його гіперпродукція у тканинах АК є фактором протидії біомінералізації.

Ключові слова:

аортальний клапан,
кальгранулін А,
кальгранулін В.

Патологія. – 2017. –

Т. 14, № 1(39). –
С. 49–56

Ключевые слова:
аортальный клапан,
кальгранулин А,
кальгранулин В.

Патология. – 2017. –
Т. 14, № 1(39). –
С. 49–56

Участие провоспалительных белков S100A9/A8 в атерокальцинозе аортальных клапанов

Р. А. Москаленко, А. Н. Романюк, И. А. Яцишин, И.-М. С. Закорко, А. М. Пиддубный, Е. А. Чернов, Л. А. Морозова-Роше

Согласно результатам Европейского исследования сердечных пороков (Euro-Heart Survey on Vascular Heart Disease), среди поражений сердечных клапанов наиболее распространённой патологией является неревматический аортальный стеноз. Это заболевание также называют кальцифицированным аортальным стенозом (КАС), так как в его патогенезе главная роль принадлежит процессу биоминерализации створок и кольца клапана. Демографически-обусловленный рост числа людей старших возрастных групп приводит к увеличению дегенеративно-метаболических заболеваний сердечных аортальных клапанов (АК), особенно вызванных атеросклеротическими процессами.

Цель работы – иммуногистохимическое исследование минерализованных тканей аортальных сердечных клапанов, поражённых атерокальцинозом.

Материалы и методы. Всего было исследовано 30 образцов минерализованных аортальных клапанов (I группа) и 10 образцов аортальных клапанов без признаков биоминерализации (II группа), которые выступали в качестве контроля. В ткани АК обеих групп было проведено иммуногистохимическое исследование экспрессии коллагена I (Collagen I), CD68, миелопероксидазы (MPO), кальгранулина А (S100A8), кальгранулина В (S100A9), каспазы 3 (Casp 3) и остеопонтина (OPN). Оценку статистической достоверности разницы результатов между группами образцов проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Результаты считали статистически достоверными при степени достоверности более 95 % ($p < 0,05$).

Результаты. В ткани кальцифицированных АК обнаружено разрастание фибриллярного компонента (коллаген I), но количественный и качественный состав CD68+ циркулирующих воспалительных клеток существенно не отличается от контрольной группы АК. Кальцифицированные АК содержат больше MPO+ клеток ($p < 0,001$) по сравнению с группой АК без биоминерализации. Наши данные показывают значимое повышение экспрессии S100A9 и OPN в ткани минерализованных АК ($p < 0,01$). Также в CAV выявлен более высокий уровень экспрессии Casp3 ($p < 0,05$). Сравнивая I и II группы АК, не обнаружили связи между экспрессией S100A8.

Выводы. Высокая экспрессия Casp3 подтверждает повышенный уровень элиминации клеток в ткани кальцифицированных АК, что, очевидно, связано с влиянием высокой местной концентрации S100A9. Эти факты могут способствовать развитию патологической биоминерализации АК. Поскольку остеопонтин ингибирует образование гидроксиапатита, связываясь с поверхностью кристаллов, то его гиперпродукция в тканях АК является фактором противодействия биоминерализации.

During recent years in Europe and in Ukraine an increase of the prevalence of non-rheumatic valve affection can be observed, this relates to the growing of population in the elder age groups. This has led to the increase of the number of patients with non-rheumatic valve affection: they get older, have signs of coronary heart disease and engorgement heart failure more often, they had surgery on myocardial revascularization, diabetes type II and chronic renal failure [1,2]. According to the results of the Euro-Heart Survey on Vascular Heart Disease degenerative etiology dominated on aortic stenosis (81.9 %), for mitral (61.3 %) and aortic (50.3 %) failure. Only in the case of mitral stenosis rheumatological reasons play the main role (85.4 %) [1,3]. The most common pathology is a non-rheumatic aortic stenosis, also called calcific aortic valve stenosis (CAVS), since biomineralization process of cusps and valve rings plays the main role in its pathogenesis [4]. In addition, the average age of patients with CAVS is higher than in cases of other valve diseases. Thus demographically-caused increase of degenerative and metabolic diseases leads to growing part of valve calcification.

The stage of mineralization of the aortic valve is assessed by echocardiography: I stage of calcification corresponds to the focal deposits of calcium compounds in the cusps and commissures; II stage – rough calcification of the AV cusps and commissures, which does not spread to the areas of cusps bonding; III stage – massive deposits of calcifications with the spread to the fibrous valve ring,

aorta and the output of the left ventricle, the anterior cusp of the mitral valve [5].

Recent studies show the important role of the innate immunity receptors Toll-like receptors 2 (TLR2) and TLR4 in the CAVS development. Thus, expression of TLR2 and TLR4 causes the osteogenic phenotypic changes in interstitial cells of AV [6]. Involvement of (TLR2) and TLR4 in the processes of biomineralization draws attention to the agonist of these receptors – calprotectin complex [S100A8/S100A9], which consists of calgranulin A (S100A8) and calgranulin B (S100A9) [7].

In recent works an important role of osteopontin was described. Osteopontin is a pro-inflammatory multifunctional cytokine and it is a perspective marker of the presence and the stage of AV mineralization [8].

The aim of the work is the immunohistochemical study of aortic heart valve tissue in the case of atherocalcinos.

This article focuses on the elevated expression of S100A9 (calgranulin B) as a major inductive factor of vascular calcification and osteopontin as an inducible inhibitor of vascular calcification, and on our current understanding of their effects.

Materials and methods

Ethics committee protocol. Study conducting was approved by the ethics committee of the Medical Institute of Sumy State University (Proceedings № 3/6, 07/06/16).

Sample collection. Sectional study was conducted on the materials, which were obtained during autopsy at Sumy Regional Pathological Office. Heart valves with the signs of atherosclerotic affection and biomineralization were selected for the study. Totally 30 calcific aortic valves (CAV) and 10 AV with the signs of atherosclerotic changes, but without evident pathologic biomineralization (control group) were studied. AVs from the patients with endocarditis, rheumatic heart disease or bicuspid valves were excluded.

Immunohistochemistry. The aortic valve tissue samples were dewaxed in xylene and they were dehydrated during ethanol series. After deparaffinization sections were liable to the demasking of antigens during the thermal method by sections heating in the citrate buffer (pH 6.0) at the temperature of 95–98 °C. Diaminobenzidine (DAB) and amino-ethylcarbazol (AEC) were used as chromogen. The 4 µm-thick paraffin sections were sequentially incubated in 3 % H₂O₂ to remove endogenous peroxidase (10 min), washed in Tris-buffered saline Tween and incubated with 5 % normal horse serum to block non-specific background staining (30 min). Tissue sections were incubated during 1 hour at room temperature with primary antibodies (anti-S100A8, -S100A9, -myeloperoxidase (MPO), -Collagen1, -CD68) (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA), diluted 1:100–1:200, rinsed with TBS-T followed by incubation with secondary antibodies (different origin – depend on primary Abs) IgG peroxidase conjugate (Santa Cruz Biotechnology, Inc.), diluted 1:200 during 30 min at RT. Each incubation step was followed by 5 min rinses in TBS. To visualize the primary antibody binding sites, sections were incubated for 30 min in a solution of 0.05 % AEC and 0.015 % hydrogen peroxide, dissolved in PBS. As a negative control for the immunohistochemical reaction, sections were processed as described above except that the primary antibody was omitted. They were counterstained with Mayer's hematoxylin.

Immunofluorescent staining of AVs. Antibodies to S100A8 (1:50 dilution, sc-48352, Santa Cruz, CA), S100A9 (1:200 dilution, sc-20173, Santa Cruz, CA) were used. VICs grown in complete medium on glass coverslips were fixed in 10 % neutral buffered formalin and permeabilized with Tween 20. Following fixation, the cells were blocked with 3 % bovine serum albumin (BSA) in PBS for 20 minutes at 37 °C, and then incubated overnight at 4 °C with primary antibody diluted in 3 % BSA. The next day, cells were washed twice with PBS and blocked with 10 % goat serum (for S100A9) or 10 % rabbit serum (for S100A8) for 30 minutes at room temperature. AlexaFluor 568 secondary antibodies (10 µg/mL, A11011, A11004, and A11079, Invitrogen, Burlington, ON) diluted in 10 % goat or rabbit serum e then they were applied for 30 minutes at room temperature. The cell nuclei were counterstained with DAPI. Fluorescent images were acquired on a Carl Zeiss microscope (Axio Imager A1).

Morphometric study. Evaluation of histochemical staining were carried out by counting the stained cells in the visual field with diameter of 1000 mm in morphometric program Panoramic Viewer 1.15.4 (3DHitech).

Dot-Blot Analysis. The contents of S100A9 were evaluated by dot-blot assay involving primary antibodies to human S100A9 (rabbit polyclonal, sc-20173, 1 in 2000,

Santa Cruz, CA). Tissues were deparaffinized and rehydrated according to the protocol. Tissues were frozen, at -80 °C, and thawed, and sonicated afterwards. Whole cell extract was mixed then with 2×Laemmli containing β-mercaptoethanol buffer and boiled at 100 °C for 10 minutes and cooled down afterwards. Samples were then centrifuged to spin down crude cell debris. 50 µl drop from each sample was applied to the membrane then drops were let to dry and membrane was blocked in 5 % skimmed milk solved in washing, PBS-T buffer, overnight at 4 °C.

S100A9 was detected by the primary rabbit antibodies, dilution 1:2000 in 1 % skimmed milk solved in washing buffer. Immunodot was detected protein was the visualized by secondary goat anti-rabbit antibodies in the dilution 1:10000 in 1 % solved in washing, PBS-T buffer. Then membrane was dried and scanned at for luminescence excited at λ=800 µm.

Statistical analysis. Data was checked for normality (ND) by Shapiro-Wilk test. Most datasets showed non-normal distribution thus, non-parametric Mann-Whitney U-test was used to evaluate statistical significance. The correlation was assessed by Spearman Rank test.

Research results

Macroscopic and histological features of mineralized heart valves were described by us previously [9]. It should be noted that all CAVs had the signs of atherosclerotic process, emphasizing the obvious connection between CAV with atherocalcinosis.

The deposition of calcium compounds in CAV was in the form of gross deposits, and in the form of small grains, crumbs, which encrusted connective tissue fibers. Affected valves were characterized by the presence of sclerosis and hyalinosis of tissue, focal lipid deposition, edema, myxomatous changes, thickening of elastic and collagen fibers. This was especially typical for collagen type I, which manifests the highest tendency to calcification (Fig. 1A) [10]. Important histopathological change in CAV was the mixed cell inflammatory infiltration by the cells of macrophage series (histiocytes, macrophages – CD68-positive cells, Fig. 1B) and neutrophils (MPO-positive cells, Fig. 1C).

Immunohistochemical study of calgranulin A (S100A8) expression in CAV tissue shows the focal expression in the cells of the inflammatory infiltrate, substantial extracellular expression was not found (Fig. 1E). Studying of the calgranulin B (S100A9) distribution shows its great expression in the calcific aortic valves tissue extracellularly and intracellularly in the most resident valve cells and in circulating inflammatory cells (Fig. 1F). During IHC study of CAV tissue with fluorescent antibodies to S100A8 (Alexa 488, cyan-green color) and S100A9 (Alexa 555, yellow-green) co-localization of these molecules in calprotectin complex stained cytoplasm of S100A8 / S100A9 cells in orange color (Fig. 1D).

Research of apoptotic activity in CAV tissues, which was conducted by the expression level studying of apoptosis marker Caspase 3, showed its moderate expression in cells of AV tissues (Fig. 1G). OPN expression is evident in most CAV cells and extracellularly. Also intense deposition of this protein is observed in biomineralization parts (Fig. 1H).

Aortic valves of control group had the signs of early (uncomplicated) stages of the atherosclerotic process, but without the process of biomineralization. AV tissue contained a significant number of interstitial cells (fibroblasts, smooth muscle cells (SMC), myofibroblasts and endothelial cells), among which small accumulation of circulating inflammatory cells (macrophages, lymphocytes, mast cells) is detected (Fig. 2A). Restructuring of the connective tissue was observed in the form of multiple sclerosis in the extracellular matrix of some AV samples

of the control group. Also among the cellular elements of valves a small number of cardiomyocytes is revealed, they tend to the nonspecific staining by chromogen (mainly diaminobenzidine, for AEC it is not typical) during the immunohistochemical studies.

Medium correlation is found between age of the patients and calcification of the valves, $c=0.36$, $p=0.02$. No correlation between the calcification of the valves and sex is found.

During the immunohistochemical identification of

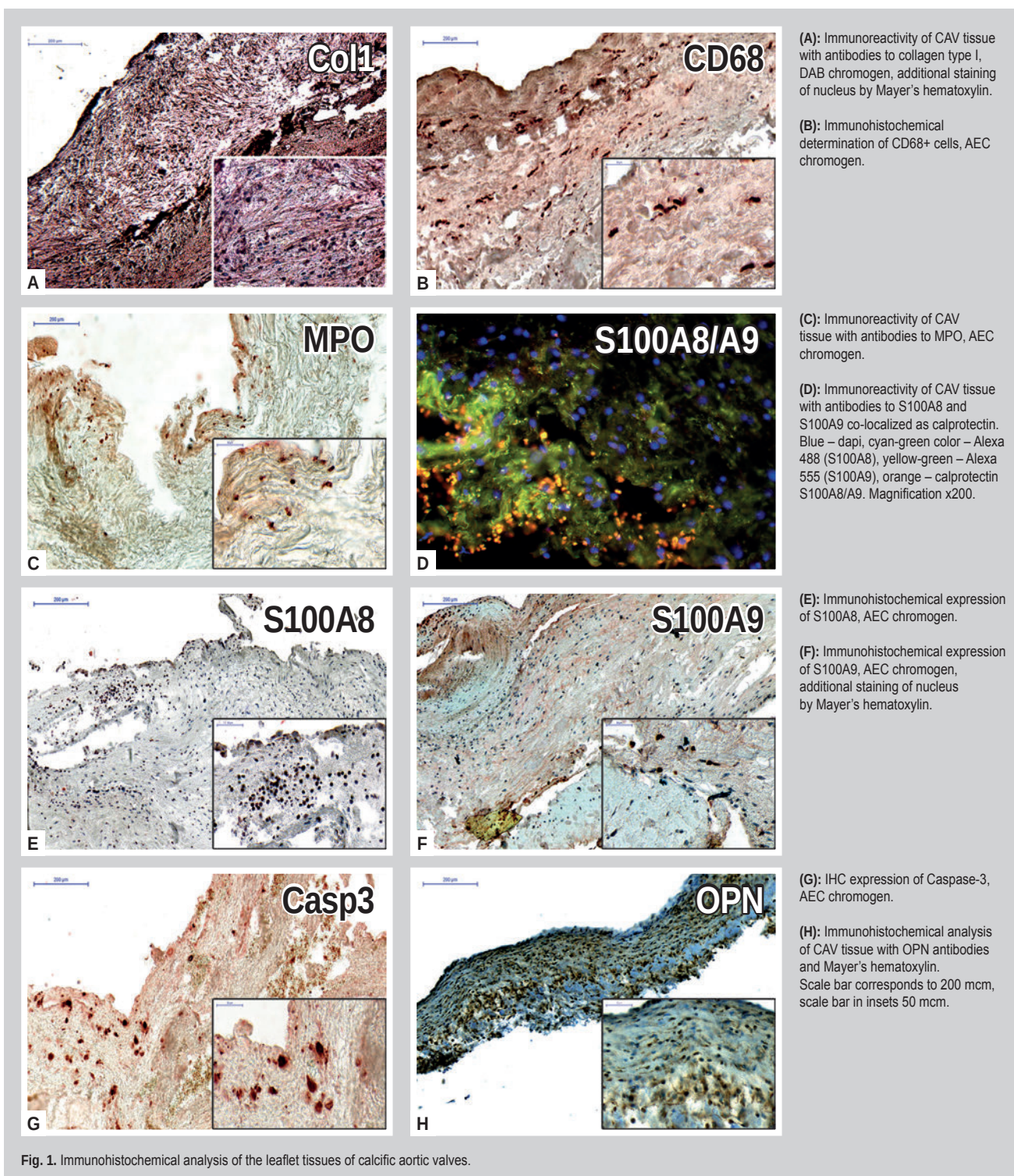
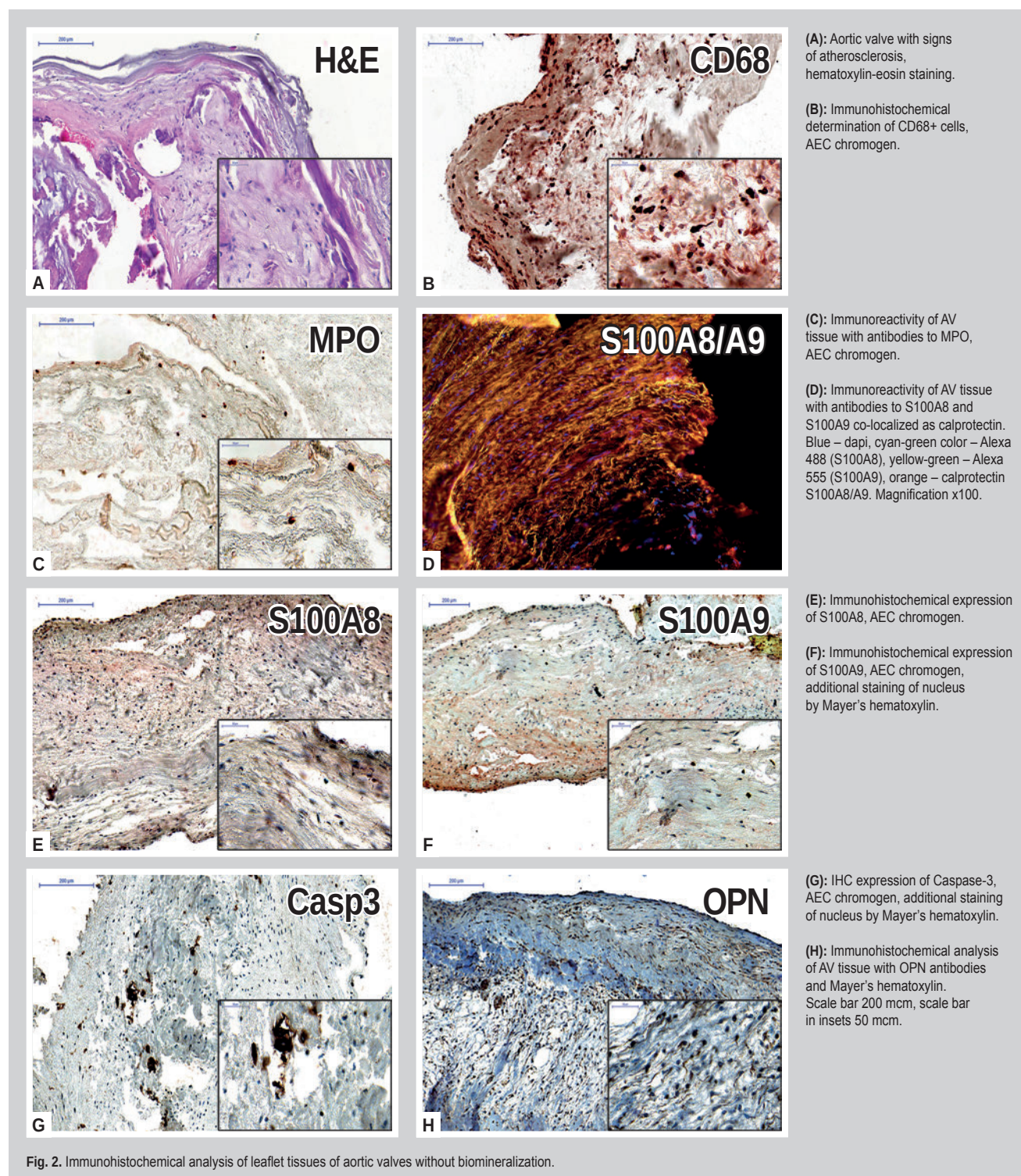


Fig. 1. Immunohistochemical analysis of the leaflet tissues of calcific aortic valves.

CD68⁺ cells in the tissue of control AVs it was found, that their number was not significantly different from the indices of the CAV group ($p > 0.05$) (Fig. 2B). On the other hand, CAVs contain much more MPO⁺-cells ($p < 0.001$) (Fig. 2C). During the study of the expression of heterodimer S100A8/S100A9 using fluorescent antibody it was noticed, that incidences of co-localization of these proteins in the form of a single complex was significantly lower in the control group than in the CAV group (Fig. 2D). However, the expression level of S100A8 is expressed moderately

in the tissue of control AVs, mainly in the interstitial cells, it is not significantly different from the valve samples with biomineralization ($p > 0.05$) (Fig. 2E). AV of the control group demonstrate significantly lower expression level of S100A9 in the cell component of the tissue and also extracellularly ($p < 0.01$) (Fig. 2F).

This also concerns to the expression of the apoptosis marker Casp3 ($p < 0.05$) and mineralization marker OPN ($p < 0.001$), their levels are significantly lower in the control group (Fig. 2G, H).



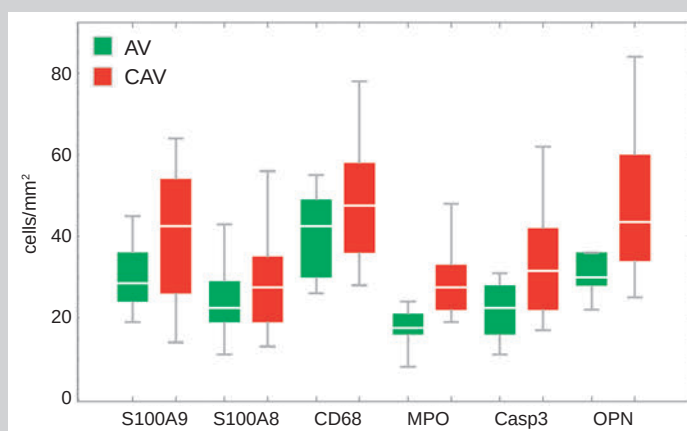


Fig 3. Median numbers of immuno-positive cells for AV and CAV groups.

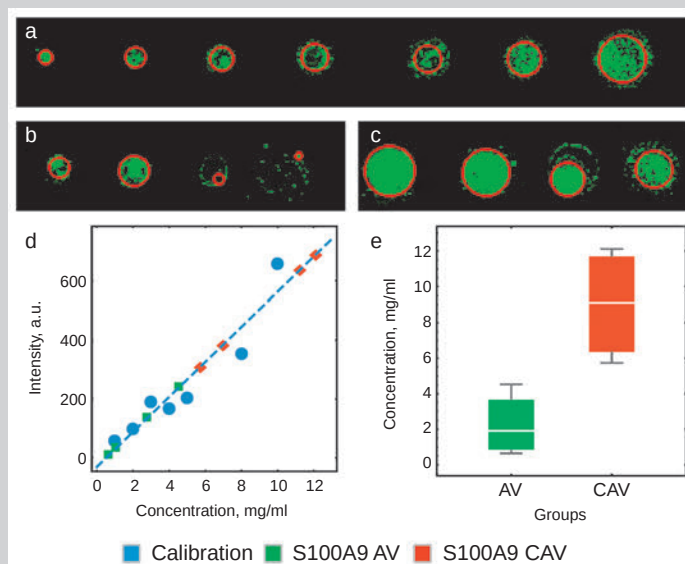


Fig. 4. Dot-blot analysis of S100A9 in aortic valve tissues; (a): calibration fluorescence dots; (b): AV group fluorescence dots; (c): CAV group fluorescence dots; (d): calibration curve; (e): comparison between concentration of S100A9 in AV and CAV groups ($p=0.01$). Red circles in dot fluorescence images represent effective circles derived from the fluorescence of dots, shown for illustration purposes only.

Discussion

Pathological biomineralization of heart valves causes the deep morphological and functional restructuring of all tissue components. The quantitative and qualitative composition of valve interstitial cells (VICs), fibrillar component (collagen and elastin) changes, valve endothelial cells (VECs) are affected adversely. Endothelial cells, that cover the surface and cooperate closely with valve interstitial cells, guarantee the integrity of the valve tissue [11]. Their damage is a critical event in the aortic valves pathology [12]. Necessary conditions for VECs affecting are created in the case of atherosclerosis: lipid infiltration, plaque and detritus formation, infiltration by circulating inflammatory cells (CICs) [12]. It is known, that circulating inflammatory cells (macrophages, lymphocytes, neutrophils, plasma cells) secrete calgranulin A and B, which in turn can form calprotectin complex (heterodimer)

S100A8/S100A9. This complex possesses a cytotoxic activity if expressed in high amounts [13]. Cytotoxicity mechanism of calprotectin is the sequestration of divalent cations, particularly zinc and manganese, consequently leading to decrease in the efficiency of antioxidant system and further induction of apoptosis.

Majority of the tissues from the CAV group contained both S100A8 and S100A9 as shown by fluorescence immunohistochemistry in (Fig. 3). The colocalization of these two staining patterns points on the presence of calprotectin complex in the tissues of CAV group. The staining pattern of S100A8/A9 in the tissues of AV group was comparable with the background staining (not shown) demonstrating that the expression of these proteins is much higher in the tissues of CAV group. Total concentration of S100A9 protein, which has much higher cytotoxic activity, in the tissues of 4 patients from CAV group was significantly higher ($p=0.01$) than in the tissues of 4 patients from AV group (Fig. 4).

Apart from its cytotoxic activity S100A9 is also a proinflammatory cytokine, therefore under prolonged inflammatory conditions it can serve as a positive feedback in induced apoptosis of VECs and VICs (involving the mitochondrial way, caspase-3 and caspase-9) and to the less extent of necrosis [13]. Indeed, in our study the expression score for apoptotic caspase-3 marker for the patients of CAV group is significantly higher ($p<0.01$) than in AV group. Morphologically, this process is manifested by the detachment and desquamation of the endothelium and deep damage of the valve leaflets.

It is believed that proinflammatory cytokine role of S100A8/A9 proteins is connected with the activation of toll-like receptors, shown to exist in the membranes of VECs, fibroblasts and inflammatory cells [6,7]. Activation of these receptors (RAGE, TLR-4) accelerates vascular biomineralization both in vitro, and in vivo [14]. Thus, based on our results we can speculate that calprotectin-induced apoptosis, sustained under chronic inflammation can be a critical element in the progression of vascular biomineralization and atherosclerosis.

OPN expression in aortic valves has been explored in several recent studies [15,16] demonstrating that expression of OPN is related to biomineralization. In line with these studies, our research demonstrates an increased expression of OPN in the tissues of CAV group – both extracellularly and in valve cells (interstitial and circulating). Apart from intra/extra cellular localizations significant amounts of OPN were found in biomineral deposits, demonstrating that one of the major roles of OPN is the blocking of hydroxyapatite crystals growth by binding to crystal surfaces preventing the spread of biomineralization [17].

Osteopontin and calgranulin B are synthesized and secreted by the same cells, neutrophils and macrophages play the main role among them. In the case of IHD studied CD68⁺ cells were detected with approximately equal frequency in both groups ($p>0.05$), but the number of neutrophils in CAV was significantly higher than its number in the control group. In fact, this means that calgranulin has cytotoxicity and damage of AV tissues is realized by neutrophils. As calgranulin A and B form about 45% of cytoplasmic proteins of neutrophils, this is easily combined with a high concentration of calgranulin B in CAV [18].

The inflammatory process in the AVs leads to the changes in the extracellular matrix of their tissues, to the imbalance between local pro- and anti-calcium mechanisms, which create favorable conditions for the mineral deposition. For example, in CAV tissue collagen type I supports the osteogenic differentiation of SMC, those number increases in the valves from 5 to 30 % under pathological conditions. Valve interstitial cells, which cooperate with collagen type I, remain to be in a “quiet” state for a long time, but they show myofibroblastic phenotype and form quickly a calcium units during the appearance of fibrin (which obligatory arises in the case of atherosclerotic plaque development) [19].

Under the influence of damaging factors its desquamation and exposure of connective tissue matrix arise (Fig. 1A). Cell death promotes the release of a great amount of inorganic phosphate and calcium. Thus, a significant amount of building material and the presence of connective tissue matrix (collagen type I) create the conditions for the development of pathological biomineralization.

Conclusions

Our data shows a significant increase of calgranulin and OPN expression in mineralized tissue of AV ($p < 0.01$). The higher expression level of Casp3 was also found in CAV ($p < 0.05$).

Comparing the first and second series of samples, connection between the expression of calgranulin A, saturation of tissues with CD68+ cells (macrophages) were not found. However, the number of neutrophils in CAVs was higher than in the control group, indicating the leading role of neutrophil inflammatory infiltration in tissue damage of AVs (Fig. 5).

The results show the regulatory role of calgranulin B and OPN in the development of PBM.

References

- [1] Lung, B., Baron, G., Butchart, E. G., Delahaye, F., Gohlke-Bärwolf, C., Levang, O. W. et al. (2003) A prospective survey of patients with valvular heart disease in Europe: The Euro Heart Survey on Valvular Heart Disease. *Eur Heart J*, 24, 1231–43. doi: [https://doi.org/10.1016/S0195-668X\(03\)00201-X](https://doi.org/10.1016/S0195-668X(03)00201-X).
- [2] The task force on the management of valvular heart disease of European Society of Cardiology (2007). Guidelines on the management of valvular heart disease.
- [3] Tornos, P. (2006) Valvular heart disease in women. *Rev Esp Cardiol*, 59, 832–6.
- [4] Palorari, A., Loardi, C., Mussoni, L., Cavallotti, L., Camera, M., Biglioli, P., et al. (2009) Nonrheumatic calcific aortic stenosis: an overview from basic science to pharmacological prevention. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*, 35, 493–504. doi: [10.1016/j.ejcts.2008.11.033](https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2008.11.033).
- [5] Dzemeshevich, S. L., Stivenon, L. W., & Alexi-Meschischvili, V. V. (2004) Bolezni aortal'nogo klapana: funcia, diagnostika, lecheniye [Diseases of the aortic valve: function, diagnosis, treatment]. Moscow: Geotar-Med. [in Russian].
- [6] Yang, X., Fullerton, D. A., Su, X., Ao, L., Cleveland, J. C. Jr., & Meng, X. (2009) Pro-osteogenic phenotype of human aortic valve interstitial cells is associated with higher levels of Toll-like receptors 2 and 4 and enhanced expression of bone morphogenetic protein 2. *J. Am. Coll. Cardiol*, 53(6), 491–500. doi: [10.1016/j.jacc.2008.09.052](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.09.052).
- [7] Vogl, T., Gharibyan, A., & Morozova-Roche, L. A. (2012) Pro-inflammatory S100A8 and S100A9 proteins: self-assembly into multifunctional native and amyloid complexes. *Int. J. Mol. Sci*, 13, 2893–2917. doi: [10.3390/ijms13032893](https://doi.org/10.3390/ijms13032893).
- [8] Sainger, R., Grau, J. B., Poggio, P., Branchetti, E., Bavaria, J. E., Gorman, J. H. et al. (2012) Dephosphorylation of circulating human osteopontin correlates with severe vascular calcification in patients with calcific aortic valve disease. *Biomarkers*, 17(2), 111–8. doi: [10.3109/1354750X.2011.642407](https://doi.org/10.3109/1354750X.2011.642407).

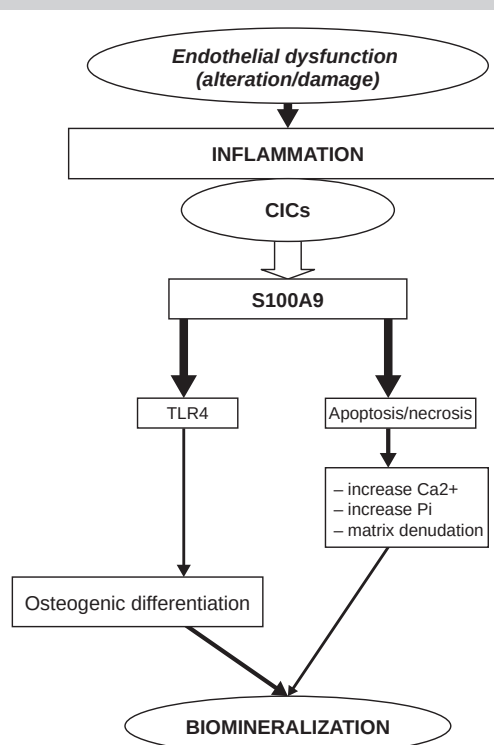


Fig. 5. Diagram illustrating the role of calgranulin B in the development of pathological biomineralization in aortic valves.

- [9] Moskalenko, R., Romaniuk, A., Zakorko, I.-M., Levchenko, D. O., Piddubnyi, A. M., & Hetmanska, V. M. et al. (2016) Pathological biomineralization in heart valves affected by atherosclerosis. *J. Clin. Exp. Med. Res*, 4(4), 564–571.
- [10] Hamlin, N. J., & Price, P. A. (2004) Mineralization of decalcified bone occurs under cell culture conditions and requires bovine serum but not cells. *Calcif Tissue Int*, 75(3), 231–42. doi: [10.1007/s00223-004-0190-1](https://doi.org/10.1007/s00223-004-0190-1).
- [11] Butcher, J. T., & Mahler, G. J. (2006) Inflammatory regulation of valvular remodeling: the good (?), the bad, and the ugly. *J. Tissue. Eng*, 12(7), 905–915.
- [12] Miller, J. D., Weiss, R. M., & Heistad, D. D. (2006) Calcific aortic valve stenosis: methods, models, and mechanisms. *Circ Res*, 108, 1392–1412. doi: [10.1161/CIRCRESAHA.110.234138](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.234138).
- [13] Damo, S. M., Kehl-Fie, T. E., Sugitani, N., Holt, M. E., Rath, S., Murphy, W. J., et al. (2013) Molecular basis for manganese sequestration by calprotectin and roles in the innate immune response to invading bacterial pathogens. *PNAS*, 110(10), 3841–3846. doi: [10.1073/pnas.1220341110](https://doi.org/10.1073/pnas.1220341110).
- [14] Franke, S., Rüster, C., Pester, J., Hofmann, G., Oelzner, P., & Wolf, G. (2011) Advanced glycation end products affect growth and function of osteoblasts. *Clin Exp Rheumatol*, 29(4), 650–60.
- [15] Grau, J. B., Poggio, P., Sainger, R., Vernick, W. J., Seefried, W. F., Branchetti, E., et al. (2012) Analysis of osteopontin levels for the identification of asymptomatic patients with calcific aortic valve disease. *Ann Thorac Surg*, 93, 79–86. doi: [10.1016/j.athoracsur.2011.08.036](https://doi.org/10.1016/j.athoracsur.2011.08.036).
- [16] Passmore, M., Nataatmadja, M., Fung, Y. L., Pearce, B., Gabriel, S., Tesar, P., & Fraser, J. F. (2015) Osteopontin alters endothelial and valvular interstitial cell behavior in calcific aortic valve stenosis through HMGB1 regulation. *Eur J Cardiothorac Surg*, 48, e20–e29. doi: [10.1093/ejcts/ezv244](https://doi.org/10.1093/ejcts/ezv244).
- [17] Steitz, S. A., Speer, M. Y., McKee, M. D. et al. (2002) Osteopontin inhibits mineral deposition and promotes regression of ectopic calcification. *Am. J. Pathol*, 161(6), 2035–46. doi: [10.1016/S0002-9440\(10\)64482-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)64482-3).
- [18] Edgeworth, J., Gorman, M., Bennett, R., Freemont, P., & Hogg, N. (1991) Identification of p 8, 14 as a highly abundant heterodimeric calcium binding protein complex of myeloid cells. *Journal of Biological Chemistry*, 266(12), 7706–7713.
- [19] Chen, J. H., Chen, W. L., Sider, K. L., Yip, C. Y., & Simmons, C. A. (2011) β -catenin mediates mechanically regulated, transforming growth factor- β 1-induced myofibroblast differentiation of aortic valve interstitial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 31(3), 590–7. doi: [10.1161/ATVBAHA.110.220061](https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.220061).

Information about authors:

Moskalenko R. A., MD, PhD, Associate Professor, Department of Pathology, Sumy State University, Ukraine.
Romaniuk A. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathology, Sumy State University, Ukraine.
Iashchishyn I. O., PhD, Assistance Professor, Department of General Chemistry, Sumy State University, Ukraine; Postdoctoral position at the Department of Medical Chemistry, Biochemistry and Biophysics, Umeå University, SE-90187, Sweden.
Zakorko I.-M. S., MD, PhD student, Department of Pathology, Sumy State University, Ukraine.
Pidubnyi A. M., MD, PhD student, Department of Pathology, Sumy State University, Ukraine.
Chernov Ye. O., PhD student, Department of Medical Chemistry, Biochemistry and Biophysics, Umeå University, SE-90187, Sweden.
Morozova-Roche L. O., DSc, prof, Department of Medical Chemistry, Biochemistry and Biophysics, Umeå University, SE-90187, Sweden.

Відомості про авторів:

Москаленко Р. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії, докторант, Сумський державний університет, Україна.
Романюк А. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. патологічної анатомії, Сумський державний університет, Україна.
Ящишин І. О., канд. фіз.-мат. наук, асистент каф. загальної хімії, Сумський державний університет, Україна; постдок на каф. медичної хімії, біохімії і біофізики, Університет Умео, Швеція.
Закорко І.-М. С., аспірант каф. патологічної анатомії, Сумський державний університет, Україна.
Піддубний А. М., аспірант каф. патологічної анатомії, Сумський державний університет, Україна.
Чернов Є. О., аспірант каф. медичної хімії, біохімії і біофізики, Університет Умео, Швеція.
Морозова-Роше Л. О., д-р фіз.-мат. наук, професор каф. медичної хімії, біохімії і біофізики, Університет Умео, Швеція.

Сведения об авторах:

Москаленко Р. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии, докторант, Сумский государственный университет, Украина.
Романюк А. Н., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. патологической анатомии, Сумский государственный университет, Украина.
Ящишин И. А., канд. физ.-мат. наук, ассистент каф. общей химии, Сумский государственный университет, Украина; постдок на каф. медицинской химии, биохимии и биофизики, Университет Умео, Швеция.
Закорко И.-М. С., аспирант каф. патологической анатомии, Сумский государственный университет, Украина.
Пиддубный А. М., аспирант каф. патологической анатомии, Сумский государственный университет, Украина.
Чернов Е. А., аспирант каф. медицинской химии, биохимии и биофизики, Университет Умео, Швеция.
Морозова-Роше Л. А., д-р физ.-мат. наук, профессор каф. медицинской химии, биохимии и биофизики, Университет Умео, Швеция.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Financial support. The work was supported by the research theme "The study of changes in the bones in the presence of fractures using nanomaterials for metal osteosynthesis, considering a function of muscular system" (state registration number 0116U006815), state budget theme "Morphofunctional monitoring of organs and systems under the conditions of homeostasis disorders", state registration – № 62.20.02-01.15/17.GF and FP-7 Marie Curie Action "Nano-Guard" 269138.

Надійшло до редакції / Received: 20.02.2017

Після доопрацювання / Revised: 28.02.2017

Прийнято до друку / Accepted: 02.03.2017

Мониторинг эффективности применения натурального антикоагулянта сулодексид у беременных с аутоиммунным гипертиреозом на фоне гипергомоцистеинемии

А. Ю. Щербаков, Т. А. Меликова

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

Согласно современным представлениям, возникновение осложнений в маточно-плацентарном бассейне при беременности является частой причиной развития первичной плацентарной недостаточности, тяжёлых форм позднего гестоза, привычного невынашивания беременности. Очевидно, что исследование характера нарушений в системе гемостаза при беременности и разработка методов своевременной коррекции станет профилактикой многих акушерских заболеваний.

Среди факторов, которые влияют на гемостаз, особое место занимают тиреоидные гормоны, которые способны влиять не только на функциональную активность тромбоцитов, но и регулировать интенсивность плазменного и тканевого фибринолиза. Угнетение фибринолитической активности является одним из патогенетических факторов развития тромбозов.

Цель работы – изучить эффективность применения натурального антикоагулянта сулодексид у беременных с аутоиммунным гипертиреозом на фоне гипергомоцистеинемии.

Материалы и методы. Обследовано 34 беременных женщины с аутоиммунным гипертиреозом, осложнённым гипергомоцистеинемией. Контрольную группу составили 29 соматически здоровых беременных. Проводили общеклиническое обследование, определяли основные показатели всех звеньев системы гемостаза и уровень гомоцистеина.

Результаты. Определили, что для беременных основной группы характерна хронометрическая и структурная гиперкоагуляция, которая проявляется в виде субклинической формы синдрома диссеминированного внутрисосудистого свёртывания крови, приводящего к осложнённому течению беременности, родов и патологическому состоянию плода. Включение в комплексную терапию антикоагулянта сулодексид привело к существенному изменению показателей всех звеньев гемостаза у беременных основной группы, в частности к нормализации показателей общего коагуляционного потенциала и фибринолитической системы. Отмечали снижение активности внутрисосудистого свёртывания крови и агрегации тромбоцитов, уровня гомоцистеина. Клиническими показателями эффективности терапии явилось устранение симптомов угрозы прерывания беременности, отсутствие репродуктивных потерь, преэклампсии, преждевременной отслойки плаценты, задержки внутриутробного развития плода, преждевременных родов, тромботических осложнений.

Выводы. Результаты мониторинга эффективности применения натурального антикоагулянта сулодексид свидетельствуют о достоверном приближении показателей системы гемостаза и уровня гомоцистеина в основной группе к соответствующим показателям контрольной группы.

Проведённое исследование обуславливает целесообразность включения в комплексную терапию беременных с гипертиреозом, осложнённым гипергомоцистеинемией, натурального антикоагулянта сулодексид, который показал хорошие результаты в нормализации реологических свойств крови и снижении риска тромботических осложнений.

Ключевые слова:

гемостаз, беременности, осложнения, аутоиммунный гипертиреоз, гипергомоцистеинемия, сулодексид.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 57–61

DOI:
10.14739/2310-1237.2017.1.97508

E-mail:
Mielikova.tanya88@mail.ru

Моніторинг ефективності застосування натурального антикоагулянту сулодексид у вагітних з аутоімунним гіпертиреозом на тлі гіпергомоцистеїнемії

А. Ю. Щербаков, Т. А. Мелікова

Відповідно до сучасних уявлень, виникнення ускладнень у матково-плацентарному басейні під час вагітності є частою причиною розвитку первинної плацентарної недостатності, важких форм пізнього гестозу, звичного невиношування вагітності. Очевидно, що дослідження характеру порушень у системі гемостазу під час вагітності та розроблення методів своєчасної корекції стане профілактикою багатьох акушерських захворювань.

Серед факторів, які впливають на гемостаз, особливе місце посідають тиреоїдні гормони, що здатні впливати не тільки на функціональну активність тромбоцитів, але й регулювати інтенсивність плазмового та тканинного фібринолізу. Пригнічення фібринолітичної активності є одним із патогенетичних факторів розвитку тромбозів.

Мета роботи – вивчити ефективність застосування натурального антикоагулянту сулодексид у вагітних з аутоімунним гіпертиреозом на тлі гіпергомоцистеїнемії.

Матеріали та методи. Обстежено 34 вагітних жінки з аутоімунним гіпертиреозом, що ускладнений гіпергомоцистеїнемією. Контрольну групу становили 29 соматично здорових вагітних. Здійснили загальноклінічне обстеження, визначали основні показники всіх ланок системи гемостазу та рівень гомоцистеїну.

Результати. Визначили, що для вагітних основної групи характерна хронометрична та структурна гіперкоагуляція, котра проявляється у вигляді субклінічної форми синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові, що призводить до ускладненого перебігу вагітності, пологів і патологічного стану плода. Доповнення стандартної схеми лікування антикоагулянтом сулодексид призвело до істотної зміни показників усіх ланок гемостазу у вагітних основної групи, зокрема до нормалізації показників загального коагуляційного потенціалу та фібринолітичної системи. Відзначали

Ключові слова:

гемостаз, вагітності, ускладнення, аутоімунний гіпертиреоз, гомоцистеїн, сулодексид.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 57–61

зниження активності внутрішньосудинного згортання крові та агрегації тромбоцитів, рівня гомоцистеїну. Клінічними показниками ефективності терапії стало усунення симптомів загрози переривання вагітності, відсутність репродуктивних втрат, прееклампсії, передчасного відшарування плаценти, затримки внутрішньоутробного розвитку плода, передчасних пологів, тромботичних ускладнень.

Висновки. Результати моніторингу ефективності застосування натурального антикоагулянту сулодексид свідчать про вірогідне наближення показників системи гемостазу та рівня гомоцистеїну в основній групі до відповідних показників контрольної групи.

Дослідження зумовлює доцільність включення в комплексну терапію вагітних із гіпертиреозом, що ускладнений гіпергомоцистеїнемією, натурального антикоагулянту сулодексид, який показав хороші результати в нормалізації реологічних властивостей крові та зниженні ризику тромботичних ускладнень.

Key words:

hemostasis, pregnancy complications, autoimmune hyperthyroidism, hyperhomocysteinemia, sulodexide.

Pathologia

2017; 14 (1), 57–61

Monitoring the effectiveness of the natural anticoagulant sulodexide in pregnant women with autoimmune hyperthyroidism on the background of hyperhomocysteinemia

A. Yu. Scherbakov, T. A. Mielikova

According to modern concepts, the occurrence of complications in utero-placental pool during pregnancy is a common cause of primary placental insufficiency, severe forms of late gestosis, recurrent miscarriage. It is obvious that the study of the nature of violations in the hemostatic system during pregnancy and the development of methods for timely correction will be the prevention of many obstetric diseases.

Among the factors that affect hemostasis, thyroid hormones occupy a special place, they are able to influence not only the functional activity of platelets, but also adjust the intensity of the plasma and tissue fibrinolysis. Oppression of fibrinolytic activity is one of the pathogenetic factors of thrombosis development.

The aim – to study the efficacy of natural anticoagulant sulodexide in pregnant women with autoimmune hyperthyroidism on the background of hyperhomocysteinemia.

Materials and methods. The study involved 34 pregnant women with autoimmune hyperthyroidism complicated by hyperhomocysteinemia. A control group comprised 29 somatically healthy pregnant women. General clinical examination was carried out, the main indicators of all the links of the hemostatic system and the level of homocysteine were determined.

Results. We determined that the main group of pregnant is characterized with chronometric and structural hypercoagulation, which manifests itself in the form of subclinical syndrome of disseminated intravascular coagulation, leading to complications of pregnancy, childbirth and the pathological condition of the fetus. Addition of anticoagulant sulodexide to the standard treatment led to the significant change in indices of all the components of hemostasis in pregnant women of the main group, in particular normalization of the total capacity of the coagulation and fibrinolytic systems. Decrease in activity of intravascular coagulation and platelet aggregation, the level of homocysteine was marked. Clinical indicators of efficacy were the elimination of the symptoms of threatened abortion, absence of reproductive loss, preeclampsia, premature placental abruption, intrauterine growth retardation, premature birth, thrombotic complications.

Conclusions. The results of monitoring the effectiveness of the natural anticoagulant sulodexide show the reliable approximation of hemostasis and homocysteine levels in the intervention group to the corresponding indicators in the control group.

This study determines the appropriateness of inclusion of natural anticoagulant sulodexide, which shows a good result in the normalization of blood rheology and reducing the risk of thrombotic complications, in complex therapy of pregnant women with hyperthyroidism complicated by hyperhomocysteinemia.

В акушерстве нарушение свёртывания крови тромбогеморрагического характера развивается при многих осложнениях гестационного процесса, в основе которых лежат процессы патологической активации внутрисосудистого свёртывания крови, типичные проявления декомпенсации гемостазиологических функций крови, которые могут реализовываться во время родов. Тромботические проявления нарушений гемостазиологических функций, как правило, имеют незначительные доклинические признаки, а характер гемореологических нарушений не всегда однороден в связи с особенностями адаптивных изменений в системе гемостаза, которые развиваются на фоне прогрессирования беременности и влияющих на них осложнений гестации [1,2].

Беременность рассматривается как гиперкоагуляционное состояние вследствие повышения концентрации циркулирующих прокоагуляционных факторов,

снижения концентрации протеиновых антикоагулянтов и фибринолиза [3].

Гормональные и метаболические нарушения, которые развиваются у беременных с аутоиммунным гипертиреозом (АИГ), непосредственно влияют на состояние различных органов и систем, в том числе и на состояние системы гемостаза [4].

Нередко у беременных на фоне АИГ наблюдается гипергомоцистеинемия (ГГЦ). В ряде исследований, посвящённых изучению биохимических механизмов токсичности гомоцистеина, показано, что повреждающее действие гомоцистеина на компоненты коагуляционного каскада возрастает пропорционально концентрации и длительности этого воздействия [5,6].

Неблагоприятные воздействия ГГЦ на эндотелий сосудов и тромбообразование приводят к развитию ряда осложнений беременности: в ранние сроки беременности может вызвать нарушение плацентации,

фетоплацентарного кровообращения и приводить к невынашиванию беременности; в более поздние сроки может быть причиной хронической плацентарной недостаточности, приводящей к хронической гипоксии и гипотрофии плода, рождению детей с низкой массой тела, преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты [7].

Разработка патогенетически обоснованных методов профилактики и лечения беременных с АИГ на фоне ГЦ позволит снизить акушерскую и перинатальную заболеваемость и смертность [8].

Ведение женщин на этапе беременности диктует необходимость поиска препаратов, безвредных для матери и плода в любой срок беременности, которые имеют антиагрегантное, гипокоагуляционное и иммуномодулирующее действие.

В этом плане наше внимание привлёк натуральный антикоагулянт сулодексид, обладающий высоким антитромботическим потенциалом и умеренно выраженной антикоагулянтной активностью, как один из оптимальных методов терапии беременных с гипертиреозом, гестозом, анемией, невынашиванием.

Сулодексид – это экстракт, выделенный из слизистой оболочки тонкого кишечника свиней, представляет собой естественную смесь гликозаминогликанов, которая состоит из средненизкомолекулярной гепариноподобной фракции 80 % и дерматана сульфата 20 %, имеет двойное действие, обусловленное его двухкомпонентным составом [5,6].

Кроме того, отличием данного антикоагулянта от гепаринов является возможность приёма *per os* и высокая эффективность при низкой терапевтической дозе. Известно, что длительное применение гепарина (чаще нефракционного) может привести к тромбоцитопении, повышению печёночных трансаминаз, гиперальдостеронизму, геморрагическим осложнениям, при приёме сулодексида таких побочных явлений не наблюдается.

Цель работы

Изучить эффективность применения натурального антикоагулянта сулодексид у беременных с аутоиммунным гипертиреозом на фоне гипергомоцистеинемии.

Материалы и методы исследования

Обследовано 34 беременных женщины с аутоиммунным гипертиреозом, осложнённым гипергомоцистеинемией (I группа). Контрольную группу (II группа) составили 29 соматически здоровых беременных.

В группу обследуемых беременных были включены женщины с отягощённым акушерско-гинекологическим анамнезом (самопроизвольный аборт, неразвивающаяся беременность, преждевременные роды). Кроме того, обследуемые беременные были сопоставимы по возрасту, паритету родов и частоте экстрагенитальной патологии, что позволяет провести сравнение полученных результатов.

Обследование беременных проводилось в соответствии с приказом МЗ Украины № 977 от 27.12.2011 «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги».

Уровень гомоцистеина определяли в сыворотке крови с трилоном-В методом ИФА с использованием набора «HomocysteinEIAkit 110-AXH00001» (Axis-Shield, Норвегия).

Состояние системы гемостаза оценивали по следующим параметрам: подсчитывали количество тромбоцитов (Тц), индекс спонтанной агрегации тромбоцитов (ИСАТ), общий коагуляционный потенциал крови определяли по времени рекальцификации (ВР), тромбиновому времени (ТВ). Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) исследовали с помощью реактивов научно-исследовательской фирмы «Simko-Ltd». Используя реактивы этой фирмы, определяли D-димеры, уровень растворимых комплексов фибрин-мономеров (РКФМ). Определение концентрации фибриногена (ФГ) в плазме проводили по методу Р. А. Рутберг (1961), антитромбин III (АТ III) и активность плазминогена (АП) в плазме исследовали с помощью наборов NDR Partigen (ФРГ).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась в созданной базе на основе компьютерной программы SPSS (v. 13.0) Standard Version и Statistica v.6.0 (StatSoft Inc., США, № STTS17124692). Статистическую значимость изменений в клинических исследованиях определяли с помощью параметрических критериев Стьюдента и Фишера. Проводили расчёты средней арифметической (М), ошибки средней арифметической (m) по общепринятым формулам. Критерием достоверности считали Р, равную или большую 95 %, риск ошибки – меньше 5 %, а в долях единицы – 0,05 и меньше ($p < 0,05$) [9,10].

Результаты и их обсуждение

Для оценки эффективности применения антикоагулянта сулодексид мы изучили показатели системы гемостаза и уровень ГЦ у беременных с АИГ (I группа) до и после лечения и сравнили с показателями в контрольной группе (II группа).

Как видно из данных *таблицы 1*, низкий уровень Тц у беременных с АИГ связан с повышением агрегации Тц, что обуславливает возрастающий показатель ИСАТ.

Таблица 1. Показатели системы гемостаза у обследованных беременных в процессе лечения

Показатели	Группы обследованных		
	I группа, n = 34	II группа, n = 29	
	до лечения	после лечения	здоровые беременные
Тц 10^9 /л	120,01 ± 7,05*	213,01 ± 2,07**	223,04 ± 1,90
ИСАТ, ед.	18,42 ± 1,94*	7,05 ± 0,90**	6,41 ± 0,82
ВР, с	78,76 ± 2,85*	84,17 ± 1,12**	83,03 ± 2,04
ТВ, с	15,04 ± 1,80*	17,12 ± 1,59**	18,04 ± 1,17
АТ-III, %	71,12 ± 1,80	81,24 ± 1,10	84,10 ± 3,05
ФГ, г/л	2,21 ± 0,14	3,25 ± 0,24	3,78 ± 0,19
АП, %	108,95 ± 2,99	115,02 ± 1,04	117,34 ± 2,73
АЧТВ, с	15,07 ± 0,42*	21,34 ± 1,05**	22,78 ± 1,17
D-димеры, нг/мл	1200 ± 115*	960 ± 124**	950 ± 110
РКФМ, мкг/мл	35,32 ± 1,72*	29,01 ± 1,59**	28,44 ± 1,15

*: разница достоверна в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$);

** : разница достоверна в сравнении до и после лечения ($p < 0,05$).

Таблица 2. Показатели гомоцистеина у обследованных беременных в процессе лечения

Показатели	Группа обследованных		
	I группа, n = 34	II группа, n = 29	
	До лечения	После лечения	Контрольная
Гомоцистеин, мкмоль/л	34,20 ± 5,03*	15,40 ± 0,32**	12,07 ± 0,60

*: разница достоверна в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$); **: разница достоверна в сравнении до и после лечения ($p < 0,05$).

Снижение ТВ свидетельствует о состоянии гиперкоагуляции. Уровень ФГ снижен, что свидетельствует о повышенном потреблении этого белка. АЧТВ является показателем измерения эффективности «внутреннего» и общего пути свёртывания крови. У обследуемых пациенток имелась тенденция к повышению данной величины, что также свидетельствовало о высоком риске тромбообразования. Активация внутрисосудистого свёртывания крови и повышение агрегационной активности тромбоцитов отражается в увеличении концентрации РКФМ и D-димеров в плазме крови.

Уровень ГЦ у беременных с АИГ в процессе терапии препаратом сулодексид приведён в *таблице 2*.

Данные *таблицы 2* свидетельствуют о высоком уровне ГЦ у беременных I группы, что обуславливает повышенную частоту развития тяжёлых нарушений в различных органах и системах у данной группы пациенток.

Лечение беременных с АИГ и нарушениями в системе гемостаза проводили по индивидуально подобранной для каждой пациентки схеме. Основным принципом лечебно-профилактических мероприятий при этом была тиреостатическая, седативная терапия, антиагрегатная и антикоагуляционная терапия, проведение профилактики плацентарной недостаточности. В комплексное лечение 34 беременных с АИГ на фоне ГЦ мы включали сулодексид. Схема назначения сулодексида следующая: 600 ЛЕ препарата 1 раз/день в/м в течение 20 дней, а затем в течение 30 дней терапия продолжается путём приёма внутрь по 1 капсуле (250 ЛЕ) 2 раза в сутки.

Критерием эффективности лечения являлась нормализация гемостазиологических показателей крови и уровня ГЦ. Клиническими показателями эффективности терапии является устранение симптомов угрозы прерывания беременности, отсутствие репродуктивных потерь, преэклампсии, преждевременной отслойки плаценты, задержки внутриутробного развития плода, преждевременных родов, тромботических осложнений.

Как видно из данных *таблицы 1*, применение сулодексида привело к улучшению показателей всех звеньев системы гемостаза у беременных I группы, а именно к нормализации показателей общего коагуляционного потенциала и фибринолитической системы. Отмечается снижение активности внутрисосудистого свёртывания крови и агрегации тромбоцитов, нормализация показателя РКФМ. Снижение уровня D-димеров – белковых фрагментов, формирующихся в результате растворения фибрина, нормализации ИСАТ и АЧТВ (960 ± 124 нг/мл, $21,34 \pm 1,05$ с, $7,05 \pm 0,90$ ед. соответственно), что свидетельствует о достоверном снижении риска тромботических осложнений.

Выводы

1. Данные исследований указывают на патологические изменения в системе гемостаза у беременных с АИГ, осложнённым ГЦ в сторону гиперкоагуляции, что является одной из причин акушерских и перинатальных осложнений.

2. Результаты мониторинга эффективности применения натурального антикоагулянта сулодексида свидетельствуют о достоверной нормализации показателей системы гемостаза и уровня гомоцистеина в основной группе и их приближении к соответствующим показателям контрольной группы.

3. Проведённое исследование обуславливает целесообразность включения в комплексную терапию беременных с гипертиреозом, осложнённым ГЦ, натурального антикоагулянта сулодексида, показавшего хорошие результаты в нормализации реологических свойств крови и снижении риска тромботических осложнений.

4. Таким образом, своевременная диагностика и лечение нарушений в системе гемостаза у беременных с АИГ, осложнённым ГЦ, позволяет пролонгировать беременность до срока рождения жизнеспособного плода с благоприятными перинатальными результатами.

Список литературы

- [1] Соловьев В.Г. Влияние эстрогенов и прогестагенов на биохимический компонент гемостаза, тромбоциты, непрерывное внутрисосудистое свертывание крови и толерантность к тромбину: коррекция их эффектов антиоксидантами / В.Г. Соловьев, А.Ш. Бышевский, И.А. Карпова // Биомедицинская химия. – 2012. – №4. – С. 429–437.
- [2] Мамаев А.Н. Практическая гемостазиология: руководство для врачей / А.Н. Мамаев. – М., 2014. – 233 с.
- [3] Репродуктивне здоров'я жінок із патологією щитовидної залози / Ю.П. Вдовиченко, Т.Г. Романенко, А.А. Суханова та ін. – К. : Старт-98, 2013. – 59 с.
- [4] Медяникова И.В. Гемостазиологический контроль при беременности / И.В. Медяникова // Клиницист. – 2014. – №1. – С. 47–52.
- [5] Ройтман Е.В. Вопросы выбора антитромботических препаратов / Е.В. Ройтман, М.Ю. Андрианова, И.М. Колесникова // Тромбоз гемостаз и реология. – 2014. – №4. – С. 18–22.
- [6] Murphy M.M. Homocysteine in pregnancy / M.M. Murphy, J.D. Fernandez-Ballart // Adv. Clin. Chem. – 2011. – Vol. 53. – P. 105–137.
- [7] Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and Postpartum / A. Stagnaro-Green, M. Abalovich, E. Alexander // Thyroid. – 2011. – Vol. 21. – №10. – P. 1081–125.
- [8] Грищенко О.В. Нові можливості фармакологічної корекції порушень кровообігу у фетоплацентарній системі / О.В. Грищенко, О.С. Ткачов. – Х. : Торнадо, 2002. – 42 с.
- [9] Минцер А.П. Статистические методы исследования в клинической медицине / А.П. Минцер // Практическая медицина. – 2010. – №3. – С. 41–45.
- [10] Практикум по теории статистики / Р.А. Шмойлова, В.Г. Минашкин, Н.А. Садовникова и др. – М. : Финансы и статистика, 2011. – 416 с.

References

- [1] Solovyev V. G., Bychevsky, A. Sh., & Karpova, I. A. (2012). Vliyaniye e'strogenov i progestagenov na biokhimi cheskiy komponent gemostaza, trombocity, nepreryvnoye vnutrisosudistoye svertyvaniye krovi i tolerantnost' k trombinu: korrekciya ikh e'ffektov antioksidantami [The effect of estrogens and progestagens on biochemical components of hemostasis, platelets, continuous intravascular coagulation and tolerance to thrombin: correction of their effect of antioxidants]. *Biomeditsinskaya khimiya*, 4, 429–437. [in Russian].
- [2] Mamaev, A. N. (2014). *Prakticheskaya gemostaziologiya [Practical Hemostasis]*. Moscow. [in Russian].

- [3] Vdovychenko, Yu. P., Romanenko, T.H., Sukhanova, A. A., Hopchuk, O. M., & Chaika, A. I. (2013). *Reproduktyvne zdorov'ia zhinok iz patolohiiei shchytovydnoi zalozy [Reproductive health of women with thyroid disorders]*. Kyiv: Start-98. [in Ukrainian].
- [4] Medyanikova, I. V. (2014). Gemostaziologicheskij kontrol' pri bere-mennosti [Hemostasiological monitoring during pregnancy]. *Klinicist*, 1, 47–52. [in Russian].
- [5] Roitman, E. V., Andrianova, M. Yu., & Kolesnikova, I. M. (2014). Voprosy vybora antitromboticheskikh preparatov [The choice of antithrombotic drugs i. the point-of-view to use glycosaminoglycans for prolonged thromboprophylaxis]. *Tromboz gemostaz i reologija*, 4, 18–22. [in Russian].
- [6] Murphy, M. M., & Fernandez-Ballart, J. D. (2011). Homocysteine in pregnancy. *Adv. Clin. Chem.*, 53, 105–137.
- [7] Stagnaro-Green, A., Abalovich, M., Alexander, E., Azizi, F., Mestman, J., Negro, R., et al. (2011). Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and Postpartum. *Thyroid*, 21(10), 1081–125. doi: 10.1089/thy.2011.0087.
- [8] Hryshchenko, O. V., & Tkachov, O. S. (2002). Novi mozhlivosti farmakologichnoi korektsii porushen krovoobihu u fetoplatsentarnii systemi [New possibilities of pharmacological correction of placental blood flow in the system]. Harkiv: Tornado. [in Ukrainian].
- [9] Mintser, A. P. (2010). Statisticheskie metody issledovaniya v klinicheskoy medicine [Statistical Methods in Clinical Medicine]. *Prakticheskaya medicina*, 3, 41–45. [in Russian].
- [10] Shmojlava, R. A., Minashkin, V. G., Sadovnikova, N. A., et al. (2011). *Praktikum po teorii statistiki [Workshop on the theory of statistics]*. Moscow. [in Russian].

Сведения об авторах:

Щербак А. Ю., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. акушерства и гинекологии № 1, Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина.
Меликова Т. А., аспирант каф. акушерства и гинекологии № 1, Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина.

Відомості про авторів:

Щербак А. Ю., д-р мед. наук, професор, зав. каф. акушерства та гінекології № 1, Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна.
Мелікова Т. А., аспірант каф. акушерства та гінекології № 1, Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна.

Information about authors:

Scherbakov A. Yu., MD, PhD, DSc, Professor,
Head of the Department of Obstetrics and Gynecology No.1,
Kharkiv Medical Academy for Post-Graduate Education, Ukraine.
Mielikova T. A., Postgraduate Student of the Department
of Obstetrics and Gynecology No.1, Kharkiv Medical Academy
for Post-Graduate Education, Ukraine.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Надійшло до редакції / Received: 13.02.2017

Після доопрацювання / Revised: 20.02.2017

Прийнято до друку / Accepted: 22.02.2017

The state of vascular endothelium, clinical and metabolic features of patients with coronary heart disease combined with nonalcoholic fatty liver disease

N. S. Mykhailovska, L. Ye. Miniailenko

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Key words:

coronary artery disease, nonalcoholic fatty liver disease, vascular endothelium, carotid intima-media thickness, arginine.

Pathologia

2017; 14 (1), 62–67

DOI:

10.14739/2310-1237.2017.1.97505

E-mail:

luba89@gmail.com

Objective: to study changes in the vascular endothelium state in conjunction with clinical and metabolic features in CHD patients with the concomitant nonalcoholic fatty liver disease.

Methods: cross-cohort analytical study involved 86 patients, the primarily selected group consisted of 34 patients, mean age 60 (57.5; 66) with documented coronary artery disease, stable exertional angina of II-III functional class combined with NAFLD; comparison selected group: 32 patients, mean age 60.5 (51.5; 65.6) with coronary artery disease without NAFLD. The control selected group consisted of 20 healthy individuals.

Results: In patients with coronary artery disease and NAFLD compared with CHD patients without NAFLD was found significantly higher levels of ADMA by 21 % ($p < 0.05$), CRP by 1.63 times ($p < 0.05$), intima-media thickness by 14.28 % ($p < 0.05$). Using ROC-analysis established that levels of ADMA > 0.74 mmol/l is the cutting point and has an optimal ratio of sensitivity (80 %) to the specificity (82.9 %) for the diagnosis of vascular remodeling in CHD patients with concomitant NAFLD. The presence of significant direct correlation relationship of ADMA with CRP, total cholesterol, glucose, body mass index, alkaline phosphatase, ALT and significant negative relation of ADMA with HDL were found.

Conclusions: In patients with coronary artery disease, combined with NAFLD structural and functional changes in vascular endothelium (increase in serum levels of ADMA, thickening of intima-media) are observed during activation of systemic inflammation (increased CRP concentration), which is associated with metabolic disorders and liver damage indicators. The value of ADMA in serum prevailing 0.74 mmol/l helps to diagnose structural and functional changes in vascular endothelium in patients with coronary artery disease, comorbid with NAFLD.

Ключові слова:

ішемічна хвороба серця, неалкогольна жирова хвороба печінки, ендотелій судин, товщина комплексу інтима-медіа, аргінін.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 62–67

Стан судинного ендотелію та клініко-метаболічні особливості хворих на ішемічну хворобу серця, що поєднана з неалкогольною жирною хворобою печінки

Н. С. Михайловська, Л. Є. Міняйленко

Мета роботи – вивчити зміни стану судинного ендотелію у взаємозв'язку з клініко-метаболічними особливостями у хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) із супутньою неалкогольною жирною хворобою печінки (НАЖХП).

Матеріали та методи. До поперечного когортного аналітичного дослідження в паралельних групах залучили 86 пацієнтів: основна група – 34 хворі з ІХС: стабільною стенокардією напруження II–III функціонального класу в поєднанні з НАЖХП, медіана віку – 60 (57,5; 66); група порівняння – 32 хворі з ІХС без НАЖХП, медіана віку – 60,5 (51,5; 65,6). Усім хворим здійснили комплексне обстеження згідно із загальноприйнятими стандартами (наказ МОЗ України № 436 від 03.07.2006). За допомогою стандартних наборів реактивів імуноферментним методом визначали рівень інсуліну (Monobind, USA), асиметричного диметиларгініну ADMA (Immundiagnostik, Germany). Усім пацієнтам визначали товщину комплексу інтима-медіа ендотелію судин на апараті eSaote Mylab40 (Італія).

Результати. Визначили, що в пацієнтів з ІХС і НАЖХП порівняно з хворими на ІХС без НАЖХП вірогідно більші рівні ADMA на 21 % ($p < 0,05$), СРБ у 1,63 рази ($p < 0,05$), товщина комплексу інтима-медіа на 14,28 % ($p < 0,05$). За допомогою ROC-аналізу встановили, що рівень ADMA $> 0,74$ ммоль/л є точкою відсікання та має оптимальне співвідношення чутливості (80 %) до специфічності (82,9 %) щодо діагностики ремоделювання судин у хворих на ІХС із супутньою НАЖХП. З'ясовано наявність вірогідного прямого кореляційного взаємозв'язку рівня ADMA з СРБ, рівнем загальної холестерину, глюкози, індексом маси тіла, лужної фосфатази, АЛТ і вірогідного від'ємного зв'язку ADMA з ЛПВЩ.

Висновки. У хворих на ІХС, що поєднана з НАЖХП, спостерігаються структурно-функціональні зміни судинного ендотелію (збільшення сироваткового рівня ADMA, потовщення комплексу інтима-медіа) на тлі активації системного запалення (збільшення концентрації СРБ), які асоціюються з метаболічними порушеннями та індикаторами ураження печінки. Значення рівня ADMA в сироватці крові, що переважає 0,74 ммоль/л, дає змогу діагностувати структурно-функціональні зміни судинного ендотелію у хворих на ІХС, коморбідну з НАЖХП.

Ключевые слова:

ишемическая болезнь сердца, неалкогольная жировая болезнь печени, эндотелий сосудов, толщина комплекса интима-медиа, аргинин.

Состояние сосудистого эндотелия и клиничко-метаболические особенности больных ИБС в сочетании с неалкогольной жировой болезнью печени

Н. С. Михайловская, Л. Е. Миняйленко

Цель работы – изучить изменения состояния сосудистого эндотелия во взаимосвязи с клиничко-метаболическими особенностями у больных ИБС с сопутствующей неалкогольной жировой болезнью печени.

Материалы и методы. К поперечному когортному аналитическому исследованию в параллельных группах привлечено 86 пациентов: основная группа – 34 больных с ИБС: стабильной стенокардией напряжения II–III функционального класса

в сочетании с НАЖБП, медиана возраста – 60 (57,5; 66); группа сравнения – 32 больных с ИБС без НАЖБП, медиана возраста – 60,5 (51,5; 65,6). Всем больным проводили комплексное обследование в соответствии с общепринятыми стандартами (приказ МЗ Украины № 436 от 03.07.2006). С помощью стандартных наборов реактивов иммуноферментным методом определяли уровень инсулина (Monobind, USA), асимметричного диметиларгинина ADMA (Immundiagnostik, Germany). Всем пациентам определяли толщину комплекса интима-медиа эндотелия сосудов на аппарате eSaote Mylab40 (Италия).

Результаты. Определено, что у пациентов с ИБС и НАЖБП в сравнении с больными ИБС без НАЖБП достоверно больше уровни ADMA – на 21 % ($p < 0,05$), СРБ – в 1,63 раза ($p < 0,05$), толщина комплекса интима-медиа – на 14,28 % ($p < 0,05$). С помощью ROC-анализа установлено, что уровень ADMA $> 0,74$ ммоль/л является точкой отсечения и имеет оптимальное соотношение чувствительности (80 %) к специфичности (82,9 %) относительно диагностики ремоделирования сосудов у больных ИБС с сопутствующей НАЖБП. Выяснено наличие достоверной прямой корреляционной взаимосвязи уровня ADMA с СРБ, уровнем общего холестерина, глюкозы, щелочной фосфатазы, АЛТ, индексом массы тела и достоверной обратной связи ADMA с ЛПВП.

Выводы. У больных ИБС, коморбидной с НАЖБП, наблюдаются структурно-функциональные изменения сосудистого эндотелия (увеличение сывороточного уровня ADMA, утолщение комплекса интима-медиа) на фоне активации системного воспаления (повышение концентрации СРБ), которые ассоциируются с метаболическими нарушениями и индикаторами поражения печени. Значение уровня ADMA в сывортке крови, превышающее 0,74 ммоль/л, позволяет диагностировать структурно-функциональные изменения сосудистого эндотелия у больных ИБС, коморбидной с НАЖБП.

Introduction

Coronary heart disease (CHD) continues to gain the leading place in the structure of incidence and is one of the prevailing causes of death and disability in the population [1]. Metabolic disorders (diabetes, hypertension, dyslipidemia, obesity) 2–4 times raise the risk of coronary heart disease. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is regarded to be one of the conditions associated with metabolic syndrome causing the deterioration of the quality of life, morbidity, and mortality. The prevalence of NAFLD in western countries is 20–30 %, 2–3 % of which have a progressive course with transformation into nonalcoholic steatohepatitis (NASH), cirrhosis, hepatocellular, carcinoma [2].

The leading link in the development of NAFLD is insulin resistance syndrome, characterized by the reduced tissues receptors sensitivity to insulin, resulting in increased synthesis of free fatty acids accumulated in the liver. The free fatty acids, in their turn, break the endothelial function through the following mechanisms: production of free radicals, activation of systemic inflammation, adipocytokine imbalance and dyslipidemia [3].

The endothelial dysfunction that defines thrombogenicity, inflammatory changes, vascular reactivity and the stability of atherosclerotic plaques is directly related to the progression of coronary artery disease and also NAFLD [4]. In NAFLD the endothelial cells of hepatic sinusoid are damaged, the production of cytokines, free radicals and collagen increases, and as a result – the change of sinusoid fenestration, collagenization of Disse's space and growth of intrahepatic vascular resistance, which, in its turn, provokes significant hepatic circulation disorders, ischemia development, liver tissue necrosis accompanied by fibrosis of these sites in the liver [5].

Today one of the endothelial dysfunction markers, directly related to both CHD and NAFLD is asymmetric dimethylarginine (ADMA). Intracellular production of ADMA happens through the arginine demethylation by the class of enzymes known as arginine-N-methyltransferase and further proteolysis releases ADMA [6]. ADMA is an endogenous inhibitor of NO-synthase enzyme that catalyzes the conversion of L-arginine into nitric oxide (NO) – a powerful vasodilative agent. ADMA plasma levels are related to its release in the process of protein breakdown and its splitting

into dimethylamyl and citrulline under the influence of enzyme dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH). DDAH is present in the liver, pancreas, spleen and kidneys, but the liver DDAH plays a dominant role in the utilization of plasma ADMA [7].

Recently the significance of ADMA as a new risk factor for CVD was defined. In The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study – a significant prospective study with an average observation period of 5.5 years it was estimated that the concentration of ADMA plasma levels is associated with mortality from cardiovascular and other causes in patients with stable and unstable angina regardless of known risk factors. [8]. In another study with an observation period of 24 years, Leong et al. (2008) showed the relation between the increased blood ADMA levels and the increase of the frequency of myocardial infarction and stroke in women [9]. Also, the relationship between the content of ADMA and severity of coronary artery disease, the influence of ADMA concentration on prognosis and survival of patients with cardiovascular system disorders was found out [10].

Besides the prevention of the NO synthesis through the competitive braking of eNOS, ADMA may promote further breaking of its enzymatic activity and transformation into the generator of superoxide. It is believed that this ADMA activity contributes further endothelial dysfunction and may play a significant role in the pathogenesis of liver diseases, acting as a source of vessels oxidative stress [11].

However, data on the particularities of concentration changes in ADMA serum level as a marker of endothelial dysfunction, depending on the functional state of the liver in patients with coronary artery disease and concomitant NAFLD are limited; the relationship of ADMA with components of the metabolic syndrome in these patients has not yet been investigated. Thus, the role of endothelial dysfunction in the pathogenesis of CHD comorbid with NAFLD requires further study.

The objective of the research: to study changes in the vascular endothelium state in interconnection with clinical and metabolic features in CHD patients with the concomitant nonalcoholic fatty liver disease.

Materials and methods of the research

Cross-cohort analytical study in parallel groups involved 86 patients, the primary group consisted of 34 patients with documented coronary artery disease, stable II–III functional class (FC) exertional angina combined with NAFLD, median age 60 (57.5; 66); comparison group: 32 patients with IBS without NAFLD, median age 60.5 (51.5; 65.6). The control group consisted of 20 healthy individuals, the median age 58 (54; 60). Groups are comparable in age, sex, comorbidities nature, duration of CHD. Before being included in the study, all participants provided written consent. II and III FC exertional angina were diagnosed under the classification of the Canadian Heart Association. The nonalcoholic fatty liver disease was determined by ultrasound examination of the liver according to the generally accepted methodology.

Criteria of including into the study: informed consent of the patient, the presence of verified CHD and NAFLD. The excluding criteria: patient with alcoholic liver disease or cirrhosis, autoimmune and viral hepatitis; autoimmune disorders; acute coronary syndrome or acute cerebrovascular accident in less than 3 months prior to the study; decompensated heart failure; oncological diseases.

All the patients with coronary artery disease were subjected to a comprehensive examination under the generally accepted standards (MOH of Ukraine number 436 of 03.07.2006). Anthropometric measurements included the definition of height, weight, body mass index. The study of total cholesterol (W), triglycerides (TG), high-density lipoproteins (HDL), low-density lipoprotein (LDL), blood glucose, the activity of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), gamma-glutamyltransferase (GGT), thymol test performance, total bilirubin concentration was performed by standard biochemical techniques. To assess the degree of insulin resistance indexes HOMA-IR and CARO were used.

The thickness of intima-media vascular endothelial complex was measured in all the patients on the eSaote Mylab40 (Italy) apparatus. The research of the main head and neck arteries on the right and left front of the neck with the patient in supine position was conducted through the ultrasonic scanning with the linear transducer in B-mode at frequencies from 7 to 13 MHz. The common carotid arteries, ICA were scanned. The examination was carried out with the patient supine with his head turned 45° in the

direction opposite to the artery studied. During each examination, the intima-media thickness (IMT) of the carotid artery was determined. The arithmetic mean of the three indicators was taken into account. IMT less than 0.9 mm was considered as normal, 0.9–1.4 mm was regarded as thickening, and more than 1.4 mm – as the formation of atherosclerotic plaque.

Using a standard set of reagents ELISA the level of asymmetric dimethylarginine (Immundiagnostik), insulin (Monobind, USA) and CRP (Biomerica) was determined.

Statistical data processing was carried out by using the software package Statistica 10.0 (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5). Analysis of the nature of the distribution of variables was assessed under the Kolmogorov–Smirnov's criterion (D). Since all the analyzed data differed from the normal distribution, we used Mann–Whitney U-criterion to compare indexes from two independent samples. The comparison of quality indicators was performed using the χ^2 criterion. To assess the type of communication and forecast values of variables we used the regression analysis and the analysis of operating characteristics curves (ROC – Receiver Operating Characteristic curve analysis), with the calculation of the area under the ROC-curve (AUC – Area under the ROC curve) and its 95 % confidence interval. The AUC value more than 0.5 was defined as statistically significant. The assessment of the interrelationship between pairs of independent indexes, expressed in quantitative scale, was carried out due to the Spearman rank correlation coefficient (r). All data are presented as median and distribution quartiles, Me (Q25; Q75). Differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results and their discussion

Due to the analyses of the main clinical characteristics it was found out that in patients with coronary artery disease and NAFLD the reliably higher rates of BMI, waist circumference, SBP were observed in comparison with those in the group of healthy persons and IHD patients without concomitant NAFLD ($p < 0.05$) (Table 1).

In patients with coronary artery disease and NAFLD a reliable increase in the value of BMI by 22.25 % was marked if to be compared with the control group and by 13 % if compared with patients with coronary artery disease ($p < 0.05$). The trend to the increase in levels of total cholesterol and LDL cholesterol, atherogenic index and to the reduction of HDL cholesterol in the intervention

Table 1. Clinical and laboratory characteristics of patients with coronary artery disease depending on the presence of concomitant NAFLD

Index, Unit (of measurement)	Control group (n=20)	CHD (n=32)	CHD and NAFLD (n=34)
BMI, kg/m ²	26.29 (24.08; 29.26)	28.73 (27.7; 31.88)	32.44 (29.13; 37.62)**
Waist, cm	80.66 (73.94; 96.42)	89.13 (79.3; 101.6)	94.82 (88.5; 105.1)**
Systolic BP, mmHg	125.0 (110.0; 130.0)	140.0 (130.0; 145.0)	160.0 (160.0; 170.0)**
Diastolic BP, mmHg	80.0 (70.0; 90.0)	80.0 (65.0; 90.0)	95.0 (90.0; 100.0)
General cholesterol, mmol/l	4.84 (4.57; 6.32)	5.01 (4.21; 5.55)	5.67 (4.24; 6.29)
LDL, mmol/l	2.86 (2.14; 4.29)	3.91 (3.35; 4.1)	3.20 (2.79; 3.57)
HDL, mmol/l	1.2 (1.12; 1.48)	1.11 (0.75; 1.37)	0.96 (0.86; 1.34)
TG, mmol/l	1.06 (1.05; 1.13)	1.66 (0.8; 1.95)	2.27 (1.28; 2.75)**
Atherogenicity index	2.45 (2.05; 3.19)	3.03 (2.13; 3.76)	3.63 (3.42; 3.81)

*: the probability of indexes difference if compared with the control selected group ($p < 0.05$);

#: the probability of indexes difference if compared with the patients with coronary artery disease ($p < 0.05$).

group was observed in comparison with patients with CHD and practically healthy persons. Triglyceride levels in patients with coronary artery disease and NAFLD were significantly 2 times higher than in the control group and by 36 % – compared with patients without liver disease ($p < 0.05$).

In analyzing the parameters of carbohydrate metabolism and insulin resistance (Table 2) the following changes were revealed: by the level of glucose the significant difference between groups was not found; in patients with coronary heart disease associated with NAFLD, there was a significant ($p < 0.05$) increase in insulin levels as compared to healthy persons (4.75 times) and CHD patients without structural and functional changes in the liver (2.42 times). A similar tendency was observed in terms of HOMA index. Its 5 times increase in comparison with healthy people was revealed, 2.35 times increase in patients with ischemic heart disease, respectively ($p < 0.05$). CARO index was 3.43 times lower in patients with a core group compared with healthy people and 2 times lower compared with patients without comorbid coronary artery disease pathology ($p < 0.05$). Revealed violations indicate the development of insulin resistance which is associated with an imbalance of adipocytokines level, typical for this category of patients [12].

Features of the liver functional state in patients with coronary artery disease depending on the presence of concomitant NAFLD are shown in Table 3.

In patients with coronary heart disease associated

with NAFLD, there was a significant ($p < 0.05$) 3.18 times increase in levels of alkaline phosphatase compared to the control group and 1.35 times increase in comparison with patients with IBS without liver pathology. Serum GGT in patients with coronary artery disease with NAFLD was 2 times higher compared with healthy individuals ($p < 0.05$) but did not differ significantly from the similar characteristic of the compared group. According to other parameters of the liver functional state, significant differences between groups were not found due to the prevalence of patients with steatosis than with steatohepatitis (79.5 % vs. 20.5 %) in the study group.

Indicators of endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease depending on the availability of NAFLD are presented in Table 4.

It was found out that in patients with coronary artery disease NAFLD, the ADMA serum level was 42 % higher than in healthy individuals and 21 % higher compared with the group of CHD patients without liver disease ($p < 0.05$); according to the level of CRP the study group patients 5.16 times dominated the control group and 1.63 times the comparison group ($p < 0.05$). The thickness of intima-media significantly prevailed in patients with comorbid disorders: 1.15 (1.00; 1.2) against 0.94 (0.9; 1.0) mm in patients with CHD and 1.15 (1.00; 1.2) against 0.78 (0.7; 0.8) mm in healthy individuals ($p < 0.05$). The frequency of registration of intima-media thickening in patients with concomitant coronary artery disease and NAFLD and in the comparison group are shown in Fig. 1.

Table 2. Carbohydrate metabolism and insulin resistance characteristics in patients with coronary artery disease depending on the presence of concomitant NAFLD

Index, Unit (of measurement)	Control group (n=20)	CHD (n=32)	CHD and NAFLD (n=34)
Glucose, mmol/l	4.20 (4.1; 4.72)	4.35 (3.90; 4.90)	5.00 (4.10; 5.80)
Insulin, mkOd/ml	3.57 (3.43; 5.33)	7.41 (0.57; 13.50)	17.00 (6.33; 22.77)**
HOMA-IP	0.66 (0.62; 0.99)	1.43 (0.68; 1.73)	3.37 (1.50; 5.80)**
Index CARO	1.03 (0.83; 1.19)	0.61 (0.38; 0.76)	0.30 (0.22; 0.88)**

*: the probability of indexes difference if compared with the control selected group ($p < 0.05$);

#: the probability of indexes difference if compared with the patients with coronary artery disease ($p < 0.05$).

Table 3. Characteristics of the liver functional state in patients with coronary artery disease depending on the presence of concomitant NAFLD

Index, Unit (of measurement)	Control group (n=20)	CHD (n=32)	CHD and NAFLD (n=34)
ALT, umol/ml×h	0.55 (0.34; 0.68)	0.61 (0.51; 0.79)	0.73 (0.44; 0.82)
AST, umol/ml×h	0.45 (0.26; 0.63)	0.44 (0.38; 0.58)	0.49 (0.33; 0.72)
Bilirubin, umol/l	8.0 (3.2; 11.7)	14.35 (10.0; 17.3)	14.45 (8.75; 18.0)
Thymol test, un.	1.86 (0.76; 3.43)	3.02 (2.0; 3.86)	2.33 (1.61; 3.0)
Alkaline phosphatase, nmol/(s*)	1185.71 (1016.32; 1278.10)	2802.59 (2602.41; 2894.99)	3772.72 (3572.54; 4850.64)**
Gamma glutamyl transferase, un/l	5.68 (2.72; 10.14)	8.9 (4.45; 11.1)*	11.62 (6.68; 26.7)*

*: the probability of indexes difference if compared with the control selected group ($p < 0.05$);

#: the probability of indexes difference if compared with the patients with coronary artery disease ($p < 0.05$).

Table 4. Indicators of endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease depending on the availability of NAFLD

Index, Unit (of measurement)	Control group (n=20)	CHD (n=32)	CHD and NAFLD (n=34)
CRP, mg/l	0.6 (0.4; 0.8)	1.9 (1.5; 2.5)	3.1 (3.1; 4.3)**
ADMA, umol/l	0.5 (0.44; 0.53)	0.71 (0.63; 0.76)	0.86 (0.84; 0.96)**
IMT, mm	0.78 (0.7; 0.8)	0.94 (0.9; 1.0)	1.15 (1.00; 1.2)**

*: the probability of indexes difference if compared with the control selected group ($p < 0.05$);

#: the probability of indexes difference if compared with the patients with coronary artery disease ($p < 0.05$).

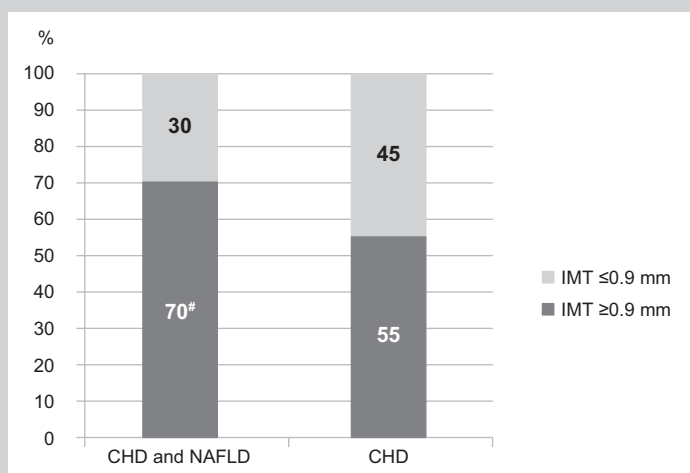


Fig. 1. The frequency of registration of intima-media thickening in patients with concomitant coronary artery disease and NAFLD and in the comparison group.

[#]: the probability of indicators difference if compared with patients with coronary artery disease, according to the χ^2 criterion, ($p < 0.05$).

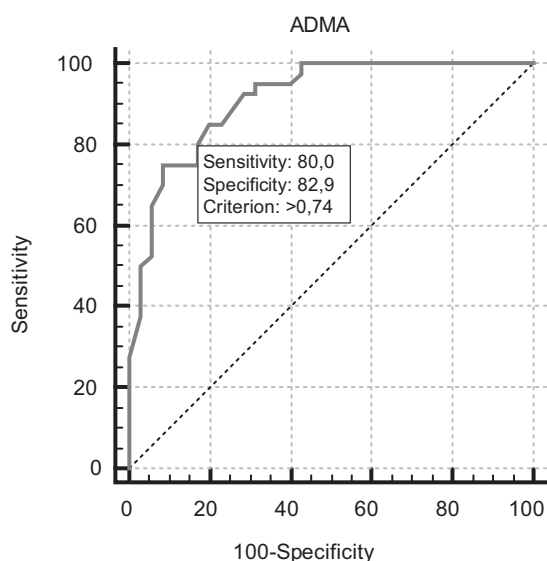


Fig. 2. The results of ROC-analysis of the ADMA serum levels relationship with intima-media complex thickness in patients with coronary artery disease combined with nonalcoholic fatty liver disease.

The analysis of the frequency of registration of the intima-media thickening showed that among patients of the main group there were 15 % more individuals with the index $IMT \geq 0.9$ mm ($\chi^2 = 4.89$; $p < 0.05$).

To assess the effectiveness of determining the ADMA serum levels as a marker of structural and functional changes in blood vessels in ischemic heart disease, comorbid with NAFLD the ROC-analysis was conducted. The defining of the presence of the intima-media complex thickening was used as a reference method. The ROC-curve area was built, the area under which was equal to $AUC = 0.91$ subject to a 5 % confidence interval: 0.825 to 0.966.

It was determined that the level of ADMA > 0.74 mmol/l, is the cutting point and has an optimal ratio of sensitivity

(80 %) to specificity (82.9 %) considering the diagnostics of vascular remodeling. This statistically justified threshold value is the highly reliable factor associated with structural and functional changes in vascular endothelium in patients with coronary artery disease combined with NAFLD. The area under the ROC-curve of more than 0.8 indicates a statistically reliable threshold value with high quality of chosen model.

The presence of correlation relationship of ADMA concentrations with CRP levels ($r = +0.56$; $p < 0.05$), testifying the role of immunoinflammatory changes in the development of endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease concomitant with NAFLD was defined. The results obtained coincide with the modern research confirming the role of systemic inflammation as a leading pathophysiological mechanism in the nonalcoholic fatty liver disease, which contributes to the development of endothelial dysfunction and, consequently, to the progression of coronary artery disease [13].

In patients with coronary artery disease and NAFLD the reliable direct relationship of ADMA rate with classic risk factors for cardiovascular disease was revealed: total cholesterol ($r = +0.47$; $p < 0.05$), BMI ($r = +0.53$; $p < 0.05$), glucose ($r = +0.65$; $p < 0.05$), and the significant negative relationship of ADMA with HDL ($r = -0.48$; $p < 0.05$); IMT with BMI ($r = +0.56$; $p < 0.05$), glucose ($r = +0.43$; $p < 0.05$), the level of SBP ($r = +0.46$; $p < 0.05$), thus specifying the association of endothelial dysfunction with the development and progression of metabolic disorders in this comorbid conditions. The relationship of ED with metabolic disorders was found in the works of other scholars. It is proved that carbohydrate metabolism disorders, IR and obesity are important factors of ED and early vascular aging (EVA-Syndrome) [14,15]. According to N. M. Hromnatska (2014), the development of ED and increase in arterial stiffness is a versatile reaction of tissue to IR and inflammatory stress, inherent both to CHD and NAFLD [16].

The presence of relationships between the ADMA endothelial dysfunction marker and liver damage principal indicators in patients with coronary artery disease, combined with NAFLD was established: ALT ($r = +0.71$; $p < 0.05$), ALT ($r = +0.76$; $p < 0.05$); IMT levels of GGT ($r = +0.55$; $p < 0.05$), which goes with the literature. Thus, A. P. Schekotova (2013) in her study traced the authentic relationship of endothelial damage markers and indicators of the cholestatic syndrome. The authors, however, suggest that endothelial damage at the same time depends not so much on the functional state of the liver and hepatocytes defeat as on the impact of hostility factors (inflammation, viral agents) directly on the endothelium [17]. However, according to other authors (O. B. Dynnyk, L. A. Stadnyuk, 2008), it was estimated that generally accepted indicators of endothelial dysfunction (vasodilation endothelium, circulating endothelial cells) progressively worsen with the increasing severity of liver disease and are associated with changes in its functional state [18].

Conclusions

1. In patients with coronary artery disease, combined with NAFLD, an increase in serum levels of asymmetric

dimethylarginine, CRP, and thickening of intima-media segment compared with patients with CHD without concomitant liver disease are observed, thus indicating the presence of endothelial dysfunction in the background of activation of systemic inflammation in these patients.

2. The level of ADMA >0.74 mmol/l with sensitivity (80 %) and specificity (83 %) allows diagnosing structural and functional changes in vascular endothelium in patients with coronary artery disease combined with NAFLD, thus indicating that its value is a marker of vascular remodeling in these patients.

3. Markers of structural and functional state of endothelium in patients with coronary artery disease and NAFLD are associated with the metabolic disorders (BMI, waist volume, SBP, levels of glucose, cholesterol, insulin resistance) and indicators of liver disease (ALT, alkaline phosphatase, GGT) indicating the generality of pathogenetic mechanisms of the development and progression of these comorbid disorders.

Prospects for further research: identification of opportunities for pharmacological correction of endothelial dysfunction and metabolic disorders found in patients with CHD associated with nonalcoholic fatty liver disease is a promising direction for our further research.

References

- [1] Syvolap, V. D., & Mykhailovska, N. S. (2011). Prohnozuvannya fatalnykh i nefatalnykh koronarnykh podii u khvorykh na Q-infarkt miokarda z metabolichnym syndromom [Prediction of fatal and non-fatal coronary events in patients with Q-myocardial infarction and metabolic syndrome]. *Zaporozhye medical journal*, 1, 26–29. [in Ukrainian].
- [2] Skybchuk, V. A., & Onyschuk, Yu. I. (2014). Nealkoholna zhrova khvoroba pechinky: suchasni pidkhody do diahnostyky ta likuvannya [Nonalcoholic fatty liver disease: current approaches to diagnosis and treatment]. *Mystetstvo likuvannya*, 2, 6–9. [in Ukrainian].
- [3] Alam, S., Mustafa, G., Alam, M., & Ahmad, N. (2016). Insulin resistance in development and progression of the nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 7(2), 211. doi: 10.4291/wjgp.v7.i2.211.
- [4] Mykhailovska, N. S., Oliinyk, T. V., & Mykhailovskyi, Y. M. (2015). Kliniko-patohetichna rol imunozapalnykh porushen ta endotelialnoi dysfunktsii u khvorykh na ishemichnu khvorobu sertsia, komorbidnu z hipotyreozyom [Clinical and pathogenetic role of immunoinflammatory disorders and endothelial dysfunction in patients with ischemic heart disease comorbid with hypothyroidism (reference review)]. *Bukovynskyi medychnyi visnyk*, 1(73), 227–231. [in Ukrainian].
- [5] Pivtorak, K. V. (2015). Dysfunktsiia endoteliiu ta porushennia funktsii pechinky pry nealkoholnii zhrovii khvorobi pechinky [Endothelial dysfunction and violations of liver function in nonalcoholic fatty liver disease]. *Visnyk Vinnytskoho natsionalnoho medychnoho universytetu*, 2, 545–549. [in Ukrainian].
- [6] Sibal, L., Agarwal, S. C., Home, P. D., & Boger, R. H. (2010). The Role of Asymmetric Dimethylarginine (ADMA) in Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease. *Current Cardiology Reviews*, 6(2):82–90. doi: 10.2174/157340310791162659.
- [7] Ferrigno, A., Pasqua, L. G. Di., Berardo, C., Richelmi, P., & Vairetti, M. (2015). The liver plays a central role in asymmetric dimethylarginine-mediated organ injury. *World Journal of Gastroenterology*, 21(17), 5131–5137. doi: 10.3748/wjg.v21.i17.5131.
- [8] Meinitzer, A., Seelhorst, U., Wellnitz, B., Halwachs-Baumann, G., Boehm, B., Winkelmann, B., & Marz, W. (2007). Asymmetrical Dimethylarginine Independently Predicts Total and Cardiovascular Mortality in Individuals with Angiographic Coronary Artery Disease (The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study). *Clinical Chemistry*, 53(2), 273–283. doi: 10.1373/clinchem.2006.076711.
- [9] Leong, T., Zylberstein, D., Graham, I., Lissner, L., Ward, D., Fogarty, J., Bengtsson, C., et al. (2008). Asymmetric Dimethylarginine Independently Predicts Fatal and Nonfatal Myocardial Infarction and Stroke in Women: 24-Year Follow-Up of the Population Study of Women in Gothenburg. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 28(5), 961–967. doi: 10.1161/ATVBAHA.107.156596.
- [10] Schulze, F., Lenzen, H., Hanefeld, C., Bartling, A., Osterziel, K., Goudeva, L., et al. (2006). Asymmetric dimethylarginine is an independent risk factor for coronary heart disease: Results from the multicenter Coronary Artery Risk Determination investigating the Influence of ADMA Concentration (CARDIAC) study. *American Heart Journal*, 152(3), 493.e1–493.e8. doi: 10.1016/j.ahj.2006.06.005.
- [11] Vairappan, B. (2015). Endothelial dysfunction in cirrhosis: Role of inflammation and oxidative stress. *World Journal of Hepatology*, 7(3), 443. doi: 10.4254/wjh.v7.i3.443.
- [12] Mykhailovska, N. S., & Miniaienko, L. E. (2016). The peculiarities of adiponectin and resistin interrelationships with the components of metabolic syndrome in patients with coronary heart disease and concomitant nonalcoholic fatty liver disease. *Zaporozhye medical journal*, 5(98), 25–30. doi: 10.14739/2310-1210.2016.5.82568.
- [13] Bueverov, A. O., & Bogomolov, O. N. (2009). Nealkogol'naya zhrovaya bolezn' pecheni: obosnovanie patogeneticheskoy terapii [Nonalcoholic fatty liver disease: a study of pathogenetic therapy]. *Klinicheskie perspektivy gastroenterologii*, 1, 3–9. [in Russian].
- [14] Hughes, T., Althouse, A., Niemczyk, N., Hawkins, M., Kuipers, A., & Sutton-Tyrrell, K. (2012). Effects of weight loss and insulin reduction on arterial stiffness in the SAVE trial. *Cardiovascular Diabetology*, 11(1), 114. doi: 10.1186/1475-2840-11-114.
- [15] Dudinskaya, E. N., Tkacheva, O. N., Strazhesko, I. D., & Akasheva, D. U. (2013). Rol' insulinorezistentnosti i eyo korrektsii v processakh sosudistogo starenia [Role of insulin resistance and its correction in the process of vascular aging]. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*, 9(2), 163–170. doi: http://dx.doi.org/10.20996/1819-6446-2013-9-2-163-170. [in Russian].
- [16] Gromnatska, N. M., Sklyarov, Ye. Ya., & Fomenko, I. S. (2014). Markery endotelialnoi dysfunktsii pry insulinorezistentnosti v ditei i pidlitkiv [Endothelial dysfunction markers in insulin resistance in children and adolescents]. *Perinatologiya i pediatriya*, 4, 72–76. [in Ukrainian]. doi:10.15574/PP.2014.60.72.
- [17] Schekotova, A. P., Kotelnikova, L. P., Mugatarov, I. N., & Fedachuk, N. N. (2013). Endotelial'naya disfunktsiya, vospaleniye i fibroz pri gepatobilyarnoy patologii [Endothelial dysfunction, inflammation and fibrosis in the presence of hepatobiliary pathology]. *Fundamentalnye issledovaniya*, 5, 451–455. [in Russian].
- [18] Dynnyk, O. B., Stadnyuk, L. A., Mostovyi, S. E., & Myshanych, O. N. (2008). Pokaznyky dysfunktsii endoteliiu ta stan vnutrishnosertsevoi hemodynamiky u khvorykh z dyfuznymy zakhvoriuvanniamy pechinky [Indicators of the state of endothelial dysfunction and intracardiac hemodynamics in patients with the diffuse liver disease]. *Ukrainskyi kardiologichnyi zhurnal*, 6, 66–74. [in Ukrainian].

Information about authors:

Mykhailovska N. S., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of General Practice – Family Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Miniaienko L. Ye., PhD Student at the Department of General Practice – Family Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Михайловська Н. С., д-р мед. наук, професор, зав. каф. загальної практики – сімейної медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Міняйленко Л. Є., аспірант каф. загальної практики – сімейної медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Михайловская Н. С., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. общей практики – семейной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Миняйленко Л. Е., аспирант каф. общей практики – семейной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 21.02.2017

Після доопрацювання / Revised: 28.02.2017

Прийнято до друку / Accepted: 01.03.2017

Особенности адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов у больных с эссенциальной гипертензией в остром периоде полушарного ишемического инсульта по данным турбидиметрической агрегатометрии

С. П. Жеманюк, В. В. Сиволап

Запорізький державний медичний університет, Україна

Ключевые слова:

агрегация
тромбоцитов,
гипертоническая
болезнь,
инсульт.

Патология. – 2017. –
Т. 14, № 1(39). –
С. 68–74

DOI:
10.14739/2310-1237.
2017.1.97327

E-mail:
zhe manyuk.s@
gmail.com

Набуті вади тромбоцитарного гемостазу при різних патологічних станах і під впливом медикаментозних агентів недостатньо досліджені та потребують пильної уваги науковців і клініцистів, особливо в пацієнтів на гіпертонічну хворобу (ГХ) високого та дуже високого додаткового кардіоваскулярного ризику розвитку серцево-судинних ускладнень у зв'язку з високою смертністю.

Мета роботи – визначення особливостей адреналін-індукованої агрегації тромбоцитів у хворих на гіпертонічну хворобу, що ускладнена гострим ішемічним інсультом.

Матеріали та методи. Хворих на ГХ (98 осіб) поділили на 2 групи. До першої включили 46 хворих на ГХ віком 63 (56–71) роки (38 % – чоловіки), які, за даними «офісного» вимірювання та добового моніторингу, досягли цільового рівня артеріального тиску (АТ) на тлі застосування антигіпертензивних препаратів першої лінії. До другої групи залучили 52 пацієнти, які хворі на ГХ, що ускладнена гострим пікульним ішемічним інсультом (ГПІІ), віком 63 (56–72) роки (66 % – чоловіки). Турбидиметрична агрегатометрія (Solar, Мінськ, Республіка Білорусь) з адреналіном (5 $\mu\text{моль/л}$) здійснена в умовах КУ «6 міська клінічна лікарня» м. Запоріжжя. Аналізувались максимальний ступінь і час агрегації тромбоцитів протягом 5 хв запису ($T_{\text{max}, 5 \text{ min}}$ і $t_{\text{max}, 5 \text{ min}}$ відповідно) та 10 хв запису ($T_{\text{max}, 10 \text{ min}}$ і $t_{\text{max}, 10 \text{ min}}$ відповідно); ступінь агрегації тромбоцитів на 1, 2, 3, 5 та 10 хв запису ($T_{1 \text{ min}}$, $T_{2 \text{ min}}$, $T_{3 \text{ min}}$, $T_{5 \text{ min}}$, $T_{10 \text{ min}}$ відповідно); площа під кривою за 1, 5 та 10 хв запису ($AUC_{1 \text{ min}}$, $AUC_{5 \text{ min}}$, $AUC_{10 \text{ min}}$ відповідно); нахил кривої за першу хвилину запису агрегатограми (ΔT , %/хв); коефіцієнт дезагрегації за 5 і 10 хвилин запису ($K_{\text{desagg}, 5 \text{ min}}$, $K_{\text{desagg}, 10 \text{ min}}$ відповідно); вид агрегаційної кривої.

Результати. У хворих на ГХ, що ускладнена ГПІІ, спостерігали вірогідне зниження $T_{\text{max}, 5 \text{ min}}$ на 57 % ($p=0,028$); $T_{1 \text{ min}}$ – на 71 % ($p=0,002$), $T_{2 \text{ min}}$ – на 65 % ($p=0,002$), $T_{3 \text{ min}}$ – на 60 % ($p=0,004$) і $T_{5 \text{ min}}$ – на 59 % ($p=0,027$); ΔT – на 62 % ($p=0,002$); $AUC_{1 \text{ min}}$ – на 84 % ($p=0,002$), $AUC_{5 \text{ min}}$ – на 62 % ($p=0,004$) та $AUC_{10 \text{ min}}$ – на 60 % ($p=0,018$) порівняно з аналогічними показниками у хворих на ГХ, які досягли цільового рівня АТ. Крім того, за видом агрегаційної кривої групи мали вірогідну розбіжність за видом так зване «повне пригнічення» ($p=0,020$) та «зливна» ($p=0,008$).

Висновки. Турбидиметрична (оптична) агрегація тромбоцитів з адреналіном (5 $\mu\text{моль/л}$) дає можливість здійснити оцінювання кількісних та якісних показників функціональної активності тромбоцитів у хворих на неускладнену та ускладнену ГХ. У хворих на ГХ, що ускладнена ГПІІ, спостерігається зниження на 57–84 % кількісних показників адреналін-індукованої агрегації тромбоцитів порівняно з аналогічними показниками хворих на ГХ, які досягли цільового рівня АТ. У цієї категорії пацієнтів переважають типи адреналін-індукованих агрегатограм із різним ступенем пригнічення агрегації – від мінімального до повного, а також наявне вірогідне зниження так званих «зливних» агрегатограм, що, ймовірно, зумовлено застосуванням у гострому періоді захворювання препаратів, котрі впливають на функціональну здатність тромбоцитів.

Ключевые слова:

агрегация
тромбоцитов,
гипертоническая
болезнь,
инсульт.

Патология. – 2017. –
Т. 14, № 1(39). –
С. 68–74

Особенности адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов у больных с эссенциальной гипертензией в остром периоде полушарного ишемического инсульта по данным турбидиметрической агрегатометрии

С. П. Жеманюк, В. В. Сиволап

Приобретённые нарушения тромбоцитарного гемостаза при разных патологических состояниях под влиянием медикаментозных агентов изучены недостаточно. Это акцентирует внимание учёных и клиницистов на данной проблеме, особенно в отношении пациентов с гипертонической болезнью (ГБ) высокого и очень высокого дополнительного кардиоваскулярного риска развития сердечно-сосудистых осложнений в связи с их высокой летальностью.

Цель работы – определение особенностей адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов у больных с гипертонической болезнью, осложнённой острым ишемическим инсультом.

Материалы и методы. Больные ГБ (98 человек) были распределены на 2 группы. Первую группу составили 46 больных ГБ в возрасте 63 (56–71) лет (38 % лиц мужского пола), у которых, по данным «офисного» и суточного определения артериального давления (АД), показатели достигли целевого уровня на фоне применения антигипертензивных препаратов первой линии. Вторую группу составила когорта пациентов, в которую вошло 52 лица с ГБ, осложнённой острым полушарным ишемическим инсультом (ОПИИ), в возрасте 63 (56–72) лет (66 % лиц мужского пола). Турбидиметрическая агрегатометрия (Solar, Минск, Республика Беларусь) с адреналіном (5 $\mu\text{моль/л}$) проведена в условиях КУ «6 городская клиническая больница» г. Запорожжя. Анализировали следующие показатели: максимальную степень и время агрегации, записанные в течение 5 мин ($T_{\text{max}, 5 \text{ min}}$ и $t_{\text{max}, 5 \text{ min}}$ соответственно) и 10 мин записи ($T_{\text{max}, 10 \text{ min}}$ и $t_{\text{max}, 10 \text{ min}}$ соответственно); степень агрегации тромбоцитов на 1, 2, 3, 5 и 10 минутах записи агрегатограммы ($T_{1 \text{ min}}$, $T_{2 \text{ min}}$, $T_{3 \text{ min}}$, $T_{5 \text{ min}}$, $T_{10 \text{ min}}$ соответственно); площадь под кривою за 1, 5 и 10 мин записи агрегатограммы ($AUC_{1 \text{ min}}$, $AUC_{5 \text{ min}}$, $AUC_{10 \text{ min}}$ соответственно); наклон кривой за первую минуту записи агрегатограммы (ΔT , %/мин); коэффициент дезагрегации за 5 и 10 минут записи агрегатограммы ($K_{\text{desagg}, 5 \text{ min}}$, $K_{\text{desagg}, 10 \text{ min}}$ соответственно); вид агрегационной кривой.

$T_{5\text{ min}}$, $T_{10\text{ min}}$ соответственно); площадь под кривой за 1, 5 и 10 минут записи ($AUC_{1\text{ min}}$, $AUC_{5\text{ min}}$, $AUC_{10\text{ min}}$ соответственно); наклон кривой первой минуты записи (ΔT , %/мин); коэффициент дезагрегации на 5 и 10 мин записи ($K_{\text{desagg, 5 min}}$, $K_{\text{desagg, 10 min}}$ соответственно); вид агрегационной кривой.

Результаты. У больных ГБ, осложнённой ОПИИ, наблюдается достоверное снижение $T_{\text{max, 5 min}}$ на 57 % ($p=0,028$); $T_{1\text{ min}}$ – на 71 % ($p=0,002$), $T_{2\text{ min}}$ – на 65 % ($p=0,002$), $T_{3\text{ min}}$ – на 60 % ($p=0,004$) и $T_{5\text{ min}}$ на 59 % ($p=0,027$); ΔT – на 62 % ($p=0,002$); $AUC_{1\text{ min}}$ – на 84 % ($p=0,002$), $AUC_{5\text{ min}}$ – на 62 % ($p=0,004$) и $AUC_{10\text{ min}}$ – на 60 % ($p=0,018$) по сравнению с аналогичными показателями у больных ГБ, достигших целевых показателей АД. Кроме того, достоверное различие между группами определялось по виду агрегационной кривой, так называемой «сливной», ($p=0,008$) и «полного угнетения» ($p=0,020$).

Выводы. Турбидиметрическая (оптическая) агрегация тромбоцитов с адреналином (5 $\mu\text{mol/l}$) позволяет провести оценку количественных и качественных показателей функциональной активности тромбоцитов у больных с осложнённым и неосложнённым течением ГБ. У больных с ГБ, осложнённой ОПИИ, наблюдается снижение на 57–84 % количественных показателей адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов по сравнению с аналогичными показателями в группе больных ГБ, достигших целевого уровня АД. Также у данной категории пациентов преобладают типы агрегатограмм с разной степенью угнетения агрегационного процесса вплоть до полного угнетения, а также снижение так называемых «сливных» агрегатограмм, что, вероятнее всего, обусловлено назначением в остром периоде заболевания препаратов, которые влияют на функциональную активность тромбоцитов.

Adrenalin-induced platelet aggregation in essential hypertensive patients in the acute phase of hemispheric ischaemic stroke: LTA results

S. P. Zhemanyuk, V. V. Syvolap

Acquired platelet disorders caused by pathological state or medical induced have pure knowledge according to the experts, especially in essential hypertensive (EH) patients with high and very high cardiovascular risk due to the association with an increased risk of death as stroke and myocardial infarction.

The aim of the study was to determine adrenalin-induced platelet aggregation parameters in essential hypertensive patients in acute phase of hemispheric ischaemic stroke.

Materials and methods. A total of 98 study participants were analyzed. The first group ($n = 46$; aged 63 (56–71); 38 % man) were well-controlled essential hypertensives according to the “office” and ABMP results, and the second one ($n = 52$; aged 63 (56–71); 66 % man) were EH patients with an acute hemispheric ischaemic stroke (HIS). Light transmittance aggregation (LTA) was conducted with adrenaline (5 $\mu\text{mol/l}$). We analyzed the percentage and time of maximal aggregation monitored for 5 and 10 min ($T_{\text{max, 5 min}}$ and $t_{\text{max, 5 min}}$ respectively); the percentage of aggregation in 1 min, 2 min, 3 min, 5 min, 10 min ($T_{1\text{ min}}$, $T_{2\text{ min}}$, $T_{3\text{ min}}$, $T_{5\text{ min}}$ and $T_{10\text{ min}}$ respectively); area under the curve at the end of 1, 5 and 10 min periods ($AUC_{1\text{ min}}$, $AUC_{5\text{ min}}$ and $AUC_{10\text{ min}}$ respectively); the slope of aggregation (ΔT , %/min); deaggregation at the end of 5 and 10 min periods ($K_{\text{desagg, 5 min}}$ and $K_{\text{desagg, 10 min}}$ respectively); LTA tracings.

Results. There was a decrease of $T_{\text{max, 5 min}}$ by 57 % ($p = 0.028$); $T_{1\text{ min}}$ by 71 % ($p = 0.002$), $T_{2\text{ min}}$ by 65 % ($p = 0.002$), $T_{3\text{ min}}$ by 60 % ($p = 0.004$) and $T_{5\text{ min}}$ by 59 % ($p = 0.027$); ΔT by 62 % ($p = 0.002$); $AUC_{1\text{ min}}$ by 84 % ($p = 0.002$), $AUC_{5\text{ min}}$ by 62 % ($p = 0.004$), $AUC_{10\text{ min}}$ by 60 % ($p = 0.018$) in group of EH patients with an acute HIS in comparison with the group of well-controlled EH patients. Moreover, as analyzed LTA tracing only so called “considerably decreased” ($P = 0.020$) and “fused” patterns of aggregation ($P = 0.008$) achieved significance in groups.

Conclusion. Light transmission aggregometry (optical) with adrenalin ($\mu\text{mol/l}$) provides the quantitative and qualitative information about the platelet function ability to aggregate in EH patients with and without acute complications. In EHs with an acute HIS there is 57–84 % decrease of quantitative parameters in comparison to the same data in well-controlled EHs. Furthermore, they have aggregation patterns which show the different level of the platelet aggregation process reduction, and also there are less so called “fused” patterns of aggregation. We suggested that there is because of treatment which influences substantially the platelet function.

Key words:

platelet aggregation, hypertension, stroke.

Pathologia

2017; 14 (1), 68–74

Незважаючи на значні досягнення в діагностиці та лікуванні, серцево-судинні захворювання, на жаль, займають провідні позиції серед причин смертності населення. Особливе місце посідають атеротромботичні ускладнення гіпертонічної хвороби (ГХ) – інфаркти міокарда та інсульти, провідна роль в патогенезі яких належить тромбоцитам. Включення до стандартів і протоколів лікування серцево-судинних захворювань препаратів, що впливають на тромбоцитарну ланку гемостазу, неконтрольоване використання яких підвищує ризик геморагічних ускладнень, вимагає обов'язкового визначення функціональної активності тромбоцитів.

Сучасними діагностичними протоколами передбачається визначення функціональної активності тромбоцитів та їхньої секреторної здатності насамперед у хворих із геморагічними станами здебільшого

вродженої етіології. Інформації щодо набутих змін агрегаційних властивостей тромбоцитів у клінічній практиці накопичено недостатньо, особливо в пацієнтів із ГХ. Це потребує дальшого вивчення питання, передусім у пацієнтів високого кардіоваскулярного ризику серцево-судинних ускладнень у зв'язку з їхньою поширеністю та високою смертністю [1].

Сучасний метод дослідження агрегаційної здатності тромбоцитів – турбидиметрична (оптична) агрегатометрія, що описана Born та O'Brian у середині XX сторіччя, рядом вчених вважається на сьогодні «золотим стандартом» визначення агрегаційної здатності тромбоцитів [2, р. 559]. Натомість, згідно з сучасними міжнародними рекомендаціями [3,4], залишаються невизначеними остаточні критерії змін тромбоцитарного гемостазу в пацієнтів високого та дуже високого

додаткового ризику у клінічних умовах, а також принцип аналізу агрегатограм за якісною ознакою для різних індукторів агрегації.

Отже, надалі вивчення агрегаційних властивостей тромбоцитів, особливо в пацієнтів високого та дуже високого додаткового кардіоваскулярного ризику серцево-судинних ускладнень, – актуальне та своєчасне.

Мета роботи

Визначення особливостей адреналін-індукованої агрегації тромбоцитів у хворих на гіпертонічну хворобу, що ускладнена гострим ішемічним інсультом.

Матеріали і методи дослідження

Проспективне дослідження здійснили в КУ «6 міська клінічна лікарня» м. Запоріжжя (клінічна база кафедри пропедевтики внутрішніх хвороб Запорізького державного медичного університету). Після роз'яснення основних етапів клінічного дослідження та підписання інформованої згоди пацієнтів залучили до дослідження, протокол якого відповідає Гельсінській декларації прав пацієнтів і затверджений Етичним комітетом ЗДМУ.

У дослідженні взяло участь 98 хворих на ГХ. Діагноз ГХ верифікували відповідно до національних стандартів діагностики та лікування артеріальної гіпертензії (АГ) [5].

Агрегацію тромбоцитів здійснили за допомогою аналізатора агрегації тромбоцитів AP 2110 (ЗАТ «Спектроскопия, оптика и лазеры – авангардные разработки (Solar)», Мінськ, Республіка Білорусь) з адреналіном (адреналіну тартрат, Здоров'я, Україна) у кінцевій концентрації індуктора агрегації 5,0 $\mu\text{моль/л}$. Протокол агрегації розроблений відповідно до міжнародних рекомендацій [3,4]. Венозну кров в об'ємі 20 мл стабілізували 3,8 % водним розчином лимоннокислого 3-заміщеного натрію 0,1 ммоль/л у співвідношенні 1 частина рідини до 9 частин крові. Для виключення контактної агрегації тромбоцитів використовували силіконізований/пластиковий медичний інструментарій. Для отримання плазми з високим вмістом тромбоцитів кров центрифугували 5–7 хв на 1000 об./хв із дальшим перенесенням надосадової рідини у кювету (в об'ємі 0,4 мл) і витримували в термостаті протягом 30 хв при температурі 37 °C. Згодом під час дальшого апаратного дослідження таку рідину вважали за 0 % світлопропускання (Т). Для отримання плазми з низьким вмістом тромбоцитів біологічний матеріал крові центрифугували повторно протягом 15 хвилин на 3000 об./хв. Отриману в такий спосіб надосадову рідину вважали плазмою з низьким вмістом тромбоцитів і використовували для дальшого апаратного калібрування (рівень світлопропускання – 100 %).

Запис агрегації тромбоцитів здійснювали безпосередньо за допомогою аналізатора, показники реєстрували автоматично з використанням програмного забезпечення для аналізу агрегаційних властивостей тромбоцитів на довжині хвилі 400–1100 нм. Методика передбачала запис зміни коефіцієнта світлопропускання в кюветі зі збагаченою тромбоцитами плазмою в динамічних умовах (перемішування магнітною мішалкою при 800–1000 об./хв).

З якісних показників аналізували вид агрегаційної кривої. Особливу увагу приділяли наявності та кількості хвиль агрегації, а також положенню агрегаційної хвилі наприкінці 10-хвилинного запису агрегації. Результатом візуальної інтерпретації агрегатограм став їхній розподіл на чотири типи агрегаційних кривих: незворотна двофазна без зниження другої хвилі агрегації (двофазна); незворотна без чіткої візуалізації першої та другої хвиль агрегації та без пригнічення другої хвилі агрегації тромбоцитів (зливна); незворотна двофазна/зливна зі зниженою другою хвилею агрегації (пригнічена); хвиля повного пригнічення агрегації тромбоцитів (відсутня), що вважалася такою при показниках максимального ступеня агрегації тромбоцитів, менших за п'ять відсотків.

Кількісні показники, що розраховували автоматично: максимальний ступінь ($T_{\text{max}}, 10 \text{ min}$) і час ($t_{T_{\text{max}}}, 10 \text{ min}$) агрегації тромбоцитів протягом 10 хв запису; нахил кривої за першу хвилину запису агрегатограми ($\Delta T, \%/хв$). Показники, що визначалися мануально: максимальний ступінь ($T_{\text{max}}, 5 \text{ min}$) і час ($t_{T_{\text{max}}}, 5 \text{ min}$) агрегації тромбоцитів упродовж 5 хв запису; ступінь агрегації тромбоцитів на 1, 2, 3, 5, 10 хв запису ($T_1 \text{ min}, T_2 \text{ min}, T_3 \text{ min}, T_5 \text{ min}, T_{10 \text{ min}}$ відповідно); площа під кривою (методом трапеції) за 1, 2, 5 та 10 хв запису ($AUC_1 \text{ min}, AUC_5 \text{ min}, AUC_{10 \text{ min}}$ відповідно); коефіцієнти дезагрегації за 5 та 10 хв запису ($K_{\text{desagg}, 5 \text{ min}}$ і $K_{\text{desagg}, 10 \text{ min}}$ відповідно). Коефіцієнт дезагрегації (представлений у відсотках) є відношенням різниці T_{max} і ступеня агрегації тромбоцитів на кінець відповідного періоду розрахунку до T_{max} .

За результатами клінічного обстеження пацієнтів поділили на 2 групи. До першої включили 46 хворих на ГХ віком 63 (56–71) роки (38 % – чоловіки), які за даними «офісного» вимірювання та добового моніторування досягли цільового рівня артеріального тиску (АТ) на тлі застосування антигіпертензивних препаратів першої лінії. До другої групи – 52 хворих на ГХ, що ускладнена гострим півкульним ішемічним інсультом (ГПІІ) віком 63 (56–72) роки (чоловіки – 66 %). Хворі обох груп були зіставні за віком, статтю.

Статистичне опрацювання даних здійснили за допомогою Statistica 6.0 (StatSoft, Tulsa, OK., USA, № AXXR712D833214FAN5). Кількісні показники представлені у вигляді медіани та міжквартильного розмаху [$Me (Q_{25}-Q_{75})$]; якісні показники – у вигляді абсолютних і відносних частот. Гіпотезу про нормальність розподілу кількісних показників аналізували з використанням критерію Шапіро–Уїлка. Різницю у групах за кількісними показниками визначали методом непараметричної статистики, використовуючи U-критерій Манна–Уїтні; за якісними показниками – критерій χ^2 . Статистична розбіжність визначалася на рівні $p < 0,05$, всі тести двосторонні.

Результати та їх обговорення

Результати описової статистики досліджуваних груп наведені в таблиці 1. Хворі на ГХ, що ускладнена ГПІІ, мали вірогідно більший рівень САТ і ДАТ, ніж хворі на ГХ, які досягли цільового рівня АТ. Але групи не розрізнялись за частотою серцевих скорочень.

Перший крок у дослідженні – зіставлення кількісних показників адреналін-індукованої агрегації тромбоцитів

Таблиця 1. Описові дані щодо груп гіпертензивних пацієнтів

Показник, одиниці вимірювань	Група 1 (хворі на ГХ, які досягли цільового рівня АТ), n=46	Група 2 (хворі на ГХ, що ускладнена ГПІІ), n=52	p
Вік, роки	63 (56–71)	63 (56–72)	0,694
Чоловіки, %	38	66	0,557
САТ, мм рт. ст. (за ДМАТ)	122 (115–125)	150 (136–170)	<0,001
ДАТ, мм рт. ст. (за ДМАТ)	68 (63–73)	80 (70–92)	<0,001
ЧСС, уд./хв	67 (64–73)	68 (60–76)	0,816

Кількісні дані наведені у вигляді Ме (Q₂₅–Q₇₅); якісні – n (%); АТ: артеріальний тиск; ГХ: гіпертонічна хвороба; ДМАТ: добове моніторування артеріального тиску; ГПІІ: гострий пікульний ішемічний інсульт; САТ: систолічний артеріальний тиск; ДАТ: діастолічний артеріальний тиск.

Таблиця 2. Показники адреналін-індукованої агрегації тромбоцитів у хворих на гіпертонічну хворобу, які досягли цільового рівня АТ, та у хворих на гіпертонічну хворобу, що ускладнена ішемічним інсультом, Ме (Q₂₅–Q₇₅)

Показник	Група 1 (хворі на ГХ, які досягли цільового рівня АТ), n=46	Група 2 (хворі на ГХ, що ускладнена ГПІІ), n=52	p	Δ, %
T _{max} , 10 min, %	21,1 (8,8–64,9)	10,6 (2,7–58,2)	0,148	
t _{max} , 10 min, с	392,5 (89,0–579,0)	468,5 (78,0–583,5)	0,912	
ΔT, %/хв	15,5 (6,8–24,6)	5,9 (2,4–15,7)	0,002	62
T _{max} , 5 min, %	18,9 (6,6–47,3)	8,1 (1,5–25,9)	0,028	57
t _{max} , 5 min, с	197,0 (38,1–295,0)	101,5 (4,2–293,5)	0,028	
T _{1 min} , %	10,9 (3,2–20,5)	3,2 (0–10,4)	0,002	71
T _{2 min} , %	12,2 (3,5–26,0)	4,3 (0,650–11,00)	0,002	65
T _{3 min} , %	13,9 (4,3–33,1)	5,5 (0,2–14,8)	0,004	60
T _{5 min} , %	15,8 (5,5–46,3)	6,5 (0,8–23,9)	0,027	59
T _{10 min} , %	19,0 (4,5–56,7)	6,4 (0,9–51,7)	0,104	
AUC _{5 min} , 10 %·хв	65,6 (23,4–145,7)	24,9 (3,0–68,3)	0,004	62
AUC _{10 min} , 10 %·хв	147,6 (63,0–463,6)	59,5 (9,5–308,8)	0,018	60
AUC _{1 min} , 10 %·хв	4,8 (1,1–10,5)	0,7 (0,0–4,0)	0,002	84
K _{desagg} , 5 min, %	4,6 (1,0–21,3)	7,3 (1,6–34,0)	0,282	
K _{desagg} , 10 min, %	17,9 (1,6–52,5)	13,8 (1,1–76,9)	0,925	

Кількісні дані наведені у вигляді Ме (Q₂₅–Q₇₅); якісні: n (%); AUC (англ. *area under the curve*): площа під кривою; K_{desagg}: коефіцієнт дезагрегації; max (англ. *maximum*): максимальний; min (англ. *minute*): хвилина; n (англ. *number*): кількість спостережень; T (англ. *transparency*): коефіцієнт світлопроникнення; t (англ. *time*): час; ΔT: зміна показника коефіцієнт світлопроникнення у часі; АТ: артеріальний тиск; ГХ: гіпертонічна хвороба; ГПІІ: пікульний ішемічний інсульт; ГХ: гіпертонічна хвороба; Δ: відношення різниці відповідних показників першої та другої груп до показника першої групи у відсотках.

у групах, що досліджували. Результати аналізу наведені в таблиці 2.

У хворих на ГХ, що ускладнена ГПІІ, спостерігалось статистичне зниження максимального ступеня агрегації тромбоцитів протягом 5-хвилинного запису (T_{max}, 5 min) на 57 % (p=0,028); ступеня агрегації тромбоцитів на першій (T_{1 min}) на 71 % (p=0,002), другій хвилині (T_{2 min}) на 65 % (p=0,002), на третій хвилині (T_{3 min}) на 60 % (p=0,004), на п'ятій хвилині запису (T_{5 min}) на 59 % (p=0,027); площі під кривою за першу хвилину (AUC_{1 min}) на 84 % (p=0,002), за п'ять хвилин запису (AUC_{5 min}) на 62 % (p=0,004); нахилу кривої за першу хвилину запису агрегатограм (ΔT, %/хв) на 62 % (p=0,002) порівняно з аналогічними показниками у хворих на ГХ, які досягли цільового рівня артеріального тиску.

Наступний крок аналізу – візуальна інтерпретація типів агрегаційних кривих і порівняння кількісних показників у межах кожного типу. На рисунку 1 наведений приклад типів агрегатограм.

Отримали результати відповідно до відзначеного вище принципу розподілу агрегатограм (табл. 3).

Хворі на ГХ, які досягли цільового рівня АТ, і хворі на ГХ, що ускладнена ішемічним пікульним інсультом (табл. 3, рис. 2), не розрізнялись між собою за питомою вагою двофазних незворотних агрегатограм без зниження другої хвилі (9 (20 %) проти 15 (29 %) відповідно; p=0,306) і двофазних незворотних агрегатограм

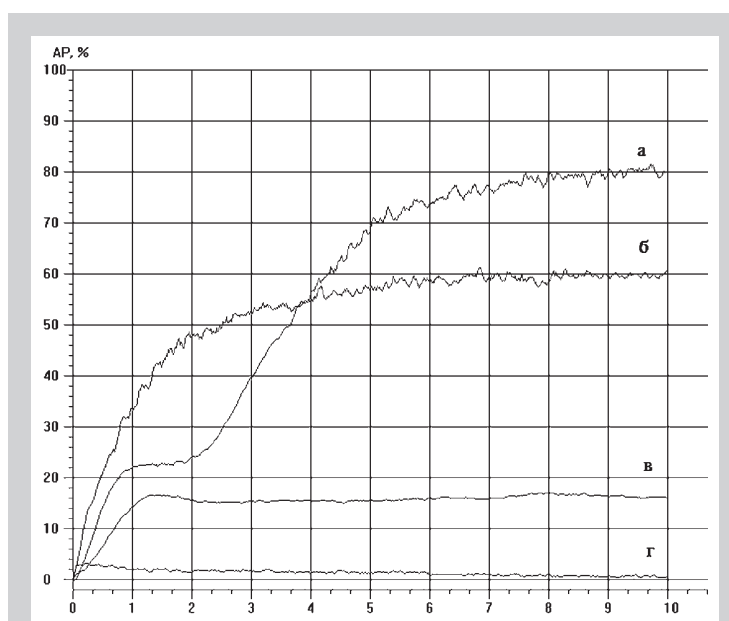
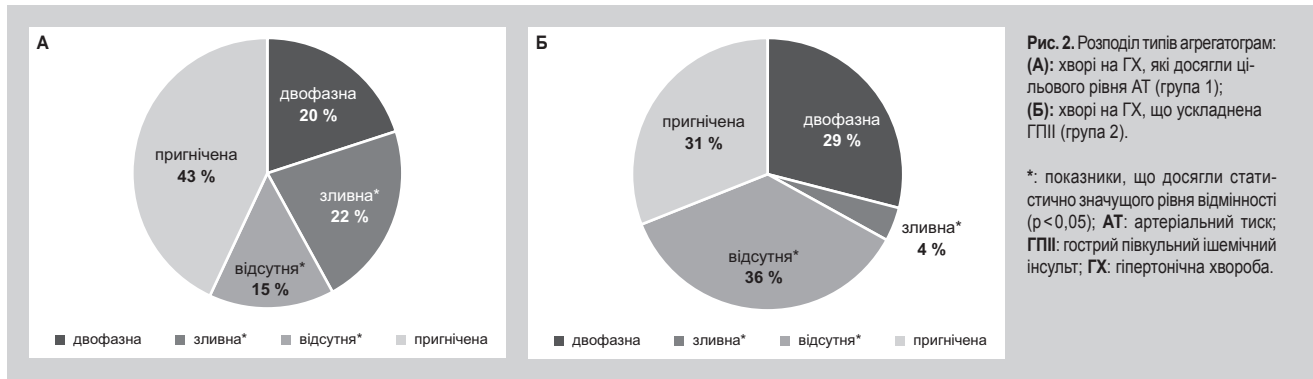


Рис. 1. Типи агрегаційних кривих відповідно до обраної візуальної класифікації: (а): незворотна двофазна без зниження другої хвилі агрегації (двофазна); (б): незворотна без чіткої візуалізації першої, другої хвилі агрегації та без пригнічення другої хвилі агрегації тромбоцитів (зливна); (в): незворотна двофазна/зливна зі зниженою другою хвилею агрегації (пригнічена); (г): хвиля повного пригнічення агрегації тромбоцитів (відсутня).

Таблиця 3. Порівняння кількісних показників агрегатограм у групах відповідно до розподілу агрегатограм за візуальними принципом

Вид хвилі	Показник, одиниці вимірювання	Група 1 (хворі на ГХ, які досягли цільового рівня АТ), n=46	Група 2 (хворі на ГХ, що ускладнена ГПІІ), n=52	p
Неворотна двофазна без зниження другої хвилі агрегації (двофазна)	n, (%)	9 (20)	15 (29)	0,306
	T _{max} , 10 min, %	67,9 (50,9–79,9)	74,0 (63,3–98,1)	0,238
	t _{Tmax} , 10 min, C	596,0 (578,0–598,0)	587,0 (560,0–596,0)	0,482
	ΔT, %/хв	15,8 (13,0–20,0)	15,8 (8,8–20,4)	0,726
	T _{max} , 5 min, %	47,3 (32,6–55,1)	43,8 (12,8–67,0)	0,726
	t _{Tmax} , 5 min, C	295,0 (294,0–299,0)	297,0 (291,0–299,0)	0,815
	T _{1 min} , %	13,9 (10,5–17,1)	9,8 (2,6–17,2)	0,411
	T _{2 min} , %	16,2 (8,5–21,6)	10,8 (6,1–31,7)	1,000
	T _{3 min} , %	25,8 (10,6–31,2)	19,7 (6,4–45,0)	0,770
	T _{5 min} , %	46,3 (32,6–55,0)	42,3 (12,7–66,5)	0,682
	T _{10 min} , %	66,9 (50,1–77,1)	67,3 (59,1–96,8)	0,411
	AUC _{5 min} , 10 %·хв	114,1 (67,6–134,1)	110,3 (35,3–190,8)	0,770
	AUC _{10 min} , 10 %·хв	463,3 (309,8–470,4)	483,3 (379,6–513,55)	0,347
	AUC _{1 min} , 10 %·хв	5,4 (3,5–8,8)	3,1 (0,4–9,3)	0,318
Неворотна двофазна/зливна зі зниженою другою хвилею агрегації (пригнічена)	n, (%)	20 (43)	16 (31)	0,222
	T _{max} , 10 min, %	13,6 (9,5–20,8)	11,4 (7,8–16,0)	0,479
	t _{Tmax} , 10 min, C	158,5 (74,5–496,0)	325,5 (73,5–571,5)	0,937
	ΔT, %/хв	12,4 (7,2–18,4)	7,4 (5,7–14,4)	0,200
	T _{max} , 5 min, %	11,9 (8,0–18,9)	8,6 (5,0–13,8)	0,262
	t _{Tmax} , 5 min, C	76,5 (8,5–231,0)	77,5 (4,5–271,0)	0,626
	T _{1 min} , %	9,9 (3,4–12,8)	7,3 (4,4–11,1)	
	T _{2 min} , %	10,7 (4,3–15,1)	6,2 (3,8–10,9)	0,189
	T _{3 min} , %	10,7 (6,1–15,4)	6,6 (5,0–10,5)	0,223
	T _{5 min} , %	8,4 (5,7–15,8)	8,0 (4,5–12,6)	0,519
	T _{10 min} , %	9,1 (4,5–17,7)	9,2 (4,2–13,9)	0,838
	AUC _{5 min} , 10 %·хв	45,7 (22,0–62,8)	29,4 (23,2–47,9)	0,422
	AUC _{10 min} , 10 %·хв	88,0 (51,9–142,4)	76,2 (44,2–129,0)	0,519
	AUC _{1 min} , 10 %·хв	4,0 (1,1–6,1)	3,5 (1,4–4,2)	0,648
Неворотна без чіткої візуалізації першої та другої хвилі агрегації (зливна)	n, (%)	10 (22)	2 (4)	0,083
	T _{max} , 10 min, %	73,7 (42,8–78,7)	53,2 (49,0–57,3)	0,485
	t _{Tmax} , 10 min, C	442,5 (194,0–555,0)	272,5 (221,0–324,0)	0,485
	ΔT, %/хв	30,4 (23,4–39,6)	45,2 (37,0–53,4)	0,182
	T _{max} , 5 min, %	72,0 (38,1–74,8)	36,0 (23,1–48,8)	0,182
	t _{Tmax} , 5 min, C	292,0 (38,1–299,0)	55,3 (46,6–64,0)	0,485
	T _{1 min} , %	28,2 (26,4–31,9)	29,1 (22,3–35,8)	0,257
	T _{2 min} , %	43,2 (37,2–49,7)	32,1 (20,5–43,6)	0,364
	T _{3 min} , %	63,0 (38,1–65,8)	33,8 (18,7–48,8)	0,182
	T _{5 min} , %	70,4 (38,1–72,7)	30,1 (13,6–46,6)	0,182
	T _{10 min} , %	68,0 (34,2–78,0)	21,3 (2,5–40,0)	0,182
	AUC _{5 min} , 10 %·хв	238,5 (163,3–242,4)	144,6 (90,4–198,7)	0,182
	AUC _{10 min} , 10 %·хв	606,7 (339,7–625,3)	272,8 (127,6–418,0)	0,182
	AUC _{1 min} , 10 %·хв	13,4 (10,6–16,1)	17,6 (17,2–18,1)	0,273
Агрегаційна хвиля повного пригнічення агрегації тромбоцитів (відсутня)	n, (%)	7 (15)	19 (36)	0,020
	T _{max} , 10 min, %	1,9 (0,3–2,8)	1,0 (0,1–2,8)	0,572
	t _{Tmax} , 10 min, C	300,0 (59,0–544,0)	116,0 (44,0–527,0)	0,821
	ΔT, %/хв	3,0 (0,8–6,2)	1,4 (0,0–3,0)	0,188
	T _{max} , 5 min, %	1,9 (0,0–2,2)	0,9 (0,0–2,5)	0,735
	t _{Tmax} , 5 min, C	59,0 (0,0–173,0)	1,8 (0,0–196,0)	0,910
	T _{1 min} , %	0,3 (0,0–1,1)	0,0 (0,0–0,5)	0,279
	T _{2 min} , %	0,0 (0,0–0,9)	0,0 (0,0–1,1)	0,955
	T _{3 min} , %	0,0 (0,0–1,3)	0,0 (0,0–0,5)	0,821
	T _{5 min} , %	0,0 (0,0–1,9)	0,0 (0,0–1,6)	0,821
	T _{10 min} , %	0,0 (0,0–0,8)	0,0 (0,0–1,8)	0,651
	AUC _{5 min} , 10 %·хв	1,1 (0,0–5,5)	0,4 (0,0–3,7)	0,866
	AUC _{10 min} , 10 %·хв	1,05 (0,0–15,2)	0,7 (0,0–11,5)	0,955
	AUC _{1 min} , 10 %·хв	0,1 (0,0–0,2)	0,0 (0,0–0,1)	0,461
	K _{desagg} , 5 min, %	100,0 (9,5–100,0)	75,6 (24,8–100,0)	0,879
	K _{desagg} , 10 min, %	100,0 (71,4–100,0)	100,0 (46,4–100,0)	0,576

Кількісні дані наведені у вигляді Me (Q25–Q75); якісні: n (%); **AUC** (англ. *area under the curve*): площа під кривою; **K_{desagg}**: коефіцієнт дезагрегації; **max** (англ. *maximum*): максимальний; **min** (англ. *minute*): хвилини; **p** (англ. *number*): кількість спостережень; **T** (англ. *transparency*): коефіцієнт світлопроникнення; **t** (англ. *time*): час; **ΔT**: зміна показника коефіцієнт світлопроникнення в часі; **АТ**: артеріальний тиск; **ГПІІ**: пікульний ішемічний інсульт; **ГХ**: гіпертонічна хвороба; **Δ**: відношення різниці відповідних показників першої та другої груп до показника першої групи у відсотках.



зі зниженою другою хвилею (20 (43 %) проти 16 (31 %) відповідно, $p=0,222$). Водночас серед хворих на ГХ, які досягли цільового рівня АТ, відсоток тих, хто мав агрегацію тромбоцитів без чіткої візуалізації першої та другої хвилі без пригнічення другої хвилі, був вищим порівняно з другою групою (10 (22 %) проти 2 (4 %) відповідно, $p=0,008$), а категорія хворих з ускладненим перебігом ГХ мала статистично вищий відсоток агрегатограм з ознаками повного пригнічення (7 (15 %) проти 19 (37 %) відповідно, $p=0,020$).

Згідно з сучасними міжнародними рекомендаціями [3,4], залишаються невизначеними остаточні критерії змін тромбоцитарного гемостазу в категорії пацієнтів із набутими вадами тромбоцитів, що індуковані як патологічними станами, так і медикаментозними агентами, особливо в пацієнтів високого та дуже високого додаткового кардіоваскулярного ризику.

У реальній клінічній практиці виникають певні труднощі з інтерпретацією агрегатограм у хворих, які втратили притомність або мають когнітивні розлади та не пам'ятають препаратів, котрі мають потенційний вплив на агрегацію тромбоцитів. На сьогодні в літературних фахових джерелах описано майже 100 чинників, що викликають зміни агрегаційної здатності тромбоцитів [6]. Згідно з рекомендаціями, оцінювання змін агрегації тромбоцитів унаслідок патологічних станів відбувається після відміни препаратів протягом 10 діб, що практично неможливо у хворих, які перебувають у критичних станах. Результати, що одержані під час дослідження агрегатограм, вимагають ретельного зіставлення з протоколом лікування, хоча за відзначених вище причин аналіз не може вважатись цілком вірогідним.

Незважаючи на багаторічний досвід використання методу у клінічній практиці, невизначеним залишається питання аналізу агрегатограм за якісною ознакою для різних агентів агрегації. Запропонували алгоритм якісної інтерпретації результатів відповідно до сучасних поглядів щодо цього методу дослідження та вимагає надалі виконання низки наукових робіт для визначення клінічного значення результатів, що одержали.

Результати якісного аналізу даних виявили переважання серед хворих на ГХ, котра ускладнена ішемічним інсульт, осіб із повністю пригніченою агрегацією тромбоцитів унаслідок зменшення зливних агрегатограм, що свідчить про підвищений ризик геморагічних ускладнень.

Оскільки відповідно до діючих рекомендацій [4] оптичну агрегацію тромбоцитів слід застосовувати у клініці

переважно не для ідентифікації хворих із підвищеним ризиком тромбозів (за винятком досліджень), а з метою виявлення схильності до кровотеч, то дані мають важливе клінічне значення для вдосконалення тактики ведення хворих на ГХ, що ускладнена ішемічним інсульт, для запобігання геморагічній трансформації ішемічного інсульту.

Результати дослідження свідчать про пригнічення адреналін-індукованої агрегації тромбоцитів у хворих на ГХ, котра ускладнена ішемічним пікульним інсульт. Це проявляється у зниженні практично всіх показників адреналін-індукованої агрегації, особливо на початковому етапі агрегаційного процесу (статистичні розбіжності між групами отримані для показників швидкості агрегації, абсолютних значень ступеня агрегації тромбоцитів із 1 до 5 хвилини дослідження, а також показників площини цього часового проміжку) та за деякими параметрами, що характеризують кінцевий етап агрегаційного процесу *ex vivo in vitro*.

Відомо, що первинна хвиля агрегації зумовлена здатністю адреналіну змінювати проникність клітинної мембрани тромбоцитів до іонів кальцію та не залежить від утворення чи вивільнення тромбоксану A_2 . І тільки вторинна агрегація під впливом адреналіну виникає внаслідок вивільнення та продукції тромбоксану A_2 [7]. Також зауважимо: показники площі під кривою в нашому дослідженні були більш чутливими та мали статистичні відмінності за всіма індексами (за 1, 5 та 10 хв) протягом 10-хвилинного запису.

Дослідження функціональних властивостей кров'яних пластинок у гіпертензивних хворих свідчать, що тромбоцити відіграють суттєву роль у патогенезі ГХ [8]. Показано, що тромбоцити хворих на ГХ мають підвищений вміст у цитоплазмі кальцію [9], β -тромбоглобуліну [10] та порушення регуляції α_2 -адренорецепторів [11]. Дані наукової літератури вказують на зміни тромбоцитарної активності у хворих на неускладнену артеріальну гіпертензію (АГ) у бік підвищення їхніх агрегаційних властивостей.

Своєчасна діагностика, корекція порушень тромбоцитарної ланки атеротромбозу може стати запорукою поліпшення результатів профілактики та лікування життєво загрозливих станів і, як наслідок, зменшення показників серцево-судинної смертності.

Висновки

1. Турбідиметрична (оптична) агрегація тромбоцитів із використанням як індуктора адреналіну в кінцевий

концентрації 5 $\mu\text{моль/л}$ дає можливість здійснити оцінювання якісних і кількісних показників функціональної активності тромбоцитів у хворих на неускладнену та ускладнену гіпертонічну хворобу.

2. У хворих на гіпертонічну хворобу, що ускладнена гострим ішемічним пікульним інсультом, спостерігається чимале зниження (на 56–84 %) кількісних показників адреналін-індукованої агрегації тромбоцитів порівняно з аналогічними показниками хворих на гіпертонічну хворобу, які досягли цільового рівня артеріального тиску.

3. У хворих на гіпертонічну хворобу, що ускладнена гострим ішемічним пікульним інсультом, переважають типи адреналін-індукованих агрегатограм, які характеризуються частковим чи повним пригніченням агрегаційного процесу, а також відбувається вірогідне зниження (до 4 %) виявлення типу агрегації тромбоцитів із прискореною фазою звільнення, що характеризує початок другої хвилі агрегації тромбоцитів.

Перспективи подальших досліджень. Наступні наукові дослідження полягають у визначенні особливостей агрегації тромбоцитів у хворих на неускладнену та ускладнену гіпертонічну хворобу з використанням інших індукторів агрегації, що передбачені сучасними міжнародними рекомендаціями, та здійсненні аналізу впливу медикаментозної терапії на зміни показників функціональної активності тромбоцитів.

Список літератури

- [1] Проблеми здоров'я і медичної допомоги та модель покращення в сучасних умовах: посібник / Нац. акад. мед. наук України, Нац. наук. центр, Ін-т кардіології ім. акад. М. Д. Стражеска; під ред. В. М. Коваленко, В. М. Корнацький. – К.: Гордон, 2016. – 261 с.
- [2] Michelson A.D. Platelets / A.D. Michelson. – Academic press, 2013. – 1398 p.
- [3] Development of North American consensus guidelines for medical laboratories that perform and interpret platelet function testing using light transmission aggregometry / C.P.M. Hayward, K.A. Moffat, A. Raby et al. // *Am.J.Clin.Pathol.* – 2010. – Vol. 134(6). – P. 955–963.
- [4] Recommendation for the standardization of light transmission aggregometry: a consensus of the working party from the platelet physiology subcommittee of SSC/ISTH / M. Cattaneo, C. Cerletti, P. Harrison et al. // *J. Thromb. Haemost.* – 2013. – Vol. 11. – P. 1183–1189.
- [5] Серцево-судинні захворювання. Класифікація, стандарти діагностики та лікування / Асоціація кардіологів України; за ред. акад. В. М. Коваленко [та ін.]. – К.: Мопіон, 2016. – 192 с.
- [6] Sharathkumar A.A. Platelet function disorders [Treatment of hemophilia] / A.A. Sharathkumar, A. Shapiro. – USA: World Federation of Hemophilia, 2008. – P. 28.
- [7] Brass L. Understanding and Evaluating Platelet Function / L. Brass // *Hematology.* – 2010. – Vol. 1. – P. 387–396.
- [8] Система гемостаза при гіпертонічній хворобі / Т.Е. Цимбалова, В.Г. Барінов, Д.А. Затеїшчиков і др. // *Новості науки і техніки: реферативний збірник. Серія: Медицина. Випуск: Гематологія.* – 1999. – № 6. – С. 1–10.
- [9] Le Quan Sang K.H. Increased platelet cytosolic free calcium concentration in essential hypertension / K.H. Le Quan Sang, M.A. Devynck // *J. Hypertens.* – 1986. – Vol. 4. – P. 567–574.
- [10] Keskin A. Fibrinolytic activity and platelet release reaction in essential hypertension / A. Keskin, M. Tombuloglu, F. Buyukkececi // *Jpn. Heart J.* – 1994. – Vol. 35(6). – P. 757–763.
- [11] Relationship between arterial blood pressure disturbances and alpha adrenoceptors density / M. Galinier, J.M. Senard, P. Valet et al. // *Clin. and Exp. Hypertens.* – 1994. – Vol. 16. – №3. – P. 373–389.

References

- [1] Kovalenko, V. M., & Kornatskyi, V. M. (Eds) (2016) *Problemy zdorovia i medychnoi dopomohy ta model pokrashchennia v suchasnykh umovakh* [Health and medical care problems, and up-to-day improvement model]. Kyiv: Hordon [in Ukrainian].
- [2] Michelson, A. D. (2013) *Platelets*, Academic press.

- [3] Hayward, C. P. M., Moffat, K. A., Raby, A., Israels, S., Plumhoff, E., Flynn, G., & Zehnder, J. L. (2010) Development of North American consensus guidelines for medical laboratories that perform and interpret platelet function testing using light transmission aggregometry. *Am J Clin Pathol*, 134(6), 955–963. doi: <https://doi.org/10.1309/AJCP9V3RRVNZMKDS>.
- [4] Cattaneo, M., Cerletti, C., Harrison, P., Hayward, C. P. M., Kenny, D., Nugent, D., et al. (2013) Recommendation for the standardization of light transmission aggregometry: a consensus of the working party from the platelet physiology subcommittee of SSC/ISTH. *J Thromb Haemost*, 11, 1183–1189. doi: [10.1111/jth.12231](https://doi.org/10.1111/jth.12231).
- [5] Kovalenko, V. M. (Ed) (2016) *Sertsevo-sudynni zakhvoriuvannia. Klyasyfikatsiia, standarty diahnozyky ta likuvannia* [Cardiovascular diseases: Classification, practical protocols of diagnosis and treatment]. Kyiv: Morion [in Ukrainian].
- [6] Sharathkumar, A. A., & Shapiro, A. (2008) *Platelet function disorders [Treatment of hemophilia]*. USA: World Federation of Hemophilia.
- [7] Brass, L. (2010) Understanding and evaluating platelet function. *Hematology*, 1, 387–396. doi: [10.1182/asheducation-2010.1.387](https://doi.org/10.1182/asheducation-2010.1.387).
- [8] Cimbalo, T. E., Barinov, V. G., Zatejshchikov, D. A., & Kudryashova, O. Yu. (1999) *Sistema gemostaza pri gipertonicheskoi bolezni* [Hemostasis system in hypertensive disease]. *Novosti nauki i tekhniki: referativnyi sbornik. Seriya: Medicina. Vypusk: Gematologiya*, 6, 1–10. [in Russian].
- [9] Le Quan Sang, K. H., & Devynck, M. A. (1986) Increased platelet cytosolic free calcium concentration in essential hypertension. *J Hypertens*, 4(5), 567–574. doi: [10.1097/00004872-198610000-00008](https://doi.org/10.1097/00004872-198610000-00008).
- [10] Keskin, A., Tombuloglu, M., & Buyukkececi, F. (1994) Fibrinolytic activity and platelet release reaction in essential hypertension. *Jpn Heart J*, 35(6), 757–763. doi: [10.1536/ihj.35.757](https://doi.org/10.1536/ihj.35.757).
- [11] Galinier, M., Senard, J.M., Valet, P., Doazan, J.P., Durrieu, G., Tran, M.A. (1994) Relationship between arterial blood pressure disturbances and alpha adrenoceptors density. *Clin and Exp Hypertens*, 16(3), 373–389. <http://dx.doi.org/10.3109/10641969409072223>.

Відомості про авторів:

Жеманюк С. П., аспірант, асистент каф. пропедевтики внутрішніх хвороб із доглядом за хворими, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Сиволап В. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. пропедевтики внутрішніх хвороб із доглядом за хворими, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Жеманюк С. П., аспирант, ассистент каф. пропедевтики внутренних болезней с уходом за больными, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Сиволап В. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. пропедевтики внутренних болезней с уходом за больными, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Zhemanuk S. P., Postgraduate Student, Assistant of the Department of Propedeutics to Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Syvolap V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Propedeutics to Internal Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 20.02.2017

Після доопрацювання / Revised: 27.02.2017

Прийнято до друку / Accepted: 01.03.2017

Патогістологічні особливості та кореляційні залежності між морфологічними показниками ураження за форми гематогенного остеомієліту абсцес Броді

В. В. Григоровський, М. П. Грицай, А. С. Гордій, О. Б. Лютко, А. В. Григоровська

ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ, Україна

Мета роботи – на основі патогістологічних досліджень осередків деструктивної форми гематогенного остеомієліту з латентним перебігом (абсцес Броді) та здійсненого градаційно-частотного аналізу напівкількісних показників, що відбивають особливості структури осередків, встановити кореляційні залежності між окремими морфологічними показниками стану тканин осередків ураження.

Матеріали та методи. Матеріалом дослідження були фрагменти уражених тканин патологічних осередків від 25 хворих з абсцесом Броді (від 6 хворих матеріал одержано двічі). За локалізаціями осередків розподіл такий: великогомілкова кістка – 24 випадки, стегнова – 4, п'ятова кістка – 2, ключиця – 1. Усього виконано 31 гістологічне та напівкількісне гістоморфометричне дослідження, на основі морфологічних показників виконали градаційно-частотний кореляційний аналіз з обрахуванням коефіцієнта асоціації.

Результати. Абсцес Броді – варіант деструктивної форми гематогенного остеомієліту, має певні клінічні та клініко-лабораторні особливості, а осередки ураження – характерні патологічні зміни. Зокрема, середні параметри таких клініко-лабораторних показників, як питома кількість лейкоцитів і частка паличкоядерних лейкоцитів у формулі не виходять за межі діапазону значень норми. У більшості випадків абсцесу Броді з тканин висівають золотистий стафілокок. Основні патоморфологічні зміни за абсцесу Броді стосуються будови капсули, некротичних і резорбтивних змін перекладок спонгії, особливостей продуктивно-інфільтративного та ексудативного запалення в капсулі осередку. Частіше трапляються випадки, за яких внутрішня оболонка відповідає будові грануляційної тканини, ексудативне запалення частіше – низької активності, продуктивне, навпаки – високої активності, здебільшого серед тканин трапляються дрібні секвестри.

Висновки. Між окремими морфологічними показниками стану тканин осередків абсцесу Броді встановлено високо вірогідні ($p < 0,01$) кореляційні зв'язки, що відповідають значенням коефіцієнта асоціації в діапазоні значень $r_s = 0,4-0,6$: – «переважання грануляційної тканини в капсулі» – «переважання продуктивного запалення високої активності» – залежність позитивна, слабкої тісноти; – «переважання грануляційної тканини в капсулі» – «наявність дрібних секвестрів» – залежність позитивна, слабкої тісноти; – «переважання продуктивного запалення високої активності» – «наявність дрібних секвестрів» – залежність позитивна, середньої тісноти.

Ключові слова:

гематогенний остеомієліт, абсцес Броді, патогістологічні особливості, морфологічні показники, кореляційний аналіз.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 75–82

DOI:
10.14739/2310-1237.2017.1.97322

E-mail:
val_grigorov@bigmir.net

Патогистологические особенности и корреляционные зависимости между морфологическими показателями поражения при форме гематогенного остеомиелита абсцесс Броди

В. В. Григоровский, Н. П. Грицай, А. С. Гордий, О. Б. Лютко, А. В. Григоровская

Цель работы – на основании патогистологических исследований очагов деструктивной формы гематогенного остеомиелита с латентным течением (абсцесс Броди) и проведения градационно-частотного анализа полуколичественных показателей, отражающих особенности структуры очагов, установить корреляционные зависимости между отдельными морфологическими показателями состояния тканей очагов поражения.

Материалы и методы. Материалом исследования послужили фрагменты поражённых тканей патологических очагов 25 больных с абсцессом Броди (от 6 больных материал получен дважды). По локализации очагов распределение такое: большеберцовая кость – 24 случая, бедренная – 4, пяточная кость – 2, ключица – 1. Всего выполнено 31 гистологическое и полуколичественное гистоморфометрическое исследование, на основании морфологических показателей проведены градационно-частотный и корреляционный анализ с расчётом коэффициента ассоциации.

Результаты. Абсцесс Броди – вариант деструктивной формы гематогенного остеомиелита, имеет определённые клинические и клиничко-лабораторные особенности, а очаги поражения – характерные патологические изменения. В частности, средние параметры таких клиничко-лабораторных показателей, как удельное количество лейкоцитов и доля паличкоядерных лейкоцитов в формуле не выходят за пределы диапазона значений нормы. В большинстве случаев абсцесса Броди из тканей высеивают золотистый стафилококк. Основные патоморфологические изменения при абсцессе Броди касаются строения капсулы, некротических и резорбтивных изменений перекладок спонгиоза, особенностей продуктивно-инфильтративного и экссудативного воспаления в капсуле очага. Часте встречаются случаи, при которых внутренняя оболочка соответствует строению грануляционной ткани, экссудативное воспаление чаще – низкой активности, продуктивное, наоборот – высокой активности, в большинстве случаев среди тканей попадают мелкие секвестры.

Ключевые слова:

гематогенный остеомиелит, абсцесс Броди, патогистологические особенности, морфологические показатели, корреляционный анализ.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 75–82

Выводы. Между отдельными морфологическими показателями состояния тканей очагов абсцесса Броди установлены высоко достоверные ($p < 0,01$) корреляционные связи, которые соответствуют значениям коэффициента ассоциации в диапазоне значений $r_a = 0,4-0,6$:

- «преобладание грануляционной ткани в капсуле» – «преобладание продуктивного воспаления высокой активности» – зависимость положительная, слабой тесноты;
- «преобладание грануляционной ткани в капсуле» – «наличие мелких секвестров» – зависимость положительная, слабой тесноты;
- «преобладание продуктивного воспаления высокой активности» – «наличие мелких секвестров» – зависимость положительная, средней тесноты.

Key words:

hematogenous osteomyelitis, Brodie's abscess, pathohistological features, morphological indices, nonparametric statistics.

Pathologia

2017; 14 (1), 75–82

Pathohistological features and correlations between morphological indices of damage in the form of hematogenous osteomyelitis – Brodie abscess

V. V. Hryhorovskiy, M. P. Hrytsai, A. S. Hordii, O. B. Liutko, A. V. Hryhorovska

Research objective: On the basis of pathohistological research of the destructive form of hematogenous osteomyelitis with a latent course foci (Brodie's abscess) and performing of the grade-frequency analysis of the semi-quantitative indices reflecting features of the foci structure to find correlations between some morphological indices of a tissue condition in the damage foci.

As **research material** fragments of the damaged tissues of the pathological foci of 25 patients with Brodie abscess (from 6 patients tissue material was received twice) served. By the localization of the foci distribution was the following: tibia – 24 cases, femur – 4, calcaneus – 2, clavicle – 1. In total 31 histologic and semi-quantitative histomorphometric researches were performed, on the basis of morphological indices the grade-frequency and correlation analysis with association coefficient determination were carried out.

Results. Brodie abscess – a variant of the destructive form of hematogenous osteomyelitis, has certain clinical and clinic-laboratory features, and the lesion foci – characteristic pathological changes. Particularly, average parameters of such clinic-laboratory indices as specific leukocytes number and a portion of stab leukocytes in the formula did not fall outside the limits of normal values. In most cases of Brodie abscess *Staphylococcus aureus* was seeded from tissues.

The main pathomorphological changes at Brodie abscess involve capsule structures, necrotic and resorptive changes of spongiosa trabecules, features of productive-infiltrative and exudative inflammations in a focus capsule. The cases at which the internal membrane corresponds to a granulation tissue structure, exudative inflammation more often was of low activity, productive inflammation, on the contrary – more often was of high activity; in most cases within tissues small sequestrs occur.

Conclusions. Between some morphological indices of Brodie abscess foci tissue condition high significant ($p < 0.01$) correlations which correspond to values of association coefficient in the range of values $r_a = 0.4-0.6$ were found:

- “granulation tissue prevalence in the capsule” – “productive inflammation of high activity prevalence” – positive dependence, weak association;
- “granulation tissue prevalence in the capsule” – “presence of small sequestrs” – positive dependence, weak association;
- “productive inflammation of high activity prevalence” – “presence of small sequestrs” – dependence positive, moderate association.

Неспецифічні інфекційні запальні процеси в кістках (остеомиєліти) посідають чільне місце серед різноманітної патології органів опорно-рухової системи. З одного боку, вони трапляються порівняно часто як самостійні захворювання, що викликані різноманітними бактеріями та уражують різні кістки, з іншого боку, часто імітують гіперпластичні, пухлиноподібні та істинно пухлинні процеси, що створює діагностичні труднощі під час клініко-морфологічної діагностики [1–3].

Клінічні, клініко-лабораторні, візуалізаційні прояви остеомиєлітів не завжди відповідають загальновідомим стереотипам, що ще більше утруднює їхню діагностику [3,4]. Так, в останні десятиліття співвідношення випадків гострого, так званого первинного підгострого та хронічного гематогенного остеомиєлітів (ГО) схилиється у бік підгострого [1,5]. Практика дитячої ортопедії свідчить, що випадки остеомиєліту без гострого, бурхливого перебігу початкової, власне, гострої стадії, включаючи абсцес Броді, трапляються все частіше, а відтак і створюються діагностичні проблеми [6–8]. Описані навіть поодинокі випадки розвитку абсцесу Броді як

наслідок остеосинтезу після травматичного перелому довгої кістки [9].

З-поміж випадків ГО з «атиповим», латентним клінічним перебігом на підставі ґрунтовних клініко-морфологічних досліджень виділено деструктивну та фіброзівну (склерозивну) форми, пізніше, як варіант морфологічної картини ураження, серед випадків фіброзівної форми стали виділяти форму фіброзівну з мікроабсцедуванням [2,10]. І хоча деякі патоморфологічні особливості відомі з наукової літератури, детальні аналітичні дослідження деструктивної форми ГО з латентним перебігом досі не проводились. Зокрема, не відомі градаційно-частотні характеристики морфологічних показників, котрі відбивають загальну структуру патологічних осередків, вид ексудативного та продуктивного запалення у внутрішній оболонці капсули, наявність і розміри такого характерного виду ураження кісткової тканини як секвестри. Відсутні також дослідження кореляційних зв'язків між окремими морфологічними показниками, що характеризують стан тканин патологічних осередків за абсцесу Броді.

Мета роботи

На підставі патогістологічних досліджень осередків деструктивної форми ГО з латентним перебігом (абсцесу Броді) та здійснення градаційно-частотного аналізу напівкількісних показників, що відбивають особливості структури осередків, встановити кореляційні залежності між окремими морфологічними показниками стану тканин осередків ураження.

Матеріали і методи дослідження

Матеріал дослідження – фрагменти уражених тканин патологічних осередків від 25 хворих з абсцесом Броді, яким за відповідними показами виконували операції некректомії з наступною пролонгованою антибіотикотерапією. Шести хворим операції некректомії виконували двічі, з інтервалом 2–4 місяці, резектовані тканини осередків абсцесу Броді оцінювали як окремі випадки. За локалізаціями осередків абсцесу Броді розподіл матеріалу такий: великогомілкова кістка – 24 випадки, стегнова – 4, п'ятова кістка – 2, ключиця – 1. Усього виконали 31 гістологічне та напівкількісне гістоморфометричне дослідження. Після патогістологічного дослідження фрагментів ураженої кісткової тканини з пофарбуванням зрізів гематоксиліном та еозином і гематоксиліном і пікрофуксином за Ван Гізоном визначено та градаційно квантифіковано низку морфологічних показників, які різнобічно характеризують стан уражених тканин осередку. На підставі цих показників виконали градаційно-частотний аналіз і кореляційний аналіз непараметричних даних з обрахуванням коефіцієнта асоціації, його абсолютного значення, знака та ступеня вірогідності.

Результати та їх обговорення

Клінічні та клініко-лабораторні показники. Дані статистичного та градаційно-частотного аналізу за деякими клінічними, клініко-лабораторними та морфологічними показниками наведені в таблиці 1.

Середній вік хворих на абсцес Броді становив майже 30 років, причому хворих двох перших десятиліть життя було тільки 7, хворих у діапазоні третього–четвертого десятиліть – більш ніж половина всієї групи хворих (14), відтак можна вважати, що це захворювання уражує переважно молодих дорослих людей. Загальна давність захворювання на абсцес Броді відзначалась чималою варіацією, середнє значення становило понад 3,5 року, хоча в чотирьох випадках давність захворювання була менша ніж 3 місяці, що можна розцінювати як таку, що не перевищує межі тривалості циклу гострого ГО. Умовна площа зображення патологічного осередку на рентгені, КТ або МРТ також значно варіювала: від 4–5–6 до 75 см × см.

Середня величина питомої кількості лейкоцитів крові у хворих на абсцес Броді розташована поблизу верхньої межі діапазону норми (8,0 тис/куб. мм), але в 12 випадках більшою чи меншою мірою перевищувала її, а у 5 випадках – перевищувала 10,0 тис/куб. мм). Середній параметр частки паличкоядерних лейкоцитів лежав у межах норми (не перевищував 4). Середні

значення інших параметричних клініко-лабораторних показників перевищували верхню межу діапазону відповідної норми. У більшості випадків (понад 60 %) з тих, де виконували мікробіологічне дослідження, висіано різні штами патогенного золотистого стафілокока.

Патоморфологічні зміни в осередках ураження. Абсцес Броді являє собою осередок деструкції в кістці, здебільшого добре окреслений, часто із зоною остеосклерозу, що є контурованою на рентген- і КТ-зображеннях (рис. 1, 2). Як будь-який деструктивний осередок остеомієліту, абсцес Броді має капсулу складної будови, в якій розрізняють дві або три оболонки: внутрішню, фіброзну та кісткову (остання може бути слабо виражена). Порожнина осередку остеодеструкції заповнена фібринозним ексудатом, некротичними масами, містить дрібні секвестри, зі стінок у напрямі центру виступають гіперпластичні розростання внутрішньої оболонки (рис. 3). Трапляються ділянки капсули осередків, де внутрішня та фіброзна оболонки наче пронизані, як каркасом, частково некротизованими кістковими перекладками (рис. 4).

Найбільше значення для характеристики стану запалення в осередку абсцесу Броді має внутрішня оболонка, котра побудована з грануляційної тканини різного ступеня зрілості, яка утворює примхливі тканинні розростання (рис. 1, 5), останні у вигляді ворсинок і подушок на товстих ніжках часто тісно прилягають одне до одного, між ними утворюються неправильної форми щілини, що заповнені фібринозним або фібринозно-гнійним ексудатом, і лежать дрібні секвестри. Гіперпластичні розростання побудовані з незрілих фіброblastів і містять скупчення макрофагів. Однак трапляються випадки, де внутрішня оболонка капсули осередку є порівняно тонкою (рис. 6). У частині випадків у тканині внутрішньої оболонки де-не-де траплялися ділянки з ознаками фібринозного або гнійного запалення.

Характерною особливістю проявів запального процесу за абсцесу Броді є велика кількість одномітних запальних клітинних інфільтратів (рис. 7). Склад і щільність цих інфільтратів дещо варіює, але переважають мононуклеари та плазмоцити, присутня також певна кількість макрофагів і багатоядерних клітин остеокластичного типу (рис. 8). У деяких місцях тканини внутрішньої оболонки до щільного мононуклеарно-плазмоцитарного інфільтрату в певній кількості присутня домішка нейтрофілоцитів, включно – дистрофічно змінених, проте скупчення клітин, що складаються із суцільних нейтрофілоцитів, трапляються рідко.

Ділянки запальної інфільтрації внутрішньої оболонки капсули назовні поступово переходять у тканину фіброзної оболонки, що була побудована з більш зрілої гіповаскуляризованої тканини, міжклітинна речовина містить товсті пучки колагенових волокон, а клітини відповідають зрілим фіброblastам і фіброцитам. У фіброзній оболонці не трапляються осередки гнійного або фібринозно-гнійного запалення. Клітинні інфільтрати здебільшого є дуже щільними, дифузними й такими, що зливаються, та складаються переважно з мононуклеарів, плазмоцитів, макрофагів. Така гістологічна картина відповідає продуктивно-інфільтративному запаленню високої активності. У меншій частині випадків запальні інфільтрати у фіброзній оболонці переважають як

Таблиця 1. Середні параметри та частоти трапляння випадків з окремими градаціями клінічних, клініко-лабораторних показників, що відбивають стан хворих, та морфологічних показників, котрі характеризують стан патологічних процесів у кістках хворих на деструктивну форму ГО з латентним перебігом (абсцес Броді)

Назва показника	Загальна характеристика показника, одиниці виміру та опис градацій вираженості	Групові вимірні та частотні параметри у хворих на абсцес Броді
Клінічні показники		
Вік хворих під час біопсії	Параметричний показник, вимірюється у роках	30* 29,57 ± 2,88
Загальна давність захворювання на остеомієліт на момент біопсії	Параметричний показник, вимірюється у місяцях	22* 43,64 ± 12,63
Умовна площа зображення патологічного осередку на рентгені або МРТ перед біопсією	Параметричний показник, вимірюється у см × см	24* 15,65 ± 3,28
Клініко-лабораторні показники		
Лейкоцити крові	Параметричний показник, вимірюється числом тисяч клітин у куб. мм	24* 7,95 ± 0,58
Паличкоядерні лейкоцити	Параметричний показник, вимірюється як частка серед 100 клітин лейкоцитарної формули	24* 2,58 ± 0,38
Швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ)	Параметричний показник, вимірюється у мм/год	24* 23,50 ± 4,83
С-реактивний протеїн	Параметричний показник, вимірюється в мг/л	20* 50,10 ± 9,76
Аглютинація з полівалентним штамом золотистого стафілокока	Параметричний показник, вимірюється в показниках діагностичного титру ⁻¹	21* 1112,38 ± 133,63
Антистрептолізин-О	Параметричний показник, вимірюється в міжнародних одиницях/мл	21* 289,52 ± 40,73
Виділення бактерій із тканин осередку абсцесу Броді	Непараметричний показник. Низький ступінь: відсутність росту або висіяно епідермальний стафілокок	7/18** 38,89 %
	Високий ступінь: висіяно золотистий стафілокок	11/18 61,11 %
Морфологічні показники		
Переважає певного виду сполучної тканини у внутрішній оболонці капсули осередку	Непараметричний показник. Низький ступінь: внутрішня оболонка побудована переважно з незрілої або зрілої фіброзної тканини	9/30** 30,00 %
	Високий ступінь: внутрішня оболонка побудована переважно з грануляційної тканини	21/30 70,00 %
Ексудативне запалення у внутрішній оболонці капсули осередку	Непараметричний показник. Низький ступінь: запалення низької активності (фібринозне)	12/18** 66,67 %
	Високий ступінь: запалення високої активності (гнійне або фібринозно-гнійне)	6/18** 33,33 %
Продуктивне запалення у внутрішній і фіброзній оболонках капсули осередку	Непараметричний показник. Низький ступінь: переважає запалення низької активності	9/31** 29,03 %
	Високий ступінь: переважає запалення високої активності	22/31** 70,97 %
Наявність дрібних секвестрів	Непараметричний показник. Низький ступінь: секвестри відсутні	12/29** 41,38 %
	Високий ступінь: дрібні секвестри присутні	17/29** 58,62 %

*: у таких комірках вміщено число випадків, середня величина ± стандартна помилка середньої;

** у таких комірках вміщено число випадків, що відповідають цій градації/загальне число випадків, які враховано, частота трапляння в %.

розрізнені, периваскулярні скупчення мононуклеарів, макрофагів й плазмоцитів, із числом клітин у кілька десятків – таке запалення оцінювали як продуктивно-інфільтративне низької активності.

Губчаста та компактна кісткова тканина, яка міститься в зоні фіброзної оболонки або зовні прилягає до неї, несе ознаки перебудови, що триває. У кістковій тканині трапляється багато хаотично розташованих цементальних ліній, дрібних і великих інтерстиційних остеонекрозів, поліморфних резорбційних порожнин; на стінках порожнин і поверхнях перекладок визначаються новоутворені остеоїдно-кісткові нашарування.

Морфометричні показники. При градаційно-частотному аналізі трапляння випадків різних градацій морфологічних показників стану тканин осередків ураження за абсцесу Броді (табл. 1) набагато частіше, принаймні, вдвічі; трапляються випадки, коли внутрішня оболонка побудована з грануляційної тканини, де ексудативне запалення має низьку активність, а продуктивне запалення – високу. Осередки абсцесу Броді, де за гістологічного дослідження знаходили дрібні секвестри, траплялись дещо частіше, ніж ті, де секвестри були відсутні.

Кореляційний аналіз зв'язків. Дослідження кореляційних зв'язків між окремими морфологічними показниками з обрахуванням коефіцієнта асоціації (табл. 2) виявило кілька пар показників, де параметри зв'язку були статистично вірогідними, за наявного числа спостережень. Однак усі ці пари показали наявність зв'язків у діапазонах слабкої або середньої тісноти. Так, заслуговують на увагу пари показників із найбільшими та вірогідними ($p < 0,01$) абсолютними значеннями коефіцієнта асоціації:

– «переважання грануляційної тканини в капсулі» – «переважання продуктивного запалення високої активності» – залежність позитивна, слабкої тісноти. Це означає, що в понад 2/5 осередків, де у внутрішній оболонці переважає грануляційна тканина, в капсулі вірогідно переважає продуктивне запалення високої активності;

– «переважання грануляційної тканини в капсулі» – «наявність дрібних секвестрів» – залежність позитивна, слабкої тісноти (параметр близький до середнього). Це означає, що майже в половині осередків, де у внутрішній оболонці переважає грануляційна тканина, серед тканин осередку вірогідно виявляються дрібні секвестри;

– «переважання продуктивного запалення високої активності» – «наявність дрібних секвестрів» – залежність позитивна, середньої тісноти. Це означає, що в половині осередків, де в капсулі переважає продуктивне запалення високої активності, серед тканин осередку вірогідно виявляються дрібні секвестри.

Обговорення. Клінічний перебіг ГО в наші дні виявляє суттєві відмінності від випадків, що описані у фаховій літературі останніх десятиліть ХХ ст. Так, до 40 % усіх захворювань на ГО мають афебрильний перебіг; з-поміж клініко-лабораторних методів високий лейкоцитоз властивий тільки тяжким випадкам остеомиєліту; найбільший параметр діагностичної чутливості має поєднання даних ШОЕ та визначення С-реактивного протеїну; серед візуалізованих методів

Таблиця 2. Результати кореляційного аналізу зв'язків між окремими морфологічними показниками стану патологічних змін у кістках хворих на абсцес Броді: кореляції «морфологія – морфологія».

Градації морфологічних показників – див. таблицю 1.

Перший морфологічний показник	Другий морфологічний показник	n, число врахованих випадків з параметрами обох показників	Коефіцієнт асоціації та вірогідність його параметра		
			r_a	t_ϕ	Оцінка вірогідності r_a при $k = n-1$, p
Переважає незрілої (грануляційної) тканини в капсулі осередку	Ексудативне запалення у внутрішній оболонці капсули осередку	18	-0,088	0,374	НВ
Переважає незрілої (грануляційної) тканини в капсулі осередку	Продуктивне запалення у внутрішній і фіброзній оболонках капсули осередку	30	+0,428	2,591	<0,01
Переважає незрілої (грануляційної) тканини в капсулі осередку	Наявність дрібних секвестрів	29	+0,496	3,074	<0,01
Ексудативне запалення у внутрішній оболонці капсули осередку	Продуктивне запалення у внутрішній і фіброзній оболонках капсули осередку	18	+0,439	2,070	<0,1
Ексудативне запалення у внутрішній оболонці капсули осередку	Наявність дрібних секвестрів	17	+0,288	1,239	НВ
Продуктивне запалення у внутрішній і фіброзній оболонках капсули осередку	Наявність дрібних секвестрів	29	+0,508	3,174	<0,01

r_a : значення коефіцієнта асоціації; t_ϕ : фактичне значення критерію Стюдента під час оцінювання вірогідності параметра зв'язку r_a ; p : імовірність помилки при обчисленні параметра зв'язку; **НВ**: значення коефіцієнта асоціації невірні для наявного числа спостережень ($p > 0,1$).

найінформативнішим вважають МРТ як такий, що поєднує високу чутливість і специфічність щодо ГО [1,3].

В одному з досліджень великого масиву (256) випадків ГО встановлено співвідношення захворювань із гострим (31,1 %), підгострим (40,1 %) та хронічним перебігом (28,8 %), причому в осіб чоловічої статі підгострий траплявся частіше, водночас метафізарно-діафізарна локалізація частіше траплялась у хворих на ГО жіночої статі. Автори вважають, що хронічний ГО не можна вилікувати без застосування секвестрэктомії та резекції, з наступною пластикою матеріалом-замінником кісткової тканини. Гострий і підгострий ГО потребують рівною мірою як хірургічного, так і консервативного медикаментозного лікування, що передбачає міждисциплінарну взаємодію хірурга-ортопеда, інфекціоніста та спеціаліста з пластичної хірургії [5].

Дані наукової літератури та власних патоморфологічних досліджень випадків абсцесу Броді дають

підстави визначити його як варіант перебігу деструктивної форми гематогенного, рідше травматичного, остеомієліту, якому властивий латентний клінічний перебіг. На відміну від класичного варіанта ГО як захворювання з вираженою інтоксикацією, патологічними змінами тканин кінцівки, що властиві для гострого або хронічного запалення: різким набряком тканин, гіперемією, сильним болем, підвищенням температури понад 38 °C, зсувом параметрів числа лейкоцитів, лейкоцитарної формули, ШОЕ, С-реактивного протеїну тощо [1,2] – за латентного перебігу ГО клінічні симптоми здебільшого виражені слабо. Дебют захворювання зазвичай не має ознак гострого інфекційно-токсичного захворювання, з характерними відхиленнями клініко-лабораторних показників та утворенням гострого абсцесу, який згодом переходить у хронічну стадію, з персистуванням гнійного запалення в капсулі осередку, формуванням секвестрів і періодично функціонуючих

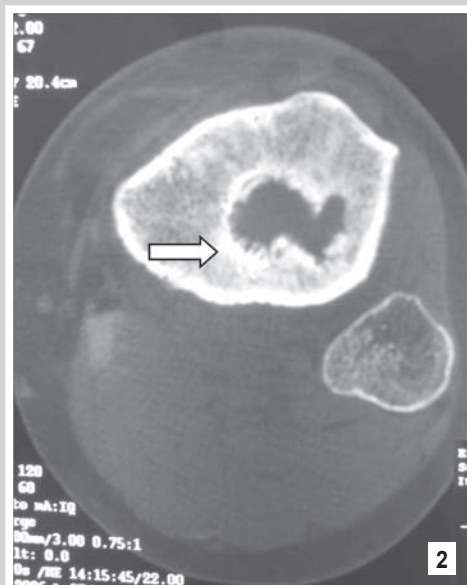


Рис. 1. Вигляд абсцесу Броді на рентгенограмі; осередок деструкції позначено стрілкою. Добре помітна зона перифокального остеосклерозу. Фото рентгенограми великогомілкової кістки хворого Н-ка, 34 років.

Рис. 2. Вигляд абсцесу Броді на КТ-зображенні. Осередок деструкції спонгії метафізи окреслений зоною остеосклерозу (позначена стрілкою). Фото КТ великогомілкової кістки хворого Н-ка, 34 років.

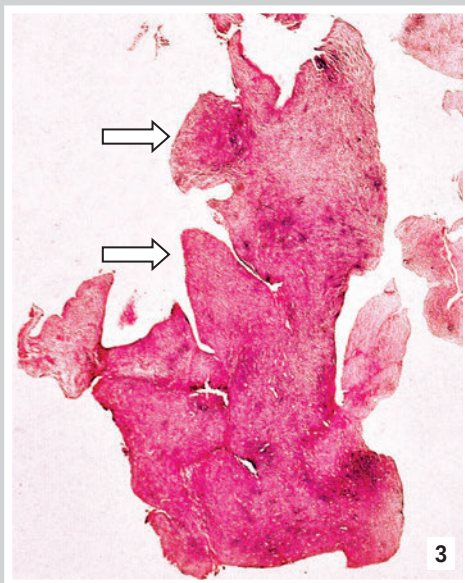


Рис. 3. Внутрішня оболонка товстої капсули осередку утворює гіперпластичні розростання грануляційної тканини (позначені стрілками). Мікрофото гістопрепарату тканин осередку хворого О-ця, 37 років. Пофарбування гематоксиліном та еозином. Загальне збільшення $\times 20$.

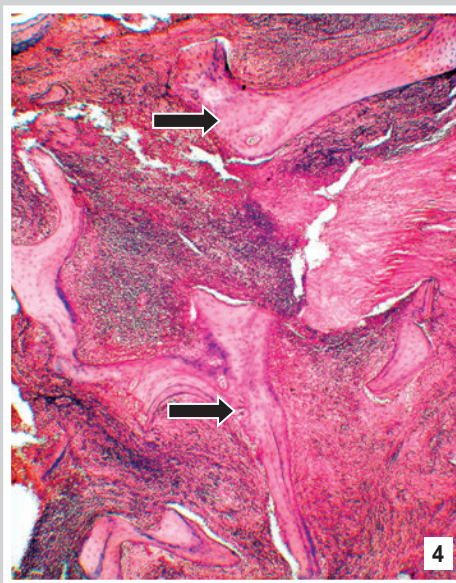


Рис. 4. Тканина внутрішньої оболонки капсули абсцесу розташована між кістковими перекладками спонгії (позначені стрілками). Мікрофото гістопрепарату тканин осередку хворого В-ча, 30 років. Пофарбування гематоксиліном та еозином. Загальне збільшення $\times 30$.

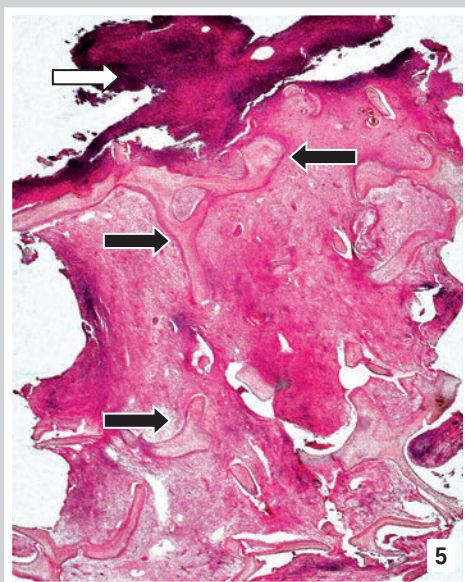


Рис. 5. Внутрішня оболонка капсули утворює розростання (біла стрілка), фіброзну оболонку пронизують трабекули спонгії (чорні стрілки). Мікрофото гістопрепарату тканин осередку хворого К-ва, 25 років. Пофарбування гематоксиліном та еозином. Загальне збільшення $\times 30$.



Рис. 6. Ділянка «тонкої» внутрішньої оболонки капсули осередку (біла стрілка). Слабка запальна інфільтрація фіброзної оболонки (чорні стрілки) помітно відрізняється від значної інфільтрації внутрішньої оболонки. Мікрофото гістопрепарату тканин осередку хворої Л-ан, 13 років. Пофарбування гематоксиліном та еозином. Загальне збільшення $\times 30$.

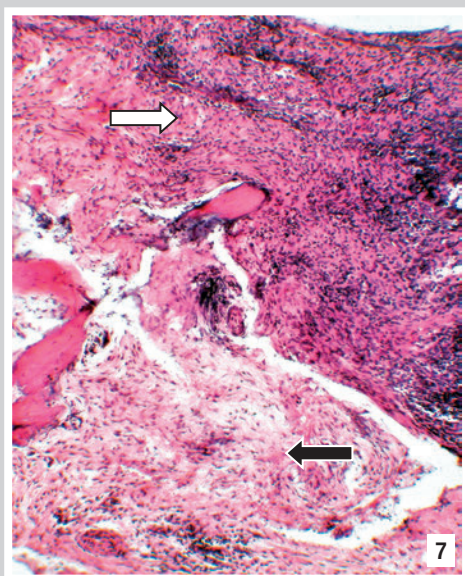


Рис. 7. Стінка деструктивного осередку за абсцесу Броді. Щільність запальних інфільтратів у внутрішній (біла стрілка) та фіброзній (чорна стрілка) оболонках помітно відрізняється. Мікрофото гістопрепарату тканин осередку хворого Х-ка, 22 років. Пофарбування гематоксиліном та еозином. Загальне збільшення $\times 30$.

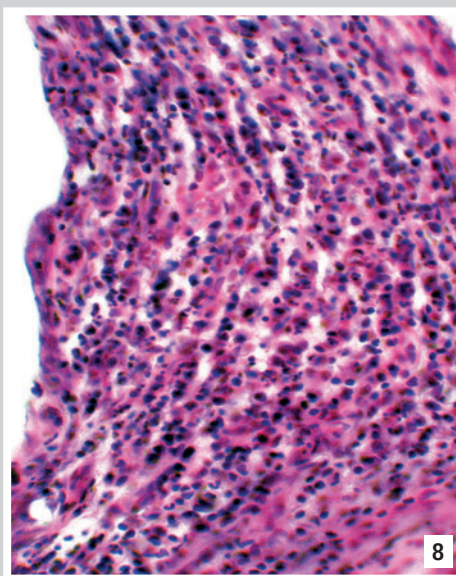


Рис. 8. Грануляційна тканина внутрішньої оболонки капсули осередку містить щільні запальні інфільтрати, в яких переважають мононуклеари, макрофаги та плазмодити. Мікрофото гістопрепарату тканин осередку хворої Л-ан, 13 років. Пофарбування гематоксиліном та еозином. Загальне збільшення $\times 300$.

фістул. За абсцесу Броді слабо виражені симптоми наявності запально-деструктивного осередку можуть спостерігатись у хворого протягом багатьох місяців і навіть років [4, 11, 12]. Осередок абсцесу Броді зазвичай обмежений спонгіозою метафіза, з перифокальною зоною остеосклерозу, не поширюється на параоссальні м'які тканини, позбавлений великих секвестрів, фістул. Деякі особливості спостерігаються у складі та щільності запальних клітинних інфільтратів у внутрішній оболонці осередку, що дає підстави, з врахуванням клінічних і лабораторних даних, діагностувати випадок ГО саме як абсцес Броді.

Поряд з тим ГО з латентним клінічним перебігом можливо характеризувати, лише об'єктивно враховуючи особливості осередку ураження кістки: форму осередку, активність запалення, вид ураження кісткової тканини, співвідношення видів ексудативного та продуктивного запалення тощо [2, 3].

Результати нашого дослідження свідчать про наявність зв'язків між певними морфологічними показниками, що характеризують стан тканин осередку абсцесу Броді. Втім, було встановлено деякі факти, які виявились не зовсім очевидними, зважаючи на загальновідомі уявлення про особливості будови та активність процесів у тканинах осередку остеомієліту. Так, залежність між переважанням грануляційної тканини у внутрішній оболонці капсули осередку, що асоціюється з персистуванням неспецифічного запалення та ступенем активності ексудативного запалення, виявилась негативною та за абсолютним значенням дуже слабкою. Це свідчить про більш характерне поєднання грануляційної тканини не з ексудативним, а з продуктивним запаленням високої активності, відносно чого встановлено вірогідну позитивну залежність з абсолютним значенням коефіцієнта асоціації понад 0,4. Випадки абсцесу Броді, де серед тканин патологічного осередку знайдено дрібні секвестри, майже в половині спостережень вірогідно асоційовані з переважанням грануляційної тканини у внутрішній оболонці капсули. Ця залежність уявляється природною, враховуючи, що грануляційна тканина пов'язана з продуктивним запаленням високої активності, а останнє відбиває тривале персистування процесу резорбції та демаркації секвестрів, про що безпосередньо свідчить вірогідний позитивний зв'язок між активністю продуктивного запалення та трапленням секвестрів.

Встановлені та охарактеризовані в нашому дослідженні залежності між окремими морфологічними показниками стану тканин осередку за абсцесу Броді сприятимуть поліпшенню клінічної та морфологічної діагностики інфекційно-запальних уражень кісток, прогнозуванню одних, невідомих, морфологічних змін за іншими, відомими, які можуть бути визначені апаратними клінічними, візуалізованими або лабораторними методами дослідження.

Висновки

1. Абсцес Броді – варіант деструктивної форми гематогенного остеомієліту, частіше хронічного, котрий розвивається здебільшого в кістках молодих дорослих хворих (переважно у третє–четверте десятиліття жит-

тя), має певні клінічні та клініко-лабораторні особливості, а осередки ураження – характерні патологічні зміни. Зокрема, середні параметри таких клініко-лабораторних показників, як питома кількість лейкоцитів і частка паличкоядерних лейкоцитів у формулі не виходять за межі діапазону значень норми. У більшості випадків абсцесу Броді з тканин висівають золотистий стафілокок.

2. Основні патоморфологічні зміни за абсцесу Броді стосуються будови капсули, некротичних і резорбтивних змін перекладок спонгіози, особливостей продуктивно-інфільтративного та ексудативного запалення в капсулі осередку. Частіше трапляються випадки, за яких внутрішня оболонка відповідає будові грануляційної тканини, ексудативне запалення частіше – низької активності, продуктивне, навпаки, – високої активності, здебільшого серед тканин трапляються дрібні секвестри.

3. Між окремими морфологічними показниками стану тканин осередків абсцесу Броді встановлені високо вірогідні ($p < 0,01$) кореляційні зв'язки, що відповідають значенням коефіцієнта асоціації в діапазоні значень $r_a = 0,4–0,6$, зокрема:

- «переважання грануляційної тканини в капсулі» – «переважання продуктивного запалення високої активності» – залежність позитивна, слабкої тісноти;
- «переважання грануляційної тканини в капсулі» – «наявність дрібних секвестрів» – залежність позитивна, слабкої тісноти;
- «переважання продуктивного запалення високої активності» – «наявність дрібних секвестрів» – залежність позитивна, середньої тісноти.

Перспективу подальших досліджень на матеріалі випадків деструктивної форми гематогенного остеомієліту з латентним клінічним перебігом автори вбачають у вивченні кореляційних залежностей між окремими клінічними та клініко-лабораторними показниками, з одного боку, та морфологічними показниками стану патологічних процесів у тканинах осередків абсцесу Броді, з іншого боку.

Список літератури

- [1] Dartnell J. Haematogenous acute and subacute paediatric osteomyelitis. A systematic review of the literature / J. Dartnell, M. Ramachandran, M. Katchburian // J. Bone and Joint Surg. – 2012. – Vol. 94-B. – №5. – P. 584–595.
- [2] Григоровский В.В. Аспекты патоморфологии и номенклатуры в современной классификации неспецифических остеомиелитов / В.В. Григоровский // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2013. – №3(592). – С. 77–87.
- [3] Acute leg pain with suspected beginning leg compartment syndrome and deep vein thrombosis as differential diagnoses in an unusual presentation of Brodie's abscess: a case report / A. Hammad, P.J. Leute, I. Hoffmann et al. // J. Med. Case Rep. – 2015. – Vol. 9. – P. 292.
- [4] Subacute physeal abscess: case report to illustrate treatment with a minimally invasive incision and drainage technique / T.T. Shah, K.F. Chin, A. Noorani, D. Nairn // Ann. R. Coll. Surg. Engl. – 2012. – Vol. 94. – P. e51–e54.
- [5] Damir D. Correlational aspects of hematogenous osteomyelitis in children and adults / D. Damir, E. Toader, A. Crețu // Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi. – 2011. – Vol. 115. – №1. – P. 269–276.
- [6] Bilateral Brodie's Abscess at the proximal Tibia / H. Buldu, F.E. Bilen, L. Eralp, M. Kacaloglu // Singapore Med. J. – 2012. – Vol. 53. – №8. – P. e159–e160.
- [7] Yazdi H. An Unusual Presentation of Subacute Osteomyelitis: a Talus Brodie Abscess with Tendon Involvement / H. Yazdi, M.R. Shirazi, F. Eghbali // Amer. J. Orthopedics. – 2012. – Vol. 41. – №3. – P. E36–E38.
- [8] Amanullah F. Brodie's abscess mimicking as of malignancy: case report with radiological features / F. Amanullah, S. Ansari, A. Kaleem // J. Musculoskelet. Research. – 2013. – Vol. 16. – Issue 01. – 6 p.

- [9] Brodie's abscess following percutaneous fixation of distal radius fracture in a child / K. Rajakulendran, N.E. Picardo, I. El-Daly, R. Hussein // *Strat. Traum. Limb. Recon.* – 2016. – Vol. 11. – №1. – P. 69–73.
- [10] Особливості клініко-морфологічної картини та діагностики «атипових форм» гематогенного остеомієліту довгих кісток / В.В. Григоровський, М.П. Грицай, А.С. Гордій, А.В. Григорівська // *Ортопедія, травматологія і протезування*. – 2015. – №1. – С. 5–11.
- [11] Agarwal S. Brodie's abscess of the cuboid in a pediatric male / S. Agarwal, M.N. Akhtar, J. Bareh // *J. Foot Ankle Surg.* – 2012. – Vol. 51. – №2. – P. 258–261.
- [12] Balaji G. Brodie's abscess of the posterior ilium: a rare cause for low back pain in children / G. Balaji, S. Thimmaiah, J. Menon // *BMJ Case Reports*. – 2014. – bcr2014204684.

References

- [1] Dartnell, J., Ramachandran, M., & Katchburian, M. (2012). Haematogenous acute and subacute paediatric osteomyelitis. A systematic review of the literature. *J. Bone and Joint Surg*, 94-B(5), 584–595. doi: 10.1302/0301-620X.94B5.28523.
- [2] Grigorovskiy, V. V. (2013). Aspekty patomorfologii i nomenklatury v sovremennoj klassifikacii nespecificeskikh osteomyelitov [Aspects of pathomorphology and nomenclature in the modern classification of nonspecific osteomyelitis]. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye*, 3(592), 77–87. [in Russian].
- [3] Hammad, A., Leute, P. J., Hoffmann, I., Hoppe, S., Lakemeier, S., & Klinger, H.-M. (2015). Acute leg pain with suspected beginning leg compartment syndrome and deep vein thrombosis as differential diagnoses in an unusual presentation of Brodie's abscess: a case report. *J. Med. Case Rep.*, 9, 292. doi: 10.1186/s13256-015-0770-x.
- [4] Shah, T. T., Chin, K. F., Noorani, A., & Nairn, D. (2012). Subacute physal abscess: case report to illustrate treatment with a minimally invasive incision and drainage technique. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.*, 94, e51–e54. doi: 10.1308/003588412X13171221502022.
- [5] Damir, D., Toader, E., & Crețu, A. (2011). Correlational aspects of hematogenous osteomyelitis in children and adults. *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi*, 115(1), 269–276.
- [6] Buldu, H., Bilen, F.E., Eralp, L., & Kacaoglu, M. (2012). Bilateral Brodie's Abscess at the proximal Tibia. *Singapore Med. J.*, 53(8), e159–e160.
- [7] Yazdi, H., Shirazi, M. R., & Eghbali, F. (2012). An Unusual Presentation of Subacute Osteomyelitis: a Talus Brodie Abscess with Tendon Involvement. *Amer. J. Orthopedics*, 41(3), E36–E38.
- [8] Amanullah, F., Ansari, S., & Kaleem, A. (2013). Brodie's abscess mimicking as of malignancy: case report with radiological features. *J. Musculoskelet. Research*, 16(01). doi: http://dx.doi.org/10.1142/S0218957713720019.
- [9] Rajakulendran, K., Picardo, N. E., El-Daly, I., & Hussein, R. (2016). Brodie's abscess following percutaneous fixation of distal radius fracture in a child. *Strat. Traum. Limb. Recon.*, 11(1), 69–73. doi: 10.1007/s11751-016-0249-3.
- [10] Hryhorovskiy, V. V., Hrytsai, M. P., Hordii, A. S., & Hryhorovska, A. V. (2015). Osoblyvosti kliniko-morfologichnoi kartyny ta diahnozyky «atypovykh form» hematohennoho osteomyelitu dovhykh kistok [Features of clinical and morphological picture and diagnostics of «atypical forms» of hematogenous osteomyelitis of long bones]. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye*, 1, 5–11. doi: http://dx.doi.org/10.15674/0030-5987201515-11. [in Ukrainian].
- [11] Agarwal, S., Akhtar, M. N., & Bareh, J. (2012). Brodie's abscess of the cuboid in a pediatric male. *J. Foot Ankle Surg.*, 51(2), 258–261. doi: 10.1053/j.jfas.2011.10.040.
- [12] Balaji, G., Thimmaiah, S., & Menon, J. (2014). Brodie's abscess of the posterior ilium: a rare cause for low back pain in children. *BMJ Case Reports*, 2014, bcr2014204684. doi: 10.1136/bcr-2014-204684.

Відомості про авторів:

Григорівський В. В., д-р мед. наук, професор, лікар-патологоанатом вищої категорії, головний науковий співробітник відділу патоморфології, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

Грицай М. П., д-р мед. наук, професор, керівник відділу кістково-гнійної хірургії, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

Гордій А. С., лікар ортопед-травматолог, молодший науковий співробітник відділу кістково-гнійної хірургії, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

Лютко О. Б., зав. лабораторії мікробіології, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

Григорівська А. В., лікар-патологоанатом другої категорії відділу патоморфології, ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

Сведения об авторах:

Григоровский В. В., д-р мед. наук, профессор, врач-патологоанатом высшей категории, главный научный сотрудник отдела патоморфологии, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

Грицай Н. П., д-р мед. наук, профессор, руководитель отдела костно-гнойной хирургии, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

Гордий А. С., врач ортопед-травматолог, младший научный сотрудник отдела костно-гнойной хирургии, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

Лютко О. Б., зав. лабораторией микробиологии, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

Григоровская А. В., врач-патологоанатом второй категории отдела патоморфологии, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

Information about authors:

Hryhorovskiy V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Doctor-Pathologist of the Highest Category, Principal Scientific Officer of the Pathomorphological Department of SI "Research Institute of Traumatology and Orthopaedics of NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine.

Hrytsai M. P., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Septic Bone Surgery of SI "Research Institute of Traumatology and Orthopaedics of NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine.

Hordii A. S., Junior Scientific Officer of the Department of Septic Bone Surgery of SI "Research Institute of Traumatology and Orthopaedics of NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine.

Liutko O. B., MD, PhD, Head of the Laboratory of Microbiology of SI "Research Institute of Traumatology and Orthopaedics of NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine.

Hryhorovska A. V., Doctor-Pathologist of the 2nd Category of Pathomorphological Department of SI "Research Institute of Traumatology and Orthopaedics of NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 07.02.2017

Після доопрацювання / Revised: 13.02.2017

Прийнято до друку / Accepted: 28.02.2017

Консервативне лікування природженого хибного суглоба гомілки в дітей молодшого віку

О. В. Щокін

Запорізький державний медичний університет, Україна

Природжений хибний суглоб гомілки зустрічається в 1 випадку на 28000–190000 новонароджених, але є важко виліковним та інвалідизуючим захворюванням.

Мета роботи – поліпшити результати лікування, скорочення кількості хірургічних утручань під час лікування природженого хибного суглоба гомілки.

Матеріали та методи. Спосіб здійснюється за допомогою етапних гіпсових пов'язок із поступовою корекцією деформацій. Коли вісь кінцівки наближається до нормальної, приєднується осьове навантаження на кінцівку. Спочатку воно здійснюється шляхом постукування по п'яті. З досягненням 7–8-місячного віку дитину починають ставити на ноги та навчати ході. Гіпсові пов'язки замінюють на пов'язки зі «скотчкасту» та «софткасту». Лікування триває до отримання клінічного ефекту виправлення деформації гомілки та відсутності патологічної рухливості. Клінічний ефект повинен бути підтверджений рентгенографією, на якій має бути заповнення зони хибного суглоба кістковою тканиною та відновлення кістково-мозкового каналу. Протягом усього періоду лікування почергово проводяться курси електрофорезу хлориду кальцію, екстрактів лікувальної грязі, магнітотерапії. З 1995 до 2015 року включно у клініці Запорізької дитячої обласної клінічної лікарні здійснене лікування запропонованим способом 4 дітей із хибними суглобами кісток гомілки (6) віком 1–7 місяців.

Результати. У всіх 4 дітей (6 гомілок), до яких у клініці застосований описаний спосіб консервативного лікування, досягнуто заповнення зони хибного суглоба кістковою тканиною, відновлення кістково-мозкового каналу та значне виправлення осі гомілок. Раннє навантаження кінцівки призводить до компресії фрагментів кісток (як під час компресійно-дистракційного остеосинтезу); використання магнітотерапії електрофорезу хлориду кальцію та екстрактів лікувальної грязі сприяє активному функціонуванню м'язів, призводить до поліпшення регіонального кровопостачання та остеогенезу.

Висновки. Використання запропонованого способу лікування природженого хибного суглоба гомілок у новонароджених і немовлят може дати змогу запобігти оперативному втручанню та інвалідизації дитини. Проблема лікування природженого хибного суглоба гомілки у дітей не є до кінця вирішеною та потребує вивчення, удосконалення.

Ключові слова:

природжений хибний суглоб, гомілка, ортопедичні фіксуючі пристрої зовнішні, діти.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 83–86

DOI:
10.14739/2310-1237.2017.1.97229

E-mail:
pozicia000@ukr.net

Консервативное лечение врождённого ложного сустава голени у детей младшего возраста

О. В. Щёкин

Врождённый ложный сустав голени встречается в 1 случае на 28000–190000 новорождённых, но является трудноизлечимым и инвалидизирующим заболеванием.

Цель работы – улучшение результатов лечения, сокращение количества хирургических вмешательств при лечении врождённого ложного сустава голени.

Материалы и методы. Способ осуществляется с помощью этапных гипсовых повязок с постепенной коррекцией деформаций. Когда ось конечности приближается к нормальной, присоединяются осевые нагрузки на конечность. Сначала она осуществляется путём постукивания по пятке. По достижении 7–8-месячного возраста ребёнка начинают ставить на ноги и учить ходьбе. Гипсовые повязки заменяют повязки из «скотчкаста» и «софткаста». Лечение продолжается до получения клинического эффекта исправления деформации голени и отсутствия патологической подвижности. Клинический эффект должен быть подтверждён рентгенографией, на которой должно быть заполнение зоны ложного сустава костной тканью и восстановление костномозгового канала. В течение всего периода лечения поочередно проводятся курсы магнитотерапии и электрофореза хлорида кальция, экстрактов лечебной грязи. С 1995 по 2015 год в клинике Запорожской детской областной клинической больницы предложенным способом проведено лечение 4 детей (6 голени) с ложными суставами костей голени в возрасте от 1 до 7 месяцев.

Результаты. У всех 4 детей (6 голени), которым в клинике был применён описанный способ консервативного лечения, достигнуто заполнение зоны ложного сустава костной тканью, восстановление костномозгового канала и значительное исправление оси голени. Ранняя нагрузка конечности приводит к компрессии фрагментов костей (как при компрессионно-дистракционном остеосинтезе); использование магнитотерапии, электрофореза хлорида кальция и экстрактов лечебной грязи способствует активному функционированию мышц, приводит к улучшению регионального кровоснабжения и улучшению остеогенеза.

Выводы. Использование предлагаемого способа лечения врождённого ложного сустава голени у новорождённых и детей грудного возраста может позволить избежать оперативного вмешательства и инвалидизации ребёнка. Проблема лечения врождённого ложного сустава голени у детей не является до конца решённой и требует дальнейшего изучения и совершенствования.

Ключевые слова:

врождённый ложный сустав, голень, ортопедические фиксирующие устройства наружные, дети.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 83–86

Key words:

congenital,
pseudarthrosis shin,
children,
external fixators.

Pathologia

2017; 14 (1), 83–86

Conservative treatment of congenital false joint of shin in newborns and infants

O. V. Shchokin

Congenital false joint of shin occurs in 1 case per 28000–190000 live births, but it is hard-to-treat and disabling disease.

Objective: Improving treatment outcomes, reducing the number of surgical interventions for the treatment of congenital false joint of shin.

Materials and Methods. The method is carried out using staged plaster casts with the gradual correction of deformities. When axis of the leg approximates to the normal one, axial load is added. First, it is done by tapping on the heel. When the child was 7–8 months old he was put on the legs and taught to walk. The plaster bandage is replaced by “Scotch cast” and “soft cast” bandage. The treatment lasted up to reaching of clinical effect – correction of shin deformation and absence of pathological mobility. Clinical effect must be confirmed by roentgenography which must demonstrate filling of false joint zone with bone tissue and restoration of intramedullary canal. During all the period of treating alternate courses of electrophoresis with calcium chloride, medical mud extracts and magnetic therapy are conducted. In the period from 1995 till 2015 in the Regional Zaporizhzhia Children Clinical Hospital 4 children (6 shins) aged from 1 to 7 months with false joint of shin were treated using proposed method.

Results and discussion. All 4 children (6 shins) treated in clinic with proposed conservative method showed filling of false joint zone with bone tissue, restoration of intramedullary canal and significant extension of axis of the shin. The load on the leg in early terms results in compression of bone fragments (as in compression-distraction osteosynthesis), magnetic therapy, electrophoresis with calcium chloride and medical mud extracts promote active functioning of the muscles that improves regional blood supply and improves osteogenesis.

Conclusions. Using the proposed method of treatment of congenital false joint of shins in newborns and infants can allow avoiding surgical intervention and disability of the child. The problem of congenital shin false joint treatment in children is not fully settled and needs further study and solution.

Природжений хибний суглоб гомілки (ПХСГ) є доволі рідкісною патологією та виявляється у 0,5–0,8 % від усіх вад розвитку кінцівок або в 1 випадку на 28000–190000 новонароджених [1,4,8,9], але він є найскладнішою та найсуперечливішою проблемою дитячої ортопедії. Етіологія та патогенез дотепер є не до кінця з'ясованими. Захворювання – важко виліковне та інвалідизуюче [1,3,8].

Головні методи лікування природженого хибного суглоба гомілки в дітей – хірургічні. Застосовуються коригувальні, кістково-пластичні операції з використанням алогенного кісткового матриксу, ало-, аутопластики та інших остеостимулювальних матеріалів, інтрамедулярний, компресійно-дистракційний остеосинтез за методикою Г. А. Ілізарова та різноманітні їхні комбінації. Усього запропоновано понад 200 варіантів оперативного лікування [2–5,9]. Але жодна з наявних на сьогодні методик не гарантує 100 % консолідації псевдоартрозу й повної впевненості у відсутності рецидиву захворювання. Доволі часто операції неефективні та повторюються по декілька разів і навіть можуть завершуватись ампутацією кінцівки [5,8]. С. П. Міронов зі співавторами [6] представив перший обнадійливий досвід застосування культивованих аутологічних стромальних клітин кісткового мозку для стимуляції репаративної регенерації в області резекції хибного суглоба кісток гомілки в дітей віком 1,4 року до 7 років.

Консервативне лікування ПХСГ у дітей здебільшого здійснюється шляхом використання етапних гіпсових пов'язок і фіксації нижніх кінцівок ортезами. За допомогою етапних гіпсових пов'язок можливо в деяких випадках досягти зменшення деформації кінцівки, але воно доволі рідко призводить до консолідації хибного суглоба. Недолік такого лікування – тривала за часом відсутність навантаження на кінцівку, що сприяє погіршенню трофіки та посиленню остеопорозу, котрі під час цього захворювання й без того є доволі

вираженими. Унаслідок цього діти часто потребували оперативного втручання. Консервативне лікування дорослих дітей, у яких не вдалося досягти консолідації ані консервативно в значно молодшому віці, ані за допомогою хірургічних втручань, здійснюється шляхом використання ортезів. За допомогою цього способу лікування не досягається корекція деформації та консолідація. Воно надає можливість хоч якоїсь опорності кінцівки [9]. Чималі труднощі та незадовільні результати лікування роблять цю проблему однією з найактуальніших у дитячій ортопедії та зумовлюють необхідність розробки нових способів лікування природженого хибного суглоба гомілки в дітей.

Мета роботи

Удосконалення консервативного способу лікування природженого хибного суглоба гомілки в дітей раннього віку за допомогою етапних гіпсових пов'язок та ознайомлення з ним широкого кола лікарів-практиків.

Матеріали і методи дослідження

З 1995 до 2015 року включно у клініці Запорізької дитячої обласної клінічної лікарні здійснене лікування запропонованим способом [7] 4 дітей (6 гомілок) із хибними суглобами кісток гомілки віком 1–7 місяців.

Спосіб здійснюється таким чином: після встановлення діагнозу природженого хибного суглоба гомілки накладаються гіпсові циркулярні пов'язки з максимальною корекцією деформацій. Через кожні 5–7 діб пов'язки змінюють на аналогічні. При накладанні нової пов'язки ступінь корекції деформацій збільшується щоразу. Коли через декілька тижнів вісь кінцівки наближається до нормальної, приєднується осьове навантаження на кінцівку. Якщо дитина була замала та за віком не могла стояти на ногах, осьове навантаження здійснювалось шляхом постукування

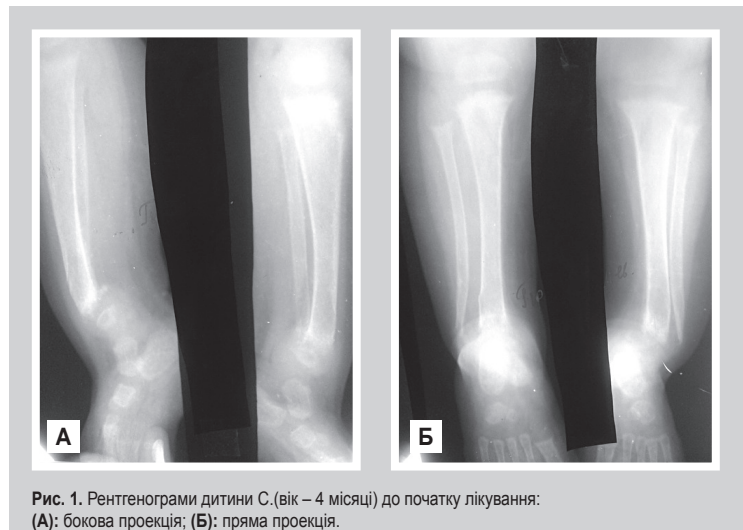
по п'яті, збільшуючи поступово їхню кількість, частоту та силу. Після досягнення 7–8-місячного віку дитину починали ставити на ноги й навчати ходити. При цьому гіпсові пов'язки ми заміняли на пов'язки з синтетичних бинтів виробництва США або ФРН «скотчкаст» і «софткаст», які краще витримували навантаження. Час стояння або ходьби, кількість спроб поступово збільшувались. Після досягнення корекції осі гомілки зміна пов'язок виконувалась через 3–4 тижні. Лікування етапними пов'язками продовжується до отримання клінічного ефекту виправлення деформації гомілки та відсутності патологічної рухливості на рівні хибного суглоба. Клінічний ефект повинен підтверджуватись рентгенографією, на якій має бути заповнення зони хибного суглоба кістковою тканиною та відновлення кістково-мозкового каналу. Надалі для запобігання травматизації кінцівок рекомендували ходіння в ортезах. Протягом усього періоду лікування по чергово здійснювали курси електрофорезу хлориду кальцію, біолу (або інших екстрактів лікувальної грязі) та магнітотерапії.

Результати та їх обговорення

У всіх 4 дітей (6 гомілок), яким у клініці виконали описаний спосіб консервативного лікування, досягнуто заповнення зони хибного суглоба кістковою тканиною, відновлення кістково-мозкового каналу та значне виправлення осі гомілок.

Осьове навантаження призводить до компресії фрагментів кісток, що, своєю чергою, прискорює остеогенез (як під час компресійно-дистракційного остеосинтезу). Раннє навантаження кінцівки також сприяє активному функціонуванню м'язів, що призводить до поліпшення регіонального кровопостачання, сприяє покращенню обігу речовин у ділянці хибного суглоба. Крім того, використання магнітотерапії також впливає на поліпшення трофіки, а за допомогою електрофорезу хлориду кальцію та біолу до зони хибного суглоба доставляються мікроелементи, будівельні матеріали, котрі беруть участь в остеогенезі, та біологічно активні речовини, що сприяють його прискоренню. Все це сприяє трансформації фіброзної тканини в зоні хибного суглоба в кісткову.

Приклад. Дитина С. (вік – 4 місяці) перебувала на амбулаторному лікуванні в поліклінічному відділенні Запорізької обласної дитячої клінічної лікарні з приводу природженого хибного суглоба обох гомілок із 15.04.10 по 07.09.10 року. Під час обстеження виявили: вісь гомілок значно викривлена, більше – з лівого боку. Справа, у нижній третині гомілки, кут деформації відкритий до заду, стопа – в еквінусному положенні. Зліва кут деформації відкритий до заду та всередину, стопа – в еквінусному положенні та супінована. Шкіряні покрови не змінені. На рентгенограмах від 15.04.2010 р. (рис. 1) у передньо-задній проекції справа в нижній третині вісь великогомілкової кістки рівна, але наявне явище остеосклерозу. Кістково-мозковий канал закритий. Вісь малогомілкової кістки скривлена під кутом, що відкритий до середини. На верхівці деформації – кістка звужена. Зліва осі велико- та малогомілкової кісток деформовані під



кутом, що відкритий до середини. Дистальний кінець кісток зміщений по ширині медіально більш ніж на повний діаметр кісток. У проміжку між дистальним метафізом і діафізом обох кісток кісткова тканина відсутня. У проксимальній частині великогомілкової кістки є зона остеосклерозу, кістково-мозковий канал перекритий. Малоюмілковою кісткою бурулькоподібно звужена. У профільній проекції осі обох кісток справа та зліва викривлені під кутом, що відкритий до заду. Зліва – дефект кістки між дистальним метафізом і діафізом великогомілкової кістки, кістково-мозковий канал перекритий зоною остеосклерозу. Такі самі зміни, але з меншим за розміром дефектом кісткової тканини, наявні й справа.

Після обстеження дитині здійснили лікування за способом, що пропонується, а саме: накладали гіпсові циркулярні пов'язки до верхньої третини стегон із максимальною корекцією деформацій. Через 5–7 днів пов'язки змінювались на аналогічні, але з більшим ступенем корекції. Через 1,5 місяця (після досягнення корекції осі гомілки) фіксація кінцівок здійснювалась за допомогою пов'язок, що зроблені зі «скотчкасту» та «софткасту», почалось дозоване за силою та часом навантаження на кінцівки. Спочатку осьове навантаження виконували методом постукування по п'яті, а після 7 місяців давали навантаження на кінцівки, підтримуючи дитину починаючи з однієї хвилини за часом. Поступово навантаження на кінцівки збільшувалось за часом і силою як у здорової дитини відповідно віку. Лікування етапними пов'язками продовжувалось до отримання клінічного ефекту виправлення деформації гомілки та відсутності патологічної рухливості на рівні хибного суглоба. Протягом усього періоду лікування по чергово проводились курси електрофорезу хлориду кальцію, біолу та магнітотерапії. На рентгенограмах від 7.09.2010 р. (рис. 2) наявне заповнення зони хибного суглоба кістковою тканиною та відновлення кістково-мозкового каналу обох кісток з обох сторін. Є незначні деформації гомілкових кісток під кутом, що відкритий до заду та до середини, дещо більш виражені зліва.

Після зняття пов'язок здійснений курс масажу, лікувальної фізкультури. Під час клінічного обстеження



Рис. 2. Рентгенограми дитини С. (вік – 10 місяців) після лікування:
(А): бокова проекція; (Б): пряма проекція.

виявлено: осі гомілок рівні, патологічна рухливість відсутня, дитина ходить із підтримкою. Надалі рекомендовано використання зйомних ортезів для запобігання травматизації кінцівок і рецидиву деформації.

Висновки

1. Використання запропонованого способу лікування природженого хибного суглоба гомілок у новонароджених і немовлят дає змогу запобігти оперативному втручанню та інвалідизації дитини.

2. Проблема лікування природженого хибного суглоба гомілки в дітей не є до кінця вирішеною та надалі потребує вивчення та удосконалення.

Список літератури

- [1] Болабовко А.Э. Морфологическая характеристика врожденных и приобретенных ложных суставов у детей : дис. на соискание ученой степени канд. мед. н. : 14.00.9 – педиатрия / А.Э. Болабовко. – М., 2005. – 151 с.
- [2] Гонгальский В.И. Костная пластика при лечении ложных суставов у детей / В.И. Гонгальский, М.А. Задниченко // Ортопедия травматология и протезирование. – 1990. – Вып. 20. – С. 112–115.
- [3] Кутиков С.А. Оптимизация лечебно-реабилитационного процесса у больных врожденным ложным суставом костей голени : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. н. : 14.01.15 – травматология и ортопедия / С.А. Кутиков. – Курган, 2015. – 27 с.
- [4] Врожденный ложный сустав голени. Проблемы, возможные варианты решения / С.А. Кутиков, А.Р. Lettreuch, A. Saighi-Bouaouina и др. // Гений ортопедии. – 2014. – №3. – С. 24–30.
- [5] Мезенцев А.А. Хирургическое лечение врожденного ложного сустава голени с использованием компрессионно-дистракционного остеосинтеза / А.А. Мезенцев, В.А. Мезенцев // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2001. – №3. – С. 18–22.
- [6] Применение аутологичных стромальных клеток костного мозга при хирургическом лечении врожденных ложных суставов костей голени у детей / С.П. Миронов, А.В. Иванов, В.К. Ильина и др. // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2011. – №2. – С. 46–52.
- [7] Патент на корисну модель №71246, Україна, МПК А61F 5/00(2012.01). Спосіб консервативного лікування природженого хибного суглоба гомілки у дітей / О.В. Щокін; патентовласники: Запорізький державний медичний університет, О.В. Щокін. – №201114722; заяв. 12.12.2011; опубл. 10.07.2012 // Бюлетень. – №13.
- [8] Поздеев А.П. Особенности течения врожденных ложных суставов костей голени у детей дистрофического и диспластического генеза / А.П. Поздеев, Е.А. Захарьян // Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста. – 2014. – Т. 2. – №1. – С. 78–84.
- [9] Профилактика и лечение врожденных ложных суставов у детей (методические рекомендации) / Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины ; сост. : А.П. Крисюк, Ю.Н. Гук, В.С. Астахова. – К., 1990. – 19 с.

References

- [1] Bolabovko, A. E'. (2005). *Morfologicheskaya kharakteristika vrozhdennykh i priobretennykh lozhnykh sustavov u detey* (Dis ...kand. med. nauk). [Morphological characteristics of congenital and acquired false joints in children. Dr. med. sci. diss.]. Moscow [in Russian].
- [2] Gongalskij, V. I., & Zadnichenko, M. A. (1990). *Kostnaya plastika pri lechenii lozhnykh sustavov u detey* [Bone grafting in the treatment of false joints in children]. *Ortopediya travmatologiya i protezirovanie*, 20, 112–115. [in Russian].
- [3] Kutikov, S. A. (2015) *Optimizaciya lechebno-reabilitacionnogo processa u bol'nykh vrozhdennym lozhnym sustavom kostej goleni* (Avtoref. dis... kand. med. nauk) [Optimization of treatment - rehabilitation process in patients with congenital false joint of shin bones]. (Extended abstract of candidate's thesis). Kurgan. [in Russian].
- [4] Kutikov, S. A., Lettreuch, Abdel Raouf, Saighi-Bouaouina, Abdelatif, Borzunov, D. lu., & D'iachkova, G. V. (2014). *Vrozhdennyj lozhnyj sustav goleni. Problemy, vozmozhnyye varianty resheniya* [Pseudoarthrosis of the leg. Problems, possible solutions]. *Genij ortopedii*, 3, 24–30. [in Russian].
- [5] Mezentcev, A. A., & Mezentcev, V. A. (2001) *Khirurgicheskoye lecheniye vrozhdennogo lozhnogo sustava goleni s ispol'zovaniem kompressionno-distrakcionnogo osteosinteza* [Surgical treatment of congenital false joint of shin using compression-distraction osteosynthesis]. *Ortopediya travmatologiya i protezirovanie*, 3, 18–22. [in Russian].
- [6] Mironov, S. P., Omel'yanenko, N. P., Kozhevnikov, O. V., Il'ina, V. K., & Ivanov, A. V. (2011). *Primeneniye autologichnykh stromal'nykh kletok kostnogo mozga pri khirurgicheskom lechenii vrozhdennykh lozhnykh sustavov kostej goleni u detey* [Use of Autologous Stromal Marrow Cells for Surgical Treatment of Congenital Crus Bones Pseudoarthrosis in Children]. *Vestnik ortopedii i travmatologii im. N.N. Priorova*, 2, 46–52. [in Russian].
- [7] Shchokin, O. V. (patente) (2012). *Patent na korysnu model №71246, Ukraina, MPK A61F 5/00(2012.01). Sposib konservativnoho likuvannya pryrodzhenoho khybnoho suhloba homilky u ditei* [The method of conservative treatment of congenital false joint of tibia in children. Patent na korysnu model №71246, Ukraina, MPK A61F 5/00(2012.01)], *Biuletent*, 13. [in Ukrainian].
- [8] Pozdeev, A. P., & Zakharyan, E. A. (2014). *Osobennosti techeniya vrozhdennykh lozhnykh sustavov kostej goleni u detey distroficheskogo i displasticheskogo geneza* [Features of congenital pseudoarthrosis of the tibia of dysplastic and neurodystrophic genesis]. *Ortopediya, travmatologiya i vosstanovitel'naya khirurgiya detskogo vozrasta*, 2(1), 78–84. [in Russian].
- [9] Krisyuk, A. P., Guk, Yu. N., & Astakhova, V. S. (1990). *Profilaktika i lecheniye vrozhdennykh lozhnykh sustavov u detey (metodicheskiye rekomendacii)* [Prevention and treatment of congenital false joints in children (guidelines)]. Kyiv. [in Russian].

Відомості про автора:

Щокін О. В., д-р мед. наук, доцент, професор каф. дитячої хірургії та анестезіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторе:

Щёкин О. В., д-р мед. наук, доцент, профессор каф. детской хирургии и анестезиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about author:

Shchokin O. V., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Professor of the Department of Pediatric Surgery and Anesthesiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 29.01.2017

Після доопрацювання / Revised: 09.02.2017

Прийнято до друку / Accepted: 21.02.2017

Therapeutic management for patients with trunk and extremities integumentary tissues defects of traumatic genesis

O. V. Ponomarenko

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Objective: To improve the results of treating patients with wounds, functional and aesthetic defects of mechanical origin by developing a comprehensive program of surgery to restore the form and function of trunk and limbs.

Materials and methods. The criteria for the inclusion into the study: both genders patients aged over 17 years with diagnosed skin and adjacent soft tissues of trunk and limbs defect that needed restoration of body form and functions. We have operated 231 patients with integumentary tissue defects of a mechanical origin in the clinic. There were 129 men, 102 women of them. The patients' age ranged from 17 to 76 years.

Results. All the patients were divided into 4 groups depending on the size, depth and the extent of damage of soft tissues and other structures of the body and limbs. I group – 79 (34.2 %) patients with isolated soft tissues damage (to the fascia): 32 (13.85 %). II group – 67 (29 %) patients with injuries of integumentary tissues of a moderate severity whose vital activity was disturbed in a limited area with parawound zone (lower from fascia). III group – 48 (20.8 %) patients (tissues damage to a significant extent). IV Group – 37 (16 %) patients, whose trauma was accompanied by injury of a vascular-neural fascicle, partial or complete extremity abjunction.

Conclusions. 1. The choice of corrective surgical intervention method and the closure of the integumentary tissue defect depended on the size, the depth of the wound and hemodynamic characteristics of the damaged area. 2. The new method of treating the consequences of traumatic injuries using the preparation of hyaluronic acid expanded the prospects of treating patients with integumentary tissues defects. 3. The differential approach to the choice of the method of closing the wound surfaces caused by mechanical damage made it possible to achieve satisfactory results in 97.84 % of cases.

Key words:

wound, injury, tissue cover, hyaluronic acid, flap.

Pathologia

2017; 14 (1), 87–90

DOI:

10.14739/2310-1237.2017.1.97791

E-mail:

alena.ponomarenko@gmail.com

Лікувальна тактика у хворих із дефектами покривних тканин тулуба та кінцівок травматичного генезу

O. B. Пономаренко

Мета роботи – поліпшити результати лікування хворих із ранами, функціональними та естетичними дефектами механічного генезу шляхом розробки комплексної програми хірургічного лікування для відновлення форми та функції тулуба й кінцівок.

Матеріали та методи. Критерії включення в дослідження: хворі віком понад 17 років обох статей із встановленим діагнозом дефект шкіри та підлеглих м'яких тканин тулуба, кінцівок, які потребували відновлення форми та функції тіла. У клініці прооперований 231 пацієнт із дефектами покривних тканин механічного генезу. З них чоловіків – 129, жінок – 102. Вік хворих коливався від 17 до 76 років.

Результати. Усіх хворих поділили на 4 групи залежно від розмірів, глибини та ступеня пошкодження м'яких тканин та інших структур тулуба й кінцівок. I група – 79 (34,2 %) хворих з ізольованим пошкодженням м'яких тканин (до фасції): 32 (13,85 %). II група – 67 (29 %) хворих із пошкодженнями покривних тканин середньої важкості, життєдіяльність яких порушена на обмеженій ділянці з парарановою зоною забою (нижче фасції). III група – 48 (20,8 %) хворих (пошкодження тканин на значному протязі). IV група – 37 (16 %) хворі, в яких травма супроводжувалася ураженням судинно-нервового пучка, частковим або повним відчленуванням кінцівок.

Висновки. Вибір методу корегуючого втручання та закриття дефекту покривних тканин залежав від розміру, глибини рани, гемодинамічних особливостей ділянки пошкодження. Новий метод лікування наслідків травматичних ушкоджень із використанням препарату гіалуронової кислоти розширив перспективи лікування пацієнтів із дефектами покривних тканин. Диференційний підхід до вибору методу закриття ранових поверхонь, що зумовлені механічними пошкодженнями, дав змогу досягнути задовільних результатів у 97,84 % випадків.

Ключові слова:

рана, травма, покривні тканини, гіалуронова кислота, клапот.

Патологія. – 2017. –

Т. 14, № 1(39). – С. 87–90

Лечебная тактика у больных с дефектами покровных тканей туловища и конечностей травматического генеза

E. B. Пономаренко

Цель работы – улучшить результаты лечения больных с ранами, функциональными и эстетическими дефектами механического генеза путём разработки комплексной программы хирургического лечения для восстановления формы и функций тела и конечностей.

Материалы и методы. Критерии включения в исследование: больные старше 17 лет обоих полов с установленным диагнозом дефект кожи и подчинённых мягких тканей туловища и конечностей, которые нуждались в восстановлении

Ключевые слова:

рана, травма, покровные ткани, гиалуроновая кислота, лоскут.

Патология. – 2017. –

Т. 14, № 1(39). – С. 87–90

формы и функций тела. В клинике был прооперирован 231 пациент с дефектами покровных тканей механического генеза. Из них мужчин – 129, женщин – 102. Возраст больных колебался от 17 до 76 лет.

Результаты. Все больные были разделены на 4 группы в зависимости от размеров, глубины и степени повреждения мягких тканей и других структур туловища и конечностей. I группа – 79 (34,2 %) больных с изолированным повреждением мягких тканей (до фасции): 32 (13,85 %). II группа – 67 (29 %) больных с повреждениями покровных тканей средней тяжести, жизнедеятельность которых нарушена на ограниченном участке с парараневой зоной повреждения (ниже фасции). III группа – 48 (20,8 %) больных (повреждение тканей на значительном протяжении). IV группа – 37 (16 %) больных, у которых травма сопровождалась поражением сосудисто-нервного пучка, частичным или полным отчленением конечности.

Выводы. Выбор метода корректирующего вмешательства и закрытия дефекта покровных тканей зависел от размера, глубины раны и гемодинамических особенностей участка повреждения. Новый метод лечения последствий травматических повреждений с использованием препарата гиалуроновой кислоты расширил перспективы лечения пациентов с дефектами покровных тканей. Дифференцированный подход к выбору метода закрытия раневых повреждений, которые обусловлены механическими повреждениями, позволил достичь удовлетворительных результатов в 97,84 % случаев.

Damage to the skin integuments with formation of large wound defects in severe trauma is often accompanied by significant blood loss, shock, development of wound infection and the possibility of skin flaps further necrosis [1]. This injury occurs predominantly in people of working ability age and is a frequent component of polytrauma – from 21.4 to 48.9 % [4].

One of the most serious consequences of injury is a disability. According to the WHO in the world there are more than 500 million people with disabilities. In this the cause of disability in young patients with injuries only in 25–30 % of cases is the severity of the injury itself, in 30–70 % of cases they are the inadequacies of diagnosis, treatment and medical care organization [2,5].

Treatment of polytrauma is associated with solving three major problems: the restoration of vital functions, prevention and treatment of various complications due to traumatic illness, the earliest mobilization of a patient for the restoration of all organs and systems' activities.

Objective: To improve the results of wounds treatment, functional and aesthetic defects of mechanical origin by developing a comprehensive program of surgery to restore the form and function of trunk and limbs.

Materials and methods

The criteria for the inclusion into the study: both genders patients aged over 17 years with diagnosed skin and adjacent soft tissues of trunk and limbs defect that needed restoration of body form and functions.

We have operated 231 patients with integumentary tissue defects of a mechanical origin. There were 129 men, 102 women of them. The patients' age ranged from 17 to 76 years.

Results

All the patients were divided into 4 groups depending on the size, depth and the extent of damage of soft tissues and other structures of the body and limbs.

I group – 79 (34.2 %) patients with isolated soft tissues damage (to the fascia), of which in 32 (13.85 %) cases autoplasty with the split-skin graft was performed; in 9 (3.9 %) cases xenoplasty in urgent procedure followed by the closure of the wound with the split auto graft was performed; in 15 (6.49 %) cases autoplasty by Ollier–Thiersch

was used; in 11 (4.76 %) patients local flaps grafting was performed, in 2 (0.87 %) cases of deferred term dermation methods were used to close the defect; in 10 (4.33 %) patients the new method of wound treatment, developed in the clinic was used.

The basis of the new method of treating prolonged existing wound defects in the lower extremities was using a combined preparation of hyaluronic acid with sodium salt of succinic acid, which will improve the effectiveness of treating this category of patients [3].

The preparation of hyaluronic acid with sodium salt of succinic acid was used by intracutaneous injecting 1.0 ml of 1.5 % solution around the ulcer defect once a week for 5–7 weeks. During treatment the dynamic measurements of trophic ulcer defect were carried out.

All the patients having been treated by this method were discharged with a positive result – namely, complete healing of trophic ulcer.

The introduction of hyaluronic acid preparations into extracellular matrix ensures to provide the section of surgery with the additional amount of hyaluronic acid to optimize the performance of its biological functions in the skin, such as: increased turgor and plasticity of tissues, stimulated processes of elastogenesis, collagenogenesis and angiogenesis. Sodium succinate (sodium salt of succinic acid) operates at the level of mitochondria – to activate the processes of cellular respiration, synthesis of ATP and structural proteins of the skin.

This method of treatment can be used not only in hospitals but also in the outpatient setting, which significantly reduces treatment time and patient's stay in the hospital.

Despite the fact that redermalization is a technique that requires special training, its further use doesn't require specific tools, support of anesthesia or operating room. Conducting weekly measurements of ulcer defect permits to evaluate ulcer treatment results in dynamics and is able to adjust the treatment that does not require special tools, other than centimeter tape or tracing paper.

Thus, the totality of the above positive effects enhanced the effectiveness of treatment, accelerated the patients' recovery, reduced the number of complications and reduced bed days.

Besides the fact that the use of this method does not require special facilities and attracting specialists of different profile, it can be used in outpatient regime to treat

prolonged existing venous ulcers of vascular etiology in combination with surgical interventions.

Example. Patient D., 1995. Medical history number 5204 was admitted to the Department of Thermal Injuries and Plastic Surgery with the Diagnosis of posttraumatic wound defect of the left foot. Accident (2008). Chronic glomerulonephritis.

Hospitalization date: 02.04.2012.

Discharge date: 13.04.2012.

On admission to the hospital the patient complained of a prolonged existing wound defect in the left foot.

Medical History of the disease: The patient had been feeling sick for 4 years, when in the road-traffic accident he had been injured after falling under the train – an open fracture of the left ankle joint, extra large wound defect of the left foot. After a prolonged course of treatment the wound on the outer edge of the foot remained, which hadn't been healing for 3 years.

When examined locally the left foot was deformed in the area of ankle joint, on the outer surface of the foot wound defect was determined up to 3 cm in diameter with irregular edges, flabby granulation and fibrin coating.

Since 04.04.12 monotherapy course of 1.5 % hyaluronic acid solution injection started. Under conditions of a dressing room the patient's wound defect area was debrided with antiseptic solution. The size of the defect was measured with the centimeter tape before the treatment. We utilized completely ready for use glass syringe Luer – lock having been filled beforehand and an additional needle with the solution of not structured hyaluronic acid with succinate (concentration of hyaluronic acid 15 mg/ml). Departing from the edge of the ulcer 0.2 cm the single solution of 0.1–0.2 mL was injected intracutaneously by a tunnel technique. The gaps between injections were 0.2 cm. The sterile gauze bandage was applied on the wound defect. The procedure was repeated 2 times a week with compulsory metering of the wound defect and its photographing. The course of treatment lasted for 2 weeks, including 1 week as an outpatient.

After the treatment complete epithelialization of the wound defect was observed.

Group II – 67 (29 %) patients with injuries of integumentary tissues of a moderate severity whose vital activity was disturbed in a limited area with parawound zone (lower from fascia). Xenoplasty followed with further autoplasty by a split-skin graft was performed in 5 (2.16 %) patients, in 32 (13.85 %) of cases plasty by a split-skin autograft was performed, in 7 (3.03 %) – autografting by Ollier-Thiersch, in 16 (6.92 %) patients local flaps grafting was made, 3 (1.3 %) – free flap surgery, in 4 (1.73 %) of cases combined plasty by a split autograft rotation flap was performed.

Group III – 48 (20.8 %) patients (tissues damage to a significant extent). In 42 (18.18 %) patients plasty by rotation cellulocutaneous flap in the axial blood supply was performed, 3 (1.3 %) cases – wound defect closure by sural flap, in 1 (0.43 %) case closure of amputation stump of the upper extremity by a musculocutaneous flap was performed, in 2 (0.87 %) cases the method of dermatension was used.

Group IV – 37 (16 %) patients, whose trauma was accompanied by injury of a vascular-neural fascicle,

partial or complete extremity abjunction, in 4 (1.73 %) – prosthetics of popliteal artery, decompressive fasciotomy of the shin, followed by a further autoplasty of a wound defect by a split-skin graft; plasty by a musculocutaneous flap of the widest muscle of the back on the vascular pedicle in 1 (0.43 %) case; prosthetics of femoral artery, decompressive fasciotomy, secondary suturing – 2 (0.87 %) cases; revision of the popliteal artery with periarterial sympathectomy and plasty of the defect by a sural flap in 1 (0.43 %) case. In 12 (5.19 %) patients – suture of the posterior tibial artery, in 2 (0.87 %) cases – decompressive fasciotomy followed by a further secondary suturing, in 5 (2.16 %) cases – dorsal artery of foot ligation. In 10 (4.33 %) patients ulnar artery suture was performed, in 3 (1.3 %) – radial artery ligation, wound defects were closed in 7 (3.03 %) cases using split autografts, in 3 (1.3 %) cases local flaps grafting was made.

Conclusions

1. The choice of corrective surgical intervention method and the closure of the integumentary tissue defect depended on the size, the depth of the wound and hemodynamic characteristics of the damaged area.

2. The new method of treating the consequences of traumatic injuries using the preparation of hyaluronic acid expanded the prospects of treating patients with integumentary tissues defects.

3. The differential approach to the choice of the method of closing the wound surfaces caused by mechanical damage made it possible to achieve satisfactory results in 97.84 % of cases.

References

- [1] Kichemasov, S. Kh., & Skvorcov, Yu. R. (2012) *Kozhnaya plastika loskutami s osevm krovosnabzheniyem pri ozhogakh i obmorozheniyakh IV stepeni* [Skin grafting flaps with axial blood supply for burns and frostbite grade IV]. Saint Petersburg: Hippokrat. [in Russian].
- [2] Petrov, N. V., Brovkin, S. V., Kalashnik, A. D., Tadzhiev, D. D., Karev, A. S., & Petrov, E. A. (2013) *Optimizaciya lecheniya otkrytykh perelomov goleni s tyazhelej travmoj myagkikh tkanej* [Optimization of treatment of open fractures of the tibia with severe trauma m'yakih fabrics]. *Rossiiskij medicinskij zhurnal. Khirurgiya*, 15, 805–808. [in Russian].
- [3] Ponomarenko, O.V., & Virskiy, N. V. (2011) (patentee) Pat. 65158 AUkrayina, IPC A61K31 / 00. *Sposib likuvannya trofichnykh vyrazok nyzhnikh kintsivok* [Method for the treatment of venous ulcers of the lower kintsivok]. *Bulleten*, 22. [in Ukrainian].
- [4] Sekela, T. Ya. (2010) *Patohenetychni osoblyvosti perebihu tiazhkoj travmy v poiednanni z mekhanichnym poskodzhenniam shkiry ta pry zastosuvanni ksenodermoplastyky* (Avtoref. dis...kand. med. nauk) [Pathogenetic peculiarities of severe injuries in conjunction with mechanical damage to the skin and the application ksenodermoplastyky]. (Extended abstract of candidate's thesis). Ternopil. [in Ukrainian].
- [5] Sotnyk, A. M. (2008) *Plastyka hlybokikh defektiv homilky ta stopy vaskulyarizovanyimi klaptami* (Avtoref. dis...kand. med. nauk) [Plastic deep leg and foot defects vascularized patches]. (Extended abstract of candidate's thesis). Donetsk. [in Ukrainian].

Information about author:

Ponomarenko E. V., MD, PhD, Associate Professor, Department of Medicine of Catastrophes, Military Medicine, Anesthesiology and Intensive Care, Zaporizhzhia State Medical University, Head of the Regional Center of Thermal Injuries and Plastic Surgery, Ukraine.

Відомості про автора:

Пономаренко О. В., канд. мед. наук, доцент каф. медицини катастроф, військової медицини, анестезіології та інтенсивної терапії, Запорізький державний медичний університет, зав. обласного центру термічної травми та пластичної хірургії, Україна.

Сведения об авторе:

Пономаренко Е. В., канд. мед. наук, доцент каф. медицины катастроф, военной медицины, анестезиологии и интенсивной терапии, Запорожский государственный медицинский университет, зав. областным центром термической травмы и пластической хирургии, Украина.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 12.12.2016

Після доопрацювання / Revised: 11.01.2017

Прийнято до друку / Accepted: 21.01.2017

Immunohistochemical changes of maxillary sinus mucosa with underlying adenomatous polyposis

Yu. M. Andreychyn¹, I. S. Kovalenko²

¹State Institution of Higher Education "I. Horbachevsky Ternopil State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine",

²Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Introduction. In maxillary sinusitis pathogenesis researchers paid much attention to the role of paranasal sinuses, sinus drainage dysfunctions, mucociliary transport system disorders in cases of damage of sinuses mucous membranes. Pathohistological, immunohistochemical and morphometric studies of mucosa were conducted. However, to evaluate the local inflammatory response in cases of chronic sinusitis and improvement of individual therapy for the patients, the immunohistochemical studies of the composition of inflammatory immunocyte infiltrates of paranasal sinus mucosa and adenoid vegetations bioplate would be reasonable.

The aim of the research was to study the immunohistochemical content of immunocyte infiltrates of paranasal sinuses adenomatous polyps in biopsy samples of patients suffering from chronic sinusitis.

Materials and Methods. Paranasal sinuses adenomatous polyps removed during surgery of 22 patients suffering from chronic maxillary sinusitis were studied. Immunohistochemical studies of paraffin sections of the removed polyps were performed using appropriate primary antibodies and visualization systems DAKO EnVision+ System (DAKO, Denmark).

Results. During microscopic investigation of paranasal sinuses adenomatous polyps of the patients suffering from chronic sinusitis, moderate and severe immunocyte infiltration of polyp stroma sometimes with focal follicular structures was presented. Immunohistochemical investigation of the cellular composition of these infiltrates proved the presence of CD8+ T-killer cells, CD4+ T-helper cells, CD68+ macrophages as well as single plasma cells. The irregularity of these cells markers expression was determined in dependence of the severity of inflammatory cell infiltration.

Conclusions. In the patients with chronic maxillary polyp sinusitis with mild and moderate immunocyte infiltration of paranasal sinus mucosa, among immune cells the CD4+ T-lymphocytes occupied the most relative area in polyp stroma, plasma cells – the least ($p < 0.001$). In the patients with significant immunocellular infiltration in immunocyte follicular infiltration of polyp stroma the relative area of CD4+ and CD8+ T-lymphocytes significantly exceeded the relative area of macrophages and plasma cells.

Key words:

maxillary sinusitis, adenomatous polyp, subpopulation of T-lymphocytes, macrophages, plasma cells.

Pathologia

2017; 14 (1), 91–94

DOI:

10.14739/2310-1237.2017.1.97793

E-mail:

yandrachyn@tdmu.edu.ua

Імуногістохімічні зміни слизової оболонки верхньощелепного синуса при аденоматозному поліпозі

Ю. М. Андрейчин, І. С. Коваленко

У патогенезі верхньощелепних синуситів досі найбільшу увагу дослідники приділяли ролі співусть приносних пазух, порушенню їхньої дренажної функції, зменшенню дієздатності мукоциліарної транспортної системи при ураженні слизової оболонки синусів. Для цього застосовувалися патогістологічні, імуногістохімічні та морфометричні дослідження слизової оболонки. Однак для сучасного оцінювання місцевої запальної реакції під час хронічних синуситів та уточнення персоналізованої терапії хворих доцільними є імуногістохімічні дослідження складу запальних та імуноклітинних інфільтратів біопатів слизової оболонки приносних пазух та аденоїдних вегетацій.

Мета роботи – імуногістохімічне визначення клітинного складу імуноцитарних інфільтратів аденоматозних поліпів придаткових пазух носа в біопсійно-операційному матеріалі хворих на хронічний синусит.

Матеріали та методи. Досліджено аденоматозні поліпи придаткових пазух носа, що вилучені під час операції у 22 хворих на хронічний верхньощелепний синусит. У парафінових зрізах видалених поліпів виконувались імуногістохімічні дослідження з використанням відповідних первинних антитіл і системи візуалізації DAKO EnVision+ System («DAKO», Данія).

Результати. Під час мікроскопічного дослідження аденоматозних поліпів придаткових пазух носа хворих на хронічний синусит виявлена помірна та виразна імуноцитарна інфільтрація стромі поліпів, іноді – з формуванням вогнищевих фолікулоподібних структур. Імуногістохімічний аналіз клітинного складу таких інфільтратів показав наявність у них CD8+ Т-кілерів, CD4+ Т-хелперів, CD68+ макрофагів, а також поодиноких плазматичних клітин. Встановлена нерівномірність експресії маркерів цих клітин залежно від виразності запально-клітинної інфільтрації.

Висновки. У хворих на хронічний верхньощелепний поліпозний синусит зі слабкою та помірною імуноцитарною інфільтрацією слизової оболонки придаткових пазух у стромі поліпів серед імуноцитів найбільшу відносну площу займали CD4+ Т-лімфоцити, найменшу – плазматичні клітини ($p < 0,001$). У пацієнтів із виразною імуноклітинною інфільтрацією в імуноцитарних фолікулоподібних інфільтратах стромі поліпів відносна площа CD4+ та CD8+ Т-лімфоцитів статистично значуще перевищувала відносну площу макрофагів і плазматичних клітин.

Ключові слова:

верхньощелепний синусит, аденоматозний поліп, субпопуляції Т-лімфоцитів, макрофаги, плазматичні клітини.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 91–94

Иммуногистохимические изменения слизистой оболочки верхнечелюстного синуса при аденоматозном полипозе

Ю. М. Андрейчин, И. С. Коваленко

В патогенезе верхнечелюстных синуситов до сих пор наибольшее внимание исследователи уделяли роли околоносовых пазух, нарушению их дренажной функции, уменьшению дееспособности мукоцилиарной транспортной системы при

Ключевые слова: верхнечелюстной синусит, аденоматозный полип, субпопуляции Т-лимфоцитов, макрофаги, плазматические клетки.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 91–94

поражении слизистой оболочки синусов, что приводит к снижению её резистентности к инфекции. Однако для оценки местной воспалительной реакции и уточнения персонализированной терапии больных целесообразно осуществлять иммуногистохимические исследования состава воспалительных и иммунноклеточных инфильтратов биоптатов слизистой оболочки околоносовых пазух и аденоидных вегетаций.

Цель работы – иммуногистохимическое исследование клеточного состава иммунноклеточных инфильтратов аденоматозных полипов придаточных пазух носа в биопсийно-операционном материале больных хроническим синуситом.

Материалы и методы. Исследованы аденоматозные полипы придаточных пазух носа, изъятые во время операции у 22 больных хроническим верхнечелюстным синуситом. В парафиновых срезах удалённых полипов выполнялись иммуногистохимические исследования с использованием соответствующих первичных антител и системы визуализации DAKO EnVision+ System («DAKO», Дания).

Результаты. Субпопуляции Т-лимфоцитов, макрофаги и плазматические клетки определялись иммуногистохимически с помощью моноклональных антител. Иммуногистохимический анализ показал наличие в инфильтратах CD8+ Т-киллеров, CD4+ Т-хелперов, CD68+ макрофагов, отдельных плазматических клеток. Установлена неравномерность экспрессии маркеров этих клеток в зависимости от выраженности воспалительно-клеточной инфильтрации.

Выводы. В строме пластинки слизистой оболочки придаточных пазух больных хроническим верхнечелюстным синуситом с аденоматозными полипами выявлена умеренная или выраженная иммунотарная инфильтрация, иногда с формированием фолликулоподобных структур. Наибольшую площадь занимали CD4+ Т-лимфоциты, наименьшую – плазматические клетки ($p < 0,001$). В случае фолликулоподобных структур площадь CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов значительно возрастала по сравнению с площадью макрофагов и плазматических клеток.

In maxillary sinusitis pathogenesis researchers paid much attention to the role of paranasal sinuses, sinus drainage dysfunctions, mucociliary transport system disorders in cases of damage of sinuses mucous membranes that causes infection resistance decrease, mucus stagnation and pathological processes progression [1–3]. Some researches were about various structural anomalies of the nasal cavity and paranasal sinuses, adenoid vegetations [4,5], influence of allergic factor [6,7]. Pathohistological, immunohistochemical and morphometric studies of mucosa were conducted [8].

However, it would be reasonable to evaluate the local inflammatory response in cases of chronic sinusitis and improve individual therapy for the patients, immunohistochemical studies of the composition of inflammatory and immunocyte infiltrates of paranasal sinus mucosa and adenoid vegetations bioplate.

The aim of the research is to study the immunohistochemical content of immunocyte infiltrates of paranasal sinuses adenomatous polyps in bioptic samples of the patients suffering from chronic sinusitis.

Materials and Methods

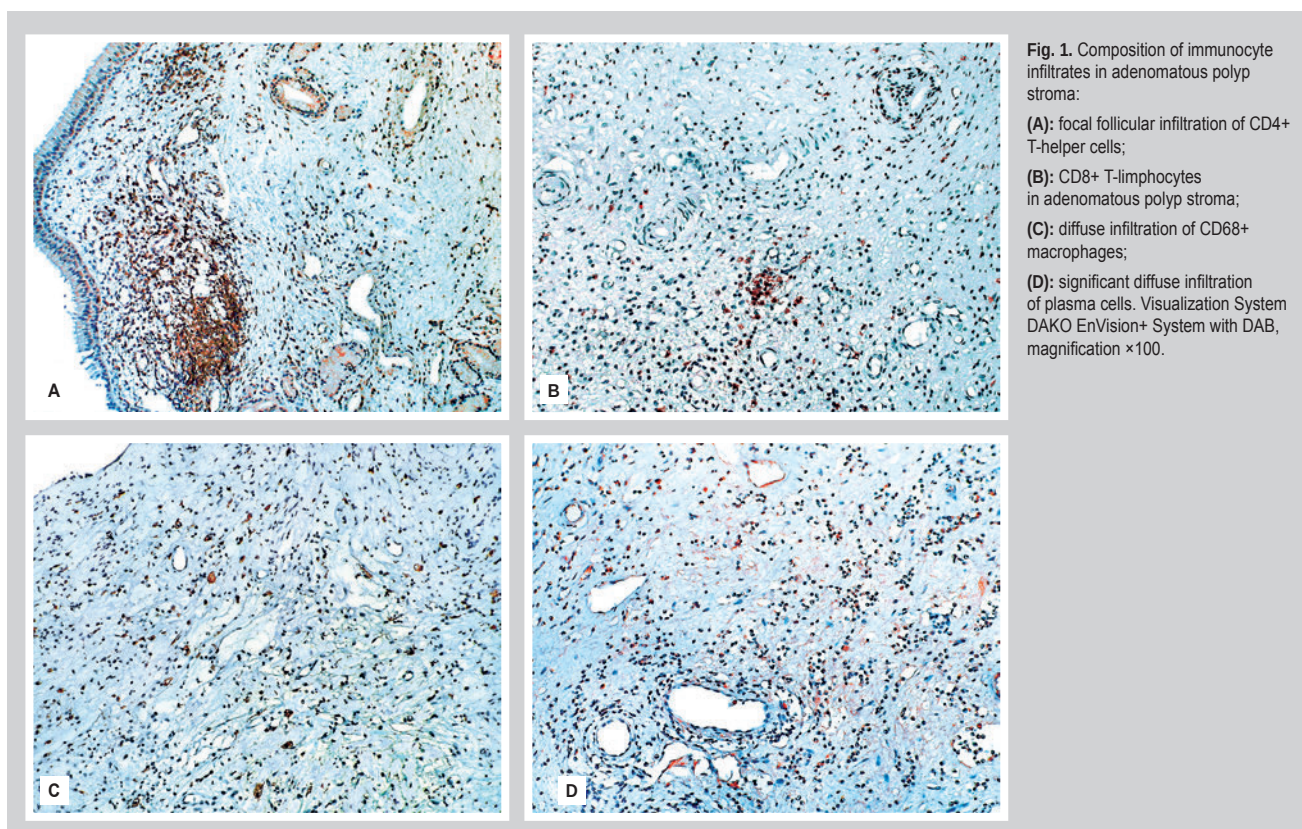
A complex pathomorphological investigation of paranasal sinuses adenomatous polyps removed during surgery of 22 patients (12 males and 10 females), 18–63 years old, suffering from chronic sinusitis, was conducted.

According to standard protocols, immunohistochemical studies in paraffin sections of adenomatous polyps after heat-induced epitope retrieval and endogenous peroxidase inhibition were performed using appropriate primary antibodies and visualization systems DAKO EnVision+ System with diaminobenzidine (DAKO, Denmark). CD8+ and CD4+ T-lymphocytes subpopulations in immunocellular infiltrates of polyps were marked using monoclonal antibodies *Mo a-Hu CD8, T-cell Clone C8 / 144B* and *Mo a-Hu CD4, Clone MT310* (DAKO, Denmark). Macrophages and plasma cells of immunocellular infiltrates were determined using monoclonal antibodies *Mo a-Hu CD68, Clone PG-M1* (DAKO, Denmark) and *Mo a-Hu Plasma Cell Ab-1 Clone LIV3G11* (NeoMarkers, USA).

The results of each immunohistochemical reaction were evaluated by means of standard microscope Axioplan 2 (Carl Zeiss, Germany), magnification x200, in each case 200 cells in 5 fields of view were analysed. The relative areas of CD8+ and CD4+ T lymphocytes, CD68+ macrophages and plasma cells in adenomatous polyps were estimated in percents by photo-digital morphometry in a standard area of histological sections (SAHS) of these polyps. SAHS were photo-digital illustration of adenomatous polyps histologic section captured by digital camera Olympus 3040 (Japan) at Axioplan 2 microscope (Carl Zeiss, Germany) amplification x200 in 5 fields of view. By means of the Image J program the relative area of immune-positive cells, which was the percentage of the number of pixels of corresponding immune-positive cells to the total number of pixels in a digital image of adenomatous polyps, was determined. Statistical analysis of the results was performed by Statistica® for Windows 6.0 (StatSoft Inc., USA, license No. AXXR712D833214FAN5). The mean value (M) and standard deviation (σ) were evaluated. Statistical significance of the differences in the compared values was determined by Student's t-test (T). The results were significant at $p < 0.05$.

Results and discussion

During microscopic investigation of paranasal sinuses adenomatous polyps of the patients suffering from chronic sinusitis, moderate and severe immunocyte infiltration of polyp stroma sometimes with focal follicular structures was presented. Immunohistochemical investigation of the cellular composition of these infiltrates proved the presence of CD8+ T-killer cells, CD4+ T-helper cells, CD68+ macrophages as well as single plasma cells (Fig. 1 A, B, C, D). Similar features of morphological structure of nasal polyps were noted by other authors who described multiple focal and diffuse immunocyte infiltration in the epithelium and stroma of the polyps; CD4+ T-helper cells, CD8+ T-killer cells, CD3+ and CD25+ activated lymphocytes, eosinophils, mast cells and a significant number of CD68+ macrophages were determined in their content [9–11].



The expression irregularity of lymphocytic cells markers, macrophages and plasma cells depending on the severity of inflammatory cell infiltration was determined during simultaneous immunohistochemical and morphometric investigation of cellular composition of immunocyte infiltrate of adenomatous polyp stroma. In the patients with mild and moderate immunocyte infiltration of polyp proper mucous plate with no immunocyte follicles or with single follicular structures, the average index of relative area occupied by CD4+ T-lymphocytes was $(2.80 \pm 1.23) \%$, CD8+ T-lymphocytes – $(2.46 \pm 3.72) \%$, CD68+ macrophages – $(1.38 \pm 0.64) \%$ and plasma cells – $(0.86 \pm 0.59) \%$. These first two values are significantly different from the last two ($p < 0.001$). Thus, in the patients with mild and moderate immunocyte infiltration with single follicular structures CD4+ T-lymphocytes occupied the most area and plasma cells – the least. Distribution irregularity of immunocyte infiltration cells was detected by other researchers too, and it mainly depended on different kinds of nasal polyps and their etiological factors. For example, it was found that in the epithelium and stroma of non-allergic nasal polyps there were a number of CD8+ cells and a small amount of CD4+ cells, as opposed to polyps of the patients with allergy symptoms [11]. In addition, according to some studies [12], CD68+ macrophages with significant expression of mannose receptors were often defined along with the CD4+ T-cells and plasma cells in polyp stroma. The expression was associated with phagocytic activity of macrophages and their transduction anti-inflammatory signals to explain recurrent course of chronic inflammation in cases of sinusitis.

In the patients with significant immune-cellular infiltration of polyp stroma with follicular immunocyte structures,

the area of CD4+ T-helper cells and CD8+ T-killer cells increased much. Average rate of relative area occupied by CD4+ T-helper cells and CD8+ T-killer cells increased by (4.29 ± 2.80) and $(3.53 \pm 5.56) \%$ respectively. The relative area occupied by CD68+ macrophages and plasma cells with underlying significant immunocellular infiltration was (1.56 ± 0.83) and $(1.37 \pm 0.75) \%$, respectively. The above mentioned area rates of CD4+ and CD8+ T-lymphocytes were significantly larger than the area of macrophages and plasma cells ($p < 0.001$). Similar results of histological and histochemical study of mucosa bioplate in patients suffering from sinusitis were also achieved by other authors [8,11]. The obtained data prove that, when increasing of inflammatory cell infiltration of stroma and accumulation of inflammatory mediators associated with prolonged tissue damage takes place, polyp cells become resistant to immune mediated apoptosis [11,13]. According to the researches of W. Fokkens et al. and P. Gevaert et al. [14,15], the follicular clusters of immune cells in the stroma of nasal polyps with underlying abundant inflammatory cell infiltration of CD20+ B-cells, CD3+ T-cells and plasma IgE+ cells was found in polyps in cases of staphylococcal infection.

Some researchers studied the profile and level of factors expression with pro- and anti-apoptosis activity depending on the severity and changes in the cell composition of immunocyte infiltration in the stroma of various types of nasal polyps. The eosinophils and lymphocytes resistant to the Fas-L/Fas-mediated apoptosis were found in the immunocyte infiltrates content. Besides, low expression of DFF-45 (DNA fragmentation factor subunit alpha) was detected in the stroma of the most of nasal polyps, so polyp cells with abundant immunocyte infiltration were more resistant to apoptosis with more active

proliferative properties. Also in the polyp stroma, RCAS1 (receptor-binding cancer antigen expressed on SiSo cells) positive macrophages responsible for cytotoxic lymphocytes inhibition were identified that proves their impact on local immune dysfunction of nasal polyps [16].

So, the paranasal proper mucous plate, in patients suffering from chronic sinusitis with adenomatous polyps of abundant inflammatory cell infiltration consisting of various immunophenotype cells, proves the relapsing course of chronic inflammation, activation of immune destruction of bacterial antigens involving antibodies, CD8+ T-lymphocytes and macrophages, as well as activation of mucosa cells resistance to apoptotic death and their timely self-maintenance support.

Conclusions

1. In the patients with chronic maxillary sinusitis with paranasal adenomatous polyps, moderate or severe immunocyte infiltration of CD8+ T-killer cells, CD4+ T-helper cells, CD68+ macrophages, plasma cells, which sometimes formed follicular structures, were found in polyp stroma.

2. In the patients with chronic maxillary polyp sinusitis with mild or moderate immunocyte infiltration of paranasal sinus mucosa in polyp stroma, among immune cells the CD4+ T-lymphocytes occupied the most relative area, plasma cells – the least ($p < 0.001$).

3. In the patients with significant immunocellular infiltration and focal follicular structures of maxillary sinus mucosa, the relative area of CD4+ and CD8+ T-lymphocytes in immunocyte infiltrates of polyp stroma significantly exceeded the relative area of macrophages and plasma cells.

Further research prospects. The obtained data can be used in development the correction of immune-histological changes of maxillary sinus mucosa.

References

- Betlejewski, S., & Betlejewski, A. (2008) The influence of nasal flow aerodynamics on the nasal physiology. *Otolaryngol*, 62(3), 321–325. doi: 10.1016/S0030-6657(08)70263-4.
- Zavaliy, M. A., & Bezshapochny, S. D. (2010) Rezul'taty kompleksnogo lecheniya bol'nykh s obostreniem khronicheskogo gnoynogo sinusita [Results of complex treatment for patients suffering from exacerbation of chronic purulent sinusitis]. *Zhurnal vushnykh, nosovykh i horlovykh khvorob*, 6, 16–21. [in Russian].
- Meusel, T., Negoias, S., Scheibe, M., & Hummel, T. (2010) Topographical differences in distribution and responsiveness of trigeminal sensitivity within the human nasal mucosa. *Pain*, 151(2), 516–521. doi: 10.1016/j.pain.2010.08.013.
- Ramadan, H. H., & Makary, C. A. (2014) Can computed tomography score predict outcome of adenoidectomy for chronic rhinosinusitis in children. *The American Journal of Rhinology & Allergy*, 28(1), 80–82. doi: 10.2500/ajra.2014.28.4004.
- Evcimik, M. F., Dogru, M., Cirik, A. A., & Nepesov, M. I. (2015) Adenoid hypertrophy in children with allergic disease and influential factors. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 79(5), 694–697. doi: 10.1016/j.ijporl.2015.02.017.
- Carvalho, F. G., Puppini-Rontani, R. M., Fúcio, S. B., & Negri, T. C.; Carlo, H. L., Garcia-Godoy, F. (2012) Analysis by confocal laser scanning microscopy of the MDPB bactericidal effect on *S. mutans* biofilm CLSM analysis of MDPB bactericidal effect on biofilm. *Journal of Applied Oral Science*, 20(5), 568–575. doi: 10.1590/S1678-77572012000500013.
- Pukhlik, S. M., & Buchatsky, M. S. (2013) Sovremennye metody vizualizatsii sostoyaniya okolonosovykh pazukh. Opyt ultrazvukovoy diagnostiki [Modern methods of visualisation of paranasal sinuses. Experience of ultrasonic diagnostics]. *Rynolohiya*, 2, 58–64. [in Russian].
- Zakharova, H. P., & Il'inskaya, E. V. (2002) Kharakteristika ul'trastrukturnykh osobennostey slizistoy obolochki verkhnechelyustnykh pazukh pri khronicheskikh rinosinitakh [Characteristic ultrastructural features of the mucosa of the maxillary sinus in chronic rhinosinitis]. *Novosti otorinolaringologii*, 3, 25–31. [in Russian].
- Tan, B. K., Li, Q.-Zh., Suh, L., Kato, A., Conley, D. B., Chandra, R. K., et al. (2011). Evidence for intranasal anti-nuclear autoantibodies in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps. *J Allergy Clin Immunol*, 128(6), 1198–1206. doi: 10.1016/j.jaci.2011.08.037.
- Hulse, K. E., Stevens, W. W., Tan, B. K., & Schleimer, R. P. (2015). Pathogenesis of nasal polyposis. *Clin Exp Allergy*, 45(2), 328–346. doi: 10.1111/cea.12472.
- Dutsch-Wicherek, M., Tomaszewska, R., Lazar, A., Stręk, P., Wicherek, L., Piekutowski, K., & Jóźwicki, W. (2010). The evaluation of metallo-thionein expression in nasal polyps with respect to immune cell presence and activity. *BMC Immunol.*, 11, 10. doi: 10.1186/1471-2172-11-10.
- Claeys, S., De Belder, T., Holtappels, G., Gevaert, P., Verhasselt, B., Van Cauwenberge, P., Bachert, C. (2004). Macrophage mannose receptor in chronic sinus disease. *Allergy*, 59, 606–612. doi: 10.1111/j.1398-9995.2004.00471.x.
- Könnecke, M., Bösccke, R., Waldmann, A., Bruchhage, K.-L., Linke, R., Pries, R., et al. (2014). Immune Imbalance in Nasal Polyps of Caucasian Chronic Rhinosinusitis Patients Is Associated with a Downregulation of E-Selectin. *J Immunol Res.*, 2014, 959854. doi: 10.1155/2014/959854.
- Fokkens, W., Lund, V., & Mullol, J. (2007). European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps Group. *Rhino*, 20, 1–136.
- Gevaert, P., Holtappels, G., Johansson, S.G.O., Cuvelier, C., Van Cauwenberge, P., & Bachert, C. (2005). Organisation of secondary lymphoid tissue and local IgE formation to *Staphylococcus aureus* enterotoxins in nasal polyps. *Allergy*, 60(1), 71–79. doi: 10.1111/j.1398-9995.2004.00621.x.
- Dutsch-Wicherek, M., Tomaszewska, R., Stręk, P., Wicherek, L., & Skladzien, J. (2006). The analysis of RCAS1 and DFF-45 expression in nasal polyps with respect to immune cells infiltration. *BMC Immunol.*, 21, 7–4. doi: 10.1186/1471-2172-7-4.

Information about authors:

Andreychyn Yu. M., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Otorhinolaryngology, Ophthalmology and Neurosurgery of the State Institution of Higher Education "Ivan Horbachevsky Ternopil State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine", Ukraine.
Kovalenko I. S., MD, PhD, Assistant of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Андрейчин Ю. М., д-р мед. наук, доцент каф. отоларингології, офтальмології та нейрохірургії, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського», Україна.
Коваленко І. С., канд. мед. наук, асистент каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет. Україна.

Сведения об авторах:

Андрейчин Ю. М., д-р мед. наук, доцент каф. отоларингологии, офтальмологии и нейрохирургии, ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского», Украина.
Коваленко И. С., канд. мед. наук, ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 14.02.2017

Після доопрацювання / Revised: 24.02.2017

Прийнято до друку / Accepted: 02.03.2017

Стан нейро-гормональних систем при черепно-мозковій травмі та вплив на нього карбацетаму

С. В. Зяблицев, О. О. Стародубська

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна

Використання модуляторів ГАМК-ергічної системи при черепно-мозковій травмі (ЧМТ) активно досліджується; визначено їхній позитивний вплив на кровообіг мозку, гальмування глутаматної ексайтотоксичності, зменшення вільно-радикального ушкодження, поліпшення метаболізму та енергозабезпечення нейронів. Але вплив карбацетаму на функціонування нейро-гормональних систем за умов ЧМТ не вивчений.

Мета роботи – визначення впливу карбацетаму на стан нейро-гормональних систем у динаміці експериментальної ЧМТ.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили на білих щурах-самцях віком шість місяців, вагою 180–220 г. ЧМТ моделювали за В. М. Єльським, С. В. Зяблицевим (2005) із дотриманням Гельсінської декларації, що ухвалена Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації, загальних норм і принципів Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин. У групі порівняння вводили 1 мл фізіологічного розчину внутрішньоочеревинно. Тваринам дослідних 1 та 2 груп внутрішньоочеревинно вводили карбацетам та актовегін у дозах 5 мг/кг і 16 мг/кг відповідно, протягом 10 діб після травми. У крові визначали вміст адренкортикотропного гормону (АКТГ), соматотропного гормону (СТГ), кортикостерону та вазопресину.

Результати. Використання карбацетаму протягом 10 діб після ЧМТ запобігало первинній гіперактивації та сприяло збереженню функціонування гіпоталамо-нейрогіпофізарної та гіпоталамо-гіпофізарно-кортикоадrenalної систем. Порівняно з актовегіном відновлення секреції АКТГ, кортикостерону та вазопресину на тлі використання карбацетаму відбувалась у скорочені терміни (з 3 по 7 добу). Використання карбацетаму значуще більшою мірою, ніж актовегін, сприяло запобіганню гіпосекреції СТГ. Виявлені модулюючі ефекти карбацетаму могли створити умови для ефективнішого відновлення метаболізму та процесів репарації головного мозку при ЧМТ.

Висновки. Використання в післятравматичному періоді карбацетаму ефективніше, ніж актовегін, відновлює функціонування нейро-гормональних систем шляхом запобігання їхній гіперактивації та виснаженню або надмірному гальмуванню. Такий ефект можна вважати модулюючим з позитивною відновлювальною дією.

Ключові слова:

гіпоталамо-гіпофізарна система, черепно-мозкова травма, карбацетам.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 95–99

DOI:
10.14739/2310-1237.2017.1.97502

E-mail:
zsv1965@gmail.com

Состояние нейро-гормональных систем при черепно-мозговой травме и влияние на него карбацетама

С. В. Зяблицев, О. О. Стародубская

Использование модуляторов ГАМК-эргической системы при черепно-мозговой травме (ЧМТ) активно исследуется; определено их позитивное влияние на кровообращение мозга, торможение глутаматной эйсайтотоксичности, уменьшение свободно-радикального повреждения, улучшение метаболизма и энергообеспечения нейронов. Однако влияние карбацетама на функционирование нейро-гормональных систем при ЧМТ не изучено.

Цель работы – изучить влияние карбацетама на состояние нейро-гормональных систем в динамике экспериментальной ЧМТ.

Материалы и методы. Исследование проведено на белых крысах-самцах возрастом шесть месяцев, весом 180–220 г. ЧМТ моделировали по методике В. Н. Ельского, С. В. Зяблицева (2005) с соблюдением Хельсинской декларации, принятой Генеральной ассамблеей Всемирной медицинской ассоциации, общих норм и принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных. В группе сравнения вводили 1 мл физиологического раствора внутрибрюшинно. Животным опытных групп 1 и 2 внутрибрюшинно вводили карбацетам и актовегін в дозах 5 мг/кг и 16 мг/кг массы тела соответственно, в течение 10 суток после травмы. В крови определяли содержание адренкортикотропного гормона (АКТГ), соматотропного гормона (СТГ), кортикостерона и вазопрессина.

Результаты. Использование карбацетама в течение 10 суток после ЧМТ предотвращало первичную гиперактивацию и способствовало сохранению функционирования гипоталамо-нейрогипофизарной и гипоталамо-гипофизарно-кортикоадrenalной систем. В сравнении с актовегіном возобновление секреции АКТГ, кортикостерона и вазопрессина на фоне использования карбацетама происходило быстрее (с 3 по 7 сутки). Использование карбацетама значимо в большей степени, чем актовегін, способствовало предотвращению гипосекреции СТГ. Вывявленные модулирующие эффекты карбацетама могли создать условия для более эффективного возобновления метаболизма и процессов репарации головного мозга при ЧМТ.

Выводы. Использование в посттравматическом периоде карбацетама более эффективно, чем актовегін, возобновляет функционирование нейро-гормональных систем путём предотвращения их гиперактивации и истощения или чрезмерного торможения. Такой эффект можно считать модулирующим с позитивным восстанавливающим действием.

Ключевые слова:

гипоталамо-гипофизарная система, черепно-мозговая травма, карбацетам.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 95–99

Key words:

hypothalamo-hypophyseal system, traumatic brain injury, Carbacetam.

Pathologia

2017; 14 (1), 95–99

Condition of neuro-hormonal systems in traumatic brain injury and influence of Carbacetam

S. V. Ziablitshev, O. O. Starodubskya

Use of GABA-ergic modulators in the traumatic brain injury (TBI) is actively investigated; their positive influence on brain circulation, inhibition of glutamate excitotoxicity, decrease of free radical damage, improvement of metabolism and power supply of neurons is determined. However, influence on functioning of neuro-hormonal systems in TBI isn't studied.

The goal of given study was to investigate the Carbacetam effects on the condition of neuro-hormonal system in dynamics of experimental TBI.

Methods. Research was carried out on white rat-males, age of six months, weighing 180–220 g. TBI was modeled by V. N. Elskyy and S. V. Ziablitshev model (2008) with the observance of Declaration of Helsinki adopted by the World Medical Association General Assembly, and general norms and principles of European Convention for the Protection of Vertebrate Animals. In comparison group 1 ml of normal saline solution was injected intraperitoneally. In animals of experimental groups 1 and 2 Carbacetam and Actovegin were injected intraperitoneally in doses of 5 mg/kg and 16 mg/kg of body weight, respectively, within 10 days after trauma. In blood the content of adrenocorticotrophic hormone (ACTH), somatotrophic hormone (STH), corticosterone and vasopressin were determined.

Results and discussion. Administration of Carbacetam within 10 days after TBI prevented primary hyperactivation and contributed to the preservation of functioning of hypothalamic-neurohypophysis system and hypothalamic-pituitary-adrenal axis. In comparison with Actovegin, renewal of secretion of ACTH, corticosterone and vasopressin against the background of Carbacetam administration happened faster (from the 3rd to the 7th days). Administration of Carbacetam promoted prevention of the hyposecretion of STH significantly more than Actovegin. Identified modulating effects of Carbacetam could create conditions for more effective metabolism renewal and reparation processes in TBI.

Conclusions. Administration of Carbacetam in the posttraumatic period renews functioning of neuro-hormonal systems more effectively than Actovegin, by prevention of their hyperactivation and exhaustion or excessive inhibition. Such an effect can be considered modulating with a positive restoring effect.

Відомо, що гормони надниркових залоз відіграють суттєву роль у регуляції життєво важливих функцій організму за умов гострого та хронічного стресів і травми. Їхній вплив на регуляцію енергетичного обміну клітини є одним із ключових моментів гомеостатичної регуляції при черепно-мозковій травмі (ЧМТ) і містить глюконеогенетичну, гіперглікемічну, глікогенолітичну та протеокатаболічну дію, а основними мішенями є печінка, жирова та м'язова тканини; ефект гормонів реалізується шляхом утворення РНК, тобто на транскрипційному рівні, що супроводжується змінами біосинтезу клітинних ензимів [4,8]. Гіпоталамо-нейрогіпофізарна система є однією з основних нейрогуморальних систем, що сприяють адаптивній діяльності організму як у фізіологічних, так і в патофізіологічних умовах [5]. Збільшення рівня вазопресину (ВП) при різних екстремальних станах, зокрема при ЧМТ, – складова загального адаптаційного синдрому [4].

Новий фармакологічний засіб карбацетам належить до анксиолітиків, ендогенних модуляторів ГАМК-бензодіазепінового рецепторного комплексу, похідних β-карболіну [9]. Використання модуляторів ГАМК-ергічної системи за умов ЧМТ досліджується, визначено їхній вплив на кровообіг мозку, гальмування глутаматної ексайтотоксичності, зменшення вільно-радикального uszkodження, поліпшення метаболізму та енергозабезпечення нейронів [1,10]. У низці досліджень отримані дані щодо протизапальних, протипухлинних та імуномодуючих ефектів ГАМК [6,7] та її ролі в механізмах пам'яті, можливості нейромодуляції під час терапії хвороби Альцгеймера [2,11,12].

Мета роботи

Визначення впливу карбацетаму на стан нейро-гормональних систем у динаміці експериментальної черепно-мозкової травми.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на 140 білих безпородних щурах-самцях, віком шість місяців, вагою 180–220 г, які утримувалися на стандартному раціоні при вільному доступі до їжі, води в умовах віварію. Моделювання ЧМТ проводили в ранковій (з восьмої до десятої) години у спеціально відведеному провітреному приміщенні при температурі 18–22 °С, відносній вологості 40–60 % та освітленості 250 люкс із дотриманням Гельсінської декларації, що ухвалена Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2008), загальних норм і принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей, Першого національного конгресу з біоетики та законодавства України. Моделювання здійснили за методикою В. М. Єльського, С. В. Зяблицева (2005) вантажем, що вільно падає на фіксовану голову тварини з енергією удару 0,425 кДж [3]. Тваринам дослідних груп 1 і 2 (у кожній групі n=45) після моделювання ЧМТ внутрішньочеревинно вводили карбацетам (5 мг/кг маси) та актовегін (16 мг/кг маси) протягом 10 діб після травми [7]. Актовегін обрали для порівняння з ефектом карбацетаму як препарат, котрий широко використовується для лікування пошкодження ЦНС (ЧМТ, постінсультні стани, нейроінфекції тощо) завдяки його антигіпоксичній дії, поліпшенню периферійного кровообігу та трофіки тканин [10]. Саме ці ефекти зумовили вибір актовегіну як препарату порівняння з карбацетамом. Як групу порівняння використали 45 щурів, яким виконували всі маніпуляції, аналогічні до здійснених у дослідних групах, але замість лікарських засобів, що досліджували, вводили 1 мл фізіологічного розчину внутрішньочеревинно. Групу контролю становили 5 тварин, яких виводили з експерименту до нанесення травми, – контроль початкового рівня гормонів. Експериментальних тварин виводили з експерименту до нанесення травми, – контроль початкового рівня гормонів. Експериментальних тварин виводили з експерименту до нанесення травми, – контроль початкового рівня гормонів.

перименту в першу, на третю, сьому (по 10 з кожної групи), 14 (8 тварин) і 30 (7 тварин) добу після травми. Імуноферментним методом у плазмі крові визначений вміст адренокортикотропного гормону (АКТГ; DSL, США), соматотропного гормону (СТГ) і кортикостерону (Кс; Immunotech, Франція), вазопресину (ВП, Buhmann lab. AG, Швеція). Статистичні розрахунки здійснили в середовищі прикладних програм Statistica 10 (StatSoft Inc., USA).

Результати та їх обговорення

У таблицях 1–4 наведена динаміка вмісту у крові гормонів експериментальних тварин. У групі порівняння загалом відбувалась гіперактивація секреції АКТГ, Кс і ВП. Так, у гострому періоді ЧМТ (у 1 та 3 добу) рівень АКТГ (табл. 1) був збільшеним у 1,9–2,0 раза ($p < 0,05$).

Рівень гормону починав знижуватись із 7 доби, а на 14 був навіть зниженим порівняно з контролем до 75,6% ($p < 0,05$). Можна припустити, що первинна гіперактивація змінювалась вторинним виснаженням гормональної функції.

Відповідно до такої динаміки АКТГ змінювалась і секреція Кс (табл. 2). Її максимум відбувався на 3 добу після травми (у 3,3 раза; $p < 0,05$) із наступним зниженням на 14 добу (у 2,5 раза порівняно з рівнем 3 доби; $p < 0,05$) та остаточним зниженням функціональної активності на 30 добу, коли рівень гормону був нижчим за контрольний (у 1,2 раза), що не набуло статистичної значущості ($p > 0,05$).

У дослідній групі 1 (із введенням карбацетаму) визначені такі зміни (табл. 1): у 1 добу рівень АКТГ також, як і у групі порівняння, підвищувався, але цей приріст був виражений меншою мірою – у 1,4 раза перевищував контрольний рівень ($p < 0,05$). На 3 добу рівень гормону був вищим за контрольний у 1,2 раза ($p < 0,05$), а надалі статистично значуще не відрізнялось від контролю. Рівень АКТГ (1, 3, 7 доба) був значуще нижчим за такі показники у групі порівняння (у 1,4–1,5 раза; $p < 0,05$ у всіх випадках). Відповідно й динаміка секреції Кс у дослідній групі 1 відрізнялась меншою активацією. Так, рівень гормону (табл. 2) перевищував контрольний тільки у першу добу – у 1,4 раза ($p < 0,05$), а надалі майже від нього не відрізнявся. Рівень Кс (1, 3 та 7 доба) після травми був значно меншим за такий у групі порівняння (у 2,3–2,7 раза; $p < 0,05$ на всіх строках спостереження).

У дослідній групі 2 (із введенням актовегіну) рівень АКТГ (табл. 1) у 1 та 3 добу був суттєво більшим за контроль (відповідно в 1,9 раза та 1,5 раза; $p < 0,05$ в обох випадках), але такий приріст відставав від показників дослідної групи 1, хоча статистично значущої різниці в ці строки не виявили. Надалі статистичної різниці між показниками дослідної групи 2 з іншими групами не виявили.

Динаміка секреції Кс у дослідній групі 2 відрізнялась суттєвим приростом у 1 добу (у 2,7 раза; $p < 0,05$), після чого рівень гормону поступово знижувався до контрольних значень на 14 добу після травми. Необхідно відзначити, що на 3 та 7 добу рівень Кс був статистично значуще нижчим за показники групи порівняння (у 1,2–1,5 раза) та вищим (у 1,8–2,0 раза) за показники

Таблиця 1. Динаміка вмісту у крові АКТГ ($n = 140$); $M \pm m$

АКТГ, пмоль/л	1 доба	3 доби	7 діб	14 діб	30 діб
Контроль	41,8±3,4				
Група порівняння (ЧМТ)	84,3±7,6*	77,6±8,9*	62,8±7,6*	31,6±4,1	45,6±4,2
Дослідна група 1 (ЧМТ + карбацетам)	58,7±5,5*	51,6±5,1*	42,3±4,4	35,8±3,8	40,9±4,1
Дослідна група 2 (ЧМТ + актовегін)	80,3±7,0*	63,1±7,2*	47,6±4,8	40,6±4,1	42,3±3,9

*: $p < 0,05$ порівняно з контрольними даними.

Таблиця 2. Динаміка вмісту у крові Кс ($M \pm m$)

Кс, нмоль/л	1 доба	3 доби	7 діб	14 діб	30 діб
Контроль	380±27				
Група порівняння (ЧМТ)	1157±92*	1235±103*	953±67*	498±58	306±44
Дослідна група 1 (ЧМТ + карбацетам)	515±46*	458±51	374±28	361±34	394±35
Дослідна група 2 (ЧМТ + актовегін)	1036±112*	847±77*	764±66*	391±29	350±33

*: $p < 0,05$ порівняно з контрольними даними.

Таблиця 3. Динаміка вмісту у крові ВП ($M \pm m$)

ВП, пмоль/л	1 доба	3 доби	7 діб	14 діб	30 діб
Контроль	21,0±2,2				
Група порівняння (ЧМТ)	66,3±5,4*	60,2±5,6*	27,2±2,1*	14,9±1,5*	23,1±2,2
Дослідна група 1 (ЧМТ + карбацетам)	44,3±4,2*	41,5±4,1*	32,7±3,9*	20,3±2,2	22,9±2,2
Дослідна група 2 (ЧМТ + актовегін)	61,8±7,1*	57,0±4,8*	44,6±4,8*	25,3±2,5	20,7±2,1

*: $p < 0,05$ порівняно з контрольними даними.

дослідної групи 1 ($p < 0,05$ для обох порівнянь). На 14 та 30 добу рівні Кс у дослідній групі 2 не відрізнялись від інших груп.

Рівень ВП (табл. 3) у 1 та 3 добу після травми у групі порівняння у 2,9–3,2 раза перевищував контроль ($p < 0,05$ для обох спостережень).

Надалі він повертався до контрольних значень, але на 14 добу був статистично значуще нижчим за контрольний рівень (у 1,4 раза; $p < 0,05$). Цьому передувало чималий спад вмісту гормону на 7 добу порівняно з 3 (у 2,2 раза; $p < 0,05$). У дослідній групі 1 (з введенням карбацетаму) первинна гіперактивація була виражена меншою мірою – рівень гормону на 1–3 добу перевищував контроль у 2,0–2,1 раза ($p < 0,05$). Надалі рівень гормону знижувався та з 14 доби повертався до контрольних значень. Різкий спад рівня ВП на 7 добу та зниження нижче контролю на 14, що притаманне групі порівняння, під час введення карбацетаму не відзначено. У дослідній групі 2 рівень ВП у 1 та 3 добу суттєво підвищувався порівняно з контролем (у 2,7–2,9 раза; $p < 0,05$ для обох спостережень), після чого рівень гормону планомірно знижувався до контрольних значень на 14 та 30 добу. Різкого зниження рівня ВП на 7 та 14 добу, що притаманне групі порівняння, під час введення актовегіну також не відзначили.

Динаміка рівня ще одного гіпофізарного гормону СТГ (табл. 4) відрізнялась стабільним зниженням на 1–7 добу після травми (у 1,4–1,7 раза; $p < 0,05$ для всіх строків).

Таблиця 4. Динаміка вмісту у крові СТГ ($M \pm m$)

СТГ, мкг/л	1 доба	3 доби	7 діб	14 діб	30 діб
Контроль	1,45±0,12				
Група порівняння (ЧМТ)	1,01±0,09*	0,85±0,08*	0,96±0,09*	0,62±0,04*	0,70±0,05*
Дослідна група 1 (ЧМТ + карбацетам)	1,21±0,12	1,35±0,11	1,45±0,12	1,32±0,11	1,48±0,13
Дослідна група 2 (ЧМТ + актовегін)	1,11±0,10*	0,99±0,07*	1,13±0,21*	1,09±0,10*	1,34±0,30

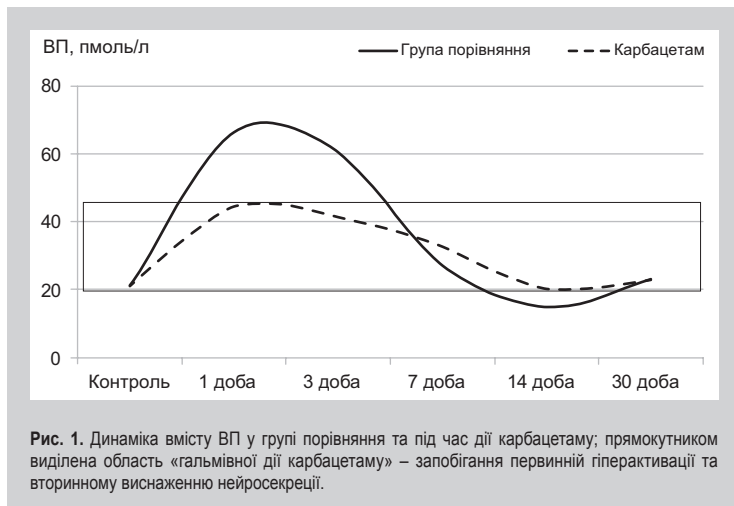
*: $p < 0,05$ порівняно з контрольними даними.

Рис. 1. Динаміка вмісту ВП у групі порівняння та під час дії карбацетаму; прямокутником виділена область «гальмівної дії карбацетаму» – запобігання первинній гіперактивації та вторинному виснаженню нейросекреції.

Найвираженіше зниження рівня гормону визначено на 14 та 30 добу (відповідно, у 2,3 раза та 2,1 раза; $p < 0,05$ для обох випадків). У дослідній групі 1 рівень СТГ знижувався тільки у 1 добу (в 1,2 раза), що натомість не мало статистичної значущості ($p > 0,05$). Надалі рівень гормону не відрізнявся від контролю та був постійно вищим за відповідні рівні групи порівняння (в 1,5–2,1 раза; $p < 0,05$ для всіх строків спостереження). У дослідній групі 2 рівень СТГ після травми був загалом нижче контролю (в 1,3–1,5 раза; $p < 0,05$), крім 30 доби спостереження, коли ці показники вже не відрізнялись. Однак рівень гормону був вищим за показники групи порівняння, що набувало статистичної значущості на 14 (в 1,8 раза) та на 30 добу (в 1,9 раза; $p < 0,05$ в обох випадках). При цьому показники рівня СТГ у дослідній групі 2 весь час спостереження були меншими за показники дослідної групи 1, що мало статистичну значущість для 3–14 доби (в 1,2–1,4 раза; $p < 0,05$). Тільки на 30 добу рівні гормону в цих групах не відрізнялись.

Аналіз динаміки функціональної активності вивчених нейро-гормональних систем показав: відразу після травми суттєво активувалась секреція як центрального, так і периферичного ланцюгів гіпоталамо-гіпофізарно-кортикоадrenalової системи, а також нейросекреція ВП. У перші три доби рівень АКТГ збільшувався вдвічі, а ВП і Кс – утричі. На 7–14 добу така активація затихала, й рівень гормонів відновлювався на контрольному рівні. Центральні ланцюги після первинної гіперактивації мали тенденцію до дальшого (на 14 добу) зниження функціональної активності (для АКТГ) і навіть її виснаження (для ВП). Така динаміка узгоджувалась із даними фахової літератури [4] та показувала особливості реакції нейро-гормональних систем при ЧМТ.

Введення карбацетаму суттєво впливало на динаміку активності нейро-гормональних систем. Приріст рівня АКТГ у 1–3 добу був виражений меншою мірою, а його відновлення починалося вже з третьої доби. Відповідно й динаміка секреції Кс відрізнялась меншою активацією. Введення карбацетаму супроводжувалось меншим проростом у крові ВП, рівень якого з 14 доби відновлювався до контрольних значень, а також запобігало різкому спаду рівня гормону на 7–14 добу. Отже, карбацетам запобігав первинній гіперактивації та вторинному виснаженню центральних ланцюгів нейро-гормональних систем.

На *рисунку 1* показана гальмівна дія карбацетаму. Вплив препарату полягає в обмеженні первинної гіперактивації та запобіганні вторинному виснаженню процесів нейросекреції при ЧМТ.

Введення актовегіну фактично не впливало на показники первинної активації нейро-гормональних систем, але показало свою ефективність щодо скорішого відновлення їхньої функції та запобігання зниженню активності й виснаження в період 14 доби. Порівняння дії препаратів показало: позитивний ефект актовегіну, котрий ґрунтується на його антигіпоксичній дії, поліпшенні периферійного кровообігу та трофіки тканин [10] реалізується у віддаленому періоді та не запобігає первинній гіперактивації нейро-гормональних систем. На відміну від цього ефект карбацетаму реалізується завдяки його нейромедіаторній активності відразу після травми, запобігає первинній гіперактивації та вторинному виснаженню нейросекреторного процесу. Саме це може перебувати в основі антигіпоксичного та протинабрякового ефектів карбацетаму під час ЧМТ – завдяки обмеженню зони первинного ураження та запобіганню системним регуляторним порушенням ЦНС.

Аналіз динаміки вмісту СТГ і впливу на неї досліджених препаратів показав, що під час ЧМТ відбувалось стабільне гальмування секреції гормону.

Введення карбацетаму призводило до відновлення секреції СТГ після ЧМТ. Це, на нашу думку, сприяло активації в післятравматичному періоді не тільки катаболічних реакцій, але й реакцій анаболізму, які активуються СТГ. Це, своєю чергою, могло активувати процеси відновлення та репарації. Отже, запобігання гальмуванню секреції СТГ під дією карбацетаму може розглядатися як позитивна саногенетична реакція. З іншого боку, такий ефект висвітлює наявність не тільки гальмувального (як щодо АКТГ і ВП), але й активуючого ефекту (щодо СТГ) карбацетаму. Це вказує на проявлення його модулюючого ефекту при ЧМТ, що загалом патогенетично обґрунтовує дальше вивчення ефектів карбацетаму та можливостей його клінічного використання.

Висновки

1. Використання карбацетаму протягом 10 діб після ЧМТ запобігало первинній гіперактивації та сприяло збереженню функціонування гіпоталамо-нейрогіпофізарної та гіпоталамо-кортикоадrenalової систем.
2. Порівняно з актовегіном відновлення секреції АКТГ, Кс і ВП на тлі використання карбацетаму відбувалось у скорочені терміни (з 3 по 7 добу).

3. Використання карбацетаму значуще більшою мірою, ніж актовегін, сприяло запобіганню зниженню секреції СТГ. Виявлені модулюючі ефекти карбацетаму могли створити умови для ефективнішого відновлення метаболізму та процесів репарації головного мозку при ЧМТ.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні впливу карбацетаму на функціонування ЦНС під час ЧМТ, зокрема на динаміку відновлення неврологічного дефіциту та когнітивних розладів.

Список літератури

- [1] Влияние фенибута и его соли с янтарной кислотой на устойчивость животных к форсированным динамическим и статическим физическим нагрузкам / В.В. Багметова, А.Н. Кривицкая, И.Н. Тюренков и др. // Фундаментальные исследования. – 2012. – №4. – С. 243–246.
- [2] Демченко О.М. Когнітивна активність шурів за умов дисфункції щитоподібної залози / О.М. Демченко // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 3(109). – Вип. 2. – С. 127–132.
- [3] Ельский В.Н. Моделирование черепно-мозговой травмы : монография / В.Н. Ельский, С.В. Зяблицев. – Донецк : Новый мир, 2008. – 140 с.
- [4] Ельский В.Н. Нейрогормональные регуляторные механизмы при черепно-мозговой травме : монография / В.Н. Ельский, С.В. Зяблицев. – Донецк : Новый мир, 2008. – 240 с.
- [5] Патогенез оксидативных нарушений при сочетанной черепно-мозговой травме и турникетной токсемии в эксперименте / С.В. Зяблицев, А.В. Нечепорчук, Ю.Я. Крюк, С.В. Колесникова // Вестник Казахского национального медицинского университета. – 2013. – №5(1). – С. 116–119.
- [6] Карташев А.В. Тормозные нейромедиаторы и их влияние на опухолевый процесс при глиомах головного мозга / А.В. Карташев, В.Б. Войтенков // Сибирский онкологический журнал. – 2013. – №4(58). – С. 69–73.
- [7] Козак Д.В. Системні порушення в патогенезі раннього і пізнього періодів травматичної хвороби та їх корекція : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : спец. 14.03.04 – патологічна фізіологія / Д.В. Козак. – Тернопіль : ТДМУ, 2015. – 36 с.
- [8] Коровка С.Я. Механізми формування синдрому ендогенної інтоксикації при травматичній хворобі головного мозку : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04 – патологічна фізіологія / С.Я. Коровка. – Донецьк : ДонНМУ, 2013. – 20 с.
- [9] Психиатрия: национальное руководство / под общей ред. Т.Б. Дмитриевой, В.Н. Краснова, Н.Г. Незанова и др. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 1000 с.
- [10] Эндотелиопротекторы — новый класс фармакологических препаратов / И.Н. Тюренков, А.В. Воронков, А.А. Слиецанс, Е.В. Волотова // Вестник РАМН. – 2012. – №7. – С. 50–57.
- [11] Implications of GABAergic Neurotransmission in Alzheimer's Disease / Y. Li, H. Sun, Zh. Chen, et al. // Front. Aging Neurosci. – 2016. – Vol. 8. – P. 31.
- [12] McQuail J.A. Molecular aspects of age-related cognitive decline: the role of GABA signaling / J.A. McQuail, C.J. Frazier, J.L. Bizon // Trends Mol. Med. – 2015. – Vol. 21(7). – P. 450–460.

References

- [1] Bagmetova, V. V., Krivitskaya, A. N., Tyurenkov, I. N., Berestovitskaya, V. M., & Vasileva, O. S. (2012). Vliyaniye fenibuta i ego soli s yantarnoy kislotoj na ustojchivost' zhivotnykh k forsirovannym dinamieskim i staticheskim fizicheskim nagruzkam [The influence of fenibut and its salt with succinic acid on animals' resistance to forced dynamic and static physical loads]. *Fundamental'nye issledovaniya*, 4, 243–246 [in Russian].
- [2] Demchenko, O. M. (2014). Kohnityvna aktyvnist shchuriv za umov dysfunktsii shchytopodobnoi zalozy [Cognitive Activity of Rats under Thyroid Dysfunction]. *Visnyk problem biologii i medytyny*, 3(109), 2, 127–132 [in Ukrainian].
- [3] El'skij, V. N., & Zyablitshev, S. V. (2008). *Modelirovaniye cherepno-mozgovoy travmy [Design of brain injury]*. Doneck: Novyj mir [in Russian].
- [4] El'skij, V. N. & Zyablitshev, S. V. (2008). *Nejrogormonal'nye regulatorynye mekhanizmy pri cherepno-mozgovoy travme [Neurohormonal regulatory mechanisms after the traumatic brain injury]*. Doneck: Novyj mir [in Russian].
- [5] Zyablitshev, S., Nepochuk, A., Kruk, Yu., & Kolesnikova, S. (2013). Patogenez oksidativnykh narushenij pri sochetanno cherepno-mozgovoy travme i turniketnoy toksemii v e'ksperimente [Oxidative disorders pathogenesis at associated traumatic brain injury and tourniquet toxemia in experiment]. *Vestnik Kazhaskogo nacional'nogo medicinskogo*

universiteta, 5(1), 116–119 [in Russian].

- [6] Kartashev, A. V., & Voitenkov, V. B. (2013). Tormoznye nejromediatoriy i ikh vliyaniye na opukhlevyj process pri gliomakh golovnoho mozga [Inhibitory neurotransmitters and their influence on tumor in patients with gliomas]. *Sibirskij onkologicheskij zhurnal*, 4(58), 69–73 [in Russian].
- [7] Kozak, D. V. (2015). *Sistemni porusheniya v patogenezi rannogo i piznogo periodiv travmatichnoi khvoroby ta yikh korektsiya* (Avtoref. dis... dokt. med. nauk) [Systemic disorders in pathogenesis of early and late periods of traumatic disease Dr. med. sci. diss.]. Ternopil: TDMU [in Ukrainian].
- [8] Korovka, S. Ya. (2013). *Mekhanizmy formuvannya syndromu endogennoi intoksykatsii pry travmatychnii khvorobi holovnoho mozku* (Avtoref. dis... kand. med. nauk). [Mechanisms of forming of endogenous intoxication syndrome in traumatic brain injury]. (Extended abstract of candidate's thesis). Donetsk: DonNМУ [in Ukrainian].
- [9] Dmitrieva, T. B., Krasnov, V. N., Neznakov, N. G., Semke, V. Ya., & Tiganova, A. S. (Eds.). (2011). *Psikhiatriya: Nacional'noe rukovodstvo [Psychiatry: National Leaders]*. Moscow: GE'OTAR-Media [in Russian].
- [10] Tyurenkov, I. N., Voronkov, A. V., Slietsans, A. A., & Volotova, E. V. (2012). E'ndotelioprotektory – novyj klass farmakologicheskikh preparatov [Endothelial protection drugs — a new class of pharmacological agents]. *Vestnik RAMN*, 7, 50–57. [in Russian].
- [11] Li, Y., Sun, H., Chen, Z., Xu, H., Bu, G., & Zheng, H. (2016). Implications of GABAergic Neurotransmission in Alzheimer's Disease, *Front Aging Neurosci*, 8(31). doi: 10.3389/fnagi.2016.00031.
- [12] McQuail, J. A., Frazier, C. J., & Bizon, J. L. (2015). Molecular aspects of age-related cognitive decline: the role of GABA signaling, *Trends Mol Med*, 21(7), 450–460. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2015.05.002.

Відомості про авторів:

Зяблицев С. В., д-р мед. наук, професор каф. патофізіології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.
Стародубська О. О., асистент каф. патофізіології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

Сведения об авторах:

Зяблицев С. В., д-р мед. наук, профессор каф. патофизиологии, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.
Стародубская О. О., ассистент каф. патофизиологии, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина.

Information about authors:

Ziablitshev S. V., MD, PhD, DSc, Professor of Pathophysiology Department of O. O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.
Starodubskaya O. O., Assistant of Pathophysiology Department of O. O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 17.02.2017

Після доопрацювання / Revised: 28.02.2017

Прийнято до друку / Accepted: 01.03.2017

Особенности структурной организации сегментов спинного мозга плодов людини з анэнцефалиєю 17–18 тижнів внутрішньоутробного розвитку

В. С. Школьніков, С. В. Вернигородський

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна

Ключові слова:
анэнцефалия,
спинной мозг,
сіра речовина,
нейроепітеліальні
клітини,
біла речовина.

Патологія. – 2017. –
Т. 14, № 1(39). –
С. 100–105

DOI:
10.14739/2310-1237.
2017.1.97226

E-mail:
v.shkolnikov@gmail.com

Закономірності розвитку спинного мозку людини є базисом у розумінні виникнення вроджених аномалій розвитку ЦНС, котрі становлять 7 % від загальної кількості мальформацій в ембріональному періоді розвитку людини.

Мета роботи – встановлення цитоархітектонічної структури сегментів спинного мозку плодів людини з анэнцефалиєю, їхніх морфометричних параметрів і ступеня проліферації нейральних стовбурових клітин.

Матеріали та методи. Здійснили анатомо-гістологічне, імуногістохімічне та морфометричне дослідження спинного мозку 4 плодів людини з анэнцефалиєю гестаційним терміном 17–18 тижнів.

Результати. Довжина спинного мозку анэнцефалів 17–18 тижнів відповідає плодам людини без мальформацій 11–12 тижнів, решта макрометричних параметрів – 8–9 тижнів. Найбільшу площу сірої речовини мали сегменти на рівні попереково-крижового та шийного стовщень, найменшу – на рівні грудних сегментів. Питома вага нейроепітелію в сірій речовині шийних, грудних, поперекових і крижових сегментів встановлена така: 0,4, 0,1, 0,6, 1,6 % відповідно. Експресія білка-проліферації в нейроепітелії сегментів спинного мозку анэнцефалів наближується до 0 %. Однак у передніх рогах, біля розташування нейронних комплексів є поодинокі мітози гліальних клітин. У кількісному відношенні в передніх рогах прореагувало 1,5 % гліальних клітин, у задніх рогах – 0,6 %. Експресія віментину в мантийному та крайовому шарах слабка. На межі між передніми та задніми рогами незначна кількість волокон має радіальний напрям. Помірна експресія синаптофізину спостерігалася у крайовому шарі, – крім клиноподібних пучків, де встановлена порівняно слабка експресія, що свідчить про слабку мієлінізацію волокон провідних шляхів.

Висновки. Макро- та морфометричні параметри спинного мозку плодів людини з анэнцефалиєю 17–18 тижнів указують на чималу затримку в розвитку. Встановлені численні порушення у структурній організації як сірої речовини, так і білої. Проліферація нейральних стовбурових клітин у нейроепітелії наближується до 0 %.

Ключевые слова:
анэнцефалия,
спинной мозг,
серое вещество,
нейроэпители-
альные клетки,
белое вещество.

Патология. – 2017. –
Т. 14, № 1(39). –
С. 100–105

Key words:
anencephaly,
spinal cord,
gray matter,
neuroepithelial
cells, white matter.

Особенности структурной организации сегментов спинного мозга плодов человека с анэнцефалией 17–18 недель внутриутробного развития

В. С. Школьніков, С. В. Вернигородский

Закономерности развития спинного мозга человека являются базисом в понимании возникновения врождённых аномалий развития ЦНС, которые составляют 7 % от общего количества мальформаций в эмбриональном периоде развития человека.

Цель работы – установление цитоархитектонической структуры сегментов спинного мозга плодов человека с анэнцефалией, их морфометрических параметров и степени пролиферации нейральных стволовых клеток.

Материалы и методы. Проведено анатомо-гистологическое, иммуно-гистохимическое и морфометрическое исследование спинного мозга 4 плодов человека с анэнцефалией гестационным сроком 17–18 недель.

Результаты. Длина спинного мозга анэнцефалов 17–18 недель соответствует плодам человека без мальформаций 11–12 недель, остальные макрометрические параметры – 8–9 недель. Наибольшую площадь серого вещества имели сегменты на уровне пояснично-крестцового и шейного утолщений, наименьшую – на уровне грудных сегментов. Удельный вес нейроэпителии в сером веществе шейных, грудных, поясничных и крестцовых сегментов установлен следующий: 0,4, 0,1, 0,6, 1,6 % соответственно. Экспрессия белка-пролиферации в нейроэпителии сегментов спинного мозга анэнцефалов приближается к 0 %. Однако в передних рогах около расположения нейронных комплексов встречаются одиночные митозы глиальных клеток. В количественном отношении в передних рогах прореагировало 1,5 % глиальных клеток, в задних рогах – 0,6 %. Экспрессия виментина в мантийном и краевом слоях – слабая. На границе между передними и задними рогами незначительное количество волокон имеет радиальное направление. Посредственная экспрессия синаптофизина наблюдалась в краевом слое, – кроме клиновидных пучков, где установлена относительно слабая экспрессия, что свидетельствует о слабой миелинизации волокон проводящих путей.

Выводы. Макро- и морфометрические параметры спинного мозга плодов человека с анэнцефалией 17–18 недель указывают на значительную задержку в развитии. Установлены многочисленные нарушения структурной организации как серого вещества, так и белого. Проліферація нейральних стволових клітин в нейроепітелії приближається до 0 %.

Peculiarities of spinal cord segments structural organization in human fetuses with anencephaly of 17–18 weeks of intrauterine development

V. S. Shkolnikov, S. V. Vernygorodskyi

The principles of the human spinal cord development constitute the basis for understanding of appearance of congenital abnormalities of the CNS development, which make 7 % of the total number of malformations in the embryonic period of human's development.

Purpose – to find out the cytoarchitectonic structure of the spinal cord segments of human fetuses with anencephaly, their morphometric parameters and the degree of the proliferation of neural stem cells.

Pathologia
2017; 14 (1), 100–105

Materials and methods – anatomical and histological, immunohistochemical and morphometric research was carried out related to the spinal cord of 4 human fetuses with anencephaly of the gestational period of 17–18 weeks.

Results. The length of the spinal cord of 17–18 weeks anencephalic fetuses corresponds to the length of human fetuses without malformations of 11–12 weeks, the rest macrometric parameters – 8–9 weeks. The largest area of grey matter was that of segments at the level of lumbosacral and cervical enlargements, the least one at the level of thoracic segments. The specific gravity of neuroepithelium in the grey matter of cervical, thoracic, lumbar and sacral segments was 0.4, 0.1, 0.6, 1.6 % respectively. The expression of the proliferation protein in the spinal cord neuroepithelium segments of anencephalic fetuses is approaching 0 %. However, in the ventral horns near the location of neural complexes single mitoses of glial cells occur. In quantitative terms, in the ventral horns 1.5 % of glial cells reacted, while in the dorsal ones – 0.6 %. The expression of vimentin in the mantle and marginal layers is poor. On the border between the ventral and dorsal horns an insignificant number of fibers have a radial direction. Moderate expression of synaptophysin was observed in the marginal layer, except for cuneate fasciculi where the relatively weak expression has been established, which testifies to the insufficient myelination of the conduction tracts fibers.

Conclusions. Macro- and morphometric parameters of the spinal cord of human fetuses with 17–18 week anencephaly point out to the significant retardation in development. Numerous disorders in the structural organization of both grey matter and white matter have been found out. The proliferation of neural stem cells in neuroepithelium is approaching 0 %.

Закономірності розвитку спинного мозку людини є базисом у розумінні виникнення вроджених аномалій розвитку ЦНС, тому рання діагностика патологічних процесів спинного мозку у пренатальному періоді онтогенезу – актуальна проблема неонатології та неврології дітей раннього віку [3].

Дані щодо частоти вроджених вад коливаються [1, 10]. Загалом в Україні встановлений відносно високий відсоток (12 %) виникнення вроджених вад розвитку: з 400 тисяч новонароджених 48 тисяч мали вроджені вади розвитку [2], причому на мальформації структур ЦНС припадає 7 % і мають тенденцію до збільшення [4].

Отже, щоб розробити науково-обґрунтовану систему охорони плода, необхідно вивчити морфологію та гістохімію органів і тканин останнього при різних впливах на організм матері.

Мета роботи

Встановлення цитоархітектонічної структури сегментів спинного мозку плодів людини з аненцефалією, їхніх морфометричних параметрів і ступеня проліферації нейральних стовбурових клітин.

Матеріали і методи дослідження

Здійснили анатомо-гістологічне, імуногістохімічне та морфометричне дослідження спинного мозку 4 плодів людини з аненцефалією гестаційним терміном (ГТ) 17–18 тижнів, котрі отримані в результаті пізнього абортів в Обласному патологоанатомічному бюро м. Вінниця (табл. 1).

Загалом за останні п'ять років у Вінницькій області зафіксовано 19 випадків аненцефалії різного вікового періоду [7]. Однак у 70 % випадків аненцефалію супроводжує відкрита щілина хребта, тому при глибоких дефектах наявні методологічні труднощі під час взяття матеріалу для досліджень, оскільки виникає лізис спинного мозку амніотичною рідиною. У зв'язку з цим максимальна кількість дослідженого нами спинного мозку при цій мальформації припала на ГТ 17–18 тижнів.

Оглядові препарати спинного мозку забарвлювали гематоксиліном та еозинном, толудіновим синім за Ван

Гізеном, а також виконували імпрегнацію сріблом за Більшовським. Під час імуногістохімічного дослідження використали діагностичні моноклональні антитіла фірми «DacoCytomation»: віментин, Ki-67 і синаптофізин. Віментин застосували для дослідження морфології радіальної глії, Ki-67 – для оцінювання проліферативної активності нейральних стовбурових клітин (НСК) у нейроепітеліальному шарі (НШ) і синаптофізин – для оцінювання мієлінізації волокон провідних шляхів.

Під час морфометричного дослідження серій зрізів сегментів спинного мозку застосована комп'ютерна програма Photo M 1.21 (комп'ютерна гістометрія). Суть методу полягає в переведенні зрізів препаратів предметних скелець у цифрове зображення. Масштабування здійснювали за допомогою об'єкт-мікрометра. Ціна однієї поділки становила 10 мкм. Після цього розраховували кількість пікселів від 1000 до 10 мкм для різних збільшень: $\times 6$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$ та $\times 400$. Визначали лінійні розміри сегментів уздовж спинного мозку та площу сірої й білої речовини. Спосіб визначення площі переднього, бічного та заднього канатиків здійснювали у режимі «негатив» для чіткого визначення меж сірої та білої речовини. Виконання каріоцитометрії теж забезпечувалось описаним вище програмним забезпеченням. Встановлювали поперечні й поздовжні розміри клітин та ядер, а також вимірювали їхні площі. Крім означених вище морфометричних параметрів у сегментах спинного мозку вивчали показники величин нейроепітелію: товщина по усьому периметру та його площа, довжина волокна радіальної глії (РГ), площа та лінійні розміри НСК нейроепітелію, ядер нейро- та гліобластів у мантийному шарі (МШ).

Статистичне опрацювання морфометричних параметрів, що отримали, здійснювали за допомогою стандартного програмного пакета «Statistica 6.1» фірми StatSoft (НДЦ ВНМУ імені М. І. Пирогова, ліцензійний № BXXR901E246022FA) із застосуванням параметричних і непараметричних критеріїв оцінювання

Таблиця 1. Макрометричні показники плодів людини з аненцефалією 17–18 тижнів

	плод 1	плод 2	плод 3	плод 4
довжина, мм	83,4	80,0	86,6	82,8
маса, г	89,8	85,7	93,3	88,5

результатів. Відмінності між вибірками визначали за допомогою U-критерію Манна-Уїтні та t-критерію Стюдента, також визначали середні значення по кожній ознаці та їхні стандартні відхилення.

Дослідження виконане на базі кафедри анатомії людини Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова та науково-дослідної лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку ВНМУ імені М. І. Пирогова (атестат акредитації: КДЛ № 050/15, 02.03.2015–01.03.2020 р.).

За висновком комісії з питань біомедицинської етики Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (протокол засідання № 9 від 04.09.2014 р.), робота виконана з дотриманням основних положень GCP (1996), Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину (1997), матеріали дослідження не заперечують основним біоетичним нормам Гельсінської декларації про етичні принципи науково-медичних досліджень за участю людини, що ухвалена 59 Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації у 2008 році.

Результати та їх обговорення

Одержали такі макрометричні параметри спинного мозку: загальна довжина – $49,0 \pm 2,0$ мм; довжина шийного стовщення – $10,0 \pm 0,3$ мм, а його діаметр – $2,5 \pm 0,1$ мм; довжина грудного відділу – $30,0 \pm 0,3$ мм; діаметр грудного відділу – $1,4 \pm 0,1$ мм; довжина попереково-крижового стовщення – $9,0 \pm 0,2$ мм, а його діаметр – $2,5 \pm 0,1$ мм. Довжина спинного мозку аненцефалів 17–18 тижнів відповідає плодам людини без мальформацій 11–12 тижнів, решта макрометричних параметрів – 8–9 тижнів [5,6].

Лінійні морфометричні параметри сегментів спинного мозку на рівні шийного стовщення отримані такі: поперечний розмір – $1,99 \pm 0,06$ мм, передньо-задній розмір – $1,09 \pm 0,03$ мм. Внутрішня структура спинного мозку на цьому рівні перетину має характерну будову з чітким диференціюванням на сіру та білу речовину. Сіра речовина сегментів спинного мозку на рівні шийного стовщення сформована з НШ і МШ. Площа сірої речовини становила $0,98 \pm 0,02$ мм².

У передніх рогах сформовані дві групи нейронних комплексів: присередній (ПНК) і бічний (БНК). БНК адосілі на окремі групи поділити не можливо (рис. 1). Критерієм більш диференційованих нейронів слугує розмір, сформований аксональний горбок, наявність відносно великої кількості цитоплазми, котра заповнена дрібними гранулами ендоплазматичного ретикулу. Середня площа нейрона, котрий входить до складу ПНК, дорівнювала $310,1 \pm 10,2$ мкм². Ядра мають кулясту форму. Площа ядра нейрона становила $113,3 \pm 3,2$ мкм². Від тіла нейрона відходять короткий потовщений аксон і короткі, слабо розгалужені дендрити.

Нейрони, котрі входять до БНК, відрізняються порівняно більшим ступенем диференціювання та більшими розмірами. Так, середня площа такого нейрона становила $421,4 \pm 11,9$ мкм². Від вираженого аксонального горбка відходить короткий потовщений аксон і короткі, слабо розгалужені дендрити. Ядра нейронів мають переважно еліпсоподібну форму. У середньому площа ядра дорівнювала $93,0 \pm 2,9$ мкм².

Середня площа НСК нейроепітелію – $26,4 \pm 0,8$ мкм². Загальна площа НШ – $0,004 \pm 0,002$ мм², що від загальної площі сірої речовини становить 0,4%. Загалом нейроепітелій відрізняється витонченням і

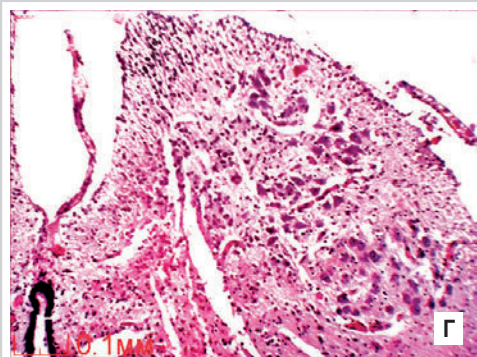
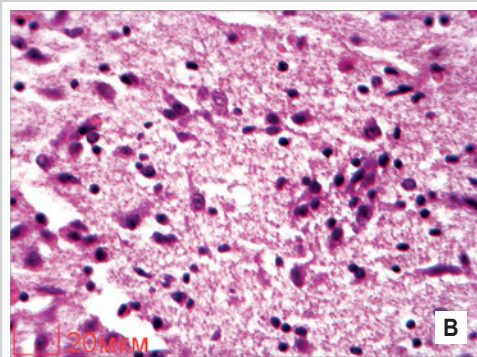
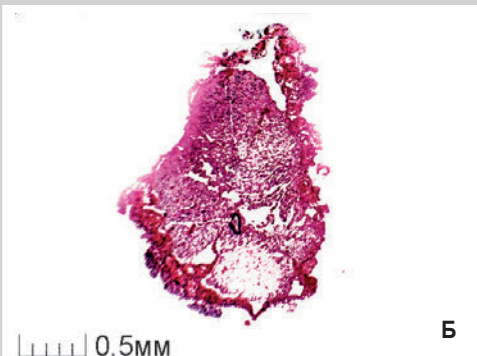
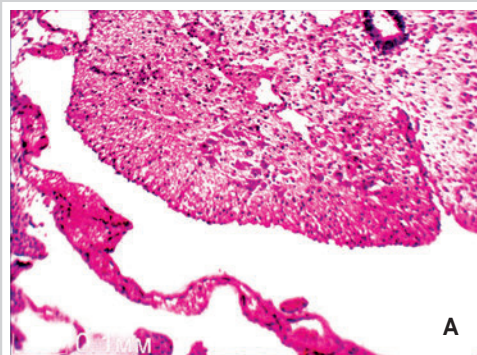


Рис. 1. (А): горизонтальний перетин на рівні шийних сегментів. ПНК і БНК. Чіткий поділ БНК на групи відсутній. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

(Б): горизонтальний перетин спинного мозку на рівні грудних сегментів. Гематоксилін-еозин. $\times 20$.

(В): нейрони ПрПЯ та БПЯ. Гематоксилін-еозин. $\times 400$.

(Г): ПНК і БНК, який складається з ПБЯ, ЗБЯ та ЗЗБЯ. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

«збіднілістю» клітин. Площа білої речовини на рівні шийного стовщення становила $0,73 \pm 0,02 \text{ мм}^2$.

Поперечний розмір спинного мозку на рівні грудних сегментів дорівнював $0,8 \pm 0,1 \text{ мм}$, передньо-задній розмір – $0,9 \pm 0,1 \text{ мм}$. У середньому площа сірої речовини на рівні грудних сегментів становить $0,17 \pm 0,02 \text{ мм}^2$. Чіткого диференціювання сірої речовини на передні та задні роги не спостерігається (рис. 1). Але у грудних сегментах слабо окреслюються і бічні роги. Нейронні комплекси передніх рогів поділяються на дві групи: передньо-присереднє ядро (ППЯ) та передньо-бічне ядро (ПБЯ). Незалежно від групової приналежності нейрони передніх рогів – багатокутної форми, мають однакові розміри та незначну кількість цитоплазми та тигроїду, а також відносно слабо розгалужені відростки. Середня площа таких нейронів – $230,8 \pm 7,2 \text{ мкм}^2$. Ядра нейронів мають еліпсоподібну форму та розташовані децентрально, ближче до аксонального горбка. Середня площа ядра рухового нейрона – $76,7 \pm 2,3 \text{ мкм}^2$.

Нейронні комплекси бічних рогів також поділяються на дві групи: присередньо-проміжне ядро (ПрПЯ) та бічно-проміжне (БПЯ) (рис. 1). Ближче до верхівки спостерігається скупчення порівняно дрібних вегетативних нейронів. Так, у середньому площа такого нейрона – $77,4 \pm 2,5 \text{ мкм}^2$. Ядра розташовані ближче до аксонального горбка й мають кулясту форму. Вони відрізняються слабкою базофільністю. Ядра нейрона мали середню площу у $28,2 \pm 0,8 \text{ мкм}^2$. Тіло нейрона має відносно короткий, тонкий аксон і короткі, слабо розгалужені дендрити. Присередньо від скупчення вегетативних нейронів розташовуються порівняно більші за розмірами вставні нейрони, що утворили ПрПЯ. Середня площа нейрона становила $92,9 \pm 3,4 \text{ мкм}^2$. Ядро нейрона має еліпсоподібну форму та розташо-

ване децентрально, далі від аксонального горбка. Його середня площа дорівнювала $37,2 \pm 1,3 \text{ мкм}^2$. Грудне ядро відсутнє в усіх випадках дослідження.

НШ становлять НСК еліпсоподібної та сферичної форми, що розташовані на базальній мембрані. Середня площа НСК еліпсоподібної форми дорівнювала $22,3 \pm 0,7 \text{ мкм}^2$. Середня площа НСК сферичної форми – $30,9 \pm 0,7 \text{ мкм}^2$. У середньому площа нейроепітелію – $0,002 \pm 0,001 \text{ мм}^2$, що від загальної площі сірої речовини становить $0,1 \%$. Спостерігалось витончення та «збіднілість» клітинами нейроепітелію бічної та дорзальної частин.

Загальна площа білої речовини – $0,28 \pm 0,03 \text{ мм}^2$. Слід відзначити, що нами встановлені варіанти змін звичної топографії білої речовини грудних сегментів аненцефала у зв'язку із вродженими деформаціями спинного мозку (рис. 1).

Поперечний розмір спинного мозку на рівні попереково-крижового стовщення – $1,7 \pm 0,1 \text{ мм}$, передньо-задній розмір – $1,4 \pm 0,1 \text{ мм}$. Загальна площа сірої речовини дорівнювала $1,10 \pm 0,02 \text{ мм}^2$. У передніх рогах сформовані дві групи нейронних комплексів: ПНК і БНК, який утворений трьома окремими групами: передньо-бічне (ПБЯ), задньо-бічне (ЗБЯ), зазадньо-бічне ядра (ЗЗБЯ) (рис. 1). В одному випадку встановили, що БНК складався з двох груп: ПБЯ та ЗБЯ. У середньому площа нейрона БНК становила $375,2 \pm 12,4 \text{ мкм}^2$. Ядра нейробластів еліпсоподібної форми, порівняно великі та розташовані в центрі клітини. У найбільш диференційованих нейронів виражений аксональний горбок із довгим аксоном і короткими, слабо розгалуженими дендритами. Середня площа ядра нейрона – $121,6 \pm 4,1 \text{ мкм}^2$. Нейрони ЗЗБЯ відрізняються дещо меншими розмірами, формою. Також до особливостей

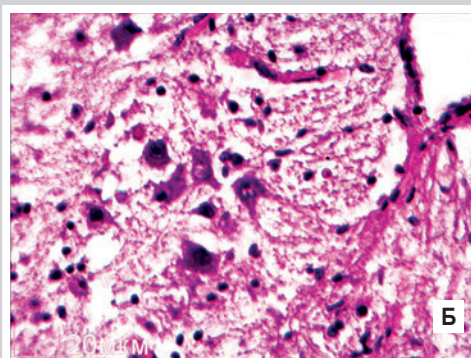
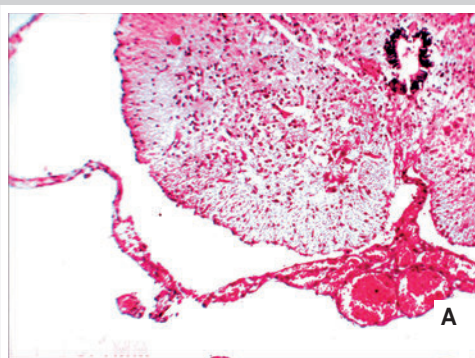
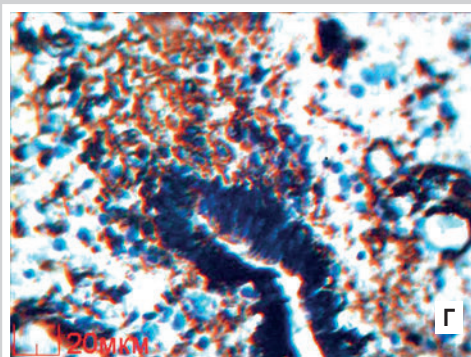
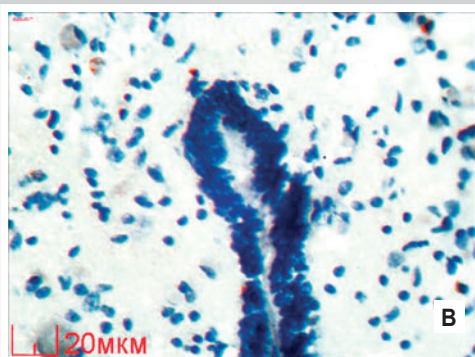


Рис. 2. (А): нейронний комплекс передніх рогів крижових сегментів і КПЯ. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

(Б): рухові нейрони. Гематоксилін-еозин. $\times 400$.

(В): відсутність проліферації НСК у нейроепітелії. Ki-67. $\times 400$.

(Г): залишки волокон РГ навколо нейроепітелію зберігають вогнищевий характер. Віментин. $\times 400$.



формування цього нейронного комплексу варто прилучити велику кількість нейронів, котрі його складають. Середнє значення площі таких нейронів дорівнювало $324,5 \pm 12,0 \text{ мкм}^2$. Ядра сферичної форми та розташовані переважно в центрі клітини. Площа ядра нейрона – $118,7 \pm 3,5 \text{ мкм}^2$.

Середня площа НСК – $35,9 \pm 1,1 \text{ мкм}^2$. У середньому площа НШ – $0,006 \pm 0,001 \text{ мм}^2$, що від загальної площі сірої речовини становило 0,6 %. Спостерігалось витончення та «збіднілість» клітинами бічної та дорзальної частини НШ. Загальна площа білої речовини дорівнювала $0,77 \pm 0,02 \text{ мм}^2$.

Поперечний розмір спинного мозку на рівні крижових сегментів – $1,05 \pm 0,03 \text{ мм}$, передньо-задній розмір – $0,93 \pm 0,08 \text{ мм}$. Площа сірої речовини в середньому дорівнювала $0,51 \pm 0,02 \text{ мм}^2$. У сірій речовині чіткого окреслення передніх або задніх рогів немає. Нейронний комплекс передніх рогів розташований на верхівці та поділу на окремі групи не має (рис. 2). Складається з 7–8 нейронів різного розміру та ступеня диференціювання (рис. 2). Середня площа нейрона – $228,4 \pm 7,1 \text{ мкм}^2$. Ядро еліпсоподібної форми. Середня площа ядра становила $54,1 \pm 1,5 \text{ мкм}^2$. Від тіла нейрона відходять короткі тонкі аксони та довгі потовщені дендрити, котрі мають слабе розгалуження.

У бічній проміжній речовині розташовується крижове парасимпатичне ядро (КПЯ) (рис. 2), яке представлено чисельними, відносно дрібними клітинами. Середня площа такого нейрона – $79,4 \pm 2,5 \text{ мкм}^2$. Ядро еліпсоподібної форми. Середня площа ядра – $37,2 \pm 1,2 \text{ мкм}^2$. Від тіла нейрона відходить короткий, тонкий аксон і короткі, тонкі дендрити, що мають слабе розгалуження.

У середньому площа НСК нейроепітелію дорівнювала $25,2 \pm 1,7 \text{ мкм}^2$. Площа НШ – $0,008 \pm 0,002 \text{ мм}^2$, що від загальної площі сірої речовини становило 1,6 %. Потрібно відзначити, що загалом відбувається «збіднілість» НСК НШ. Площа білої речовини – $0,27 \pm 0,02 \text{ мм}^2$.

Дані щодо особливостей перебігу процесів проліферації НСК НШ сегментів вказують на те, що мітози НСК практично не відбуваються, або у вентральній, або дорзальній частині визначається 1 постмітотична клітина (рис. 2). Оцінюючи експресію білка-проліферації у нейроепітелії сегментів спинного мозку аненцефалів за напівкількісною шкалою, слід відзначити, що вона наближається до 0 %. Однак у передніх рогах, як закономірність, біля розташування нейронних комплексів трапляються поодинокі мітози гліальних клітин. У кількісному відношенні в передніх рогах прореагувало 1,5 % гліальних клітин, у задніх рогах – 0,6 %. Проліферації нейронів у КШ не встановлено.

Експресія віментину навколо НШ має вогнищевий характер і не має звичної радіальної спрямованості (рис. 2). Загалом експресія віментину у МШ і КШ спостерігається слабка, й тільки на межі між передніми та задніми рогами незначна кількість волокон має радіальний напрям і посередню експресію віментину, вздовж яких розташовуються гліо- та нейроласти (рис. 2). Волокна РГ, котрі зберігають радіальний напрям, мають переривчастий хід.

Відносно сильна експресія синаптофізину відзначалася у МШ. Посередня експресія синапто-

фізину спостерігалася у КШ, – крім клиноподібних пучків, де встановлена порівняно слабка експресія, що свідчить про слабку мієлінізацію волокон провідних шляхів.

Порівняти результати, що отримали, з аналогічними дослідженнями не вдалося, оскільки такі в доступних джерелах наукової літератури відсутні. Науковці переважно в цьому напрямі досліджують частоту, поширення та етіологічні фактори виникнення аненцефалії у різних регіонах світу [8,11], а також приділяють увагу вивченню впливу фолієвої кислоти на виникнення дефектів нервової трубки [12] і поєднані аномалії розвитку [9].

Висновки

1. Довжина спинного мозку аненцефалів 17–18 тижнів відповідає довжині спинного мозку плодів 11–12 тижнів, решта макрометричних параметрів – 8–9 тижнів.

2. У грудних сегментах – малодиференційовані бічні роги, у поперекових – відносно слабо окреслюється межа між передніми та задніми рогами, у крижових – диференціювання на передні та задні роги відсутнє. Встановлені значні деформації білої речовини, особливо грудних сегментів.

3. Бічний нейронний комплекс передніх рогів шийних сегментів складається з двох груп. Бічний нейронний комплекс передніх рогів поперекових сегментів складається з трьох груп. Нейронні комплекси представлені нечисленними, слабо диференційованими нейронами. У грудних сегментах відсутнє грудне ядро.

4. Експресія Ki-67 у нейроепітелії сегментів за напівкількісною шкалою наближається до 0 %. Проте в передніх рогах біля розташування нейронних комплексів трапляються поодинокі мітози гліальних клітин. У кількісному відношенні в передніх рогах прореагувало 1,5 % гліальних клітин, у задніх рогах – 0,6 %.

5. Експресія віментину навколо нейроепітелію має вогнищевий характер, а волокна радіальної глії не мають звичної радіальної спрямованості. Загалом експресія віментину в мантийному та крайовому шарах спостерігалась слабка.

6. Помірна експресія синаптофізину відзначалась у крайовому шарі, – крім клиноподібних пучків, де встановлена відносно слабка експресія, що свідчить про слабку мієлінізацію волокон провідних шляхів.

Перспективи подальших досліджень передбачають встановлення закономірностей розвитку спинного мозку людини в пренатальному періоді із застосуванням імуногістохімічних методик і порівняння даних, що отримали, з аналогічними у плодів із мальформаціями.

Список літератури

- 1] Богатирьова Р.В. Генетико-демографічні процеси серед населення України / Р.В. Богатирьова, О.В. Линчак, О.І. Тимченко // Журнал НАМН України. – 2012. – Т. 18. – №1. – С. 81–91.
- 2] Зозуля Ю. А. Пороки розвитку позвоночника і спинного мозга / Ю.А. Зозуля, Ю.А. Орлов // Здоров'я України. – 2003. – №78. – С. 4–8.
- 3] Методика исследования, ультразвуковая семиотика и данные морфометрии спинного мозга и позвоночного канала у новорожденных / М.И. Пыков, К.В. Ватолин, М.А. Попов и др. // Ультразвуковая и функциональная диагностика. – 2003. – №1. – С. 51–57.

- [4] Частота та спектр вад центральної нервової системи серед новонароджених Львівської області у 2005–2011 рр. / Н.В. Зборовська, Н.С. Луюненко, Н.І. Кіцера // Буковинський медичний вісник. – 2012. – Т. 16. – №3. – Ч. 1. – С. 44–49.
- [5] Школьніков В.С. Морфометричні параметри структур спинного мозку плодів людини 8-9 тижнів внутрішньоутробного розвитку / В.С. Школьніков, Ю.І. Гумінський, В.О. Тихолаз // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16. – №1. – Ч. 2. – С. 228–232.
- [6] Школьніков В.С. Морфометричні параметри структур спинного мозку плодів людини 11-12 тижнів внутрішньоутробного розвитку / В.С. Школьніков // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2013. – Т. 17. – №1. – С. 36–40.
- [7] Структура причин пізніх абортів і мертвонароджених у Вінницькій області за 2010–2014 роки / В.С. Школьніков, В.О. Тихолаз, Л.П. Холод та ін. // Актуальні питання медичної науки та практики: зб. наук. праць за матеріалами VI конгресу АГЕТ України, (Запоріжжя, 16–18 вересня 2015 р.). – Запоріжжя, 2015. – Вип. 82. – Т. 2. – Кн. 1. – С. 211–220.
- [8] Discriptive study on neural tube defects in Argentina / C. Sargiotto, M. Bidondo, R. Liasovich, et al. // Birth Defects Res A Clin. Mol. Teratol. – 2015. – Vol. 103(6). – P. 509–516.
- [9] Golle R. Anencephaly and its associated malformations / R. Golle, P. Meshram, S. Hattangdi // J. Clin. Diagn. Res. – 2014. – Vol. 8(9). – P. 7–9.
- [10] Morris J.K. Prevalence of neural tube defect pregnancies in England and Wales from 1964 to 2004 / J.K. Morris, N.J. Wald // Journal of Medical Screening. – 2007. – Vol. 14(2). – P. 55–59.
- [11] Preventable spina bifida and anencephaly in Europe / R. Obeid, K. Pietrzik, G. Oakley, et al. // Birth Defects Res A Clin. Mol. Teratol. – 2015. – Vol. 103(9). – P. 763–771.
- [12] Ren A. Prevention of neural tube defects with folic acid: The Chinese experience / A. Ren // World J. Clin. Pediatr. – 2015. – Vol. 4(3). – P. 41–44.

References

- [1] Bohatyrova, R. V., Lynchak, O. V., & Tymchenko O. I. (2012). Hene-tyko-demografichni protsesy sered naselennya Ukrainy [Genetic and demographic changes in the population of Ukraine]. *Zhurnal NAMN Ukrainy*, 18(1), 81–91. [in Ukrainian].
- [2] Zozulya, Yu. A., & Orlov, Yu. A. (2003). Poroki razvitiya pozvonochnika i spinnoho mozga [Faults development spine and spinal cord]. *Zdorovya Ukrainy*, 78, 4–8. [in Russian].
- [3] Pykov, M. I., Vatolin, K. V., Popov, M. A., Bidzhiev, M. I., & Vasil'eva, O. Yu. (2003). Metodika issledovaniya, ul'trazvukovaya semiotika y dannye morfometrii spinnoho mozga i pozvonochnoho kanala u novorozhdenykh [Methodology of the study, US-semiotics and data morphometrics spinal cord and spinal canal in newborn]. *Ul'trazvukovaya i funktsional'naya diagnostika*, 1, 51–57. [in Russian].
- [4] Zborovska, N. V., Lukianenko, N. S., Kitsera, N. I., Hruzyntseva, N. A., & Henyk-Berezov'ska, S. O. (2012). Chastota ta spektr vad tsentralnoi nervovoi systemy sered novonarozhdenykh Lvivskoi oblasti u 2005–2011 rr. [The frequency and spectrum of defects of the central nervous system among newborns in the Lviv region from 2005 till 2011]. *Bukovynskyi medychnyi visnyk*, 16(3), 44–49. [in Ukrainian].
- [5] Shkol'nikov, V. S., Guminsky, Yu. Y., & Tyholaz, V. O. (2013). Morfometrychni parametry struktury spynnoho mozku plodiv lyudyny 8-9 tyzhniv vnutrishn'outrobnogo rozvytku [Morphometrical parameters structures of spinal cord the human fetals 8–9 weeks of intrauterine period]. *Tavrisheskij mediko-biologicheskij vestnik*, 16(1), 2, 228–232. [in Ukrainian].
- [6] Shkolnikov, V. S. (2013). Morfometrychni parametry struktury spynnoho mozku plodiv lyudyny 11–12 tyzhnya vnutrishn'outrobnogo rozvytku [Morphometric parameters spinal cord structures of human fetuses 11–12 weeks of fetal development]. *Visnyk Vinnytskoho natsionalnoho medychnoho universytetu*, 17(1), 36–40. [in Ukrainian].
- [7] Shkolnikov, V. S., Tykholaz, V. O., Kholod, L. P., Stelmashchuk, P. O., & Halunko, H. M. (2015). Struktura prychny piznykh abortiv i mertvonarozhdenykh u Vinnytskii oblasti za 2010–2014 roky [The structure causes late abortions and stillbirths in Vinnytsia region for 2010 – 2014 years]. *Aktualni pytannia medychnoi nauky ta praktyky: zb. nauk. prats za materialamy VI konhresu AHET Ukrainy*, 82(2), 1, 211–220. Zaporizhzhia. [in Ukrainian].
- [8] Sargiotto, C., Bidondo, M., Liasovich, R., Barbero, P., & Groisman, B. (2015) Discriptive study on neural tube defects in Argentina. *Birth Defects Res A Clin. Mol. Teratol.*, 103(6), 509–516. doi: 10.1002/bdra.23372.
- [9] Golle, R., Meshram, P., & Hattangdi, S. (2014) Anencephaly and its associated malformations. *J. Clin. Diagn. Res.*, 8(9), 7–9. doi: 10.7860/JCDR/2014/10402.4885.
- [10] Morris, J. K., & Wald, N. J. (2007) Prevalence of neural tube defect pregnancies in England and Wales from 1964 to 2004. *Journal of Medical Screening*, 14(2), 55–59. doi: 10.1258/096914107781261945.

- [11] Obeid, R., Pietrzik, K., Oakley, G. P. Jr., Kancherla, V., Holzgreve, W., & Wieser, S. (2015) Preventable spina bifida and anencephaly in Europe. *Birth Defects Res A Clin. Mol. Teratol.*, 103(9), 763–771. doi: 10.1002/bdra.23400.
- [12] Ren, A. (2015) Prevention of neural tube defects with folic acid: The Chinese experience. *World J. Clin. Pediatr.*, 4(3), 41–44. doi: 10.5409/wjcp.v4.i3.41.

Відомості про авторів:

Школьніков В. С., д-р мед. наук, доцент каф. анатомії людини, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.
Вернигородський С. В., д-р мед. наук, професор каф. патологічної морфології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Сведения об авторах:

Школьніков В. С., д-р мед. наук, доц. каф. анатомии человека, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.
Вернигородский С. В., д-р мед. наук, профессор, каф. патологической морфологии, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Information about authors:

Shkolnikov V. S., MD, PhD, DSci, Associate Professor of the Department of Human Anatomy, Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University, Ukraine.
Vernygorodskiy S. V., MD, PhD, DSci, Professor of the Department of Pathologic Morphology, Vinnytsia National Pirogov Memorial Medical University, Ukraine.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 20.10.2016

Після доопрацювання / Revised: 22.12.2016

Прийнято до друку / Accepted: 24.01.2017

Особенности астенического синдрома у больных на сахарный диабет 2 типа в клиническом и медико-психологическом контексте

В. В. Чугунов¹, О. В. Ткаченко², Н. В. Данилевська¹

¹Запорізький державний медичний університет, Україна, ²ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України»

Ключевые слова:
сахарный диабет 2 типа, психическая патология, астения, диагностика.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 106–109

DOI:
10.14739/2310-1237.2017.1.97355

E-mail:
legennant@rambler.ru

Мета роботи – встановити особливості астеничного синдрому у хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу у клінічному та медико-психологічному контексті.

Матеріали та методи. Обстежили 543 пацієнти, які хворі на ЦД 2 типу. Першу клінічну групу (КГ-1) становили 57 хворих на ЦД 2 типу легкого ступеня тяжкості; середній вік у групі – $(51,80 \pm 1,28)$ року. Другу клінічну групу (КГ-2) становили 312 осіб, які хворі на ЦД 2 типу середнього ступеня тяжкості; середній вік у групі – $(55,10 \pm 1,12)$ року. Третю клінічну групу (КГ-3) становили 174 хворі на ЦД 2 типу важкого ступеня тяжкості; середній вік – $(61,80 \pm 0,85)$ року.

Методи дослідження: клініко-анамнестичний, клініко-психопатологічний, статистичний.

Результати. Астеничний синдром виявили в 52,30 % хворих на ЦД 2 типу та за частотою поширеності посідав третє місце – після психоорганічного та диссомнічного синдромів. Встановлений вірогідний прямий кореляційний зв'язок астеничного синдрому та ступеня тяжкості ЦД 2 типу ($r=0,68$, $p<0,05$). Факторами ризику виникнення астеничного синдрому у хворих на ЦД 2 типу був середній і тяжкий ступінь ЦД 2 типу, ожиріння, ДЕП, хронічна серцева недостатність. Встановлені прямі кореляційні зв'язки астеничного синдрому зі ступенем тяжкості ЦД 2 типу, а також коморбідною соматичною патологією. Виявлено домінування в КГ-1 і КГ-2 такого компонента астенії, як «психічна астения», тоді як компонент «фізична астения» сягав домінуючих значень тільки в КГ-3.

Висновки. Дослідили особливості астеничного синдрому у хворих на ЦД 2 типу та встановили частоту його зустрічальності серед досліджуваного контингенту. Встановлено кореляційні зв'язки астеничного синдрому зі ступенем тяжкості ЦД 2 типу, а також супутньою соматичною патологією. Доведений органічний генез астеничного синдрому у хворих на ЦД 2 типу. Розширене уявлення про етапність розвитку астеничного синдрому у хворих на ЦД 2 типу.

Ключевые слова:
сахарный диабет 2 типа, психическая патология, астения, диагностика.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 1(39). – С. 106–109

Особенности астенического синдрома у больных сахарным диабетом 2 типа в клиническом и медико-психологическом контексте

В. В. Чугунов, О. В. Ткаченко, Н. В. Данилевская

Цель работы – установить особенности астенического синдрома у больных сахарным диабетом (СД) 2 типа в клиническом и медико-психологическом контексте.

Материалы и методы. Обследовано 543 больных СД 2 типа. Первую клиническую группу (КГ-1) составили 57 больных СД 2 типа лёгкой степени тяжести; средний возраст в группе – $(51,80 \pm 1,28)$ года. Вторую клиническую группу (КГ-2) составили 312 больных СД 2 типа средней степени тяжести; средний возраст в группе – $(55,10 \pm 1,12)$ года. Третью клиническую группу (КГ-3) составили 174 больных СД 2 типа тяжёлой степени тяжести; средний возраст в группе – $(61,80 \pm 0,85)$ года.

Методы исследования: клиничко-анамнестический, клиничко-психопатологический, статистический.

Результаты. Астенический синдром выявлялся у 52,30 % больных СД 2 типа и по частоте распространённости занимал третье место – после психоорганического и диссомнического синдромов. Установлена прямая корреляционная связь астенического синдрома и степени тяжести СД 2 типа ($r=0,68$, $p<0,05$). Факторами риска возникновения астенического синдрома у больных СД 2 типа были средняя и тяжёлая степень СД 2 типа, ожирение, ДЭП, хроническая сердечная недостаточность. Выведено доминирование в КГ-1 и КГ-2 такого компонента астении, как «психическая астения», тогда как компонент «физическая астения» достигал доминирующих значений только в КГ-3.

Выводы. Исследованы особенности астенического синдрома у больных СД 2 типа и установлена частота его встречаемости среди исследуемого контингента. Установлены корреляционные связи астенического синдрома со степенью тяжести СД 2 типа, а также сопутствующей соматической патологией. Доказан органический генез астенического синдрома у больных СД 2 типа. Расширены представления об этапности развития астенического синдрома у больных СД 2 типа.

Key words:
type 2nd diabetes, psychopathology, mellitus, asthenia, diagnosis.

Pathologia
2017; 14 (1), 106–109

Peculiarities of asthenic syndrome in patients with diabetes mellitus type 2 in the clinical and medical-psychological context

V. V. Chugunov, O. V. Tkachenko, N. V. Danilevska

Aim – to determine the peculiarities of asthenic syndrome in patients with diabetes mellitus (DM) type 2 in the clinical and medico-psychological context.

Materials and methods. 543 patients with DM type 2 were examined. The first clinical group (CG-1) consisted of 57 patients with DM type 2 of mild severity; the average age in the group was (51.80 ± 1.28) years. The second clinical group (CG-2) was

made up of 312 patients with DM type 2, moderate severity; the average age in the group was (55.10 ± 1.12) years. The third clinical group (CG-3) included 174 patients with DM type 2, severe degree of severity; the average age in the group was (61.80 ± 0.85) years.

Research methods: clinical-anamnesic, clinical-psychopathological, statistical.

Results. Asthenic syndrome was detected in 52.30 % of patients with DM type 2 and by the frequency of prevalence it ranked third – after dyssomnia and psychoorganic syndromes. A direct correlation of asthenic syndrome and the severity of DM type 2 ($r=0.68$, $p<0.05$) was established. Risk factors for the occurrence of asthenic syndrome in patients with DM type 2 were moderate and severe degrees of DM type 2, obesity, discirculatory encephalopathy, heart failure. In CG-1 and CG-2 the dominance of such a component of fatigue as «mental fatigue» was revealed, whereas the «physical fatigue» component has reached dominant values only in CG-3.

Conclusions. The peculiarities of asthenic syndrome in patients with DM type 2, and the frequency of its occurrence among the investigated population were studied. Correlation of asthenic syndrome with severity of DM type 2 and concomitant somatic pathology were established. Organic etiology of asthenic syndrome in patients with DM type 2 was proved. Understanding of the stages of asthenic syndrome development in patients with type 2nd DM was extended.

Цукровий діабет (ЦД) 2 типу посідає одне з провідних місць в ендокринологічній практиці. Його поширеність сягає 6–9 % серед усього населення світу та майже 90 % серед усіх хворих на ЦД [1,2].

Широка представленість серед хворих на ЦД 2 типу коморбідної, в тому числі психічної, патології значно обтяжує лікувальний процес, а також знижує терапевтичну й соціальну адаптацію та якість життя хворих. Одним із поширених психопатологічних проявів, що є супутнім ЦД 2 типу, є астенічний синдром. Сучасні уявлення щодо його генезу та особливостей структури не є вичерпними, що зумовлює необхідність подальшого його дослідження з метою встановлення особливостей структури та коморбідності, а також визначення факторів ампліфікації та екзацербаций [3–6].

Мета роботи

Встановити особливості астенічного синдрому у хворих на ЦД 2 типу у клінічному та медико-психологічному контексті.

Матеріали і методи дослідження

На базах КУ «Запорізька міська клінічна лікарня № 10» та КУ «Обласний клінічний ендокринологічний диспансер» ЗОР за умов усвідомленої інформованої згоди з дотриманням принципів біоетики та деонтології здійснили обстеження пацієнтів, які хворі на ЦД 2 типу та перебували на лікуванні (543 хворі). Середній вік – (56.20 ± 0.65) року.

Критерії виключення: ЦД 1 типу, вторинний ЦД, гестаційний ЦД, панкреатектомія, наявність макросудинних ускладнень (гострий коронарний синдром, інфаркт міокарда, інсульт, хронічна серцева недостатність (ХСН) III–IV функціонального класу (ФК), швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) ≤ 30 мл/хв (за формулою CKD-EPI), проліферативна діабетична ретинопатія, синдром діабетичної стопи.

Пацієнтів поділили на три групи за ступенем тяжкості ЦД. Першу клінічну групу (КГ-1) становили 57 хворих на ЦД 2 типу легкого ступеня тяжкості у фазі компенсації, які проходили амбулаторне лікування, серед них – 30 жінок і 27 чоловіків; середній вік у

групі – (51.80 ± 1.28) року. Другу клінічну групу (КГ-2) становили 312 осіб, які хворі на ЦД 2 типу середнього ступеня тяжкості у фазі субкомпенсації, лікувались у стаціонарі; серед них – 160 жінок і 152 чоловіки; середній вік – (55.10 ± 1.12) року. Третю клінічну групу (КГ-3) становили 174 хворі на ЦД 2 типу важкого ступеня тяжкості у фазі субкомпенсації, які лікувались у стаціонарі; серед них – 98 жінок і 76 чоловіків; середній вік – (61.80 ± 0.85) року.

Тривалість захворювання в пацієнтів КГ-1 становила 3–10 років, у середньому – (7.89 ± 0.26) року. Тривалість захворювання серед осіб КГ-2 – 3–19 років, у середньому – (11.21 ± 1.62) року. Тривалість захворювання в пацієнтів КГ-3 становила 7–27 років, у середньому – (17.37 ± 2.81) року.

Методи дослідження: клініко-анамнестичний, клініко-психопатологічний, статистичний.

У рамках психодіагностичного дослідження використовували «Суб'єктивну шкалу оцінки астенії» (MFI–20, E. M. Smets et al., 1994) для визначення наявності в контингенті астенічних станів.

Для статистичного опрацювання даних використовували методи клінічної, описової та математичної статистики (визначення середньоарифметичних значень і стандартизованої помилки середнього $M \pm m$ для кількісних даних і медіани та міжквартильного розмаху Me (Q25; Q75) для показників, що оцінювались у балах, гамма-критерій Гудмена–Краскела – γ , критерій Манна–Уїтні – U).

Результати та їх обговорення

Астенічний синдром виявлявся у більш ніж у половини хворих на ЦД 2 типу (284 особи – 52,30 %), яких обстежили, та був третім за частотою зустрічальності серед усіх психопатологічних синдромів, що діагностовані у хворих на ЦД 2 типу (рис. 1).

Однак відзначалась динаміка змін частоти зустрічальності астенічного синдрому залежно від ступеня тяжкості ЦД 2 типу. Так, у хворих КГ-1 астенічний синдром відзначався в мінімальній кількості пацієнтів (3 хворі – 5,26 %), тоді як у КГ-2 – вже у 126 хворих (40,38 %), а в КГ-3 – у 155 (89,08 %). Фактично спостерігалась динаміка частоти зустрічальності астенічного синдрому залежно від ступеня тяжкості ЦД 2 типу, що дало змогу встановити вірогідний прямий кореляційний

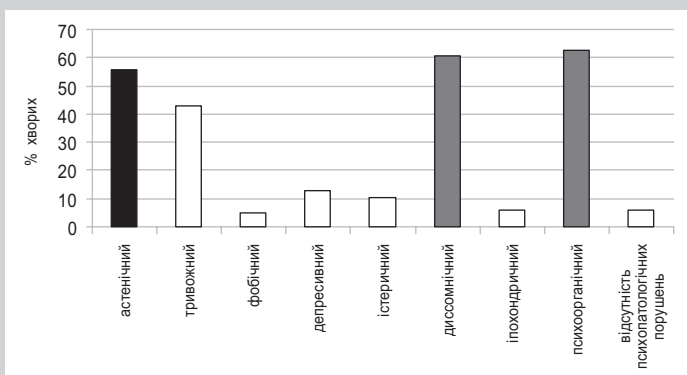


Рис. 1. Частота зустрічальності психопатологічних синдромів серед хворих на ЦД 2 типу, яких обстежили.

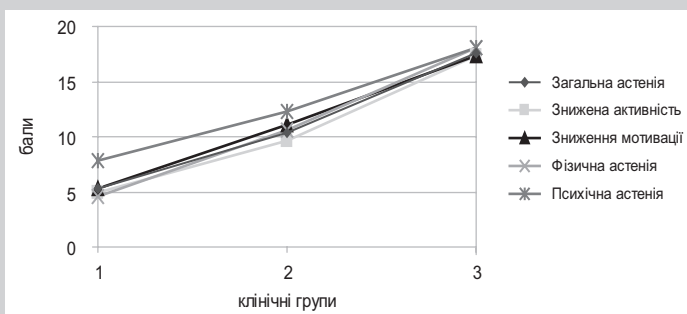


Рис. 2. Динаміка зміни виразності компонентів астенії залежно від ступеня тяжкості ЦД 2 типу.

зв'язок астеничного синдрому та ступеня тяжкості ЦД 2 типу ($r=0,68$, $p<0,05$).

Також стало можливим встановити прямі кореляційні зв'язки між астеничним синдромом і рядом коморбідних ЦД 2 типу соматичних патологій: ожирінням 1–2 ст. ($r=0,77$), ХСН I–II функціонального класу за NYHA ($r=0,94$), дисциркуляторною енцефалопатією (ДЕП) I–II ст. ($r=0,91$) ($p<0,05$).

Отже, факторами ризику виникнення астеничного синдрому у хворих на ЦД 2 типу є середній і тяжкий ступінь ЦД 2 типу, що поєднаний з ожирінням, ДЕП, серцевою недостатністю ($p<0,05$).

Наявні прямі кореляційні зв'язки астеничного синдрому зі ступенем тяжкості ЦД 2 типу, а також коморбідною соматичною патологією доводять його органічний генез і зумовлюють упровадження сома-

тично-орієнтованих терапевтичних напрямів для його нівелювання.

Дані психодіагностичного дослідження підтверджували дані клініко-психопатологічного обстеження: за тестом MFI–20 прояви астенії у 284 хворих (52,30 %) досягали рівня астеничного синдрому, у решті 259 хворих (44,42 %) виявлялись на досиндромальному рівні, проявляючись окремими симптомами та симптомокомплексами.

Загальна квантифікація показників астенії за тестом MFI–20 наведена в таблиці 1.

Простежувалась пряма залежність виразності астеничних проявів від ступеня тяжкості ЦД 2 типу. При цьому такий компонент астеничного синдрому, як «психічна астенія», не мав вірогідних відмінностей залежно від групи дослідження, в усіх групах досягаючи високих балів, тоді як решта компонентів набували тенденції до більшої виразності в міру прогресування ЦД 2 типу (рис. 2).

Привертав увагу рівень виразності астеничної симптоматики, що мала відмінності залежно від ступеня тяжкості ЦД 2 типу. Так, у КГ-1, КГ-2 виразність астеничного синдрому досягалась передусім шляхом такого його компонента, як психічна астенія (8 (7;8) і 8 (8;19) балів відповідно, $p<0,05$), тоді як у КГ-3 були рівномірно залучені всі компоненти астеничного синдрому з домінуванням фізичної (20 (19;20) балів) астенії, що розширює уявлення про етапність розвитку астеничного синдрому у хворих на ЦД 2 типу, згідно з якими астенична симптоматика першочергово проявляється психічною астеною, а вже згодом долучається фізичний компонент.

Висновки

У роботі досліджені та встановлені особливості астеничного синдрому у хворих на ЦД 2 типу у клінічному та медико-психологічному контексті.

1. Встановили, що астеничний синдром за частотою поширеності серед обстежених хворих на ЦД 2 типу посідав третє місце – після психоорганічного та диссомнічного синдромів, і виявлявся у більше ніж половини хворих на ЦД 2 типу.

2. Встановили, що факторами ризику виникнення астеничного синдрому у хворих на ЦД 2 типу є середній і тяжкий ступінь ЦД 2 типу, що поєднаний з ожирінням, ДЕП, ХСН.

3. Доведений органічний генез астеничного синдрому у хворих на ЦД 2 типу, що підтверджувалось

Таблиця 1. Особливості структури астеничних станів у хворих на ЦД 2 типу, яких обстежили, за тестом MFI

Астенія	Групи дослідження (n=543)			U			p
	КГ-1 (n=57)	КГ-2 (n=312)	КГ-3 (n=174)	КГ-1 і КГ-2	КГ-2 та КГ-3	КГ-1 і КГ-3	
	бали	бали	бали				
Загальна астенія	5 (5;5)	6 (5;19)	19 (19;20)	4505,50	10289,00	405,50	<0,05
Знижена активність	5 (4;5)	5 (5;19)	19 (19;19)	9185,00	18705,50	24708,50	<0,05
Зниження мотивації	5 (5;5)	7 (5;19)	19 (19;19)	10946,00	17,582,50	20712,50	<0,05
Фізична астенія	4 (4;5)	6 (6;18)	20 (19;20)	836,00	8343,50	57,00	<0,05
Психічна астенія	8 (7;8)	8 (8;19)	19 (19;20)	4590,50	12872,00	581,50	<0,05
Загальний рівень виразності	27 (25;28)	30 (30;94)	96 (95;98)	1490,50	10387,00	102,00	<0,05

наявністю прямих кореляційних зв'язків астеничного синдрому зі ступенем тяжкості ЦД 2 типу, а також коморбідною соматичною патологією.

4. Розширене уявлення про етапність розвитку астеничного синдрому у хворих на ЦД 2 типу, що підтверджувалося домінуванням у КГ-1 і КГ-2 такого компонента астенії, як «психічна астенія», тоді як компонент «фізична астенія» сягав домінуючих значень тільки у КГ-3.

Список літератури

- [1] Уніфікований клінічний протокол первинної, екстреної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Цукровий діабет у молодих людей та дорослих : затверджений Наказом Міністерства охорони здоров'я України від 29.12.2014 р. №1021 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://mtd.dec.gov.ua/images/dodatki/2014_1021_CD1_dor/2014_1021_nakaz_CD1_dor.pdf.
- [2] Sunitinib-induced severe hypoglycemia in a diabetic patient / A. Demirci, O. Bal, A. Durnali, et al. // *J. Oncol. Pharm. Pract.* – 2014. – №20(6). – P. 469–472.
- [3] Gooßen K. Longer term safety of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in patients with type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis / K. Gooßen, S. Gräber // *Diabetes Obes. Metab.* – 2012. – №14(12). – P. 1061–1072.
- [4] Vocal characteristics in patients with type 2 diabetes mellitus / A.L. Hamdan, J. Jabbour, J. Nassar, et al. // *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* – 2012. – №269(5). – P. 1489–1495.
- [5] Есин Р.Г. Современные представления о механизмах когнитивных расстройств при сахарном диабете / Р.Г. Есин, И.Х. Хайруллин, О.Р. Есин // *Медицинский альманах*. – 2013. – №1(25). – С. 135–138.
- [6] Acute mononeuropathy in a child with newly diagnosed type 1 diabetes mellitus / M.A. Rangel, C. Baptista, F. Santos, et al. // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* – 2015. – №28(3–4). – P. 341–344.

References

- [1] Unifikovanyi klinichnyi protokol pervynnoi, ekstrenoi, vtorynnoi (spetsializovanoi) ta tretynnoi (vysokospetsializovanoi) medychnoi dopomohy. Tsukrovyyi diabet u molodykh liudei ta doroslykh : zatverdzhnyi Nakazom Ministerstva okhrony zdorov'ia Ukrainy vid 29.12.2014 r. №1021 [Unified clinical protocol of primary, emergency, secondary (specialized) and tertiary (highly specialized) medical care. Diabetes in young people and adults. Approved by Order of Ministry of Healthcare of Ukraine from December 12, 2014, №1021]. Retrieved from: http://mtd.dec.gov.ua/images/dodatki/2014_1021_CD1_dor/2014_1021_nakaz_CD1_dor.pdf. [in Ukrainian].
- [2] Demirci, A., Bal, O., Durnali, A., Ekinci, A. Ş., Eşbah, O., Alkiş, N., & Oksüzöğlu, B. (2014) Sunitinib-induced severe hypoglycemia in a diabetic patient. *J. Oncol. Pharm. Pract.*, 20(6), 469–472. doi: 10.1177/1078155213508441.
- [3] Gooßen, K., & Gräber, S. (2012) Longer term safety of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in patients with type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis. *Diabetes. Obes. Metab.*, 14(12), 1061–1072. doi: 10.1111/j.1463-1326.2012.01610.x.
- [4] Hamdan, A. L., Jabbour, J., Nassar, J., Dahouk, I., & Azar, S. T. (2012) Vocal characteristics in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 269(5), 1489–1495. doi: 10.1007/s00405-012-1933-7.
- [5] Esin, R. G., Khairullin, I. H., & Esin, O.R. (2013) Sovremennye predstavleniya o mekhanizmkh kognitivnykh rasstrojstv pri sakharom diabete [The present-day ideas about the mechanisms of cognitive disorders in case of diabetes mellitus]. *Medicinskij al'manakh*, 1(25), 135–138. [in Russian].
- [6] Rangel, M. A., Baptista, C., Santos, F., Real, M. V., Campos, R. A., & Leite, A. L. (2015) Acute mononeuropathy in a child with newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, 28(3–4), 341–344. doi: 10.1515/jpem-2014-0049.

Відомості про авторів:

Чугунов В. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. психіатрії, психотерапії, загальної та медичної психології, наркології та сексології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Ткаченко О. В., канд. мед. наук, асистент каф. терапії, клінічної фармакології та ендокринології, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Данилевська Н. В., асистент каф. психіатрії, психотерапії, загальної та медичної психології, наркології та сексології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Чугунов В. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. психиатрии, психотерапии, общей и медицинской психологии, наркологии и сексологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Ткаченко О. В., канд. мед. наук, ассистент каф. терапии, клинической фармакологии и эндокринологии, ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

Данилевская Н. В., ассистент каф. психиатрии, психотерапии, общей и медицинской психологии, наркологии и сексологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Chugunov V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Psychiatry, Psychotherapy, General and Medical Psychology, Narcology and Sexology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Tkachenko O. V., MD, PhD, Assistant of the Department of Therapy, Clinical Pharmacology and Endocrinology, State Establishment: "Zaporizhzhia Medical Academy of Postgraduate Education of Ministry of Health Protection of Ukraine".

Danilevska N. V., Assistant of the Department of Psychiatry, Psychotherapy, General and Medical Psychology, Narcology and Sexology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшло до редакції / Received: 23.01.2017

Після доопрацювання / Revised: 14.02.2017

Прийнято до друку / Accepted: 23.02.2017

Сучасний погляд на ентеровірусну інфекцію як поліетіологічне захворювання (огляд літератури)

О. В. Рябоконь, О. В. Усачова, О. М. Камишний, Д. А. Задирака, О. Л. Ткачова

Запорізький державний медичний університет, Україна

Ключові слова:
ентеровірусна
інфекція,
клініка.

Патологія. – 2017. –
Т. 14, № 1(39). –
С. 110–116

DOI:
10.14739/2310-1237.
2017.1.97495

E-mail:
ryabokonksmu@mail.ru

Ентеровірусні інфекції відрізняються значним поліморфізмом клінічних проявів. Впровадження останнім часом полімеразної ланцюгової реакції для етіологічного підтвердження діагнозу зумовило необхідність певного перегляду та уточнення клінічних проявів захворювання, які асоційовані з окремими збудниками цієї інфекції.

Мета роботи – проаналізувати сучасні дані наукової літератури щодо особливостей проявів ентеровірусної інфекції у взаємозв'язку з етіологічним чинником.

Огляд фахової літератури здійснений у рамках виконання відкритого когортного дослідження спільної Програми малих грантів ЄРБ/СППЗ, що зосереджені на реалізації програм боротьби з інфекційними захворюваннями на тему: «Нові підходи до діагностики основних клінічних форм ентеровірусної інфекції в дітей і дорослих».

Згідно з останніми змінами бази даних Міжнародного комітету з таксономії вірусів, до роду *Enterovirus* належать 4 види ентеровірусів людини, що представлені більш ніж 100 серотипами ентеровірусів. Вони відрізняються за рецепторами, котрі використовують віруси для проникнення всередину клітин-мішеней, імунною відповіддю хазяїна та певною мірою – спектром асоційованих із ними клінічних проявів. Кожні 3–4 роки в багатьох країнах світу реєструються епідемічні спалахи захворювання, котрі викликані різними серотипами вірусу. Незважаючи на те, що один той самий серотип ентеровірусу здатний викликати різні клінічні форми захворювання, клінічні прояви, що превалюють у хворих під час різних епідемічних спалахів ентеровірусної інфекції, мають певний зв'язок із серотипом вірусу. У сучасних умовах найбільш виражену нейротропість має ентеровірус 71 типу, інфікування яким зумовлює розвиток серозного менингіту або менингоенцефаліту.

Висновки. Діагностика ентеровірусної інфекції потребує обов'язкового лабораторного підтвердження, оскільки захворювання є поліетіологічним і характеризується поліморфізмом клінічної симптоматики. Епідемічні спалахи ентеровірусної інфекції виникають періодично, а клінічні прояви, що превалюють у хворих під час різних епідемічних спалахів, мають певний зв'язок із серотипом вірусу. Особливу увагу сьогодні привертають ентеровірусні інфекції, що викликані 71 типом ентеровірусу, для якого характерний нейротропізм.

Ключевые слова:
энтеровирусная
инфекция,
клиника.

Патология. – 2017. –
Т. 14, № 1(39). –
С. 110–116

Современные представления об энтеровирусной инфекции как о полиэтиологическом заболевании (обзор литературы)

Е. В. Рябоконь, Е. В. Усачёва, А. М. Камышный, Д. А. Задирака, Е. Л. Ткачёва

Энтеровирусные инфекции отличаются значительным полиморфизмом клинических проявлений. Внедрение в последние годы полимеразной цепной реакции для этиологического подтверждения диагноза обусловило необходимость пересмотра и уточнения клинических проявлений заболеваний, ассоциированных с отдельными возбудителями этой инфекции.

Цель работы – проанализировать данные современной литературы, касающиеся особенностей проявлений энтеровирусной инфекции во взаимосвязи с определённым серотипом возбудителя.

Обзор научной литературы проведён в рамках выполнения открытого когортного исследования совместной Программы малых грантов ЄРБ/СППЗ, сосредоточенных на реализации программ по борьбе с инфекционными заболеваниями на тему: «Новые подходы к диагностике основных клинических форм энтеровирусной инфекции у детей и взрослых».

Согласно последним изменениям базы данных Международного комитета по таксономии вирусов, к роду *Enterovirus* относят 4 вида энтеровирусов человека, которые представлены более чем 100 серотипами энтеровирусов. Они отличаются рецепторами, которые используют для проникновения в клетку-мишень, иммунным ответом хозяина и в определённой степени – спектром ассоциированных с ними клинических проявлений. Каждые 3–4 года во многих странах мира регистрируются эпидемические вспышки, которые вызваны разными серотипами вируса. Несмотря на то, что один и тот же серотип энтеровируса может вызывать различные клинические формы заболевания, клинические проявления, которые превалируют у больных при разных эпидемических вспышках энтеровирусной инфекции, имеют определённую взаимосвязь с серотипом вируса. В современных условиях наиболее выраженную нейротропность имеет энтеровирус 71 типа, инфицирование которым обуславливает развитие серозного менингита или менингоэнцефалита.

Выводы. Диагностика энтеровирусной инфекции требует обязательного лабораторного подтверждения, поскольку заболевание является полиэтиологическим и характеризуется полиморфизмом клинической симптоматики. Эпидемические вспышки энтеровирусной инфекции возникают периодически, а клинические проявления, которые превалируют у больных при разных эпидемических вспышках, имеют определённую взаимосвязь с серотипом вируса. Особое внимание сегодня привлекает энтеровирусная инфекция, вызванная 71 типом энтеровируса, для которого характерна нейротропность.

Modern idea of enteroviral infection as a polietiologic disease (review of literature)

E. V. Riabokon, E. V. Usacheva, O. M. Kamysnyy, D. A. Zadiraka, E. L. Tkacheva

Enteroviral infections have large polymorphism of clinical manifestations. In recent years, introduction of polymerase chain reaction for the etiological confirmation of diagnosis necessitated the revision and refinement of clinical manifestations of disease associated with individual causative agents of this infection.

The aim of this work is to analyze the data of modern literature concerning the characteristics of the manifestations of enteroviral infection in conjunction with a specific serotype of the pathogen.

Presented literature review conducted in the framework of the open cohort study of the Joint Small Grants Programme WHO/HHWS focused on programs to combat infectious diseases on the topic: "New approaches to the diagnosis of major clinical forms of enteroviral infection in children and adults".

According to the latest changes of the database of the International Committee on taxonomy of viruses the genus Enterovirus includes 4 types of human enteroviruses, which are more than 100 serotypes of enteroviruses, which differ in the receptors they use for entry into the cell-target immune response of the host and, in a certain way, the spectrum of associated clinical manifestations. Every 3–4 years epidemic outbreaks are recorded in different countries of the world, caused by different serotypes of the virus. Despite the fact that the same serotype of enterovirus can cause different clinical forms of the disease, symptoms that are prevalent in patients with different outbreaks of enteroviral infection have a certain relationship with serotype. In modern conditions enterovirus type 71 infection has the most pronounced neurotropism, which causes the development of serous meningitis or meningoencephalitis.

Conclusions. Diagnosis of enteroviral infection requires mandatory laboratory confirmation, since the disease is polyetiological and is characterized by the polymorphism of clinical symptoms. Outbreaks of enteroviral infection occur periodically, and clinical manifestations that are prevalent in patients in different outbreaks have a definite correlation with serotype. Special attention today is attracted to enteroviral infection caused by enterovirus type 71, which is characterized by neurotropism.

Ентеровірусні інфекції (ЕІ) відрізняються значним поліморфізмом клінічних проявів – від вірусоносійства та легких гарячкових станів до тяжких менінгітів, менінгоенцефалітів. ЕІ – поліетіологічне захворювання та належить до значно поширених інфекційних хвороб у всіх країнах світу як серед дітей, так і дорослих [1–4]. Впровадження останнім часом полімеразної ланцюгової реакції для етіологічного підтвердження діагнозу ЕІ зумовило на сучасному етапі необхідність певного перегляду та уточнення клінічних проявів захворювання, котрі асоційовані з окремими збудниками цієї інфекції [5,6].

Мета роботи

Проаналізувати сучасні дані наукової літератури щодо особливостей проявів ентеровірусної інфекції у взаємозв'язку з етіологічним чинником.

Огляд фахової літератури здійснений у рамках виконання та при фінансуванні відкритого когортного дослідження спільної програми малих грантів ЄРБ/СПТЗ (Грантова угода від 08.04.2016 року між Запорізьким державним медичним університетом (Україна) і Регіональним навчальним центром із наукових досліджень у системі охорони здоров'я (Республіка Казахстан, термін виконання – 08.04.2016–28.02.2017), що спрямовані на реалізацію програм боротьби з інфекційними захворюваннями на тему: «Нові підходи до діагностики основних клінічних форм ентеровірусної інфекції в дітей і дорослих».

Вірусну природу захворювання підтверджено в 1948 році завдяки відкриттю вірусів Коксаки американськими дослідниками Г. Демдорфом, Г. Сіклз. Збудники ЕІ належать до роду *Enterovirus*, родини *Picornaviridae*. Пікорнавіруси є найдрібнішими з усіх відомих натеper РНК-вмісних вірусів («рісо» – дуже маленькі, «пта» – РНК). Згідно з первинною класифікацією ентеровірусів,

яка ґрунтувалась на здатності вірусу розмножуватись у клітинах людини та приматів, інфекційності й патогенності для різних видів тварин та антигенній структурі, ентеровіруси поділялися на поліовіруси, віруси Коксаки А, Коксаки В та еховіруси (ECHO – Enteric Cytopathic Human Orphan). Після введення молекулярних методів типування вірусів переглянута класифікація ентеровірусів залежно від організації їхнього геному. Згідно з останніми змінами бази даних Міжнародного комітету з таксономії вірусів (ICTV, 2012), до роду *Enterovirus* належать 4 види ентеровірусів людини (А, В, С, D). Нині відомо більш ніж 100 серотипів ентеровірусів (табл. 1), що відрізняються за рецепторами, які використовують віруси для проникнення всередину клітин-мішеней, імунною відповіддю хазяїна та певною мірою – спектром асоційованих із ними клінічних проявів [7].

Ентеровіруси наявні у природі завдяки двом резервуарам: природному (ґрунт, вода, харчові продукти) та організму людини, в яких вони можуть накопичуватися та через які поширюватися. Головна епідеміологічна особливість ЕІ – здатність формувати в людини вірусоносійства з тривалим, до кількох тижнів, виділенням збудника в зовнішнє середовище. Ця здатність сприяє збереженню вірусу в популяції людей, незважаючи на високий рівень імунних осіб. Зараження ентеровірусами відбувається протягом усього року, але в північній півкулі характерним є підйом захворюваності в літні та осінні місяці. ЕІ реєструється в усіх вікових групах, проте захворюваність на ЕІ зворотно пропорційна віку: майже 75 % випадків ЕІ, які щорічно реєструються ВООЗ, припадають на дітей молодших за 15 років, а діти першого року життя хворіють на ЕІ в кілька разів частіше, ніж старші діти та дорослі [8]. Основний механізм передачі ЕІ – фекально-оральний, рідше інфекція передається повітряно-краплинним шляхом.

Вважається, що краплинне занесення вірусу в дихальні шляхи супроводжується евакуацією збудника

Key words:
enterovirus
infection,
clinic.

Pathologia
2017; 14 (1), 110–116

Таблиця 1. Класифікація ентеровірусів людини (ICTV, 2012)

Група/Вид	Серотипи, що належать до групи
Ентеровірус людини А	Коксакі А2–8, 10, 12, 14, 16 Ентеровірус 71, 76, 89–92, 114
Ентеровірус людини В	Коксакі А9, Коксакі В1–6 ЕCHO 1–7, 9, 11–21, 24–27, 29–33 Ентеровіруси 69, 73–75, 77–88, 93, 97, 98, 100, 101, 106, 107
Ентеровірус людини С	Коксакі А 1, 11, 13, 17, 19–22, 24 ЕCHO 95, 96, 99, 102, 104, 105, 109, 113, 116 Поліовірус 1–3
Ентеровірус людини D	Ентеровіруси 68, 70, 94, 111

в ротоглотку, з якої після заковтування вірус потрапляє до кишечника з далішим традиційним розвитком інфекційного процесу. Кожен 3–4 роки реєструються епідемічні спалахи захворювання, котрі викликані різними серотипами вірусу, та відповідно клінічні прояви, що преважують у хворих при різних епідемічних спалахах, мають певний зв'язок із серотипом вірусу, що виявився лідером у відповідних подіях [8,9]. Причини, з яких конкретні серотипи вірусів або раптом з'являються, або зникають, невідомі. Протягом останніх років зафіксовано декілька епідемічних спалахів EI в різних країнах світу.

У 2012–2013 роках зафіксовано спалах EI у Камбоджі серед дітей молодшого віку, при цьому клінічний перебіг EI характеризувався високим відсотком хворих з ураженням центральної нервової системи й розвитком респіраторного дистрес-синдрому та, відповідно, – високим відсотком летальних результатів хвороби. У 208 клінічних зразках із 312 відібраних виявлений 71 тип ентеровірусу. Завдяки вірусологічним дослідженням доведено, що ентеровірус 71 типу субгенотип C4 був основним етіологічним агентом цього спалаху EI [10].

У жовтні 2014 року зафіксоване спорадичне поширення ентеровірусу в Італії, при цьому захворювання виникало переважно в дітей і характеризувалось появою лихоманки та блювання. Після секвенування виділено ентеровіруси 71 типу, субгенотип C2 [11].

Влітку 2015 року в Китаї зареєстрований спалах EI у 10210 дітей із превалюванням формування такої клінічної форми захворювання, як герпетична ангіна. На підставі наявності гена VP1 і 5'UTR послідовностей у всіх випадках були виділені такі збудники: Коксакі А2, А4, А6, А10, В2, В4 та ЕCHO-вірус 30. Важливіше те, що Коксакі А2 виявився основним підтипом ентеровірусів, що асоціювався з розвитком герпетичної ангіни [2].

Ентеровіруси потрапляють до організму людини через слизові оболонки ротової порожнини, кишечника або верхніх дихальних шляхів. Ентеровіруси не мають поверхневої білкової оболонки, тому вільно проходять «шлунковий бар'єр» та осідають на клітинах слизової оболонки тонкого кишечника. Саме ця природна особливість збудника й стала причиною таксономічної назви «ентеровірус» великої та доволі різної за характеристикою групи вірусів. Надалі відбувається реплікація збудника в лімфоїдній тканині, епітеліальних клітинах кишечника, мезентеріальних лімфатичних вузлах. Розвивається первинна вірусемія, що відповідає третьому дню захворювання. Найбільший тропізм ентеровіруси мають до клітин центральної нервової системи та м'язів. Однак до процесу можуть

бути залучені й інші органи: серце, печінка, підшлункова залоза, легені, нирки, кишечник, судини очей. Особливості клінічних проявів EI, характер перебігу та наслідки захворювання залежать від біологічних властивостей вірусу, його переважного тропізму, стану клітинного й гуморального імунітету пацієнта [12,13]. Останнім часом особлива увага приділяється вивченню клініко-патогенетичних закономірностей EI, що викликана ентеровірусом 71 типу. Саме ентеровірус 71 типу на сьогодні – причина великих спалахів вірусної екзантеми ротової порожнини та кінцівок (ящуropyдобне захворювання) з далішими неврологічними розладами. Ентеровірус 71 типу реєструється в різних країнах світу, але найчастіше виявляється серед жителів Азіатсько-Тихоокеанського регіону [10,2]. Доведено, що ентеровірус 71 типу здатний реплікуватися в м'язах, а далі за допомогою рухових нейронів досягати центральної нервової системи. У процесі «травматизації» нейрони підлягають впливу кальрегуліну або кальретикуліну (Ca²⁺ – зв'язувальний білок, котрий є важливим посередником у процесі первинного фагоцитозу життєздатних нейронів мікроглією). Ентеровірус 71 типу може індукувати клітинний апоптоз різними шляхами, що сприяє вивільненню збудника. Білки капсиду VP1, VP2, VP3 або VP4 не провокують апоптоз нейронів стовбура головного мозку. VP1-індукована активація аутофагії опосередкована ендоплазматичним ретикулулом. Тому для лікування хворих із тяжким та ускладненим перебігом EI обґрунтоване застосування глюкокортикостероїдів, а саме дексаметазону, який здатний послабити дію кальретикуліну внаслідок пригнічення активності VP1 [13–15].

Вірусна протеаза 3C відіграє важливу роль в ентеровірус-71-індукованому апоптозі, однак молекулярний механізм, відповідальний за 3C-критичний апоптоз, залишається невивченим. Вважають, що EV71 3C безпосередньо взаємодіє з PinX1, котрий розташований утеломер-зв'язуючому білку. Крім того, 3C розщеплюється PinX1 через її протеазну активність. Надекспресія PinX1 знизила рівень ентеровірус-71-індукованого апоптозу та вивільнення ентеровірусу 71 типу, водночас як дія PinX1 інтерферуючих рибонуклеїнових кислот сприяла апоптозу, збільшувала кількість ентеровірусу 71 типу [16].

EI характеризується значним поліморфізмом проявів і великою кількістю клінічних форм. Згідно з МКХ-10, виділяють такі клінічні форми EI:

В 08.4 Ентеровірусний стоматит з екзантемою.

В 08.5 Ентеровірусний везикулярний фарингіт (герпангіна).

Г 05.1 Ентеровірусний енцефаліт.

Г 02.0 Ентеровірусний менінгіт.

А 88.0 Ентеровірусна екзантематозна гарячка (бостонська екзантема).

Н 13.1 Гострий епідемічний геморагічний кон'юнктивіт (ентеровірусний).

В 33.0 Епідемічна міалгія.

В 34.1 Ентеровірусна інфекція не уточнена.

В 97.1 Ентеровіруси як причина хвороб, що класифіковані в інших рубриках.

Інкубаційний період триває від 2 до 12 діб. При

всіх клінічних варіантах ЕІ захворювання починається гостро: підвищується температура тіла до 38–40 °С, з'являються загальна слабкість, головний біль. Різноманітність клінічних проявів ЕІ зумовлює в частини хворих поєднання різних варіантів клінічного перебігу захворювання.

При герпангіні (ентеровірусний везикулярний фарингіт), незважаючи на фебрильну гарячку, що триває протягом 1–3 діб, симптоми інтоксикації у хворих помірно виражені, турбує біль у горлі. Під час огляду на тлі гіперемованої слизової оболонки на передніх дужках, язичку, піднебінних мигдаликах з'являються папули діаметром до 1–2 мм, які швидко перетворюються на везикули. Кількість везикул, зазвичай, чітко корелює з тяжкістю перебігу ЕІ. Через 1–2 доби везикули лопаються та на їхньому місці утворюються поверхневі ерозії з вузькою облямівкою гіперемії. До кінця тижня ерозії загоюються без сліду. Характерне збільшення підщелепних лімфатичних вузлів. Найчастіше в пацієнтів із герпангіною виявляються ентеровіруси Коксакі А, ЕСНО 6, 9, 11, 16, 17, 22, 25, а також ентеровірус 71 типу. У частини хворих на герпангін реєструються інші прояви ЕІ, зокрема міальгії, екзантема, можливий розвиток і серозного менингіту [17,18].

Під час розвитку епідемічної міальгії на тлі гіпертермії 39–40 °С і симптомів інтоксикації виникають напади сильного болю, найчастіше в м'язах живота, грудної клітки, кінцівок. Міальгії різко посилюються під час рухів тіла, кашлю. Напади міальгії тривають, як правило, протягом кількох хвилин, часто повторюючись. При тяжкому перебігу напади болю в м'язах можуть тривати протягом кількох годин. Період лихоманки обмежується 2–3 добами, але майже в половини хворих відзначається друга хвиля лихоманки з посиленням нападів міальгії. У окремих хворих на 5–7 добу захворювання на епідемічну міальгію відбувається розвиток серозного менингіту. З-поміж інших проявів ЕІ можливим є приєднання екзантеми, лімфаденопатії. Найчастіше у хворих на епідемічну міальгію виявляються ентеровіруси Коксакі В3, В5, Коксакі А9, ЕСНО 1, 6, 9 [4,9].

Серозний менингіт – одна з основних форм ЕІ. Ентеровіруси зумовлюють понад 60 % серозних менингітів, виникнення яких, як правило, пов'язане з представниками ентеровірусів ЕСНО 6, 9, 11, 13, 30, Коксакі А9 і Коксакі В5, а також ентеровірусами 70 та 71 типу [19,20]. Особливістю перебігу ентеровірусних менингітів є виявлення у більш ніж половини хворих комбінованих форм інфекції з залученням у процес інших органів і систем [21]. Серозний менингіт починається гостро, з вираженої гіпертермії до 39–40 °С, виражених симптомів інтоксикації. Симптоми ураження оболонок мозку з'являються на 1–3 день, а в частини хворих – на 5–7 день захворювання. Ентеровірусним менингітам властиві кілька гарячкових хвиль зі значними півдобовими коливаннями температури, а складність їхньої клінічної діагностики, з одного боку, зумовлена нестійкістю та дисоціацією менингіальних знаків, з іншого – частим переважанням у перші дві доби захворювання нейтрофільного плейоцитозу, який потім змінюється на лімфоцитарний. Перебіг серозних менингітів, як правило, доброякісний, санація ліквору відбувається наприкінці третього тижня захворювання [4,22].

Рідше при ЕІ розвиваються тяжкі ураження центральної нервової системи у вигляді енцефаліту, розвиток якого зазвичай поєднується з серозним менингітом. Ентеровірусний серозний менингоенцефаліт найчастіше асоціюється з ентеровірусами ЕСНО 6 і 9, Коксакі А9, В2 і В5, ентеровірусом 71 типу [23]. Під час розвитку серозного менингоенцефаліту поряд із загальноомозковою та менингеальною симптоматикою спостерігається вогнищева симптоматика, іноді стовбурові порушення, судом, порушення свідомості. При дослідженні цереброспінальної рідини лімфоцитарний плеоцитоз здебільшого помірний, десятки або сотні клітин в 1 мкл. Перебіг ентеровірусних нейроінфекцій частіше сприятливий, тяжкий перебіг ентеровірусних менингоенцефалітів звичайно пов'язаний з інфікуванням 71 типом вірусу [23]. Однак у сучасній науковій літературі є окремі повідомлення про тяжкі ентеровірусні менингоенцефаліти з фатальним результатом [24].

Ентеровірусна екзантематозна гарячка (бостонська екзантема) характеризується загальними симптомами, що притаманні ЕІ, а саме: гарячка 38–39 °С протягом 3–5 діб, симптоми інтоксикації, на тлі яких на 1–2 день хвороби на шкірі тулуба, обличчя, кінцівок з'являється поліморфна плямиста або плямисто-папульозна екзантема тривалістю до двох діб. Можлива поява геморагічних елементів екзантеми діаметром 1–3 мм. Останнім часом усе частіше спостерігається поява везикулярної висипки з локалізацією на пальцях і долонях кистей і стоп, везикули, як правило, діаметром до 3 мм та оточені вінчиком гіперемії. Іноді можуть бути везикули на шкірі сідниць. У більшості пацієнтів наявність екзантеми поєднується з появою енантеми у вигляді герпангін та збільшенням шийних лімфатичних вузлів. Поєднання екзантеми везикулярного, геморагічного та папульозного характеру на пальцях, долонях і стопах із герпангіною спостерігається під час розвитку так званого ящураподібного синдрому («Hand, Foot and Mouth Disease» – «хвороба руки – ноги – рот»), розвиток якого найчастіше пов'язаний з інфікуванням вірусами Коксакі А10, А16 та ентеровірусом 71 типу [25,26]. Проте слід зазначити, що за умов розвитку ЕІ, котра викликана 71 типом ентеровірусу, захворювання перебігає тяжче внаслідок приєднання ураження нервової системи [5].

Для гострого геморагічного кон'юнктивіту характерний короткий інкубаційний період, гострий початок захворювання, підвищення температури тіла до 38–39 °С при помірно виражених симптомах інтоксикації, в частини хворих можлива поява катарального синдрому. На 3–4 добу розвивається ураження очей: з'являється світлобоязнь, слюзотеча, під час огляду виявляється гіперемія, крововиливи в кон'юнктиву, набряклість повік, виділення слизового характеру. Зазвичай – ураження обох очей з інтервалом у добу. Захворювання триває 10–14 діб і завершується одужанням. Під час тяжкого перебігу можливий розвиток кератиту, тоді захворювання триває кілька тижнів, але не призводить до незворотних змін. У сучасній фаховій літературі є окремі повідомлення про поєднання гострого геморагічного кон'юнктивіту з тяжким ураженням центральної нервової системи у хворих на ЕІ (приблизно з частотою у 1 з 10000). Розвиток гострого геморагічного кон'юнктивіту

віту пов'язаний з інфікуванням 70 типом ентеровірусу або Коксакі А24 [27,28].

Ентеровірусна діарея найчастіше зумовлена вірусами Коксакі В1–6, Коксакі А2, А9 або ЕСНО 11, 14, 18 серотипів, реєструється переважно у дітей раннього віку у вигляді спорадичних випадків або локальних спалахів у весняно-літній період [29]. Захворювання характеризується гострим початком із підвищенням температури тіла до 38–39 °С, симптоми інтоксикації незначно виражені. Здебільшого супроводжується блювотою 2–3 рази, помірним боєм у животі, діарея має ентеритний характер, до 6–8 разів на добу. Перебіг захворювання – доброякісний, діагноз може бути встановлений тільки на підставі лабораторного підтвердження.

Ентеровірусна лихоманка або «мала хвороба» може викликатися будь-яким серотипом ентеровірусів. Захворювання характеризується легкістю перебігу, відсутністю виражених змін із боку органів і систем. Основним клінічним проявом є 1–3-денна лихоманка та незначно виражені симптоми інтоксикації. У частини хворих можливо приєднання інших проявів ЕІ, а саме: герпангін, міалгії. Нині дискутується питання щодо виділення цієї форми ЕІ окремо від інших форм захворювання [19].

Респіраторна форма ентеровірусної інфекції може становити до 15% випадків ЕІ та асоційована з інфікуванням вірусами Коксакі А, Коксакі В або ЕСНО. Респіраторні форми ЕІ розвиваються часто, але діагностуються рідко, оскільки не мають будь-яких специфічних симптомів, тому у практиці специфічна діагностика, як правило, не проводиться. Характеризується ця форма помірним підвищенням температури тіла, ринітом, сухим кашлем, помірним боєм у горлі, під час огляду виявляється гіперемія задньої стінки горлянки. Є повідомлення, що в окремих випадках респіраторна форма ЕІ може ускладнитися розвитком міокардиту [27,30].

Ураження серця при ЕІ характеризується розвитком міокардиту та дилатаційної кардіоміопатії. Міокардити найчастіше зумовлені вірусами Коксакі В. Характерними є помірна лихоманка, загальна слабкість, біль в області серця, глухість серцевих тонів, з'являються зміни на електрокардіограмі, у частини хворих можливий розвиток перикардиту. Перебіг міокардитів при ЕІ переважно сприятливий. Дилатаційна кардіоміопатія може бути наслідком ЕІ, що призводить до інвалідизації або навіть летального результату захворювання [31].

У дітей 1–3 років можуть розвинути паралітичні форми ЕІ, так звані гострі транзиторні спинальні парези або гострі інфекційні мієлопатії. У цих хворих переважно виділяються ентеровіруси 68–71 типів. Раптово серед повного здоров'я при нормальній температурі тіла в дітей виникає кульгавість на одну ногу, хода носить паретичний характер, з'являється прогинання коліна, звисання стопи, ротація ноги назовні. Сухожилльні рефлекси можуть бути підвищені, потім знижуються. Захворювання здебільшого характеризується зворотним розвитком неврологічної симптоматики протягом 2–4 тижнів, часто – відсутністю лихоманки та запальних змін у лікворі [18].

Імунітет, що формується після перенесеної ЕІ, є типоспецифічним і зберігається протягом багатьох років.

За наявності певної клінічної симптоматики будь-якої форми ЕІ необхідним є обов'язкове лабораторне підтвердження діагнозу. Специфічна діагностика ЕІ передбачає виділення та ідентифікацію вірусу в культурі клітин (вірусологічний метод) або виділення рибонуклеїнової кислоти ентеровірусів (полімеразна ланцюгова реакція). Матеріалом для дослідження мають бути ліквор, відокремлюване кон'юнктиви, мазки вмісту везикул, кров, фекалії. Вивчення певного виду матеріалу для лабораторних досліджень здійснюються з урахуванням клінічної картини захворювання.

У клінічній практиці етіотропна терапія ЕІ натепер відсутня. Однак дані сучасної наукової літератури демонструють низку експериментальних досліджень із пошуку противірусних засобів, ефективних щодо ентеровірусів, особливо 71 типу, який має нейротропізм. Так, *in vitro* показано: природні сполуки реум-емодину, що отриманий із трави китайського ревеню, захищають MRC5 клітини від ентеровірус-71-індукованого цитопатичного ефекту внаслідок зменшення реплікації вірусу та експресії вірусного білка [32]. В іншому дослідженні продемонстрована доцільність пошуку противірусного засобу на основі протигрибкового препарату амфотерицину В. Інгібування ентеровірусу 71 типу за допомогою амфотерицину В *in vitro* відбувалося внаслідок зниження експресії рибонуклеїнової кислоти та білків 71 типу ентеровірусу у клітинній лінії RD і клітинах HEK293 [33].

Висновки

1. Діагностика ентеровірусної інфекції потребує обов'язкового лабораторного підтвердження, оскільки захворювання є поліетіологічним і характеризується поліморфізмом клінічної симптоматики.
2. Епідемічні спалахи ентеровірусної інфекції виникають періодично, а клінічні прояви, що превалюють у хворих під час різних епідемічних спалахів, мають певний зв'язок із серотипом вірусу, який виявився лідером.
3. Особливу увагу нині привертають ентеровірусні інфекції, що викликані 71 типом ентеровірусу, для якого високо характерним є нейротропізм.

Список літератури

- [1] Enterovirus-71 genotype C isolated in Peru between 2006 and 2009 / J.L. Huaman, G. Carrion, J.S. Ampuero et al. // Journal of clinical virology. – 2016. – №85. – P. 40–43.
- [2] Large outbreak of herpangina in children caused by enterovirus in summer of 2015 in Hangzhou, China / W. Li, H.H. Gao, Q. Zhanq et al. // Journal of Scientific Reports. – 2016. – №6. – P. 353–388.
- [3] A cluster of Enterovirus 71 subgenogroup C2 in a nursery school, Italy, 2014 / M.C. Medici, F. Tummolo, A. Arcangeletti et al. // New Microbiologica. – 2016. – №39(3). – P. 94.
- [4] Современные особенности некоторых клинических форм энтеровирусной инфекции у детей / Р.Х. Бегайдарова, Ю.Г. Стариков, Х.Г. Девдариани и др. // Международный журнал экспериментального образования. – 2013. – №11. – С. 34–36.
- [5] Hamaguchi T. Acute encephalitis caused by intrafamilial transmission of enterovirus 71 in adult / T. Hamaguchi, H. Fujisawa, K. Sakai // Emerg. Infect. Dis. – 2008. – Vol. 14(5). – P. 828–830.
- [6] An outbreak of acute hemorrhagic conjunctivitis caused by coxsackievirus A24 variant in Pakistan / A. Khan, S. Sharif, S. Shaukat, et al. // J. Virus Res. – 2008. – Vol. 137(1). – P. 150–152.
- [7] Adams M.J. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses / M.J. Adams, A.M.Q. King, E.B. Carstens // Archives of Virology. – 2013. – Vol. 158. – P. 2023–2030.

- [8] Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71 / T. Solomon, P. Lewthwaite, D. Perera, et al. // *Lancet Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 11. – №10. – P. 778–790.
- [9] Канаева О.И. Энтеровирусная инфекция: многообразие возбудителей и клинических форм / О.И. Канаева // *Инфекция и иммунитет.* – 2014. – Т. 4. – №1. – С. 27–36.
- [10] Molecular epidemiology of human enterovirus 71 at the origin of an epidemic of fatal hand, foot and mouth disease cases in Cambodia / V. Duong, C. Mey, M. Eloit et al. // *Emerging Microbes & Infections.* – 2016. – №5(9). – P. 104.
- [11] A cluster of Enterovirus 71 subgenogroup C2 in a nursery school, Italy, 2014 / M.C. Medici, F. Tummolo, A. Arcangeletti et al. // *New Microbiologica.* – 2016. – №39(4). – P. 295–298.
- [12] Clinical features, diagnosis and management of human enterovirus 71 infection / M.H. Ooi, S.C. Wong, P. Lewthwaite, et al. // *Lancet Neurol.* – 2010. – Vol. 9. – №11. – P. 1097–1105.
- [13] Kemball C.C. Type B coxsackieviruses and their interactions with the innate and adaptive immune systems / C.C. Kemball, M. Alirezai, J.L. Whitton // *Future Microbiol.* – 2010. – Vol. 5. – №9. – P. 1329–1347.
- [14] Chang P.C. The Current Status of the Disease Caused by Enterovirus 71 Infections: Epidemiology, Pathogenesis, Molecular Epidemiology, and Vaccine Development / P.C. Chang, S.C. Chen, K.T. Chen // *International Journal of Environmental Research and Public Health.* – 2016. – №13(9). – P. 890.
- [15] Glucocorticoids Prevent Enterovirus 71 Capsid Protein VP1 Induced Calreticulin Surface Exposure by Alleviating Neuronal ER Stress / D.D. Hu, J.N. Mai, L.Y. He, et al. // *Neurotoxicity Research.* – 2017. – Vol. 31(2). – P. 204–217.
- [16] Enterovirus 71 3C promotes apoptosis through cleavage of PinX1, a telomere binding protein / J. Li, Y. Yao, Y. Chen, et al. // *Journal of Virology.* – 2016. – 9 November.
- [17] Prevalence of enterovirus from patients with herpangina and hand, foot and mouth disease in Nagano Prefecture, Japan, 2007 / I. Miyazawa, Y. Azegami, S. Kasuo, et al. // *Jpn. J. Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 61(3). – P. 247–8.
- [18] Мартынова Г.П. Энтеровирусная (неполио) инфекция у детей / Г.П. Мартынова // *Сибирское медицинское обозрение.* – 2014. – №3(87). – С. 100–106.
- [19] Pickering L.K. Enterovirus (nonpoliovirus) and parechovirus infections (group A and B coxsackieviruses, echoviruses, numbered enteroviruses, and human parechoviruses). Red Book. – [Report of the Committee on Infectious Diseases. – 29th] / L.K. Pickering. – IL, 2012. – 315 p.
- [20] Seroepidemiology of Enterovirus 71 infection prior to the 2011 season in children in Shanghai / M. Zeng, N.F. El Khatib, S. Tu, et al. // *J. Clin. Virol.* – 2012. – Vol. 53(4). – P. 285–289.
- [21] Logan S.A.E. Viral meningitis / S.A.E. Logan, E. Mac Mahon // *BMJ.* – 2008. – Vol. 336. – №7634. – P. 36–40.
- [22] Enterovirus meningitis in Brazil, 1998–2003 / G.P. Dos Santos, I. Skraba, D. Oliveira, et al. // *J. Med. Virol.* – 2006. – №78. – P. 98–104.
- [23] Enterovirus-associated encephalitis in the California Encephalitis Project, 1998–2005 / A.L. Fowlkes, S. Honarmand, C. Glaser, et al. // *J Infect Dis.* – 2008. – №198. – P. 1685–1691.
- [24] Cherry J.D. Aseptic meningitis and viral meningitis. Feigns and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases / J.D. Cherry, R.D. Feigin. – 6th ed. – Philadelphia : Saunders, 2009. – P. 494–503.
- [25] Saoji V.A. Hand, foot and mouth disease in Nagpur / V.A. Saoji // *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* – 2008. – Vol. 74. – №2. – P. 133–135.
- [26] Davia J.L. Onychomadesis outbreak in Valencia, Spain, associated with hand, foot and mouth disease caused by enterovirus / J.L. Davia, P.H. Bel, V.Z. Ninet // *Pediatr Dermatol.* – 2011. – Vol. 28. – P. 1.
- [27] Демина А.В. Энтеровирусы: часть 2. Энтеровирусные инфекции: многообразие клинических проявлений / А.В. Демина, С.В. Нетесов // *Сибирский научный медицинский журнал.* – 2009. – Т. 29. – №6. – С. 116–125.
- [28] An outbreak of acute hemorrhagic conjunctivitis caused by coxsackievirus A24 variant in Pakistan / A. Khan, S. Sharif, S. Shaukat // *J. Virus Res.* – 2008. – Vol. 137(1). – P. 150–152.
- [29] Фомина С.Г. Энтеровирусы у детей с гастроэнтеритом (аналитический обзор) / С.Г. Фомина, Н.А. Новикова // *МедиАль.* – 2014. – №2(12). – С. 58–71.
- [30] Epidemiological, molecular, and clinical features of enterovirus respiratory infections in French children between 1999 and 2005 / J. Jacques, H. Moret, D. Minette, et al. // *J. Clin. Microbiol.* – 2008. – Vol. 46(1). – P. 206–213.
- [31] Chapman N.M. Persistent coxsackievirus infection: enterovirus persistence in chronic myocarditis and dilated cardiomyopathy / N.M. Chapman, K.S. Kim // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 2008. – Vol. 323. – P. 275–292.
- [32] Rheum emodin inhibits enterovirus 71 viral replication and affects the host cell cycle environment / T. Zhong, L.Y. Zhang, Z.Y. Wang, et al. // *Acta Pharmacologica Sinica.* – 2017. – Vol. 38. – P. 392–401.
- [33] Amphotericin B Inhibits Enterovirus 71 Replication by Impeding Viral Entry / F. Xu, X. Zhao, S. Hu, et al. // *Scientific Reports.* – 2016. – №6. – P. 14.

References

- [1] Huaman, J. L., Carrion, G., Ampuero, J. S., Ocaña, V., Laguna-Torres, V. A., & Hontz, R. D. (2016). Enterovirus-71 genotype C isolated in Peru between 2006 and 2009. *Journal of clinical virology*, 85, 40–43. doi: 10.1016/j.jcv.2016.10.023.
- [2] Li, W., Gao, H. H., Zhanq, Q., Liu, Y.-J., Tao, R., Cheng, Y.-P., et al. (2016). Large outbreak of herpangina in children caused by enterovirus in summer of 2015 in Hangzhou, China. *Journal of Scientific Reports*, 6, 353–388. doi: 10.1038/srep35388.
- [3] Medici, M. C., Tummolo, F., Arcangeletti, A., De Conto, F., Chezzi, C., Dodi, I., & Calderaro, A. (2016). A cluster of Enterovirus 71 subgenogroup C2 in a nursery school, Italy, 2014. *New Microbiologica*, 39(3), 94.
- [4] Begaydarova, R. H., Starikov, Y. G., Devdariani, H. G., Abilkasimov, Z. E., Dyusseмбаева, A. E., & Zolotareva, O. A. (2013). Sovremennyye osobennosti nekotorykh klinicheskikh form e'nterovirusnoj infekcii u detej [Current clinical features of some forms of enterovirus infection in children]. *Mezhdunarodnyy zhurnal e'ksperimental'nogo obrazovaniya*, 11, 34–36. [in Russian].
- [5] Hamaguchi, T., Fujisawa, H., Sakai, K., Okino, S., Kurosaki, N., Nishimura, Y., et al. (2008). Acute encephalitis caused by intrafamilial transmission of enterovirus 71 in adult. *Emerg. Infect. Dis.*, 14(5), 828–830. doi: 10.3201/eid1405.071121.
- [6] Khan, A., Sharif, S., Shaukat, S., Khan, S., & Zaidi, S. (2008). An outbreak of acute hemorrhagic conjunctivitis caused by coxsackievirus A24 variant in Pakistan. *Virus Res*, 137(1), 150–152. doi: 10.1016/j.virusres.2008.06.011.
- [7] Adams, M. J., King, A. M. Q., & Carstens, E. B. (2013). Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Archives of Virology*, 158, 2023–2030. doi: 10.1007/s00705-013-1688-5.
- [8] Solomon, T., Lewthwaite, P., Perera, D., Cardoso, M. J., McMinn, P., & Ooi, M. H. (2010). Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71. *Lancet Infect. Dis.*, 10(11), 778–790. doi: 10.1016/S1473-3099(10)70194-8.
- [9] Канаева, О. И. (2014). E'nterovirusnaya infekciya: mnogoobrazie vozбудitelej i klinicheskikh form [Enterovirus infection: variety of etiological factors and clinical manifestations]. *Infekciya i immunitet*, 1(4), 27–36. [in Russian].
- [10] Duong, V., Mey, C., Eloit, M., Zhu, H., Danet, L., Huang, Z., et al. (2016). Molecular epidemiology of human enterovirus 71 at the origin of an epidemic of fatal hand, foot and mouth disease cases in Cambodia. *Emerging Microbes & Infections*, 5(9), 104. DOI: 10.1038/emi.2016.101.
- [11] Medici, M. C., Tummolo, F., Arcangeletti, M. C., De Conto, F., Chezzi, C., Dodi, I., & Calderaro, A. (2016). A cluster of Enterovirus 71 subgenogroup C2 in a nursery school, Italy, 2014. *New Microbiologica*, 39(4), 295–298.
- [12] Ooi, M. H., Wong, S. C., Lewthwaite, P., Cardoso, M. J., & Solomon, T. (2010). Clinical features, diagnosis and management of human enterovirus 71 infection. *Lancet Neurol.*, 11(10), 1097–1105. doi: 10.1016/S1474-4422(10)70209-X.
- [13] Kemball, C. C., Alirezai, M., & Whitton, J. L. (2010). Type B coxsackieviruses and their interactions with the innate and adaptive immune systems. *Future Microbiol.*, 5(5), 1329–1347. doi: 10.2217/fmb.10.101.
- [14] Chang, P. C., Chen, S. C., & Chen, K. T. (2016). The Current Status of the Disease Caused by Enterovirus 71 Infections: Epidemiology, Pathogenesis, Molecular Epidemiology, and Vaccine Development. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(9), 890. doi: 10.3390/ijerph13090890.
- [15] Hu, D. D., Mai, J. N., He, L. Y., Li, P. Q., Chen, W. X., Yan, J. J., et al. (2017). Glucocorticoids Prevent Enterovirus 71 Capsid Protein VP1 Induced Calreticulin Surface Exposure by Alleviating Neuronal ER Stress. *Neurotoxicity Research*, 31(2), 204–217. doi: 10.1007/s12640-016-9670-0.
- [16] Li, J., Yao, Y., Chen, Y., Xu, X., Lin, Y., Yang, Z., et al. (2016). Enterovirus 71 3C promotes apoptosis through cleavage of PinX1, a telomere binding protein. *Journal of Virology*, doi: 10.1128/JVI.02016-16.
- [17] Miyazawa, I., Azegami, Y., Kasuo, S., Yoshida, T., Kobayashi, M., & Shiraiishi, T. (2008). Prevalence of enterovirus from patients with herpangina and hand, foot and mouth disease in Nagano Prefecture, Japan, 2007. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 61(3), 247–8.
- [18] Martinova, G. P. (2014). E'nterovirusnaya (nepolio) infekciya u detej [Enterovirus (nepolio) infection in children]. *Sibirskoe medicinskoe obozrenie*, 3(87), 100–106. [in Russian].
- [19] Pickering, L. K. (2012). Enterovirus (nonpoliovirus) and parechovirus infections (group A and B coxsackieviruses, echoviruses, numbered enteroviruses, and human parechoviruses). Red Book. IL.
- [20] Zeng, M., El Khatib, N. F., Tu, S., Ren, P., Xu, S., Zhu, Q., et al. (2012). Seroepidemiology of Enterovirus 71 infection prior to the 2011 season in children in Shanghai. *Clin. Virol.*, 53(4), 285–289. doi: 10.1016/j.jcv.2011.12.025.

- [21] Logan, S. A. E., & Mac Mahon, E. (2008). Viral meningitis. *BMJ*, 336(7634), 36–40.
- [22] Dos Santos, G. P., Skraba, I., Oliveira, D., Lima, A. A., de Melo, M. M., Kmetzsch, C. I., et al. (2006). Enterovirus meningitis in Brazil, 1998–2003. *J. Med. Virol.*, 78, 98–104. doi: 10.1002/jmv.20509.
- [23] Fowlkes, A. L., Honamand, S., Glaser, C., Yagi, S., Schnurr, D., Oberste, M. S., et al. (2008). Enterovirus-associated encephalitis in the California Encephalitis Project, 1998–2005. *J Infect Dis.*, 198, 1685–1691. doi: 10.1086/592988.
- [24] Cherry, J. D., & Feigin, R. D. (2009). Aseptic meningitis and viral meningitis. Philadelphia: Saunders.
- [25] Saoji, V. A. (2008). Hand, foot and mouth disease in Nagpur. *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.*, 2(74), 133–135.
- [26] Davia, J. L., Bel, P. H., Ninet, V. Z., Bracho, M. A., González-Candelas, F., Salazar, A., et al. (2011). Onychomadesis outbreak in Valencia, Spain, associated with hand, foot and mouth disease caused by enterovirus. *Pediatr Dermatol.*, 28, 1. doi: 10.1111/j.1525-1470.2010.01161.x.
- [27] Demina, A. V., & Netesov, S. V. (2009). E'nterovirusy: chast' 2. E'nterovirusnye infekcii: mnogoobrazie klinicheskikh proyavlenij [Enteroviruses. PART II: enteroviral infections: the variety of clinical implications (review)]. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal*, 29(6), 116–125. [in Russian].
- [28] Khan, A., Sharif, S., Shaukat, S., Khan, S., & Zaidi, S. (2008). An outbreak of acute hemorrhagic conjunctivitis caused by coxsackievirus A24 variant in Pakistan. *J. Virus Res.*, 137(1), 150–152. doi: 10.1016/j.virusres.2008.06.011.
- [29] Fomina, S. H., & Novikova, N. A. (2014). E'nterovirusy u detej s gastroe'nteritom (analiticheskij obzor) [Enteroviruses in children with gastroenteritis (analytical review)]. *MiediAl'*, 2(12), 58–71. [in Russian].
- [30] Jacques, J., Moret, H., Minette, D., Lévêque, N., Jovenin, N., Deslée, G., et al. (2008). Epidemiological, molecular, and clinical features of enterovirus respiratory infections in French children between 1999 and 2005. *J. Clin. Microbiol.*, 46(1), 206–213. doi: 10.1128/JCM.01414-07.
- [31] Chapman, N. M., & Kim, K. S. (2008). Persistent coxsackievirus infection: enterovirus persistence in chronic myocarditis and dilated cardiomyopathy. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 323, 275–292. doi: 10.1007/978-3-540-75546-3_13.
- [32] Zhong, T., Zhang, L. Y., Wang, Z. Y., Wang, Y., Song, F. M., Zhang, Y. H., & Yu, J. H. (2017). Rheum emodin inhibits enterovirus 71 viral replication and affects the host cell cycle environment. *Acta Pharmacologica Sinica*, 38, 392–401. doi: 10.1038/aps.2016.110.
- [33] Xu, F., Zhao, X., Hu, S., Li, J., Yin, L., Mei, S., et al. (2016). Amphotericin B Inhibits Enterovirus 71 Replication by Impeding Viral Entry. *Scientific Reports*, 6, 14. doi: 10.1038/srep33150.

Відомості про авторів:

Рябоконе О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Усачова О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Камишний О. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Задирака Д. А., канд. мед. наук, асистент каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Ткачова О. А., старший лаборант каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Рябоконе О. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Усачёва О. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. детских инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Камышный А. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Задирака Д. А., канд. мед. наук, ассистент каф. инфекционных болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Ткачёва О. А., старший лаборант каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Riabokon O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Usacheva O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of Department of Pediatric Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Kamysnyi O. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Zadiraka D. A., MD, PhD, Assistant of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Tkacheva O. L., Senior Laboratory Assistant of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Фінансування: Огляд фахової літератури здійснений у рамках виконання відкритого когортного дослідження спільної Програми малих грантів ЄРБ/СПТЗ, що зосереджені на реалізації програм боротьби з інфекційними захворюваннями на тему: «Нові підходи до діагностики основних клінічних форм ентеровірусної інфекції в дітей і дорослих».

Funding: Presented literature review conducted in the framework of the open cohort study of the Joint Small Grants Programme WHO/HHWS focused on programs to combat infectious diseases on the topic: "New approaches to the diagnosis of major clinical forms of enteroviral infection in children and adults".

Надійшло до редакції / Received: 16.02.2017
Після доопрацювання / Revised: 24.02.2017
Прийнято до друку / Accepted: 01.03.2017