

Патологія



Том 15, № 2(43), травень – серпень 2018 р.

Редакційна колегія

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

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

Редакційна рада

проф. Самір С. Амр (Дахран, Саудівська Аравія)
чл.-кор. РАМН, проф. Н.М. Анічков (Санкт-Петербург, РФ)
проф. Я.Я. Боднар (Тернопіль)
проф. Кристер Буш (Уппсала, Швеція)
проф. О.С. Гавриш (Київ)
проф. А.І. Гоженко (Одеса)
проф. І.С. Давиденко (Чернівці)
проф. О.О. Дядик (Київ)
проф. Міхал Єлень (Вроцлав, Польща)
проф. Френсіс Жубер (Париж, Франція)
чл.-кор. РАМН, проф. Л.В. Кактурський (Москва, РФ)
проф. О.М. Камишний (Запоріжжя)
проф. М.О. Клименко (Миколаїв)
проф. Джордж Контогеоргос (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. Недзьведь (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)

Editorial Board

Editor-in-Chief – V.A. Tumanskiy
Deputy Editor-in-Chief – A.V. Abramov
Executive secretary – S.I. Tertyshnyi
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 (Dnipro, Ukraine)
G.G. Skibo (Kyiv, Ukraine)
T.D. Zadorozhnaya (Kyiv, Ukraine)
S.M. Zavhorodniy (Zaporizhzhia, Ukraine)
D.D. Zerbino (Lviv, Ukraine)

Scientific Editorial Board

Samir S. Amr (Dhahran, Saudi Arabia)
N.M. Anichkov (St. Petersburg, RF)
Ya.Ya. Bodnar (Ternopil, Ukraine)
Ch. Busch (Uppsala, Sweden)
P.I. Cherviak (Kyiv, Ukraine)
I.S. Davidenko (Chernivtsi, Ukraine)
O.O. Dyadyk (Kyiv, Ukraine)
Sh. Fukushima (Kanagawa, Japan)
A.S. Gavriush (Kyiv, Ukraine)
A.I. Gozhenko (Odessa, Ukraine)
M. Jelen (Wroclaw, Poland)
F. Joubert (Paris, France)
L.V. Kaktursky (Moscow, RF)
O.M. Kamyshtny (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, RF)
Yu.A. Pospishil (Lviv, Ukraine)
I.S. Reshetnikova (Kaliningrad, RF)
V.P. Silchenko (Kyiv, Ukraine)
I.V. Sorokina (Kharkiv, Ukraine)
V.P. Tereschenko (Kyiv, Ukraine)

Науково-практичний медичний журнал Запорізького державного медичного університету

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

Атестований

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

Журнал включений до WEB OF SCIENCE™

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

Ліцензія Creative Commons



Рекомендовано до друку

Вченою радою ЗДМУ
протокол № 1 від 31.08.2018 р.
Підписано до друку
03.09.2018 р.

Редакція:

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

Адреса редакції і видавця:

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

Віддруковано

у друкарні ТОВ «Х-ПРЕСС»
69068, м. Запоріжжя,
вул. Кругова, 165/18,
тел. (061) 220-42-29.
Свідоцтво
про державну реєстрацію
АОО №198468 від 01.07.1999 р.
Формат 60x84/8.
© Папір крейдяний,
безкислотний,
Умов. друк. арк. 6.
Тираж 200 прим.
Зам. № 8/18.

Pathologia

Volume 15 No. 2 May – August 2018

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

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

Оригінальні дослідження

Григорівський В. В., Калашников А. В., Кузів Є. Л., Апуховська Л. І.

Гістопатологія, морфометричні показники кісток, суглобового та епіфізарного хрящів при глюкокортикоїд-індукованій остеохондропатії в експерименті

Михайловська Н. С., Стецюк І. О.

Індикатори порушення стану мінералізації кісткової тканини в жінок у постменопаузальному періоді, які хворі на ішемічну хворобу серця

Бадюк М. І., Микита О. О., Семенів І. П., Риган М. М., Косарчук В. В.

Аналіз структури невідкладних станів військовослужбовців Збройних Сил України в сучасних умовах

Ганчев К. С., Абрамов А. В.

Порушення експресії конститутивних ізоформ синтази монооксиду азоту як патогенетичний фактор формування ускладнень після екстракції зуба на тлі експериментального цукрового діабету

Трубка І. А., Россоха З. І., Кирьяченко С. П., Савичук Н. О., Горовенко Н. Г.

Генетические предикторы риска развития сочетанного течения кариеса и хронического катарального гингивита у детей

Шумна Т. Є., Камишний О. М., Зінченко Т. П.

Дослідження закономірностей розподілу алельних генів і генотипів поліморфізму С/А гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) у дітей із назальною обструкцією алергічного генезу та ортодонтичною патологією

Сакович О. О., Жебель В. М., Поліщук Т. В., Франчук С. В., Сурсаєва Л. М.

Поліморфізм гена рецептора ангіотензину II першого типу в жінок з есенціальною артеріальною гіпертензією та відповідні особливості структурно-функціональних показників міокарда

Ганчева О. В., Тіщенко С. В., Іваненко Т. В.

Кількісні характеристики вмісту нейротензину в аркуатному ядрі гіпоталамуса при різних за етіологією артеріальних гіпертензіях

Михалюк Е. А., Гунина Л. М.

Состояние биоэлектрической активности миокарда у гандболистов

Любомирська К. С., Камишний О. М., Круть Ю. Я.

Асоціація одонуклеотидного поліморфізму імунорегуляторних генів із передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності

Лоскутова Т. О.

Нові підходи до прогнозування прееклампсії у вагітних

Голотюк В. В., Крижанівська А. Є., Садовий І. Я., Татарин Б. Б.

Предиктивне значення та зміни експресії індукбельної синтази оксиду азоту у хворих на рак прямої кишки під впливом протипухлинної терапії

Герасимова О. В., Процюк Т. Л., Процюк Л. О., Суркова Н. М., Коцур Л. Д., Кулешов О. В.

Вплив рівня контролю бронхіальної астми на показники якості життя в дітей

Original research

128 Hryhorovskiy V. V., Kalashnikov A. V., Kuziv Ye. L., Apukhovska L. I.

Histopathology, morphometric indices of bones, articular and epiphyseal cartilages in experimental glucocorticoid-induced osteochondropathy

136 Mykhailovska N. S., Stetsiuk I. O.

The indicators of the bone tissue mineralization abnormalities in women with coronary artery disease in the post-menopausal period

142 Badiuk M. I., Mykyta O. O., Semeniv I. P., Rygan M. M., Kosarchuk V. V.

The structure of urgent conditions of servicemen of the Armed Forces of Ukraine in modern conditions

148 Hanchev K. S., Abramov A. V.

Disturbance of nitric oxide synthase constitutive isoforms expression as a pathogenetic factor of complications development after tooth extraction in experimental diabetes mellitus

154 Trubka I. O., Rossokha Z. I., Kyriachenko S. P., Savychuk N. O., Gorovenko N. G.

Genetic predictors of development risk of combined caries and chronic catarrhal gingivitis course in children

161 Shumna T. Ye., Kamyshnyi O. M., Zinchenko T. P.

Research of distribution pattern of allelic genes and genotypes of C/A polymorphism of COL1A1_1 collagen gene (RS1107946) in children with nasal obstruction of allergic genesis and orthodontic pathology

169 Sakovych O. O., Zhebel V. M., Polishchuk T. V., Franchuk S. V., Sursaeva L. M.

Polymorphism of the second type angiotensin II receptor's gene in women with essential hypertension and the corresponding features of structural and functional parameters of myocardium

176 Hancheva O. V., Tishchenko S. V., Ivanenko T. V.

Quantitative characteristics of the neurotensin content in the hypothalamic arcuate nucleus in arterial hypertension of different etiologies

180 Mykhaliuk Ye. L., Gunina L. M.

The state of bioelectric activity of myocardium in handball players

187 Liubomyrska K. S., Kamyshnyi O. M., Krut Yu. Ya.

Association between single nucleotide polymorphism of immunoregulatory genes and preterm premature rupture of membranes in preterm labour

194 Loskutova T. O.

New approaches to the prognosis of pre-eclampsia in pregnant woman

199 Holotiyuk V. V., Kryzhanivska A. Ye., Sadoviy I. Ya., Tataryn B. B.

Predictive value and changes of inducible nitric oxide synthase expression in patients with rectal cancer under the influence of antitumor therapy

204 Herasymova O. V., Protsiuk T. L., Protsiuk L. O., Surkova N. M., Kotsur L. D., Kuleshov O. V.

The influence of bronchial asthma control level on the quality of life indices

Оригінальні дослідження

Зубченко С. О., Маруник С. Р.

Оцінювання якості життя пацієнтів із пилюковою алергією до та після курсу сублінгвальної імунотерапії

Рябоконь О. В., Хелемендик А. Б., Рябоконь Ю. Ю.

Моніторинг хворих на хронічний гепатит В без цирозу печінки при визначенні тактики лікування

Шишкін М. А., Туманський В. О.Особливості транскрипційної активності генів *CDH1*, *CTNNB1* та експресії кодованих ними молекул Е-кадгерину, β-катеніну на I, II, III, IV стадіях розвитку колоректальної аденокарциноми**Воротинцев С. І., Гриньовська М. Б., Софілканич М. М., Захарчук О. В.**

Ефективність регіонарних технік анальгезії в абдомінальній хірургії в пацієнтів з ожирінням

Півторак В. І., Монастирський В. М.

Особливості топографії єдиної нирки після видалення контралатеральної

Огляди

Стефанчук Р. О., Янчук А. О., Стефанчук М. М., Стефанчук М. О.

Проведення в Україні кодифікації медичного законодавства: до питання постановки проблеми

Івченко Д. В., Мірошніков В. В.

Застосування аутологічної плазми, що збагачена тромбоцитами, для оптимізації репаративної регенерації кісткової тканини при остеопенії

Лікарю-практику

Григорійчук В. І., Кузик Ю. І., Бойко О. І.

Загальний артеріальний стовбур: патоморфологічні зміни неоперованої вади серця в дорослому віці

Original research

210 Zubchenko S. O., Maruniak S. R.

Evaluation of quality of life of patients with pollen allergy before and after sublingual immunotherapy course

215 Riabokon O. V., Khelemendyk A. B., Riabokon Yu. Yu.

Monitoring of patients with chronic hepatitis B without liver cirrhosis while determining the tactics of treatment

221 Shyshkin M. A., Tumanskyi V. O.Features of *CDH1*, *CTNNB1* genes transcriptional activity and expression levels of E-cadherin, β-catenin proteins coded by these genes on the I, II, III, IV stages of colorectal adenocarcinoma development**229 Vorotyntsev S. I., Hrynivska M. B., Sofilkanych M. M., Zakharchuk O. V.**

Efficacy of regional analgesia techniques in abdominal surgery patients with obesity

236 Pivtorak V. I., Monastyrskiy V. M.

Features of the topography of a single kidney after removal of contralateral one

Review

242 Stefanchuk R. O., Yanchuk A. O., Stefanchuk M. M., Stefanchuk M. O.

The codification of medical legislation in Ukraine: the question of the formulation of the problem

248 Ivchenko D. V., Miroshnikov V. V.

Autologous platelet-rich plasma application for the optimization of bone tissue reparative regeneration in osteopenia

Case report

259 Hryhoriichuk V. I., Kuzyk Yu. I., Boiko O. I.

Common arterial trunk: pathomorphological changes of unoperated cardiac defect in adulthood

Міжнародна індексація журналу / Indexing

Web of Science: <http://science.thomsonreuters.com/cgi-bin/jrnlist/jlresults.cgi?PC=MASTER&ISSN=2306-8027>**Ulrich's Periodicals:** Directory (CША)**WorldCat (CША):** http://www.worldcat.org/title/patologia/oclc/260006269&referer=brief_results**The National Library of Medicine (CША):** http://locatorplus.gov/cgi-bin/Pwebrecon.cgi?v1=1&ti=1,1&SearchArg=Pathologia&Search_Code=JALL&SL=None&CNT=25&PID=gATyrKW75IFCFItxUc1ajaR9n&SEQ=20141105025042&SID=3**The National Center for Biotechnology Information:** <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/101470944>**WORLDWIDE ELIBRARY(CША):** <http://www.sciary.com/journal-scientific-pathology-article-77962>**getCITED (CША):** <http://www.getcited.org/pub/103524559>**BASE (Bielefeld Academic Search Engine) (ФНН):** <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&oaboo=1&ling=1&name=&thes=&refid=dcsesde&newsearch=1>**JournalTOCs (Великобританія):** http://www.journaltoCs.ac.uk/index.php?action=browse&subAction=pub&publisherID=2830&journalID=29710&pageb=1&userQueryID=&sort=&local_page=1&sortType=&sortCol=1**CiteFactor (CША):** 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 (Велика Британія):** <https://doaj.org/toc/2310-1237>

Гістопатологія, морфометричні показники кісток, суглобового та епіфізарного хрящів при глюкокортикоїд-індукованій остеохондропатії в експерименті

В. В. Григоровський¹, А. В. Калашников¹, Є. Л. Кузів², Л. І. Апуховська³

¹ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ, ²Військово-медичний клінічний центр Центрального регіону, м. Вінниця, Україна, ³Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАН України, м. Київ

Ключові слова:
глюкокортикоїди,
суглобовий хрящ,
епіфізарний хрящ,
експеримент,
вітамін D, вітамін E.

Патологія. – 2018. –
Т. 15, № 2(43). –
С. 128–135

DOI:
10.14739/2310-1237.
2018.2.141415

E-mail:
val_grigorov@bigmir.net

Мета роботи – визначити параметри впливу вітамінів D та E на зміни показників структурно-функціонального стану суглобового (СХ) та епіфізарного (ЕХ) хрящів при глюкокортикоїд-індукованій остеохондропатії (ГІОХП) в експерименті.

Матеріали та методи. Серії (по 7 щурів): 1) інтактні; 2) преднізолон у дозі 5,0 мг/кг перорально щоденно; 3) преднізолон у поєднанні з вітаміном D 100 МО; 4) преднізолон у поєднанні з вітаміном D 100 МО та вітаміном E 0,6 мг. Тривалість спостереження – 30 діб. Показники: маса великогомілкової кістки, довжина та товщина стегнової кістки, товщина проксимальних СХ та ЕХ стегнової кістки на фронтальному зрізі, питома кількість хондроцитів (ХЦ) на одиницю площі зрізу, число великих ділянок хрящового матриксу в зрізах СХ та ЕХ.

Результати. Товщина СХ за ГІОХП знижується, а в умовах превентивного введення вітамінів D та E має тенденцію до нормалізації, хоча і не досягає значень серії інтактних тварин. Питома кількість ХЦ на одиницю площі зрізу та кількість великих ділянок матриксу за ГІОХП зростає. В серіях, де вводили вітамін D, спостерігали тенденцію до зниження параметрів обох показників; а в серії, де вводили обидва вітаміни, кількість великих ділянок матриксу залишається понаднормовою. Товщина ЕХ за ГІОХП знижується, незважаючи на превентивне застосування вітамінів. При ГІОХП збільшується також питома кількість ХЦ на одиницю площі ЕХ і кількість великих ділянок матриксу, проте в серії, де превентивно застосовували вітаміни D та E, визначена тенденція до нормалізації середніх параметрів цих показників. Це свідчить про стійкий характер впливу глюкокортикоїдів на хондроцити ЕХ та остеобласти зони окостеніння метафіза.

Висновки. Превентивне введення вітамінів D та E під час моделювання ГІОХП призводить до відновлення (або наближення до параметрів інтактних тварин) рівня більшості остеометричних показників, а також вносить позитивні зміни в гістоморфометричні показники СХ та ЕХ проксимального епіметафіза стегнової кістки.

Ключевые слова:
глюкокортикоиды,
суставной
хрящ, эпифизы,
эксперимент,
витамин D,
витамин E.

Патология. – 2018. –
Т. 15, № 2(43). –
С. 128–135

Гістопатологія, морфометричні показники кісток, суглобового та епіфізарного хрящів при глюкокортикоїд-індукованій остеохондропатії в експерименті

В. В. Григоровський, А. В. Калашников, Є. Л. Кузів, Л. І. Апуховська

Цель работы – определить параметры воздействия витаминов D и E на изменения показателей структурно-функционального состояния суставного (СХ) и эпифизарного (ЭХ) хрящей при глюкокортикоид-индуцированной остеохондропатии (ГИОХП) в эксперименте.

Материалы и методы. Серии (по 7 крыс): 1) интактные; 2) преднизолон в дозе 5,0 мг/кг перорально ежедневно; 3) преднизолон в сочетании с витамином D 100 МЕ; 4) преднизолон в сочетании с витамином D 100 МЕ и витамином E 0,6 мг. Длительность наблюдения – 30 суток. Показатели: масса большеберцовой кости, длина и толщина бедренной кости, толщина проксимальных СХ и ЭХ бедренной кости на фронтальном срезе, удельное количество хондроцитов (ХЦ) на единицу площади среза, число крупных участков хрящевого матрикса в срезах СХ и ЭХ.

Результаты. Толщина СХ при ГІОХП снижается, а в условиях превентивного введения витаминов D и E имеет тенденцию к нормализации, хотя и не достигает значений серии интактных животных. Удельное количество ХЦ на единицу площади среза и количество крупных участков матрикса при ГІОХП возрастает. В сериях, где вводили витамин D, отмечена тенденция к снижению параметров обоих показателей, а в серии, где вводили оба витамина, количество крупных участков матрикса остается выше, чем у интактных (норма). Толщина ЭХ при ГІОХП снижается, несмотря на превентивное применение витаминов. При ГІОХП увеличивается также удельное количество ХЦ на единицу площади ЭХ и количество крупных участков матрикса, однако в серии, где превентивно применяли витамины D и E, отмечена тенденция к нормализации средних параметров этих показателей. Это свидетельствует об устойчивом характере влияния глюкокортикоидов на хондроциты ЭХ и остеобласты зоны окостенения метафиза.

Выводы. Превентивное введение витаминов D и E при моделировании ГІОХП приводит к восстановлению (или приближению к параметрам интактных животных) уровня большинства остеометрических показателей, а также вносит положительные изменения в гистоморфометрические показатели СХ и ЭХ проксимального эпиметафиза бедренной кости.

Key words:
glucocorticoids,
articular cartilage,
epiphyses,
experiment,
vitamin D,
vitamin E.

Histopathology, morphometric indices of bones, articular and epiphyseal cartilages in experimental glucocorticoid-induced osteochondropathy

V. V. Hryhorovskiy, A. V. Kalashnikov, Ye. L. Kuziv, L. I. Apukhovska

Research objective – to define parameters of vitamins D and E influence on changes of articular (AC) and epiphyseal (EC) cartilage structural-functional condition indices in glucocorticoid-induced osteochondropathy (GIOCP) in experiment.

Materials and methods. Series (7 rats each): 1) intact; 2) prednisolone in a dose of 5,0 mg/kg per os daily; 3) prednisolone in combination with vitamin D 100 IU; 4) prednisolone in combination with vitamin D 100 IU and vitamin E of 0,6 mg. Observation during 30 days. Indicators: weight of tibia, length and thickness of femur, thickness of proximal femoral AC and EC on a frontal tissue section, specific chondrocyte (ChC) number per unit of the section area, number of large places of cartilage matrix in sections of AC and EC.

Results. The thickness of AC in GIOCP decreases, and in the conditions of vitamins D and E preventive administration tends to normalization though does not reach values of intact animals series. Specific ChC quantity per section area unit and large places of matrix quantity in GIOCP increase; in series where vitamin D was administrated, the tendency to decrease of parameters of both indices was observed, and in a series where both vitamins were administrated, the number of large places of matrix nevertheless remains above, than norm.

The thickness of EC at GIOCP decreases, despite preventive application of vitamins. In GIOCP specific ChC quantity per unit of EC area and large places of matrix number increase, however in series where both vitamins D and E were preventively applied, the tendency to normalization of mean parameters of these indicators is observed. It gives evidence of steady character of glucocorticoid influence on EC chondrocytes and metaphyseal zone of ossification osteoblasts.

Conclusions. Preventive administration of vitamins D and E during GIOCP-modelling leads to restoration (or to intact animals parameters approximation) of the majority of osteometric indices level, and also introduces positive changes in AC and EC of proximal femoral epimetaphysis histomorphometric indicators.

Терапія глюкокортикоїдами (ГК) широко застосовується фахівцями медичних спеціальностей: ревматологами, дерматологами, ендокринологами, ортопедами тощо. Певні схеми лікування з використанням ГК мають показання і в дитячих контингентах хворих. Багато захворювань передбачають введення в організм ГК як засобів місцевої дії, а також для системного впливу.

Незважаючи на позитивну дію цих лікарських засобів, відомі їхні побічні ефекти, серед яких важливе місце посідає глюкокортикоїд-індукований остеопороз (ГІО), прямий та опосередкований вплив на хрящі кісток. Ці дані одержали як у клінічних, так і в експериментальних дослідженнях [1–4]. У деяких рандомізованих клінічних випробуваннях за допомогою клінічних і візуалізаційних методів, зокрема МРТ, встановлено, що ГК при внутрішньосуглобовому введенні тріамсінолону з приводу остеоартриту (ОА) призводить до зменшення об'єму (товщини) суглобового хряща (СХ), тобто ймовірно є розвиток дистрофічних і некротичних змін у його тканині [5,6]. В експериментальних дослідженнях показано особливості системної дії ГК на кісткові та хрящові структури довгих кісток [1,2,4]. Проте, на наш погляд, доказові можливості морфометричного методу під час аналізу результатів цих досліджень використані недостатньо, хоча дані цих робіт дають підстави позначати патологічні зміни в кістковій і хрящовій тканині як глюкокортикоїд-індуковану остеохондропатію (ГІОХП).

Для запобігання побічному впливу ГК на кісткові та хрящові структури як при внутрішньосуглобовому, так і при системному введенні ГК у клініці вже тривалий час застосовують препарати вітаміну D. Втім результати рандомізованих клінічних випробувань (РКВ) і деяких систематичних оглядів щодо клінічного ефекту вітаміну D є неоднозначними [7–11]. Результати вивчення превентивного впливу вітаміну D на суглобовий (СХ) та епіфізарний (ЕХ) хрящі в експерименті не завжди дають можливість об'єктивно оцінити зміни, що відбуваються у СХ та ЕХ, а також порівняти їх у різновидах гіалінового хряща певної локалізації в кістці.

Відомо, що вітамін Е – це універсальний протектор клітинних мембран від окисного пошкодження. Він перешкоджає впливу кисню на ненасичені ліпіди мембран, запобігаючи їх деструкції. Його молекула

може безпосередньо взаємодіяти з вільними радикалами кисню, ненасичених жирних кислот і перекисами. Крім того, він здійснює стабілізацію мембран, оскільки запобігає окисленню SH-груп мембранних білків [12]. Одержано дані про дозозалежний вплив вітаміну Е на обмін вітаміну D₃, що опосередковується ступенем забезпечення організму холекальциферолом [13], але досі не вивчили превентивний вплив поєднаного застосування вітамінів D та Е на клітини, тканини органів опорно-рухового апарату, зокрема на СХ та ЕХ в умовах моделювання ГІОХП.

Мета роботи

На основі низки остеометричних і гістоморфометричних досліджень визначити параметри впливу вітамінів D та Е на зміни показників структурно-функціонального стану суглобового та епіфізарного хрящів при глюкокортикоїд-індукованій остеохондропатії в експерименті.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали на 28 щурах-самцях лінійної породи Вістар віком 2 місяці. Тварин утримували відповідно до «Санітарних правил створення, обладнання та утримання експериментально-біологічних клінік (віваріїв)» від 06.04.1973 р. і доповнень від 04.12.1978 р. до наказу МОЗ СРСР № 163 від 10.03.1966 р. «Про добоові норми харчування тварин та продуценти». Під час дослідження керувалися «Європейською конвенцією щодо захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальними та іншими науковими цілями».

Уведення в організм тварин діючих речовин (розчин преднізолону, вітаміни D та Е, фізрозчин) здійснювали щоденно перорально за допомогою зонда з оливою.

Експериментальних тварин поділили на 4 дослідні серії по 7 щурів у кожній, термін спостереження від включення в експеримент до виводу з нього становив 30 діб:

– (I) Інтактні тварини – щоденно вводили по 0,5 мл 0,9 % розчину хлориду натрію.

– (II) Глюкокортикоїд-індукована остеохондропатія – щурам вводили по 0,5 мл розчину преднізолону в дозі 0,5 мг/100 г маси тіла.

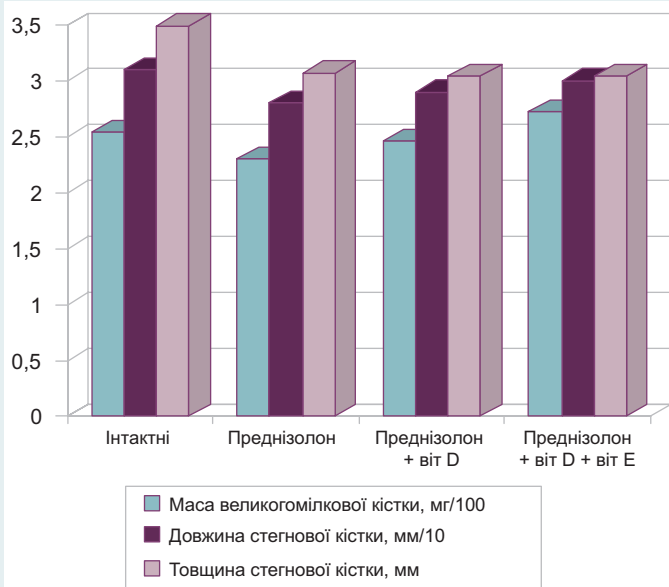


Рис. 1. Середні параметри остеометричних показників кісток щурів різних серій порівняння.

– (III) Глюкокортикоїд-індукована остеохондропатія на тлі застосування препарату вітаміну D – крім розчину преднізолону щурам вводили 100 МО вітаміну D₃ (виробник Medana Pharma, Польща).

– (IV) Глюкокортикоїд-індукована остеохондропатія на тлі застосування препаратів вітамінів D та E – крім розчину преднізолону щурам вводили 100 МО вітаміну D₃ та 0,726 МО (0,6 мг) вітаміну E (виробник ПАТ «Київський вітамінний завод», Україна).

У термін завершення експерименту тварин зважували та виводили з досліду шляхом передозування ефіру для наркозу, після чого здійснили забір матеріалу для морфологічних досліджень.

Остеометричні вимірювання виконали на видалених і звільнених від м'яких тканин кістках. Визначали масу великогомілкової кістки на аналітичних терезах, довжину стегнової кістки між верхнім полюсом голівки та найбільш дистальною точкою суглобової поверхні медіального виростка та товщину стегнової кістки в середній третині діяфіза – з допомогою штангенциркуля з точністю до 0,1 мм. Стегнові кістки фіксували в 10 % формаліні, виконували декальцинацію 5 % азотною кислотою, проводили у спиртах і заливали в целоїдин, одержували зрізи завтовшки 10 мкм, які фарбували гематоксиліном та еозином, гематоксиліном і пікрофуксином за Ван Гізоном. Гістологічні дослідження виконали на мікроскопах МБС-2 та Olympus CX-41, мікрофотографії робили фотоапаратом Nikon D90, закріпленим на тубусі мікроскопа.

З-поміж гістоморфометричних показників, котрі характеризують кількісні особливості хрящів проксимального епіметафіза стегнових кісток щурів, досліджували:

– товщину CX та EX голівки стегнової кістки у найбільш проксимально розташованих ділянках хрящів поблизу місця приєднання зв'язки голівки стегнової кістки, у мм;

– питому кількість хондроцитів (ХЦ) на одиницю площі зрізу хрящів у тестовому вікні, число клітин/мм².

Тестову ділянку у CX та EX завжди вибирали в найбільш проксимальній частині на фронтальному зрізі проксимального кінця стегна;

– кількість великих ділянок інтертериторіального хрящового матриксу (великих ділянок матриксу) у зрізах CX та EX. У зрізах хрящів підраховували число великих ділянок матриксу, що не містили ХЦ.

Одержані параметри остеометричних і гістоморфометричних показників піддавали статистичному опрацюванню, розраховуючи середні величини та параметри варіації (стандартні відхилення та помилки). Міжгрупові відмінності середніх величин оцінювали з розрахунком параметрів t-тесту Стюдента. Для статистичного опрацювання кількісних даних використали програми Statistica, v. 7,0, програму калькулятора МК-52 [14].

Результати

Остеометричні показники. Середній параметр маси великогомілкової кістки (рис. 1) у щурів, яким вводили преднізолон (II серія), вірогідно знижувався порівняно із середнім значенням цього показника інтактних тварин (I) ($p < 0,001$). У серії, де разом із преднізолоном вводили препарат вітаміну D (III), середній параметр маси наближався до параметра інтактних (різниця не вірогідна), а в серії, де крім преднізолону вводили разом вітаміни D та E (IV), вірогідно перевищував середнє значення серій як тих, де застосовували тільки преднізолон (II), так і інтактних (I) ($p < 0,001$). Подібну динаміку виявляли середні параметри довжини стегнової кістки, хоча в обох серіях, де вводили преднізолон на тлі застосування вітамінів D та E (III, IV), середня довжина стегнової кістки залишалася вірогідно меншою, ніж в інтактних тварин (I) ($p < 0,001$). Середні значення товщини стегнової кістки в усіх серіях, де тваринам вводили преднізолон (II, III, IV), незважаючи на додавання препаратів вітамінів D та E, залишалися вірогідно нижчими від параметрів інтактних (I) ($p < 0,001$).

Морфологічні особливості CX голівки стегнової кістки в серіях порівняння. Центр окостеніння епіфіза голівки стегнової кістки на фронтальному розрізі мав серпоподібну форму і складався переважно з коротких і товстих кісткових перекладок (рис. 2).

В інтактних щурів у CX добре виражені ХЦ усіх трьох зон (поверхневої, проміжної, глибокої), хоча чітких анатомічних меж не існує (рис. 3). У тварин серії, де вводили преднізолон (II), часто спостерігали потоншення CX у найбільш проксимально розташованих ділянках голівки (рис. 4). Питома кількість ХЦ на одиницю площі у хрящовій тканині CX дещо збільшувалася внаслідок переважання дрібних ХЦ (рис. 5). Особливістю CX голівки стегнової кістки щурів є наявність ділянок хрящового матриксу, які не містять ХЦ; ці ділянки сумірні з кластерами ХЦ або дещо більшого розміру (рис. 6).

Морфологічні особливості EX проксимального епіметафіза стегнової кістки в серіях порівняння. На гістологічних зрізах проксимального епіметафіза стегнової кістки EX мав форму дуги, що вигином спрямована проксимально, й утворював прошарок між губчастою кісткою епіфіза і зоною окостеніння метафіза, що має особливу будову, пов'язану з її функцією (рис. 7).

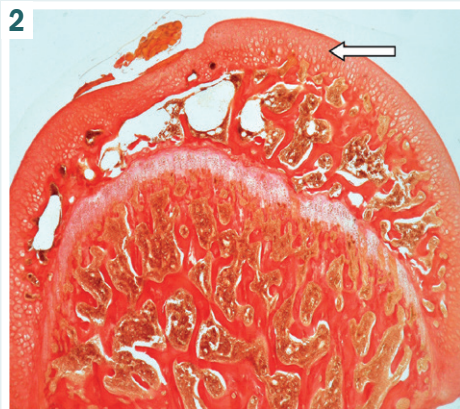


Рис. 2. Загальний вигляд голівки стегнової кістки щура. Добре збережені СХ та ЕХ. Губчаста кістка епіфіза має серпоподібну форму. Стрілкою позначено ділянку, де проводили вимірювання показників СХ. Гістопрепарат проксимального епіметафіза стегнової кістки тварини із серії інтактних (I). Забарвлення гематоксиліном та пікрофуксином за ван Гізеном, збільшення $\times 20$.

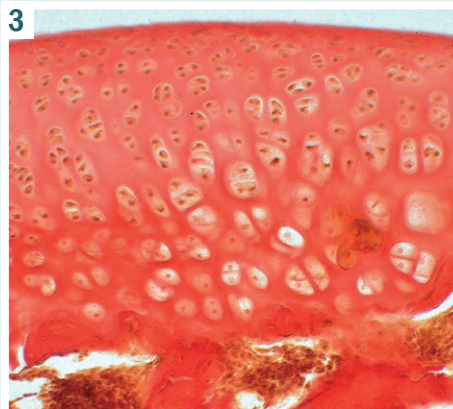


Рис. 3. Суглобова поверхня голівки стегнової кістки. Відносно товстий СХ. Гістопрепарат проксимального епіметафіза стегнової кістки тварини із серії інтактних (I). Забарвлення гематоксиліном та пікрофуксином за ван Гізеном, збільшення $\times 150$.

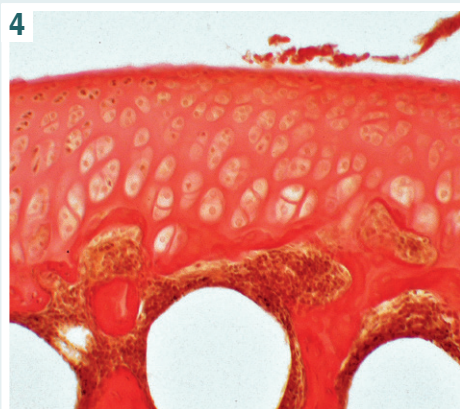


Рис. 4. СХ зменшеної товщини, що покриває поверхню голівки стегнової кістки. Гістопрепарат проксимального епіметафіза стегнової кістки тварини, серія з уведенням преднізолону (II). Забарвлення гематоксиліном та пікрофуксином за ван Гізеном, збільшення $\times 150$.

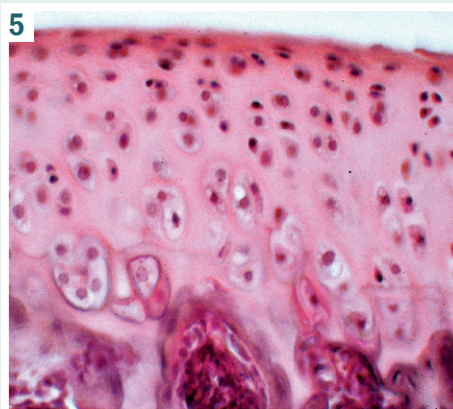


Рис. 5. Ділянка СХ з підвищеною питомою кількістю хондроцитів на одиницю площі зрізу тканини хряща. Збільшена кількість дрібних ХЦ у проміжній зоні СХ. Гістопрепарат проксимального епіметафіза стегнової кістки тварини, серія з уведенням преднізолону (II). Забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 300$.



Рис. 6. Підвищена кількість великих ділянок хрящового матриксу (позначені стрілками) у проміжній та глибокій зонах СХ. Гістопрепарат проксимального епіметафіза стегнової кістки тварини, серія з уведенням преднізолону (II). Забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 150$.

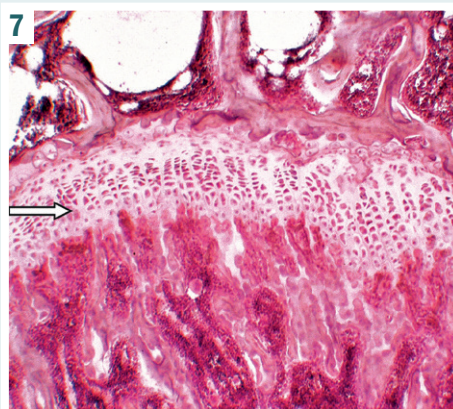


Рис. 7. Загальний вигляд проксимальної зони росту стегнової кістки. Над ЕХ – губчаста кістка епіфіза, знизу – зона окостеніння метафіза, між ними – епіфізарний хрящ (позначений стрілкою). Гістопрепарат проксимального епіметафіза стегнової кістки тварини із серії інтактних (I). Забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 75$.

До метафізарного боку ЕХ прилягає комплекс видовжених, орієнтованих паралельно осі кістки первинних кістково-хрящових перекладок, які є складовою частиною зони окостеніння метафіза. У тварин, які одержували преднізолон без або в поєднанні з вітамінами (II, III, IV серії), спостерігали певне потоншення ЕХ (рис. 8), а також збільшення питомої кількості ХЦ на одиницю площі зрізу (рис. 9), самі ж первинні кісткові перекладки виглядали коротшими (рис. 10), ніж у тварин серії норми (I). Збільшувалася також кількість великих ділянок матриксу у зрізах тканини ЕХ, загальне число яких однак було меншим, ніж великих ділянок матриксу у СХ (рис. 11).

Гістоморфометричні показники СХ у серіях порівняння. Середні значення товщини СХ у всіх серіях,

де щурам вводили преднізолон (II, III, IV) (рис. 12), виявилися нижчими за параметр цього показника в інтактних тварин (I) ($p > 0,05$), хоча виявили тенденцію до зростання в серіях, де тварини одержували вітаміни. Питома кількість ХЦ на одиницю площі зрізу в серії тварин, які одержували преднізолон (II), збільшувалось порівняно з інтактними (I). У серіях щурів, які одержували препарати вітамінів (III, IV), середні параметри цього показника знижувались та мали тенденцію до нормалізації, але залишалися вищими за параметр інтактних (I). Середня кількість великих ділянок матриксу у тканині СХ тварин серії, де вводили преднізолон (II), незначно зменшувалася порівняно з інтактними (I). У серії тварин, які крім преднізолону одержували вітамін D (III), вірогідно зменшувалась ($p < 0,01$), а в серії, де крім преднізолону

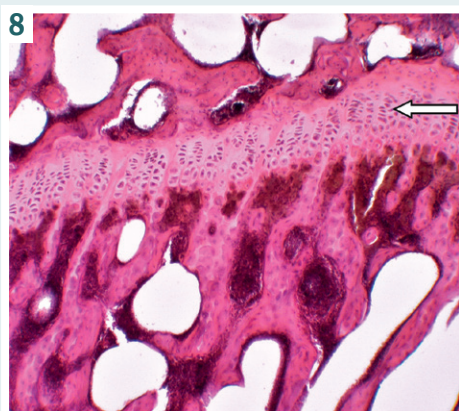


Рис. 8. Зменшення товщини ЕХ. Епіфізарний хрящ позначено стрілкою. Гістопрепарат проксимального епіфіза стегнової кістки тварини із серії з уведенням преднізолону та вітаміну D (III). Забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 75$.

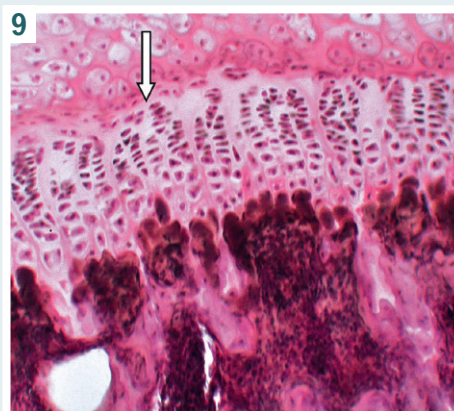


Рис. 9. Збільшення питомої кількості хондроцитів (ділянка позначена стрілкою) на одиницю площі зрізу тканини ЕХ. Гістопрепарат проксимального епіметафіза стегнової кістки тварини, серія з уведенням преднізолону (II). Забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 150$.

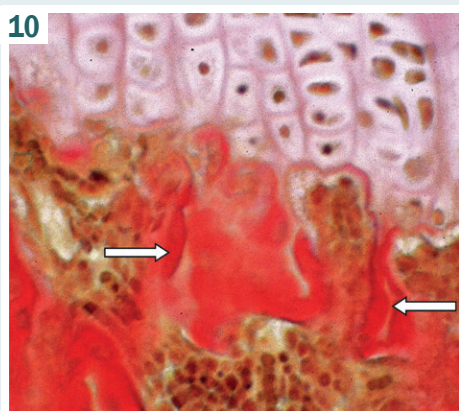


Рис. 10. Вкорочення первинних кісткових перекладок в зоні окостеніння метафіза (позначено стрілками). Гістопрепарат проксимального епіметафіза стегнової кістки тварини, серія з уведенням преднізолону (II). Забарвлення гематоксиліном та пікрофуксином за ван Гізоном, загальне збільшення $\times 150$.

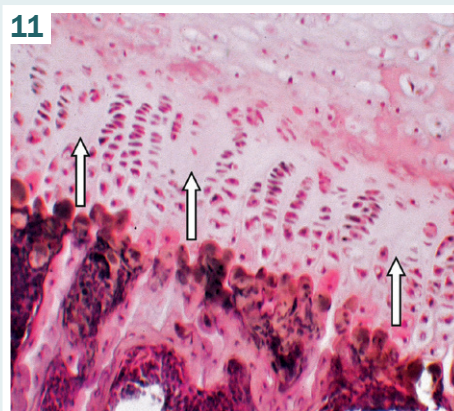


Рис. 11. Підвищена кількість великих ділянок хрящового матриксу (позначені стрілками) в епіфізарному хрящі. Гістопрепарат проксимального епіметафіза стегнової кістки тварини, серія з уведенням преднізолону (II). Забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 150$.

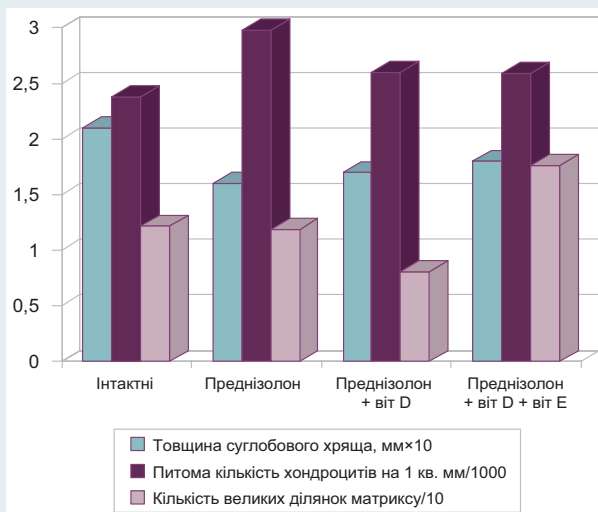


Рис. 12. Середні параметри гістоморфометричних показників суглобового хряща щурів різних серій порівняння.

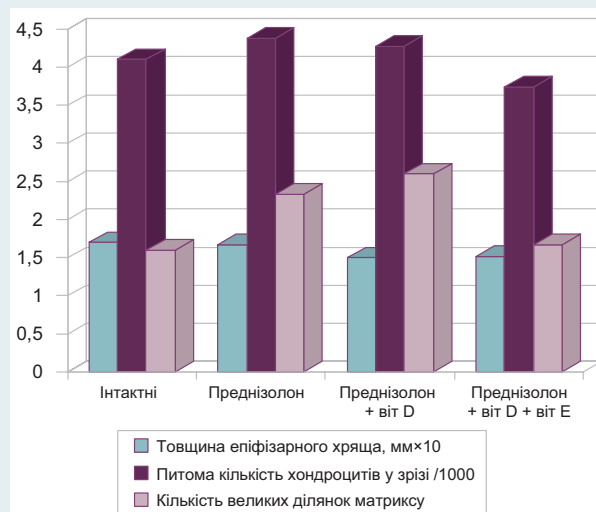


Рис. 13. Середні параметри гістоморфометричних показників епіфізарного хряща щурів різних серій порівняння.

вводили обидва препарати вітамінів (D та E) (III, IV), суттєво зростала, перевищуючи параметри всіх інших серій (різниця середніх між серіями IV та III вірогідна ($p < 0,001$), а також між серіями IV та II ($p < 0,002$)).

Гістоморфометричні показники ЕХ у серіях порівняння. Товщина ЕХ у серіях, де щури отримували тільки преднізолон (II серія) або преднізолон разом з вітамінами (III, IV) (рис. 13), була дещо зменшена. Пи-

тома кількість ХЦ на одиницю площі зрізу в серіях, де щурам вводили тільки преднізолон (II) або преднізолон у поєднанні з вітаміном D (III), була збільшена, тільки в серії, де крім преднізолону вводили вітаміни D та E (IV), виявилася нижчою від параметра групи інтактних тварин (I). Середній параметр кількості великих ділянок матриксу у зрізах тканини ЕХ серії тварин, де вводили преднізолон, збільшувався. Застосування тільки віта-

міну D (III) не призводило до нормалізації параметра, яке досягалося лише в серії тварин, де поєднували введення вітамінів D та E (IV). Усі відмінності середніх параметрів відзначених показників між окремими серіями були статистично не вірогідними за наявної кількості випадків.

Обговорення

Публікації останніх років свідчать про неоднозначність результатів лікувального впливу ГК на хрящові структури залежно від показань (нозології або синдрому), типу введення в організм (локальне, системне), дози та тривалості застосування певного лікарського засобу. Розглянемо окремо відомості про вплив ГК на суглобовий та епіфізарний хрящі.

Ефекти та механізми впливу ГК на структури СХ. Більшість досліджень присвячена вивченню дії ГК при локальному введенні як у клінічних спостереженнях на пацієнтах, так і в експерименті на тваринах, зокрема відзначається позитивний вплив на симптоми ураження суглоба при ОА у низьких дозах препарату та несприятливий вплив при використанні високих доз ГК [5,6,15,16]. Щодо впливу безпосередньо на експлантовані ХЦ *in vivo*, результати неоднозначні. В одному дослідженні виявлено, що попередня або наступна обробка дексаметазоном зменшувала втрату компонентів хрящового матриксу та посилювала синтез протеогліканів у хрящових експлантатах, підданих поєднаному впливу механічної травми, TNF- α і співвідношення IL-6/рецептор [16]. В іншому дослідженні цитотоксичність ГК щодо ХЦ визначили вже при дозах, часто використовуваних у ветеринарній практиці, хоча *in vitro* максимальний протизапальний ефект досягнуто при концентраціях, які нижчі від рекомендованих виробником препарату [17].

Ефекти та механізми впливу ГК на структури ЕХ. ГІОХП характеризується різноманітними проявами, оскільки ГК виявляють вплив на клітинні рецептори у клітинах різних диферонів. Мішенями ГК-впливу є ХЦ поверхневої зони СХ, ХЦ зони збереженого хряща ЕХ та остеоласти зони окостеніння губчастої кістки метафіза [2–4]. Так, остеометричне дослідження стегнових кісток щурів показало, що пероральне введення преднізолону в дозі 0,5 мг/100 г маси призвело до зменшення параметрів показників, що показує затримку росту кістки як органа [4,18]. В ЕХ щурів виявлено нерівномірне забарвлення матриксу, зменшення числа клітин у колонках, наявність безклітинних ділянок [4]. Під час електронно-мікроскопічного дослідження в деяких ХЦ щурів знайдено осередки деструкції в цитоплазмі, протягом поляризаційно-мікроскопічного дослідження – зменшення інтенсивності рефракції у міжклітинній речовині ЕХ. Морфометричний аналіз дав змогу встановити, що зменшувалась ширина всіх зон ЕХ: збереженого хряща, проліферації, гіпертрофії, – це зменшення більше стосувалося тварин молодшого віку [2].

Дослідження клітин ЕХ в органних культурах і на тваринах *in vivo* показали, що ГК мають прямий інгібуючий ефект на ХЦ ЕХ: вони сповільнюють ріст кістки у довжину через гальмування проліферації, гіпертрофії ХЦ та синтезу хрящового матриксу [19].

В експерименті на поросятах виявлено, що у тварин, які одержували преднізолон, загальна ширина ЕХ у зрізах зменшувалась до 81 % від параметра контролю, насамперед у зв'язку зі зниженням ширини проліферативної зони. Збільшувалась також частка ХЦ, що перебували у стані апоптозу (40,5 % замість 5,8 %), а апоптотичні клітини з'являлися вище в зоні гіпертрофованих клітин. У преднізолон-лікованих тварин у цій зоні ЕХ не визначено VEGF. Відповідно, в зоні окостеніння метафіза визначали зменшення кількості капілярів, втрату їх довжини та паралельності, була знижена також довжина первинних кісткових перекладок метафіза [1]. Подібні гістологічні зміни (потоншення ЕХ, збільшення числа великих ділянок матриксу) спостерігали і в нашому матеріалі.

Вплив вітаміну D на СХ та ЕХ при деяких захворюваннях органів опорно-рухового апарату, зокрема в умовах превентивної дії при ГІОХП. У дослідженнях, де вивчали вплив додавання вітаміну D до комплексу терапії ОА, одержані неоднозначні результати. Якщо в одних роботах вірогідну різницю за показниками стану СХ не визначили [8] або вплив на динаміку симптомів був вибіркоким, переважно знімаючи біль і порушення функції суглобів, проте власне на патологічні зміни СХ рівень вітаміну D крові не впливав [9,11], то в інших дослідженнях встановили зв'язок прогресування ознак ОА колінного суглоба та низького рівня вітаміну D крові [7,10].

У роботі, що присвячена вивченню участі вітаміну D у процесах регуляції клітинної проліферації ЕХ, показано: є специфічні мембрано-асоційовані шляхи передачі сигналів, які медіюють обидві – швидкі не-геномну і геномну відповіді ХЦ зони збереженого хряща ЕХ – на дію вітаміну D. Останній із високою специфічністю з'єднується з мембраною ХЦ, що має результатом зростання активності протеїн-кінази C та продукцію нових матриксних пухирців (везикул) [20].

В одній із попередніх робіт у групі тварин, яким поряд з уведенням преднізолону застосовували вітамін D, структурно-функціональна організація СХ голівки стегнової кістки наближалася до такої в інтактних тварин, та основною ознакою стану СХ тварин цієї серії (ГК + вітамін D) була активізація проліферації хондроцитів у поверхневій зоні. Результати дослідження виявили ознаки відновлення ендохондріального окостеніння у метафізі, яке відбувалося менш інтенсивно порівняно з серією інтактних тварин, про що може свідчити довжина первинних перекладок метафіза [4]. Одержані в цьому дослідженні дані морфометричних показників СХ та ЕХ встановили зміни, що характеризують кількісні особливості впливу ГК в умовах окремо взятого та поєднаного превентивного застосування вітамінів D та E.

Пояснення особливостей патологічних змін у СХ та ЕХ в умовах здійсненого експерименту можливе лише враховуючи особливості клітинної динаміки та патологічні зміни ХЦ (проліферації, дозрівання, дистрофії та некрозу ХЦ), а також топографію структур, що відповідають за ендохондріальний остеогенез [1,3,19]. У СХ ХЦ, що піддаються розмноженню, локалізуються в поверхневій зоні хряща, тому можна передбачити, що вплив преднізолону на незрілі клітини залежить від ГК, що перейшов із крові в синовіальне середовище. В ЕХ

зона збереженого хряща прилягає до губчастої кістки епіфіза, і проліферація ХЦ, хоча й опосередковано, залежить від впливів із боку кровопостачання епіфіза. Імовірно, характеристики впливів ГК і ГК у поєднанні з вітамінами D та E на процес проліферації ХЦ СХ і ЕХ можуть бути різними. Суттєво розрізняються параметри показників ендохондріального остеогенезу в губчастій кістковій тканині, що прилягає до СХ, і з боку метафіза – до ЕХ, в останньому випадку є унікальною за інтенсивністю. Кровопостачання в цій ділянці кістки є також інтенсивним. Імовірно, що при ГЛОХП об'єктом максимального впливу на глюкокортикоїдні рецептори ядер клітин стають саме молоді остеобласти, що інтенсивно проліферують [18].

Отже, якщо в СХ товщина зменшується через вплив на ХЦ поверхневої зони, а гальмування остеогенезу при цьому має менше значення, і товщина СХ під впливом превентивної дії вітамінів виявляє тенденцію до наближення до середніх значень інтактних тварин, то на товщину ЕХ вплив преднізолону позначається як внаслідок дії на ХЦ зони збереженого хряща, так і внаслідок дії на остеобласти первинних перекладок метафіза, тобто товщина ЕХ в цих умовах є результатом двох процесів.

Вплив застосування вітаміну D окремо та поєднання вітамінів D та E на хрящові структури стегнової кістки виявився неоднозначним. Якщо в умовах моделювання ГЛОХП такі остеометричні показники, як маса великогомілкової кістки та довжина стегнової кістки виявляли тенденцію до нормалізації, то товщина стегнової кістки реагувала слабше. У попередньому дослідженні встановлено, що площа перетину компактної кістки діафіза, знижена внаслідок ГЛОХП, в умовах дії вітаміну D та D + E має виражену тенденцію до нормалізації [18].

Висновки

1. Пероральне введення ГК (преднізолону) у тварин в період росту в дозі 0,5 мг/100 г маси чинить характерний вплив на структури довгої кістки, зокрема анатомічні утворення проксимального кінця стегнової кістки – суглобовий і епіфізарний хрящі, а також клітини губчастої кістки метафіза. Сукупність патологічних змін цих тканин доцільно позначати як глюкокортикоїд-індуковану остеохондропатію (ГЛОХП).

2. Моделювання ГЛОХП в експерименті на щурах призводить до зрушень параметрів морфометричних показників, що характеризують структурно-функціональний стан суглобового та епіфізарного хрящів проксимального епіметафіза стегнової кістки.

3. У тварин з ГЛОХП виражених змін зазнають остеометричні показники: маса великогомілкової кістки, довжина та товщина стегнової кістки, середні параметри яких зменшуються.

4. З-поміж гістоморфометричних показників у тварин з ГЛОХП найбільш вираженим є зменшення товщини СХ і збільшення питомої кількості ХЦ на одиницю площі СХ та ЕХ, збільшення кількості великих ділянок матриксу в тканині ЕХ. Відбувається також незначне зменшення товщини ЕХ.

5. Превентивне застосування вітамінів D та E сприяє відновленню або тенденції до нормалізації значень

більшості остеометричних і гістоморфометричних показників хрящових утворень проксимального кінця стегнової кістки, зокрема найбільш виражений превентивний ефект застосування вітамінів D та E в умовах моделювання ГЛОХП має на такі показники, як маса великогомілкової кістки, питома кількість ХЦ СХ і ЕХ на одиницю площі зрізу хряща, кількість великих ділянок матриксу у СХ та ЕХ.

Перспективи подальших досліджень полягають у наступному вивченні превентивної дії вітамінів D та E, що вводяться в організм в різних дозах, у процесі моделювання ГЛОХП та впливу цих превентивних доз на динаміку гістоструктур СХ та ЕХ довгої кістки.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

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.

Калашников А. В., д-р мед. наук, професор, керівник відділу травматичних ушкоджень та проблем остеосинтезу ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ.

Кузів Є. Л., лікар ортопед-травматолог, Військово-медичний клінічний центр Центрального регіону, м. Вінниця, Україна.

Апуховська Л. І., канд. біол. наук, старший науковий співробітник, Інститут біохімії імені О. В. Палладіна НАН 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.

Калашников А. В., д-р мед. наук, профессор, руководитель отдела травматических повреждений и проблем остеосинтеза, ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев.

Кузев Е. Л., врач ортопед-травматолог, Военный-медицинский клинический центр Центрального региона, г. Винница, Украина.

Апуховская Л. И., канд. биол. наук, старший научный сотрудник, Институт биохимии имени А. В. Палладина НАН 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, SI "Research Institute of Traumatology and Orthopaedics of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Kalashnikov A. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Traumatic Injuries and Problems of Osteosynthesis, SI "Research Institute of Traumatology and Orthopaedics of NAMS of Ukraine", Kyiv.

Kuziv Ye. L., MD, Orthopedist-Traumatologist, Military Medical Center of Central Region, Vinnytsia, Ukraine.

Apukhovska L. I., PhD in Biology, Senior Researcher, Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv.

Надійшла до редакції / Received: 03.07.2018

Після доопрацювання / Revised: 10.08.2018

Прийнято до друку / Accepted: 17.08.2018

Список літератури

- [1] Short-term glucocorticoid treatment of piglets causes changes in growth plate morphology and angiogenesis / J.J. Smink, I.M. Buchholz, N. Hamers, et al. // Osteoarthritis and Cartilage. – 2003. – Vol. 11. – Issue 12. – P. 864–871.

- [2] Батура І.О. Вплив екзогенного гідрокортизону на ріст, будову та егенерацию стегнової кістки щурів різного віку : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня к.біол.н.: 03.00.11 / І.О. Батура. – К., 2008. – 20 с.
- [3] Molecular Actions of Glucocorticoids in Cartilage and Bone During Health, Disease, and Steroid Therapy / K. Hartmann, M. Koenen, S. Schauer, et al. // *Physiol Rev.* – 2016. – Vol. 96. – Issue 2. – P. 409–447.
- [4] Калашніков А.В. Морфологічна та морфометрична характеристика змін структурно-функціонального стану кісткової та хрящової тканини при поєднаному введенні вітаміну D3 з преднізолоном / А.В. Калашніков, А.Т. Бруско, Є.Л. Кузів // *Вісник морфології.* – 2017. – Т. 23. – №2. – С. 207–211.
- [5] An intra-articular, extended-release formulation of triamcinolone acetone prolongs and amplifies analgesic effect in patients with osteoarthritis of the knee: a randomized clinical trial / N. Bodick, J. Lufkin, C. Willwerth, et al. // *J. Bone and Joint Surg.* – 2015. – Vol. 97. – Issue 11. – P. 877–88.
- [6] Effect of Intra-articular Triamcinolone vs Saline on Knee Cartilage Volume and Pain in Patients With Knee Osteoarthritis. A Randomized Clinical Trial / T.E. McAlindon, M. LaValley, W.F. Harvey, et al. // *JAMA.* – 2017. – Vol. 317. – Issue 19. – P. 1967–1975.
- [7] Association between serum levels of 25-hydroxyvitamin D and osteoarthritis: a systematic review / Y. Cao, T. Winzenberg, K. Ngao, et al. // *Rheumatology.* – 2013. – Vol. 52. – №7. – P. 1323–34.
- [8] Effect of Vitamin D Supplementation on Tibial Cartilage Volume and Knee Pain Among Patients With Symptomatic Knee Osteoarthritis: A Randomized Clinical Trial / X. Jin, G. Jones, F. Cicuttini, et al. // *JAMA.* – 2016. – Vol. 315. – Issue 10. – P. 1005–13.
- [9] Gao X.R. The effect of vitamin D supplementation on knee osteoarthritis: A meta-analysis of randomized controlled trials / X.R. Gao, Y.S. Chen, W. Deng // *Int. J. Surg.* – 2017. – Issue 46. – P. 14–20.
- [10] Garfinkel R.J. Vitamin D and Its Effects on Articular Cartilage and Osteoarthritis / R.J. Garfinkel, M.F. Dilisio, D.K. Agrawal // *Orthop. J. Sports Med.* – 2017. – Vol. 5. – Issue 6. – 2325967117711376.
- [11] Diao N. Effect of vitamin D supplementation on knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials / N. Diao, B. Yang, F. Yu // *Clin. Biochem.* – 2017. – Vol. 50. – Issue 18. – P. 1312–1316.
- [12] Роль вітаміну Е в регуляції гідроксилування хлоркальціоферолу за D–гіповітамінозу та D–гіпервітамінозу / Л.І. Апуховська, М.М. Великий, О.Ю. Лотоцька, А.В. Хоменко // *Український біохімічний журнал.* – 2009. – Т. 81. – №5. – С. 50–57.
- [13] Морозкіна Т.С. Вітаміни / Т.С. Морозкіна, А.Г. Мойсєєнок. – Мінск: Асар, 2002. – С. 66–72.
- [14] Иванов Ю.И. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам / Ю.И. Иванов, О.Н. Погорелюк. – М.: Медицина, 1990. – 219 с.
- [15] Wernecke Ch. The Effect of Intra-articular Corticosteroids on Articular Cartilage. A Systematic Review / Ch. Wernecke, H.J. Braun, J.L. Dragoo // *The Orthopaedic Journal of Sports Medicine.* – 2015. – Vol. 5. – Issue 1–7. – 2325967115581163.
- [16] Lu Yihong C.S. Effects of short-term glucocorticoid treatment on changes in cartilage matrix degradation and chondrocyte gene expression induced by mechanical injury and inflammatory cytokines / C.S. Lu Yihong, Ch.H. Evans, A.J. Grodzinsky // *Arthritis Research and Therapy.* – 2011. – Vol. 13. – Issue 5. – R142.
- [17] Zhu Wenying. Glucocorticoid-induced chondrocyte cytotoxicity at doses recommended for intra-articular therapy in horses / Wenying Zhu // *Theses and Dissertations–Veterinary Science.* Lexington, Kentucky. – 2015. – Vol. 23. Retrieved from http://uknowledge.uky.edu/gluck_etds/23.
- [18] Григоровський В.В. Показники структурно-функціонального стану губчастості та компактної кістки та їх кореляція за експериментального глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу в умовах застосування вітамінів D та E / В.В. Григоровський, А.В. Калашніков, Є.Л. Кузів // *Вісник ортопедії, травматології, протезування.* – 2018. – №1. – С. 15–26.
- [19] Lui J.C. Effects of Glucocorticoids on the Growth Plate / J.C. Lui, J. Baron // *Endocr Dev.* – 2011. – Vol. 20. – P. 187–193.
- [20] 24,25-(OH)₂D₃ regulates cartilage and bone via autocrine and endocrine mechanisms / B.D. Boyan, V.L. Sylvia, D.D. Dean, Z. Schwartz // *Steroids.* – 2001. – Vol. 66. – Issue 3–5. – P. 363–374.
- [3] Hartmann, K., Koenen, M., Schauer, S., Wittig-Blaich, S., Ahmad, M., Baschant, U., & Tuckermann, J. P. (2016). Molecular Actions of Glucocorticoids in Cartilage and Bone During Health, Disease, and Steroid Therapy. *Physiol. Rev.*, 96(2), 409–447. doi: 10.1152/physrev.00011.2015.
- [4] Kalashnikov, A. V., Brusco, A. T., & Kuziv, E. L. (2017). Morfolohichna ta morfometrychna kharakterystyka zmin strukturno-funktsionalnogo stanu kistkovoї ta khriashchovoi tkanyiny pry poiednanomu vvedenni vitaminu D3 z prednizolonom [Morphological and morphometric characteristics of the structural and functional state of bone and cartilage tissues changes at the common introduction of dynamic vitamin d3 with prednisolone]. *Visnyk morfologii*, 23(2), 207–211. [in Ukrainian].
- [5] Bodick, N., Lufkin, J., Willwerth, C., Kumar, A., Bolognese, J., Schoonmaker, C., Ballal, R., et al. (2015). An intra-articular, extended-release formulation of triamcinolone acetone prolongs and amplifies analgesic effect in patients with osteoarthritis of the knee: a randomized clinical trial. *J. Bone and Joint Surg.*, 97(11), 877–888. doi: 10.2106/JBJS.N.00918.
- [6] McAlindon, T. E., LaValley, M., Harvey, W. F., Lori, L. P., Driban, J. B., Zhang, M., & Ward, R. J. (2017). Effect of Intra-articular Triamcinolone vs Saline on Knee Cartilage Volume and Pain in Patients With Knee Osteoarthritis. A Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 317(19), 1967–1975. doi: 10.1001/jama.2017.5283.
- [7] Cao, Y., Winzenberg, T., Ngao, K., Lin, J., Jones, G., & Ding, C. (2013). Association between serum levels of 25-hydroxyvitamin D and osteoarthritis: a systematic review. *Rheumatology*, 52(7), 1323–1334. doi: 10.1093/rheumatology/ket132.
- [8] Jin, X., Jones, G., Cicuttini, F., Wluka, A., Zhu, Z., Han, W., et al. (2016). Effect of Vitamin D Supplementation on Tibial Cartilage Volume and Knee Pain Among Patients With Symptomatic Knee Osteoarthritis: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 315(10), 1005–1013. doi: 10.1001/jama.2016.1961.
- [9] Gao, X. R., Chen, Y. S., & Deng, W. (2017). The effect of vitamin D supplementation on knee osteoarthritis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Int. J. Surg.*, 46, 14–20. doi: 10.1016/j.ijsu.2017.08.010.
- [10] Garfinkel, R. J., Dilisio, M. F., & Agrawal, D. K. (2017). Vitamin D and Its Effects on Articular Cartilage and Osteoarthritis. *Orthop. J. Sports Med*, 5(6), 2325967117711376. doi: 10.1177/2325967117711376.
- [11] Diao, N., Yang, B., & Yu, F. (2017). Effect of vitamin D supplementation on knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Clin. Biochem.*, 50(18), 1312–1316. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2017.09.001.
- [12] Apukhovska, L. I., Veliky, M. M., Lototska, O. Ju., & Chomenko, A. V. (2009). Rol vitaminu E v rehulatsii hidroksyluvannya khloralkaltsioferolu za D–hipovitaminozu ta D–hipervitaminozu [Role of vitamin E in regulation of cholecalciferol hydroxylation process under d-hypovitaminosis and dhypervitaminosis conditions]. *Ukr. Biochem. J.*, 81(5), 50–57. [in Ukrainian].
- [13] Morozkina, T. S., & Mojseyonok, A. G. (2002). *Vitaminy [Vitamins]*. Minsk: Asar. [in Russian].
- [14] Ivanov, Yu. I., & Pogorelyuk, O. N. (1990). *Statisticheskaya obrabotka pezul'tatov mediko-biologicheskikh issledovaniy na mikrokal'kulyatorakh po programam [Statistical processing of results of medical-biological investigations with programmed calculators]*. Moscow: Medicina. [in Russian].
- [15] Wernecke, Ch., Braun, H. J., & Dragoo, J. L. (2015). The Effect of Intra-articular Corticosteroids on Articular Cartilage. A Systematic Review. *Orthop. J. Sports Med.*, 3(5), 1–7, 2325967115581163. doi: 10.1177/2325967115581163.
- [16] Lu Yihong, C. S., Evans, Ch. H., & Grodzinsky, A. J. (2011). Effects of short-term glucocorticoid treatment on changes in cartilage matrix degradation and chondrocyte gene expression induced by mechanical injury and inflammatory cytokines. *Arthritis Research and Therapy*, 13(5), R142. doi: 10.1186/ar3456.
- [17] Wenying, Zhu (2015). *Glucocorticoid-induced chondrocyte cytotoxicity at doses recommended for intra-articular therapy in horses*. Theses and Dissertations–Veterinary Science. Lexington, Kentucky. Retrieved from http://uknowledge.uky.edu/gluck_etds/23.
- [18] Hryhorovskiy, V. V., Kalashnikov, A. V., & Kuziv, Ye. L. (2018). Pokaznyky strukturno-funktsionalnogo stanu hubchastoi ta kompaktnoi kistky ta yikh korelyatsiya za eksperymentalnogo hliukokortykoid-indukovanoho osteoporozu v umovakh zastosuвання vitaminiv D ta E [The indicators of structural-functional condition of cancellous and compact bone and their correlation by the experimental glucocorticoid-induced osteoporosis in vitamin D and E application]. *Visnyk ortopedii, travmatologii, protezuвання*, 1, 15–26. [in Ukrainian].
- [19] Lui, J. C., & Baron, J. (2011). Effects of Glucocorticoids on the Growth Plate. *Endocr. Dev.*, 20, 187–193. doi: 10.1159/000321244.
- [20] Boyan, B. D., Sylvia, V. L., Dean, D. D., & Schwartz Z. (2001) 24,25-(OH)₂D₃ regulates cartilage and bone via autocrine and endocrine mechanisms. *Steroids*. 66(3–5), 363–374. doi: 10.1016/S0039-128X(00)00162-8.

References

- [1] Smink, J. J., Buchholz, I. M., Hamers, N., van Tilburg, C. M., Christis, C., Sackers, R. J. B., et al. (2003). Short-term glucocorticoid treatment of piglets causes changes in growth plate morphology and angiogenesis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 11(12), 864–871. doi: 10.1016/S1063-4584(03)00187-0.
- [2] Батура, І. О. (2008) *Vplyv ekzogennoho hidrokortyzonu na rist, budovy ta reheneratsiiu stehnovoi kistky shchuriv riznoho viku* (Autoref. dis...kand. biol. nauk). [The Influence of exogenic hydrocortisone on the femoral bone growth, structure and regeneration of the various age rats. (Extended abstract of candidate's thesis). Kyiv. [in Ukrainian].

The indicators of the bone tissue mineralization abnormalities in women with coronary artery disease in the post-menopausal period

N. S. Mykhailovska, I. O. Stetsiuk

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Key words:

coronary artery disease, postmenopausal period, osteoporosis, osteopenia, metabolic diseases, correlation of data.

Pathologia

2018; 15 (2), 136–141

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.2.141408

E-mail:

iryna.zsmu@gmail.com

Objective. To determine the indicators of the bone mineral density (BMD) abnormalities in women with coronary artery disease (CAD) in the post-menopausal period.

Methods. An open cross-sectional study in parallel groups involved 80 women with coronary artery disease (CAD): stable exertional angina of II–III functional class (mean age 64.59 ± 1.02 years). Depending on the degree of BMD they were divided into 3 groups: group 1 – 19 CAD women with normal BMD; group 2 – 27 CAD women with osteopenia; group 3 – 34 CAD women with osteoporosis. The control selected group consisted of 11 healthy women of the corresponding age. With the help of ultrasound densitometry, FRAX algorithm and bone biomarkers levels assessment we investigated structural and functional state of the bone tissue.

Results. It was acknowledged that in women with CAD in the postmenopausal period, depending on the severity of BMD loss, there is a significant decrease in the T- and Z-criteria and an increase in the 10-year risk of developing osteoporosis fractures. The development of postmenopausal osteoporosis (PMOS) combined with CAD was accompanied with an increase in the level of inflammation, neoangiogenesis and bone remodeling biomarkers (osteoprotegerin, osteocalcin, VEGF-A), which also have multi-directional correlative interrelationships with the structural and functional indicators of the BMD state (T, Z-criterion, 10-year risk of osteoporosis fractures). ROC-analysis results show the cut-off values at the osteopenia and osteoporosis stage for osteoprotegerin level equal to 223.76 pg/ml and 224.44 pg/ml; for osteocalcin level – 15.89 ng/ml and 16.71 ng/ml, for VEGF-A level – 112.52 pg/ml and 123.31 pg/ml correspondingly.

Conclusions. The levels of osteoprotegerin and/or osteocalcin and/or VEGF-A can be used as a screening method for early diagnosis of BMD loss and stratification of patients in the category of increased risk of osteopenia and osteoporosis.

Ключові слова:

ішемічна хвороба серця, постменопаузальний період, остеопороз, остеопенічний синдром, метаболічні хвороби кісток, взаємозв'язок.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 136–141

Індикатори порушення стану мінералізації кісткової тканини в жінок у постменопаузальному періоді, які хворі на ішемічну хворобу серця

Н. С. Михайловська, І. О. Стецюк

Мета роботи – визначити індикатори порушення мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) у жінок у постменопаузальному періоді, які хворі на ішемічну хворобу серця (ІХС).

Матеріали та методи. У відкрите поперечне дослідження в паралельних групах залучили 80 жінок із діагнозом ІХС: стенокардія напруження II–III ФК (середній вік – $64,59 \pm 1,02$ року). Залежно від стану МЩКТ хворих поділили на 3 групи: 1 – 19 жінок із нормальними показниками МЩКТ; 2 – 27 жінок з остеопенією; 3 – 34 жінки з остеопорозом. Контрольна група – 11 здорових жінок відповідного віку. За допомогою ультразвукової остеоденситометрії, алгоритму FRAX та оцінювання рівня кісткових біомаркерів вивчили структурно-функціональний стан кісткової тканини.

Результати. У жінок, хворих на ІХС, у постменопаузальному періоді залежно від ступеня вираженості порушень МЩКТ спостерігали вірогідне зниження T- та Z-критеріїв і збільшення 10-річного ризику розвитку остеопорозних переломів. Розвиток постменопаузального остеопорозу (ПМОП) на тлі ІХС супроводжувався підвищенням рівня біомаркерів запалення, неоангіогенезу та кісткового ремоделювання (остеопротегерину, остекальцину, ВЕФР-А), участь яких у процесах кісткового ремоделювання підтверджувалась наявністю кореляційних взаємозв'язків із показниками, що відбивають структурно-функціональний стан кісток (T-, Z-критерії, 10-річний ризик розвитку остеопорозних переломів). За допомогою ROC-аналізу визначено критичні точки рівня біомаркерів кісткового ремоделювання щодо розвитку остеопенії та остеопорозу, які для рівня остеопротегерину становили 223,76 пг/мл та 224,44 пг/мл, для рівня остекальцину – 15,89 нг/мл та 16,71 нг/мл, для рівня ВЕФР-А – 112,52 пг/мл та 123,31 пг/мл відповідно.

Висновки. Визначені за допомогою ROC-аналізу рівні остеопротегерину та/або остекальцину та/або ВЕФР-А можуть бути використані для ранньої діагностики порушень структури кісткової тканини та стратифікації хворих у категорію підвищеного ризику розвитку остеопенії та остеопорозу.

Ключевые слова:

ишемическая болезнь сердца, постменопаузальный период, остеопороз, остеопенический синдром, метаболические болезни костей, взаимосвязь.

Индикаторы нарушения состояния минерализации костной ткани у женщин в постменопаузальном периоде, страдающих ишемической болезнью сердца

Н. С. Михайловская, И. О. Стецюк

Цель работы – определить индикаторы нарушения минеральной плотности костной ткани (МПКТ) у женщин в постменопаузальном периоде, страдающих ишемической болезнью сердца

Материалы и методы. В открытое поперечное исследование в параллельных группах включили 80 женщин с диагнозом ИБС: стенокардия напряжения II–III ФК (средний возраст – $64,59 \pm 1,02$ года). В зависимости от состояния

минеральной плотности костной ткани (МПКТ) все больные разделены на 3 группы: 1 – 19 женщин нормальными показателями МПКТ; 2 – 27 женщин с остеопенией; 3 – 34 женщины с остеопорозом. Контрольную группу составили 11 здоровых женщин соответствующего возраста. С помощью метода ультразвуковой остеоденситометрии, алгоритма FRAX и оценки уровня костных биомаркеров исследовано структурно-функциональное состояние костной ткани.

Результаты. У женщин, страдающих ИБС, в постменопаузальном периоде в зависимости от степени выраженности нарушений МПКТ отмечено достоверное снижение Т- и Z-критериев и увеличение 10-летнего риска развития остеопорозных переломов. Развитие постменопаузального остеопороза (ПМОП) на фоне ИБС сопровождалось повышением уровня биомаркеров воспаления, неоангиогенеза и костного ремоделирования (остеопротегерина, остеокальцина, ВЕФР-А), участие которых в процессах костного ремоделирования подтверждается наличием корреляционных взаимосвязей с показателями, отражающими структурно-функциональное состояние костной ткани (Т-, Z-критерии, 10-летний риск развития остеопорозных переломов). При помощи ROC-анализа определены критические точки уровней биомаркеров костного ремоделирования для развития остеопении и остеопороза, которые для уровня остеопротегерина составили 223,76 пг/мл и 224,44 пг/мл, для уровня остеокальцина – 15,89 нг/мл и 16,71 нг/мл, для уровня ВЕФР-А – 112,52 пг/мл и 123,31 пг/мл соответственно.

Выводы. Определенные при помощи ROC-анализа уровни остеопротегерина и/или остеокальцина и/или ВЕФР-А могут быть использованы в качестве скринингового метода ранней диагностики нарушений структуры костной ткани и стратификации больных в категорию повышенного риска развития остеопении и остеопороза.

Introduction

Coronary artery disease takes the leading place among the diseases of the circulatory system [1,2]: in Europe, its share is about 38% in the structure of prevalence and 19.5% in the structure of total mortality [3,4]. In Ukraine the CAD prevalence in the adults is 12.2 %, and in individuals over the age of 55 this figure increases up to 12.9 % [5]. Despite the achievements of modern medicine, the CAD mortality in Ukraine remains rather high – 651.8 per 100 thousand population, which makes 68.9% of all the diseases of circulatory system [6,7].

In recent years simultaneously with coronary artery disease the problem of osteoporosis has got a special medical and social significance, which is due to the increasing prevalence of this disease due to the aging of the population, the lack of timely detection, prevention and significant impact on the quality of patients' life [8]. The importance of this pathology is also due to its dire consequences – non-traumatic spine and tubular bone fractures, influencing the increase in the disability and mortality of aged patients [8–10].

The development of osteoporosis is based on the processes of pathological bone remodeling, associated with enhanced resorption of mature bone tissue and decreased activity of new bone structures synthesis [11]. It's well known, that remodeling of bone tissue is a dynamic process possessing certain age characteristics. In particular, in women in the first 5–10 years after the menopause onset, the loss of bone mass dramatically increases, and hereinafter (up to 65–70 years) the bone mass decreases on average per 0.3–0.5 % annually [12]. That is why postmenopausal osteoporosis (PMOS), in which the bone mineral density changes are associated with the onset of menopause is one of the most common forms of this pathology [12].

Menopause is not only a proven risk factor for the reduction of bone mineral density (BMD), but also for the progression of cardiovascular diseases. At present, the relationship between osteoporosis (OS) and coronary artery disease in women in the postmenopausal period has been proven [12]. The results of scientific studies convincingly indicate that in osteoporosis, as in atherosclerosis, the similar processes occur, and bone and

vascular tissues have a number of common morphological and molecular properties [13]. It has been established that some key proteins of bone metabolism are involved in the pathogenesis of atherosclerosis: osteocalcin, bone morphogenic protein, matrix Gla-protein, osteonectin, sialoprotein, osteopontin and others may be detected in the components of vascular matrix, and in the atherosclerosis progression, the concentration of some of them may significantly increase [13,14]. In particular, osteoprotegerin violates the process of osteoclastogenesis and reduces the activity of bone resorption [11], it also acts as an inhibitor of ectopic calcification in patients with coronary artery disease [11,14,15]; osteocalcin is an osteoblast activator, however its elevated level is also detected in atherosclerotic plaques [14,16]; vasculoendothelial growth factor A (VEGF-A) is a marker of neoangiogenesis [17], although numerous studies confirm its role in activating osteoclastogenesis and subsequent resorption of bone tissue [18,19]. The clinical and pathogenetic role of the identified biomarkers is multidirectional and may vary significantly depending on their concentration in the human body, therefore their participation in the processes of bone remodeling at PMOS requires further study.

Objective

To determine the indicators of the bone mineral density abnormalities in women with coronary artery disease in the post-menopausal period.

Materials and methods

The open cross-sectional study in parallel groups involved 80 women with CAD: stable exertional angina of II–III functional class (FC) (mean age 64.59 ± 1.02 years, mean duration of the postmenopausal period 16.70 ± 3.35 years).

The diagnosis of CAD and the functional class of stable exertional angina was based on a comprehensive analysis of complaints, data from physical examination, results of laboratory and instrumental studies, in accordance with the National Standards (Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 436 dated 03.07.2006, Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 152 dated 02.03.2016).

Table 1. BMD state in women with coronary artery disease in the postmenopausal period, ($M \pm m$)

Indicator, units of measurement	CAD (n = 19)	CAD + osteopenia (n = 27)	CAD + osteoporosis (n = 34)
T-criterion phalanx, SD	-0.19 ± 0.17	-1.32 ± 0.18***	-2.20 ± 0.19***
T- criterion radius, SD	-0.38 ± 0.29	-1.69 ± 0.16***	-3.10 ± 0.22***
T- criterion tibia, SD	0.15 ± 0.18	-0.67 ± 0.22**	-1.50 ± 0.32***
Z- criterion phalanx, SD	1.46 ± 0.24	0.35 ± 0.20***	-0.18 ± 0.20***
Z- criterion radius, SD	1.25 ± 0.39	-0.09 ± 0.17**	-1.22 ± 0.26***
Z- criterion tibia, SD	1.85 ± 0.34	0.86 ± 0.23**	-0.10 ± 0.33***
Fracture risk (phalanx), %	4.25 ± 0.59	9.06 ± 1.00***	21.12 ± 1.89***
Fracture risk (radius), %	7.36 ± 0.9	12.47 ± 0.89**	26.79 ± 2.36**
Fracture risk (tibia), %	10.8 ± 0.69	12.00 ± 0.79	17.35 ± 1.62**

*, **, ***: the probability of indexes difference if compared to the patients with CAD and normal BMD state ($P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.001$).

Depending on the BMD state, all the patients were divided into 3 groups: group 1 – 19 CAD women with normal BMD (T-criterion is more than 1 SD; mean age 64.24 ± 2.12 years); group 2 – 27 CAD women with osteopenia (T-criterion is from -1 SD to -2.5 SD; mean age 65.22 ± 1.52 years); group 3 – 34 CAD women with osteoporosis (T-criterion is less than -2.5 SD; mean age 69.39 ± 1.62 years). The groups were comparable by age, duration of the underlying disease, duration of the postmenopausal period, body mass index (BMI), and the nature of concomitant pathology. The control selected group involved 11 healthy women of the corresponding age.

The research was conducted on the basis of the Cardiology Department and "Health" diagnostic center of the educational and scientific medical center "The University Clinic of Zaporizhzhia State Medical University" (director – MD, PhD, DSc, Professor V. I. Krivenko).

Criteria for the patient to be included into the study were the following: informed consent of the patient, presence of verified (documented) stable exertional angina of II–III FC; the duration of the postmenopausal period in women for more than 5 years.

Exclusion criteria: endocrine pathology (hypogonadism, diabetes, hyperparathyroidism, thyrotoxicosis, acromegaly, hyperprolactinemia, hypercorticism) and diseases inducing the development of secondary osteoporosis; severe chronic somatic pathology; cancer and systemic diseases; mental disorders; alcohol abuse, drug addiction.

All the patients were followed by a clinical examination – a collection of complaints and anamnesis data, physical examination. To assess the degree of the BMD state changes, the ultrasonic osteodensitometry method on the Omnisense 7000 apparatus with sensors for the phalanx of the finger, the radial and tibia bone was applied. Diagnosis of osteoporosis was performed according to WHO criteria. The degree of BMD state changes was evaluated according to the T-criterion (the magnitude of the standard deviations – SD from the mean values of the "peak bone mass"): the decrease in BMD up to -1 SD was regarded as normal rate, from -1 to -2.5 SD – as osteopenia, more than -2.5 SD – osteoporosis. This method as a screening method in diagnostics of BMD disorders was chosen due to its convenience and simplicity. The FRAX algorithm was used to assess the 10-year risk of osteoporotic fractures development. On the basis of Medical and Laboratory Training Center ZSMU (Director – MD, PhD, DSc Profes-

sor A. Abramov) using ELISA method on enzyme-linked immunosorbent analyzer "SIRIO S" (Italy) the levels of osteocalcin (a set of reagents by Bender MedSystems GmbH, Austria), osteoprotegerin (set of reagents by Immudiagnostic systems limited, England), VEGF-A (eBioscience, An Affymetrix Company, USA) were measured.

In the following study the principles of bioethics were respected: the main provisions of the European Convention on Human Rights and Biomedicine (from 04.04.1997), GCP (1996), Helsinki Declaration of the World Medical Association on the Ethical Principles of Human Medical Scientific Research (1964–2000) and the Ministry of Health of Ukraine Order No. 281 dated back to 01.11.2000. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Statistical data processing was carried out by using the method of variation statistics with the help of software package Statistica 10.0. (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), under the generally accepted practice. The nature of the distribution of the studied variables was assessed using the Shapiro–Wilk test. Quantitative characteristics were represented as $M \pm m$ (arithmetic mean $\pm$ standard error of arithmetic mean) or Me (Q25; Q75) (median, 25 and 75 distribution quartiles) depending on the type of the distribution. Under normal distribution, the validity of the differences was estimated using the Student's t-criterion; in the distribution different from normal, Mann–Whitney non-parametric U-test was used. Assessment of the interrelationship between pairs of independent indexes, expressed in quantitative scale, was performed by calculating Pearson rank correlation coefficients (in normal distribution) and Spearman's rank correlation coefficients (in the distribution different from normal). To assess the diagnostic significance, the ROC-analysis (Receiver Operating Characteristic) with a construction of the characteristic curves of the sensitivity and specificity of the investigated features dependence and the calculation of the area under the working characteristic curve (AUC) was used. To determine the risk of developing BMD disorders, calculations of relative risk was performed in patients with increased level of the bone remodeling biomarkers compared with patients with normal indices by constructing four-fold tables. Differences were considered statistically significant at $P < 0.05$.

Results

The results of the assessment of the BMD state, obtained by ultrasound osteodensitometry in women with coronary artery disease in the postmenopausal period, are presented in Table 1.

It was acknowledged that in women with CAD in the postmenopausal period, depending on the severity of BMD loss, a significant decrease in the T- and Z-criteria and an increase in the 10-year risk of osteoporosis fractures development were observed, thus confirming the presence of osteopenia or osteoporosis in the corresponding group.

The level of biomarkers of bone remodeling in women with CAD in the postmenopausal period is presented in Table 2.

Table 2. Levels of bone remodeling biomarkers in postmenopausal women with coronary artery disease, depending on the degree of BMD loss, Me (Q_{25} ; Q_{75})

Indicator, units of measurement	Control selected group (n = 11)	CAD (n = 19)	CAD + osteopenia (n = 27)	CAD + osteoporosis (n = 34)
Osteocalcin, ng/ml	14.24 (12.54; 17.12)	15.66 (12.75; 18.04)	16.55 (9.95; 25.51) #*	17.02 (14.30; 30.26) #*
Osteoprotegerin, pg/ml	216.85 (170.58; 231.35)	221.69 (213.40; 232.74)	227.9 (196.82; 241.02) #	231.01 (204.42; 247.24) #
VEGF-A, pg/ml	119.74 (102.66; 321.86)	119.84 (77.05; 225.21)	190.19 (96.76; 243.54) #	253.04 (103.32; 379.56) **

#: the probability of indexes difference if compared to the control selected group ($P < 0.05$); *, **, ***: the probability of indexes difference if compared to the patients with CAD and normal BMD state ($P < 0.05$; $P < 0.01$; $P < 0.001$).

In women with CAD, in parallel with the decrease in BMD state, a significant increase in the bone remodeling biomarkers level was observed: an increase in osteocalcin level by 16.22 % and by 5.68 % in the CAD and osteopenia group, by 19.52 % and by 8.68 % in the group of women with coronary artery disease and osteoporosis correspondingly if compared to the control selected group ($P < 0.05$) and the group of women with coronary artery disease and normal BMD state ($P < 0.05$). The level of osteoprotegerin also increased if compared to the control selected group: by 5.10 % in the group of women with coronary artery disease and osteopenia, by 6.53 % in the group of women with coronary artery disease and osteoporosis ($P < 0.05$). This biomarker trended to increase in women with coronary artery disease and osteoporosis compared with women with coronary artery disease and normal BMD state.

An increase in the VEGF-A level was observed: 1.9 times higher in the group of women with coronary artery disease and osteopenia, 1.5 times higher in the group of women with coronary artery disease and osteoporosis if compared to the control selected group and patients with CAD and normal BMD respectively ($P < 0.05$).

Under the conduction of the correlation analysis in the group of women with coronary artery disease and osteoporosis, a direct correlative dependence between the level of osteoprotegerin and the 10-year risk of fracture of the radial bone ($r = +0.46$; $P < 0.01$), between the level of osteocalcin and the risk of fracture of the tibia ($r = +0.40$; $P < 0.05$) was discovered; the inverse correlative dependence between the level of VEGF-A and the T-criterion of the radial bone ($r = -0.57$; $P < 0.05$), between the level of osteoprotegerin and the T-criterion of the radial bone ($r = -0.63$; $P < 0.01$), T-criterion tibia ($r = -0.52$; $P < 0.01$), Z-criterion radius ($r = -0.62$; $P < 0.01$), Z-criterion tibia ($r = -0.51$; $P < 0.01$) was found out.

In the group of women with coronary artery disease and osteopenia, the inverse correlative dependence between the level of osteoprotegerin and the T-criterion of phalanx was discovered ($r = -0.46$; $P < 0.05$); a direct correlative dependence between the level of osteocalcin and the risk of fractures of the radial bone ($r = +0.47$; $P < 0.05$) was discovered.

In order to determine the optimal threshold values of bone remodeling biomarkers as indicators of BMD disorders at different stages, the ROC analysis was conducted and the critical value of osteoprotegerin level equal to 223.76 pg/ml (Se = 70.0 %, Sp = 71.4 %, AUC = 0.787, 95 % CI 0.637–0.896) was found out, which indicates the onset of development of BMD loss at the osteopenia stage. Also the critical value of the osteoprotegerin level for osteoporosis was found out to be equal to 224.44 pg/ml (Se = 67.6 %, Sp = 68.9 %, AUC = 0.762, 95 % CI

0.619–0.872). The ROC-curves of the osteoprotegerin level at the stage of osteopenia and osteoporosis are presented in Fig. 1 (A, B).

For the osteocalcin level, the corresponding critical values were 15.89 ng/ml (Se = 83.3 %, Sp = 81.0 %; AUC = 0.875; 95 % CI 0.742–0.955) and 16.71 ng/ml (Se = 65.6 %, Sp = 77.8 %, AUC = 0.844, 95 % CI 0.713–0.931).

The ROC-curves of the osteocalcin level at the stage of osteopenia and osteoporosis are presented in Fig. 2 (A, B).

The ROC-curves of the VEGF-A level at the stage of osteopenia and osteoporosis are presented in Fig. 3 (A, B).

According to the ROC-analysis results, the critical value of VEGF-A level in osteopenia identification was equal to 112.52 pg/ml (Se = 88.9 %, Sp = 82.4 %; AUC = 0.952; 95 % CI 0.842–0.994), in osteoporosis identification – 123.31 pg/ml (Se = 85.7 %, Sp = 94.3 %, AUC = 0.964, 95 % CI 0.869–0.996). That is, the VEGF-A level is the most sensitive indicator, which represents the possibility of BMD disorders development, beginning with the osteopenic stage, when clinical manifestations of the disease are absent.

Subsequently, the analysis of relative risk was performed and it was found out that the increase in the osteoprotegerin level is associated with the 1.6 times increase of osteopenia development risk (RR = 1.626; 95 % CI 1.014–2.607; $P < 0.05$) and 1.9 times increase of osteoporosis development risk (RR = 1.941; 95 % CI 1.134–3.322; $P < 0.05$). For osteocalcin, the related risk was 1.8 (RR = 1.750; 95 % CI 1.014–3.019; $P < 0.05$) and 1.7 times (RR = 1.729; 95 % CI 1.052–2.841; $P < 0.05$), and for VEGF-A – 2.2 (RR = 2.167; 95 % CI 1.109–4.235; $P < 0.05$) and 1.6 (RR = 1.556; 95 % CI 1.008–2.401; $P < 0.05$) times correspondingly.

Discussion

In our study, an increase in the level of osteocalcin was found, which according to literature data, may indicate a violation of its inclusion in the normal structure of bone tissue, compensatory activation of osteoblasts on the background of decreased BMD and its participation in the process ectopic calcification of the heart and blood vessels [12,16].

The increase of the osteoprotegerin level can be explained by the participation in the process of osteoclastogenesis inhibition and bone tissue resorption, as well as its compensatory enhancement to perform a protective role in the development of vascular calcification, which confirms the opinion of other authors [11,15].

It's generally known that VEGF-A is not only a regulator of neoangiogenesis and a stimulator of blood supply

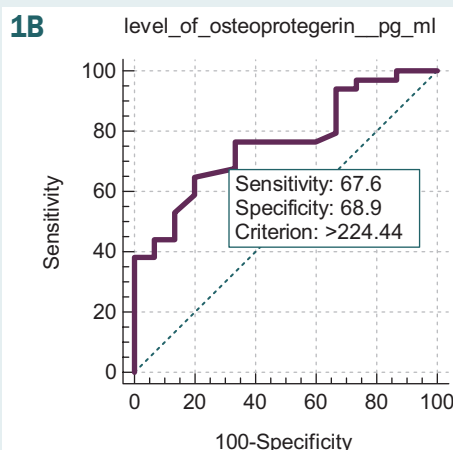
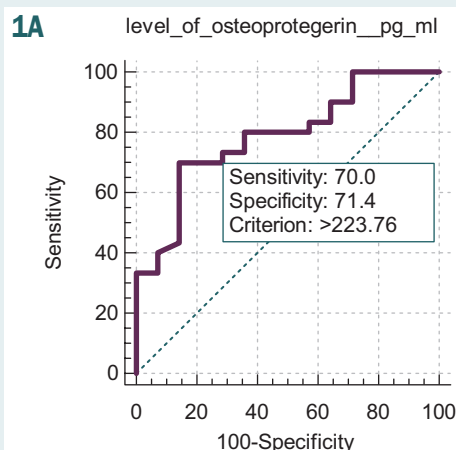


Fig. 1. The ROC-curves of the osteoprotegerin level at the stage of osteopenia (A) and osteoporosis (B), in comparison with a group of patients with CAD and normal BMD state.

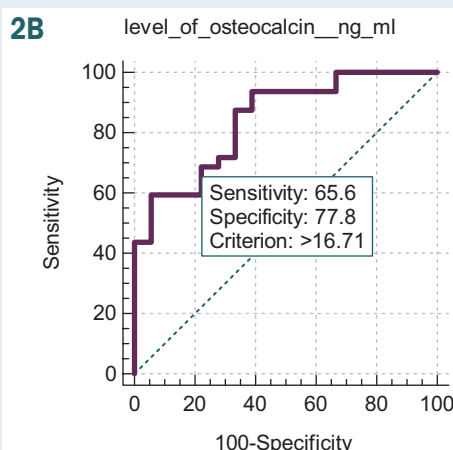
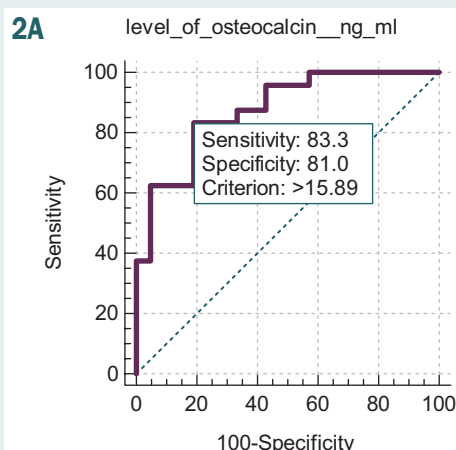


Fig. 2. The ROC-curves of the osteocalcin level at the stage of osteopenia (A) and osteoporosis (B), in comparison with a group of patients with CAD and normal BMD state.

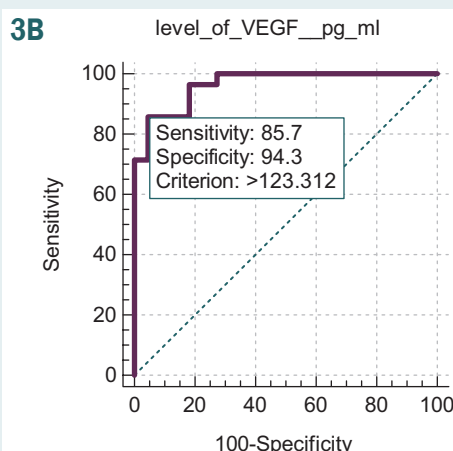
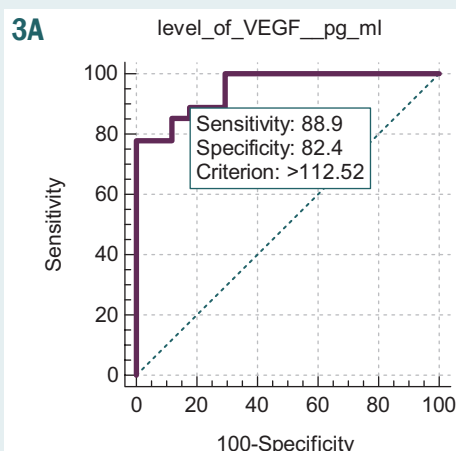


Fig. 3. The ROC-curves of the VEGF-A level at the stage of osteopenia (A) and osteoporosis (B), in comparison with a group of patients with CAD and normal BMD state.

to bone and cartilage tissues [17, 18], but also acts as the osteoclastogenesis stimulator [19].

The VEGF-A level changes revealed in our study may be explained by the fact that in the conditions of the development of chronic tissue hypoxia in CAD there is an over-expression of the VEGF-A level [20], which leads to the malfunction of the normal molecular mechanisms of the ossification development, activation of osteoclastogenesis with the subsequent stimulation of osteoclast-mediated bone resorption [19].

According to scientific data, there is a close relationship between processes of osteogenesis, cardiovascular

diseases development and progression of endothelial dysfunction [11, 13, 14, 18, 20]. This point of view is also confirmed by our correlation analysis results. The results of ROC analysis indicate the expediency of determining the concentration of any of the above-mentioned biomarkers and/or their combination as a screening marker for BMD loss and determining the degree of its severity.

Thus, the obtained data confirm the general pathogenetic bases of development of BMD disorders, the growth of levels of bone remodeling biomarkers and the progression of endothelial dysfunction in postmenopausal women with CAD.

Conclusions

1. The development of PMOS combined with CAD is accompanied with an increase in the level of inflammation, neoangiogenesis and bone remodeling biomarkers (osteoprotegerin, osteocalcin, VEGF-A).

2. The presence of multi-directional correlative interrelationships between the level of osteoprotegerin, osteocalcin, VEGF-A with the structural and functional indicators of the BMD state (T, Z-criterion, 10-year risk of osteoporosis fractures) suggests the participation of these biomarkers in the processes of bone remodeling.

3. The levels of osteoprotegerin and/or osteocalcin and/or VEGF-A determined by the ROC analysis can be used as a screening method for early diagnosis of BMD loss and stratification of patients in the category of increased risk of osteopenia and osteoporosis development.

Prospects for further research: to assess the impact of basic CAD therapy (with the addition of drugs that affect the state of bone mineralization state) on the reduction of the osteoporotic fractures risk.

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

Information about authors:

Mykhailovska N. S., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of General Practice – Family Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Stetsiuk I. O., MD, Clinical Ordinator of 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.
Стецюк І. О., клінічний ординатор 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.
Стецюк И. О., клинический ординатор каф. общей практики – семейной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Надійшла до редакції / Received: 26.06.2018

Після доопрацювання / Revised: 20.07.2018

Прийнято до друку / Accepted: 17.08.2018

References

- [1] Horbas, I. M. (2009). Ishemichna khvoroba sertsia: epidemiologia i statystyka [Coronary heart disease: epidemiology and statistics]. *Zdorovia Ukrainy*, 3(1), 34–35. [in Ukrainian].
- [2] Grasgruber, P., Sebera, M., Hrazdira, E., Hrebickova, S., & Cacek, J. (2016). Food consumption and the actual statistics of cardiovascular diseases: an epidemiological comparison of 42 European countries. *Food & nutrition res.*, 60(1), 31694. doi: 10.3402/fnr.v60.31694.
- [3] Townsend, N., Wilson, L., Bhatnagar, P., Wickramasinghe, K., Rayner, M., & Nichols, M. (2016). Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *Eur. Heart J.*, 37(42), 3232–3245. doi: 10.1093/eurheartj/ehw334.
- [4] Wilkins, E., Wilson, L., Wickramasinghe, K., Bhatnagar, P., Leal, J., Luengo-Fernandez, R., et al. (2017). *European Cardiovascular Disease Statistics 2017*. Brussels: European Heart Network.
- [5] Kovalenko, V. M., & Kornatskyi, V. M. (2016). *Problemy zdorovia i medychnoi dopomohy ta model pokrashennia v suchasnykh umovakh* [The problems of health and medical help and the improvement model in the modern conditions]. Kyiv: Hordon. [in Ukrainian].
- [6] Kovalenko, V. M., & Dorogol, A. P. (2016). Sertsevo-sydnyni khvoroby: medychno-sotsialne znachennia ta stratehiia rozvytky kardiologii v Ukraini [Cardiovascular diseases: medical and social meaning and development strategy for cardiology in Ukraine]. *Ukrainskyi kardiologichnyi zhurnal*, 3(74), 5–14. [in Ukrainian].
- [7] Fuster, K., & Kelly, B. B. (Eds.) (2010). *Institute of medical committee on preventing the global epidemic of cardiovascular disease: meeting the challenges in developing countries*. Washington: National Academies Press.
- [8] Barna, O. M., Yarema, N. I., Bazylevych, A. Ya. (2009). *Patofiziologichni ta klinichni paraleli IKhS ta osteoporoza* [Pathophysiological and clinical coronary heart disease and osteoporosis parallel]. *Liky Ukrainy*, (3,129), 43–46. [in Ukrainian].
- [9] Povoroznyuk, V. V., Garkusha, M. A., Bystritskaya, M. A., & Balatskaya, N. I. (2012). Mineralna shilnist kistkovoї tkanyny proksimalnogo viddilu stehnovoi kistky v patsientok z perelomom Kolisa [Bone mineral density proximal femur fractures in patients with Colles' fracture]. *Problemy osteologii*, 15(4), 53–59. [in Ukrainian].
- [10] Toropova, N. V. (2012). Shto my znaem ob effektivnosti rizendronata pri osteoporoze [What do we know about risedronate effectiveness in osteoporosis]. *Zdorov'e zhenshchiny*, 1(67), 87–89. [in Russian].
- [11] Sagalovsky, S., & Richter, T. (2012). Patofiziologicheskoe edinство kletочно-molekulyarnykh mekhanizmov razvitiya osteoporoza i ateroskleroza sosudov [Pathophysiological entity of cellulomolecular mechanisms of development of osteoporosis and atherosclerosis of vessels]. *Mizhnaronyi medychnyi zhurnal*, 18(4), 71–78. [in Russian].
- [12] Gavisova, A. A., Tverdikova, M. A., & Yakushevskaya, O. V. (2012). Osteoporoz: sovremenniy vzglyad na problemu [Osteoporosis: a modern view on a problem]. *Russkij medicinskij zhurnal*, 20(21), 1110–1116. [in Russian].
- [13] Vertkin, A. L., Naumov, A. V., Goruleva, E. I., Adonina, E. V., Skotnikov, A. S., Shakirova, S. R., et al. (2012). Osteoporoz kak komponent serdечно-sosudistogo kontinuum [Osteoporosis as component of a cardiovascular continuum]. *Lechashchij vrach*. Retrieved from <http://www.lvrach.ru/2012/02/15435341>. [in Russian].
- [14] Mykhailovska, N. S., Stetsiuk, I. O., Zelenina, O. O., & Nikitiuk, O. V. (2016). Doslidzhennia osoblyvostei sertsevo-sudynnoho remodeluvannia ta zminy markeriv metabolizmu kistkovoї tkanyny u zhinok z ishemichnoiu khvoroboi sertsia, asotsiovanou z postmenopauzalnym osteoporoziem [Research of the features of cardiovascular remodeling and bone tissue metabolism markers changes in women with coronary artery disease, associated with postmenopausal osteoporosis]. *ScienceRise: Medical Science*, 8(4), 51–58. [in Ukrainian].
- [15] Karpova, I. S. (2012). Vzaimosvyaz' kal'cinoza arterij i klapannogo apparata serdca i osteoporoza [Interrelation of a kalcinoz of arteries and the valvate device of heart and Osteoporosis]. *Kardiologiya v Belarusi*, 1(20), 98–104. [in Russian].
- [16] Pankratova, Yu. V., Pigarova, E. A., & Dzeranova, L. K. (2013). Vitamin K-zavisimye belki: osteokal'cin, matriksnyj Gla-belok i ikh vnekostrnye efekty [Vitamin K-dependent proteins: osteocalcin, matrix Gla-protein, and their non-bone effects]. *Ozhirenie i metabolism*, 2, 11–18. [in Russian].
- [17] Zhavrid, E' A., Antonenkova, N. N., Prokhorova, V. I., & Lappo, S. V. (2010). Koncentraciya sosudistogo e'ndotelial'nogo faktora rosta v syvorotke krovi bol'nykh metastaticheskimi rakom molochnoj zhelezi i chuvstvitel'nost' opykholi k citostaticheskoy terapii [Level of vascular endothelial growth factor in the serum of patients with metastatic breast cancer and the sensitivity of the tumor to cytostatic therapy]. *Onkologicheskij zhurnal*, 4, 2(14), 23–28. [in Russian].
- [18] Mohyl'nytska, L. A. (2015). Vaskyloendotelialnyi faktor rostu ta endotelializatsiia dylatatsiia u khvorykh z dytnystva na tsukrovyy diabet 1 typu z mikroangiopatiay ta v osib molodoho viku z ozhynniam [Vasculoendothelial growth factor and endothelium-dependent dilation in patients with juvenile diabetes mellitus type 1 with microangiopathies and in young patients with obesity]. *Klinichna endokrynologhiia ta endokrynna khirurgiia*, 3(51), 23–29. [in Ukrainian].
- [19] Grosso, A., Burger, M. G., Lunger, A., Schaefer, D. J., Banfi, A., & Di Maggio, N. (2017). It Takes Two to Tango: Coupling of Angiogenesis and Osteogenesis for Bone Regeneration. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 5, 68. doi: 10.3389/fbioe.2017.00068.
- [20] Koval, S. N., Snegurskaya, I. A., & Mynichenko, O. V. (2012). Semejstvo vaskuloe'ndotelial'nogo faktora rosta i ego vozmozhnaya rol' v patogenese arterial'noj gipertenzii [Vasculoendothelial growth factor family and its possible role in the oathogenesis of arterial hypertension]. *Arterial'naya gipertensiya*, 4(24). Retrieved from <http://www.mif-ua.com/archive/article/33320>. [in Russian].

Аналіз структури невідкладних станів військовослужбовців Збройних Сил України в сучасних умовах

М. І. Бадюк¹, О. О. Микита¹, І. П. Семенів², М. М. Риган³, В. В. Косарчук¹

¹Українська військово-медична академія, м. Київ, ²Клінічна лікарня «Феофанія», м. Київ, Україна, ³Медичний центр ТОВ «Інститут спортивної травматології», м. Київ, Україна

Ключові слова: невідкладні стани, бойова травма, алгоритми, протоколи та стандарти надання медичної допомоги, Збройні Сили України.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 142–147

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.2.141431

E-mail: mikita_o@ukr.net

Мета роботи – дослідити структуру невідкладних станів військовослужбовців із бойовими травмами та захворюваннями в сучасних умовах.

Матеріали та методи. У роботі наведені результати аналізу структури, характеру невідкладних станів сучасної бойової патології та захворювань у військовослужбовців, які перебували на лікуванні в Національному військово-медичному клінічному центрі «Головний військовий клінічний госпіталь» із 1999 р. до 2018 р. (191 731 історія хвороби).

Результати. Виконали аналіз структури невідкладних станів військовослужбовців Збройних Сил України, які надійшли до Національного військово-медичного клінічного центру «ГВКГ» у період з 1999 до 2013 р. порівняно з відповідними показниками за 2014–2017 рр. Дослідили тенденції динаміки показників структури невідкладних станів військовослужбовців із травмами (зокрема бойовими) і захворюваннями за час ведення збройного конфлікту порівняно з попереднім періодом (1999–2013). Виявлено найбільш актуальні невідкладні стани військовослужбовців із бойовою травмою та тяжкими захворюваннями, що є пріоритетними для розробки, впровадження у Збройних Силах України сучасних алгоритмів і протоколів надання медичної допомоги в бойових умовах. Запропоновано перелік алгоритмів і протоколів для надання медичної допомоги військовослужбовцям Збройних Сил України при основних невідкладних станах в умовах сьогодення.

Висновки. Встановили основні нозологічні форми бойових травм і захворювань військовослужбовців, коли формується невідкладні стани: XIX клас – поранення та травми голови, головного мозку (27,3 %), травми органів черевної порожнини (18,2 %), травми грудної клітки й ребер (12,9 %); X клас – пневмонії (75,9 %); IX клас – інсульти (40,1 %), інфаркти міокарда (30,1 %), гіпертензивна хвороба (12,5 %). Основними класами, нозологічні форми яких супроводжуються тяжкими і вкрай тяжкими станами, є XIX – травми, отруєння та деякі інші наслідки дії зовнішніх причин (48,5 %), клас X – хвороби органів дихання (12,1 %), клас IX – хвороби системи кровообігу (7,4 %), клас V – розлади психіки і поведінки (6,1 %). Виявлені невідкладні стани військовослужбовців, що виникають при відповідних нозологічних формах і входять до названих класів хвороб, є пріоритетними для розроблення першочергових алгоритмів і протоколів надання медичної допомоги військовослужбовцям у бойових умовах за стандартами НАТО.

Ключевые слова: неотложные состояния, боевая травма, алгоритм, протоколы и стандарты оказания медицинской помощи, Вооруженные Силы Украины.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 142–147

Анализ структуры неотложных состояний военнослужащих Вооруженных Сил Украины в современных условиях

М. И. Бадюк, О. А. Микита, И. П. Семенов, М. М. Риган, В. В. Косарчук

Цель работы – исследовать структуру неотложных состояний военнослужащих с боевыми травмами и заболеваниями в современных условиях для обоснования разработки перспективных алгоритмов и протоколов медицинской помощи, адаптированных к стандартам НАТО.

Материалы и методы. В работе приведены результаты анализа структуры и характера неотложных состояний современной боевой патологии и заболеваний у военнослужащих, которые находились на лечении в Национальном военно-медицинском клиническом центре «Главный военный клинический госпиталь» с 1999 г. до 2018 г. (191 731 история болезни).

Результаты. Проведен анализ структуры неотложных состояний военнослужащих Вооруженных Сил Украины, которые поступили в Национальный военно-медицинский клинический центр «ГВКГ» в период с 1999 по 2013 г. в сравнении с соответствующими показателями за 2014–2017 гг. Исследована тенденция динамики показателей структуры неотложных состояний военнослужащих с травмами (в том числе боевыми) и заболеваниями за время ведения вооруженного конфликта по сравнению с предыдущим периодом (1999–2013). Установлены наиболее актуальные неотложные состояния военнослужащих с боевой травмой и тяжелыми заболеваниями, которые являются приоритетными для разработки и внедрения в Вооруженных Силах Украины современных алгоритмов и протоколов оказания медицинской помощи в боевых условиях. Предложен перечень алгоритмов и протоколов для оказания медицинской помощи военнослужащим Вооруженных Сил Украины при основных неотложных состояниях в современных условиях.

Выводы. Установлены основные нозологические формы боевых травм и заболеваний военнослужащих, при которых формируются неотложные состояния: XIX класс – ранения и травмы головы и головного мозга (27,3 %), травмы органов брюшной полости (18,2 %), травмы грудной клетки и ребер (12,9 %); X класс – пневмонии (75,9 %); IX класс – инсульты (40,1 %), инфаркты миокарда (30,1 %), гипертензивная болезнь (12,5 %). Основными классами, нозологические формы которых сопровождаются тяжелыми и крайне тяжелыми состояниями, являются XIX – травмы, отравления и некоторые другие последствия воздействия внешних причин (48,5 %), класс X – болезни органов дыхания (12,1 %), класс IX – болезни системы кровообращения (7,4 %), класс V – расстройства психики и поведения (6,1 %). Неотложные состояния военнослужащих, которые возникают при соответствующих нозологических формах и входят в названные классы болезней, являются приоритетными для разработки первоочередных алгоритмов и протоколов оказания медицинской помощи военнослужащим в боевых условиях по стандартам НАТО.

The structure of urgent conditions of servicemen of the Armed Forces of Ukraine in modern conditions

M. I. Badiuk, O. O. Mykyta, I. P. Semeniv, M. M. Rygan, V. V. Kosarchuk

Purpose: to study the structure of urgent conditions of servicemen with combat injuries and diseases in modern conditions in order to substantiate the development of promising algorithms and medical aid protocols adapted to NATO standards.

Materials and methods. The paper presents the results of analysis of the structure and nature of urgent conditions of modern combat pathology and diseases among military personnel who were on treatment at the National Military Medical Clinical Center "Main Military Clinical Hospital" from 1999 to 2018 (191 731 disease histories).

Results. The article analyzes the structure of emergency conditions for servicemen of the Armed Forces of Ukraine, who were admitted to the National Military Medical Clinical Center "MMCH" in the period from 1999 to 2013 compared with the corresponding indicators for 2014–2017 years. The trends in the dynamics of the indicators of the structure of emergency conditions of servicemen with injuries (including combat ones) and diseases during the period of armed conflict compared to the previous period (1999–2013) were studied. The most urgent conditions of servicemen with combat trauma and serious illnesses are identified, which are the priority for the development and implementation of modern algorithms and protocols for the provision of medical assistance in combat conditions in the Armed Forces of Ukraine. A list of algorithms and protocols for the provision of medical assistance to servicemen of the Armed Forces of Ukraine under the main emergency conditions in today's conditions is proposed.

Conclusions. The basic nosological forms of combat injuries and illnesses of military personnel are established in which emergencies are formed: the XIX class – injuries and head and brain injuries (27.3 %), abdominal injuries (18.2 %), chest injuries and ribs (12.9 %); X class – pneumonia (75.9 %); IX class – strokes (40.1 %), myocardial infarction (30.1 %) and hypertensive disease (12.5 %). The main classes, whose nosological forms are accompanied by severe and extremely serious conditions, are the XIX class – traumas, poisonings and some other consequences of external causes (48.5 %), class X – respiratory diseases (12.1 %), class IX – Diseases of the circulatory system (7.4 %) and class V – disorders of the psyche and behavior (6.1 %). Identified urgent conditions of servicemen, arising from appropriate nosological forms and included in the described classes of diseases, are priority for the development of priority algorithms and protocols for the provision of medical assistance to servicemen in combat conditions according to NATO standards.

Key words: emergencies, wounds and injuries, algorithms, clinical protocols, standard of care, military personnel, Ukraine.

Pathologia
2018; 15 (2), 142–147

Зміни законодавства України в галузі обороноздатності держави до євроатлантичних норм і стандартів сьогодні висувають нові вимоги до системи медичного забезпечення Збройних Сил України (ЗС України) [1]. Незважаючи на ведення збройного конфлікту на сході України, в системі медичного забезпечення ЗС України продовжуються якісні та ефективні реформи, що відповідають вимогам стандартів НАТО.

Як свідчить аналіз досвіду медичного забезпечення антитерористичної операції, сучасні види звичайної зброї призводять до вкрай тяжкої бойової патології, що спричинює смертність поранених військовослужбовців у перші хвилини чи години після отримання бойової травми [2]. Умови бойової обстановки, що характеризуються великою складністю, різноманітністю і мінливістю, та особливості патогенезу бойової травми (захворювання), їх тяжкості, зумовлюють складний і різноманітний характер перебігу такої патології – поєднаність, малосимптомність проявів, невідповідність ступеня вираженості функціональних порушень і патоморфологічних змін в органах тощо.

Аналіз нормативно-правових документів ЗС України з медичного забезпечення, що діють нині або розроблені останнім часом, виявив низку особливостей щодо сучасних вимог до створення ефективної системи медичного забезпечення військ. Однією з них є важливість домедичної допомоги, що надають військовослужбовцю в перші хвилини після поранення або травмування безпосередньо на місці події [3]. Іншою, але не менш важливою вимогою є необхідність запровадження клінічних алгоритмів, протоколів і стандартів надання екстреної медичної

допомоги військовослужбовцям. Клінічні алгоритми та протоколи з надання екстреної медичної допомоги застосовують фельдшери (парамедики) або лікарі загальної практики на найперших етапах медичної евакуації для стабілізації стану пораненого впродовж «золотої години» [4].

Окрім відзначеного, розроблення та впровадження в діяльність медичних служб сил оборони сучасних технологій, що відповідають вимогами НАТО, особливо медико-технологічних документів із надання медичної допомоги, визначена пріоритетним завданням в реалізації положень Матриці Стратегічного оборонного бюлетеня України, затвердженого Указом Президента України від 06.06.2016 року № 240/2016 [5]. Процедур надання екстреної медичної допомоги пораненим, що ґрунтуються на практичному бойовому досвіді й найкращих медичних доказах, складність яких збільшується пропорційно з евакуацією пораненого на вищий рівень медичного забезпечення, у збройних силах країн-членів НАТО приділяють натеper особливу увагу [6].

Отже, залишається актуальним завданням необхідність розроблення та впровадження в медичному забезпеченні сучасних медико-технологічних документів (алгоритмів, протоколів, стандартів) надання екстреної медичної допомоги пораненим (хворим) на догоспітальному етапі відповідно до стандартів НАТО.

Мета роботи

Дослідити структуру невідкладних станів військовослужбовців із бойовими травмами й захворюваннями в сучасних умовах для обґрунтування, розроблення

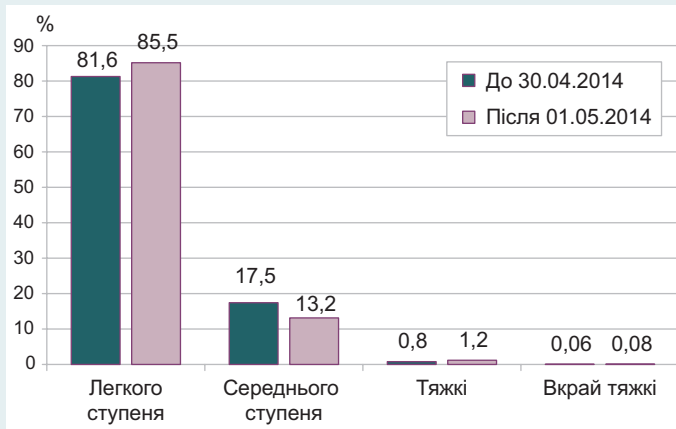


Рис. 1. Порівняння показників тяжкості станів військовослужбовців ЗС України залежно від надходження поранених.

та запровадження першочергових алгоритмів (протоколів) екстреної медичної допомоги, адаптованих до стандартів НАТО.

Матеріали і методи дослідження

За даними історій хвороб Національного військово-медичного клінічного центру «Головний військовий клінічний госпіталь», виконали ретроспективний і проспективний аналіз структури та характеру невідкладних станів сучасних бойових травм і захворювань у військовослужбовців за період 1999–2018 рр. Загалом проаналізували 191 731 історію хвороби.

Результати

За офіційними даними [7], починаючи з 2014 р. чисельність особового складу ЗС України збільшилась майже вдвічі, суттєво зросли кількісні показники старших вікових груп у віковій структурі військовослужбовців. За даними фахівців [8], поширеність захворювань серед мобілізованих військовослужбовців і військовослужбовців за контрактом збільшилась також на 43,7 %, підвищились показники госпіталізації, працевтрат і звільнень через хвороби.

Для обґрунтування переліку першочергових алгоритмів (протоколів) екстреної медичної допомоги військовослужбовцям, що пропонуватимуться до розробки, відповідно до мети дослідження здійснили бібліографічний пошук вітчизняних і закордонних наукових джерел інформації щодо структури невідкладних станів військовослужбовців із бойовими травмами, тяжкими ускладненнями захворювань у сучасних умовах. Відзначимо, що вірогідних відомостей щодо структури невідкладних станів військовослужбовців із бойовими травмами, тяжкими ускладненнями захворювань не виявили.

У зв'язку з цим виконали статистичне дослідження електронної бази даних історій хвороб пацієнтів, які перебували на лікуванні у Національному військово-медичному клінічному центрі «Головний військовий клінічний госпіталь» (НВМКЦ «ГВКГ») із 1999 до

2018 р. Для формування запитів щодо назв нозологічних форм та їхньої кількості використовували програму Microsoft Access. Із загальної кількості історій хвороб, що містились у базі даних, через формування запитів обрали історії хвороб усіх категорій військовослужбовців (офіцерів, прапорщиків, військовослужбовців строкової служби та військової служби за контрактом, мобілізованих тощо). Вибірки історій хвороб формували за нозологіями захворювань, враховуючи тяжкість стану військовослужбовців під час надходження на лікування та за часовими показниками. Для виявлення можливої відмінності у структурі тяжкості військовослужбовців, у зв'язку з проведенням АТО, вибірку історій хвороб також поділили за часом – до 30.04.2014 р. (до першого надходження поранених) і, відповідно, після 01.05.2014 р.

Отже, через формування запиту обрали 149 334 історії хвороб військовослужбовців, які надійшли на лікування з 1999 р. до 30.04.2014 р., і 42 397 історій хвороб, які надійшли з 01.05.2014 р. до цього часу.

За результатами аналізу відібраних історій хвороб, до 30.04.2014 р. 81,60 % військовослужбовців надійшли в легкому стані, 17,50 % – у стані середньої тяжкості, 0,80 % – у тяжкому, 0,06 % – у вкрай тяжкому стані. За часовий проміжок від 01.05.2014 р. до цього часу ці показники становлять 85,50 %, 13,20 %, 1,20 % та 0,08 % відповідно (рис. 1). Кількість військовослужбовців, які надійшли в легкому стані, дещо збільшилась унаслідок зменшення частки військовослужбовців із середнім ступенем тяжкості. Але частка осіб, які надійшли в тяжкому і вкрай тяжкому стані, збільшилась на 48 %.

Із зазначеного масиву, використовуючи програму Microsoft Access, історії хвороб згрупували за класами й нозологіями відповідно до МКХ-10. Для більш детального аналізу до уваги взято історії хвороб військовослужбовців у тяжкому та вкрай тяжкому стані: 1347 осіб, які надійшли до 30.04.2014 р., і 544 – після 01.05.2014 р.

Надалі статистичне опрацювання результатів вибірки виконали за допомогою Microsoft Excel. Поділили військовослужбовців, які надійшли на лікування у НВМКЦ «ГВКГ» у тяжкому та вкрай тяжкому станах, за класами захворювань згідно з МКХ-10.

За результатами дослідження, найбільшу частку у структурі тяжких і вкрай тяжких станів військовослужбовців, які надійшли на лікування у НВМКЦ «ГВКГ» до 30.04.2014 р., становили хвороби органів дихання (клас X) – 37,9 %. На другому місці (15,6 %) – травми, отруєння та деякі інші наслідки дії зовнішніх причин (клас XIX). На третьому (9,7 %) – інфекційні та паразитарні хвороби (клас I).

У зв'язку з надходженням на лікування поранених після 01.05.2014 р. структура тяжких і вкрай тяжких станів військовослужбовців суттєво змінилась. По-перше, частота тяжких і вкрай тяжких станів при травмах та отруєннях (клас XIX) збільшилась до 48,5 %. Друге місце посіли хвороби органів дихання, при яких частота тяжких і вкрай тяжких станів зменшилась втричі та становила 12,1 %. На третє рангове місце (майже без зміни показника) перемістились хвороби системи кровообігу – 7,4 %. Особливу увагу привер-

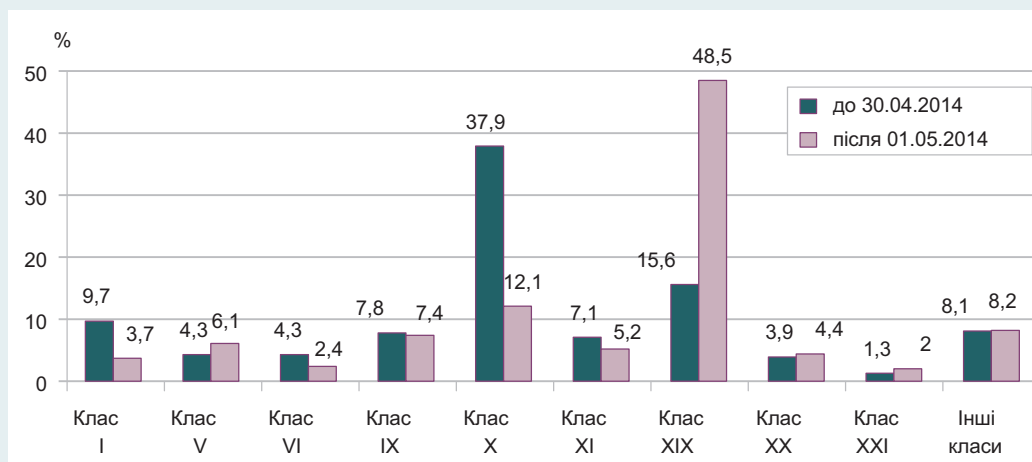


Рис. 2. Структура захворюваності військовослужбовців ЗС України залежно від надходження поранених.

тають розлади психіки та поведінки (6,1 %), хвороби органів травлення (5,2 %), що посіли 4 й 5 рангові місця відповідно (рис. 2).

Надалі статистично визначили найбільш важливі нозологічні форми травм (зокрема бойових) і захворювань, що формують переліки невідкладних станів відповідно до наведених класів.

Як уже зазначено, після 01.05.2014 р. перше рангове місце у структурі тяжких і вкрай тяжких станів військовослужбовців посідає клас XIX – травми та отруєння. Серед цього класу найтяжчі нозологічні стани представлені групою здебільшого поєднаних поранень і травматичних ушкоджень голови й головного мозку – 27,3 %. Друге місце посіли травми органів черевної порожнини – 18,2 %, третє – травми грудної клітки, ребер (12,9 %). Найтяжчі стани військовослужбовців також визначили серед поранених у ділянки кульшових суглобів і з вогнепальними переломами довгих трубчастих кісток.

Серед хвороб органів дихання, коли частота тяжких і вкрай тяжких станів посідає друге місце, найтяжчі стани військовослужбовців викликають пневмонії 75,9 %.

Серед хвороб системи кровообігу тяжкі та вкрай тяжкі стани визначають при інсультах – 40,1 %, інфарктах міокарда – 30,1 %, гіпертензивній хворобі – 12,5 %.

Обговорення

Отже, за результатами аналізу історій хвороб пацієнтів терапевтичного профілю, які надходили до військових закладів охорони здоров'я, з початком ведення бойових дій на сході України визначили зміни у структурі невідкладних станів: гострі психічні та поведінкові розлади (58,9 %), кишкові інфекції (20,7 %), отруєння (11,2 %), гострі мозкові порушення кровообігу (5,3 %), алергічні реакції (2,6 %), інфаркт міокарда (1 %), порушення серцевого ритму (0,3 %) тощо.

Зважаючи на отримані результати, загалом медико-технологічні документи для забезпечення надання екстреної медичної допомоги можуть бути сформовані

у дві групи. Перша – це невідкладні стани пацієнтів терапевтичного профілю (небойова патологія), друга – невідкладні стани поранених із бойовою травмою.

У цьому аспекті, на наш погляд, уся палітра невідкладних станів терапевтичного профілю (небойова патологія) доволі детально представлена медико-технологічними документами для забезпечення надання екстреної медичної допомоги, що розроблені фахівцями МОЗ України [9]. Відзначимо, що медико-технологічні документи для надання екстреної медичної допомоги при невідкладних станах поранених із бойовою травмою на офіційних сайтах МОЗ України нині відсутні.

Однак виявили надзвичайно близькі показники структури невідкладних станів поранених, котру отримали в результаті дослідження, та переліку актуальних невідкладних станів серед військовослужбовців держав-членів НАТО, що наведені в STANAG 2549 «AMedP-24: Emergency care in the operational environment» [10]. Зважаючи на це, для адаптації, розроблення, застосування медико-технологічних документів щодо надання екстреної медичної допомоги при невідкладних станах поранених із бойовою травмою у ЗС України обрали саме цей нормативний документ.

Враховуючи матеріали здійснених досліджень щодо актуальних невідкладних станів серед військовослужбовців, адаптували алгоритми надання екстреної медичної допомоги військовослужбовцям, що можуть бути використані у практичній роботі лікарів, медичного персоналу ЗС України під час надання медичної допомоги пораненим на догоспітальному етапі в бойових умовах [11].

Висновки

1. У результаті аналізу виявили відомості щодо основних нозологічних форм бойових травм і захворювань військовослужбовців, коли формуються невідкладні стани: за XIX класом – поранення і травматичні ушкодження голови, головного мозку (27,3 %), травми органів черевної порожнини (18,2 %), травми грудної

клітки та ребер (12,9 %); за X класом – пневмонії (75,9 %); за IX класом – інсульти (40,1 %), інфаркти міокарда (30,1 %) та гіпертензивна хвороба (12,5 %).

2. Основними класами, нозологічні форми яких супроводжуються тяжкими та вкрай тяжкими станами, є XIX – травми, отруєння та деякі інші наслідки дії зовнішніх причин (48,5 %), клас X – хвороби органів дихання (12,1 %), клас IX – хвороби системи кровообігу (7,4 %), клас V – розлади психіки й поведінки (6,1 %), клас XI – хвороби органів травлення (5,2 %).

3. Виявлені невідкладні стани військовослужбовців, що виникають при відповідних нозологічних формах і входять до названих класів хвороб, є пріоритетними для розроблення першочергових медико-технологічних документів (алгоритмів, протоколів, стандартів) надання медичної допомоги військовослужбовцям у бойових умовах відповідно до стандартів НАТО.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробці медико-технологічних документів (алгоритмів, протоколів, стандартів) надання медичної допомоги військовослужбовцям у бойових умовах відповідно до стандартів НАТО.

Фінансування

Робота виконана в межах державного фінансування науково-дослідної роботи Української військово-медичної академії.

Інформація про внесок кожного учасника:

М. І. Бадюк – концепція, дизайн дослідження, написання тексту 40 %; О. О. Микита – аналіз отриманих даних, написання тексту 40 %; І. П. Семенів – аналіз отриманих даних, формування висновків, написання тексту 10 %; М. М. Риган – збирання матеріалу, статистичне опрацювання 5 %; В. В. Косарчук – збирання матеріалу, статистичне опрацювання 5 %.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Бадюк М. І., д-р мед. наук, професор, начальник каф. організації медичного забезпечення Збройних Сил України, Українська військово-медична академія, м. Київ.
Микита О. О., канд. мед. наук, доцент каф. військово-профілактичної медицини, Українська військово-медична академія, м. Київ.
Семенів І. П., канд. мед. наук, доцент, головний лікар, клінічна лікарня «Феофанія», заслужений лікар України, м. Київ, Україна.
Риган М. М., канд. мед. наук, лікар-травматолог, Медичний центр ТОВ «Інститут спортивної травматології», м. Київ, Україна.
Косарчук В. В., д-р мед. наук, професор каф. організації медичного забезпечення Збройних Сил України, Українська військово-медична академія, м. Київ.

Сведения об авторах:

Бадюк М. И., д-р мед. наук, профессор, начальник каф. организации медицинского обеспечения Вооруженных Сил Украины, Украинская военно-медицинская академия, г. Киев.
Микита О. А., канд. мед. наук, доцент каф. военно-профилактической медицины, Украинская военно-медицинская академия, г. Киев.
Семенов И. П., канд. мед. наук, доцент, главный врач, клиническая больница «Феофанья», заслуженный врач Украины, г. Киев, Украина.
Риган М. М., канд. мед. наук, врач-травматолог, Медицинский центр ТОВ «Институт спортивной травматологии», г. Киев, Украина.

Косарчук В. В., д-р мед. наук, профессор каф. организации медицинского обеспечения Вооруженных Сил Украины, Украинская военно-медицинская академия, г. Киев.

Information about authors:

Badiuk M. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Medical Support Organization of the Armed Forces of Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv, Ukraine.

Mykyta O. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Military-Preventive Medicine of Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv, Ukraine.

Semeniv I. P., MD, PhD, Associate Professor, Head Physician of Feofaniya Clinical Hospital, Honored Doctor of Ukraine, Kyiv, Ukraine.

Rygan M. M., MD, PhD, Doctor-Traumatologist of the Medical Center of the LLC «Institute of Sport Traumatology», Kyiv, Ukraine.

Kosarchuk V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Professor of the Department of Medical Support Organization of the Armed Forces of Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 10.07.2018

Після доопрацювання / Revised: 20.07.2018

Прийнято до друку / Accepted: 07.08.2018

Список літератури

- [1] Указ Президента України «Про рішення Ради національної безпеки і оборони України «Про нову редакцію Воєнної доктрини України» від 24.09.2015 р. № 555/2015 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon5.rada.gov.ua/laws/show/555/2015>.
- [2] Аналіз роботи медичної служби щодо пріоритетних напрямків розробки та впровадження стандартів медичного забезпечення Збройних Сил України на особливий період / О. О. Микита, А. В. Швець, І. К. Середя, та ін. // Проблеми військової охорони здоров'я: зб. наук. пр. – К.: УВМА, 2016. – №45. – С. 9–16.
- [3] Стандарт підготовки: Фахова підготовка санітарного інструктора роти (батареї) (видання 1) / М. І. Бадюк, В. В. Солярик, І. К. Середя та ін. – К.: Леся, 2015. – 416 с.
- [4] Реалізація правил «платинової хвилини» та «золотої години» в сучасній системі лікувально-евакуаційних заходів / В. Я. Білий, А. В. Верба, М. І. Бадюк та ін. // Медичне забезпечення антитерористичної операції: науково-організаційні та медико-соціальні аспекти: зб. наук. пр. ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. М. О. Марзєєва НАМН України. – К.: Пріоритети, 2016. – С. 77–89.
- [5] Указ Президента України «Про рішення Ради національної безпеки і оборони України від 20 травня 2016 року «Про Стратегічний оборонний бюлетень України» №240/2016 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.president.gov.ua/documents/2402016-20137>.
- [6] AJP-4.10(A). Allied joint medical support doctrine, 2006 (Reference of decision for release: NSA(MED)0562(2011)1/MedSB dated 30 May 2011). – 98 p.
- [7] Військові сторінки України (2015–2018). – Режим доступу: <https://www.ukrmilitary.com/p/armed-forces-of-ukraine.html>.
- [8] Верба А. В. Роль і місце військової медицини в єдиному медичному просторі України / А. В. Верба // Україна. Здоров'я нації. – К., 2015. – №3. – С. 19–21.
- [9] Реєстр медико-технологічних документів. – Режим доступу: <http://mtd.dec.gov.ua/index.php/uk/haluzevi-standarty-ta-klinichni-nastanovy/item/14-ekstrena-medychna-dopomoha>.
- [10] NATO STANAG 2549 / AMedP-24: Emergency care in the operational environment. – 2011. – 348 p.
- [11] Екстрена медична допомога військовослужбовцям на догоспітальному етапі в умовах збройних конфліктів: навчальний посібник / за ред. проф. М. І. Бадюка. – К.: СПД. Чалчинська Н. В., 2018. – 209 с.

References

- [1] Ukaz Prezidenta Ukrainy «Pro rishennia Rady natsionalnoi bezpeky i oborony Ukrainy «Pro novu redaktsiiu Voiennoi doktryny Ukrainy» vid 24 veresnia 2015 roku №555/2015 [Decree of the President of Ukraine «On the decision of the Council of National Security and Defense of Ukraine «On the new edition of the Military Doctrine of Ukraine» from September 24, 2015 №555/2015] Retrieved from <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/555/2015>. [in Ukrainian].
- [2] Mykyta, O. O., Shvets, A. V., Sereda, I. K., Kovyda, D. V., Hubar, A. M., et al. (2016). Analiz roboty medychnoi sluzhby shchodo pryoritetnykh napriamkiv rozrobky ta vprovadzhennia standartiv medychnoho zabezpechennia [Analysis of the work of the medical service on the priority directions of development and implementation of the standards of

- medical support of the Armed Forces of Ukraine for a special period]. *Problemy viiskovoi okhorony zdorov'ia*, 45, 9–16. [in Ukrainian].
- [3] Badiuk, M. I., Soliaryk, V. V., Sereda, I. K., Mykyta, O. O., Kovyda, D. V., et al. (2015) *Standart pidhotovky: Fakhova pidhotovka sanitarnoho instruktora roty (batarei)*. [Standard of preparation: Professional training of the sanitary instructor of the company (batteries) (Edition 1)]. Kyiv: Lesia. [in Ukrainian].
- [4] Bilyi, V. Ya., Verba, A. V., Badiuk, M. I., et al. (2016) Realizatsiia pravyl «platynovoi khvylyny» ta «zolotoi hodyny» v suchasni systemi likuvalno-evakuatsiinykh zakhodiv [Realization of the rules of «platinum minute» and «golden hour» in the modern system of medical-evacuation measures]. *Medychno zabezpechennia antyterorystychnoi operatsii: naukovo-orhanizatsiini ta medyko-sotsialni aspekty*. (P. 77–89). Kyiv: Priorytety. [in Ukrainian].
- [5] Ukaz Prezydenta Ukrainy «Pro rishennia Rady natsionalnoi bezpeky i oborony Ukrainy vid 2016 May 20 «Pro Stratehichnyi oboronnyi biuleten Ukrainy» №240/2016 [Decree of the President of Ukraine «On the decision of the National Security and Defense Council of Ukraine from May 20, 2016 «On the Strategic Defense Bulletin of Ukraine» №240/2016]. Retrieved from <http://www.president.gov.ua/documents/2402016-20137>. [in Ukrainian].
- [6] AJP-4.10(A). (2011) Allied joint medical support doctrine, 2006 (Reference of decision for release: NSA(MED)0562(2011)1/MedSB dated 2011 May 30).
- [7] Viiskovi storinky Ukrainy (2015–2018). [Ukrainian Military Pages. (2015–2018)]. Retrieved from <https://www.ukrmilitary.com/p/armed-forces-of-ukraine.html>. [in Ukrainian].
- [8] Verba, A. V. (2015). Rol i mistse viiskovoi medytsyny v yedynomu medychnomu prostori Ukrainy [The role and place of military medicine in the unified medical space of Ukraine]. *Ukraina. Zdorov'ia natsii*, 3, 19–21. [in Ukrainian].
- [9] Reiestr medyko-tekhnologichnykh dokumentiv [Register of medical and technological documents]. Retrieved from <http://mtd.dec.gov.ua/index.php/uk/haluzevi-standarty-ta-klinichni-nastanovy/item/14-ekstrena-medychna-dopomoha>. [in Ukrainian].
- [10] (2011) NATO STANAG 2549 – AMedP-24: Emergency care in the operational environment.
- [11] Badiuk, M. I. (Ed.) (2018) *Ekstrenna medychna dopomoha viiskovoslu-zhbovtsiam na dohospitalnomu etapi v umovakh zbroinykh konfliktiv*. [Emergency medical assistance to servicemen at prehospital stage in conditions of armed conflict]. Kyiv. [in Ukrainian].

Порушення експресії конститутивних ізоформ синтази монооксиду азоту як патогенетичний фактор формування ускладнень після екстракції зуба на тлі експериментального цукрового діабету

К. С. Ганчев, А. В. Абрамов

Запорізький державний медичний університет, Україна

Ключові слова: конститутивні ізоформи NOS, постекстракційні ускладнення, експериментальний цукровий діабет, щури.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 148–153

DOI:
10.14739/2310-1237.
2018.2.141407

E-mail:
Abramov@zsmu.pp.ua

Роль конститутивних ізоформ NOS ендотеліальної та нейрональної в патогенезі формування ускладнень і порушення репаративних механізмів у пародонті після екстракції зуба на фоні цукрового діабету майже не визначена.

Мета роботи – встановити особливості змін показників експресії ізоформ синтази монооксиду азоту нейрональної та ендотеліальної у тканинах пародонта щурів з експериментальним стрептозотоциновим діабетом у різні періоди (1, 7 і 14 доба) після екстракції першого нижнього моляра.

Матеріали та методи. Імуногістохімічне дослідження показників експресії ендотеліальної та нейрональної NOS (вміст, концентрація та питома площа розподілу імунореактивного матеріалу) у тканинах пародонта виконали у 120 щурів-самців лінії Wistar віком 8–10 місяців, яких поділили на 8 груп по 15 тварин.

Результати. У щурів з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД) без екстракції зуба в пародонті вміст і концентрація обох конститутивних ізоформ характеризувалися значно нижчими значеннями порівняно з показниками контролю. Екстракція зуба щурам з ЕЦД на 1 добу призвела до суттєвого підвищення всіх показників експресії обох ізоформ порівняно з показниками щурів з ЕЦД без екстракції зуба. На 7 добу вміст і питома площа pNOS зросли на 24,3 % та 14,2 % відповідно, а концентрація зменшилася на 58,3 %. Показники експресії eNOS вірогідно не відрізнялися від значень щурів на 1 добу після екстракційного періоду. 14 доба після екстракції зуба в щурів з ЕЦД характеризувалися суттєвим зменшенням усіх досліджуваних показників експресії конститутивних NOS, навіть більше, концентрація й питома площа розподілу pNOS, а також вміст, концентрація та площа eNOS стали значно меншими, ніж у групі контролю.

Висновки. У щурів з ЕЦД у тканинах пародонта знижені вміст і концентрація конститутивних ізоформ NOS. Екстракція зуба на тлі ЕЦД призвела до помірного збільшення показників вмісту та концентрації pNOS та eNOS від 1 до 7 доби. На 14 добу після екстракційного періоду визначили нижчі показники експресії обох ізоформ, ніж у групі контролю, що свідчить про низький вміст ендотеліальної та нейрональної ізоформ у пародонті щурів з ЕЦД та, ймовірно, відіграє важливу роль у патогенезі формування віддалених ускладнень після хірургічних втручань із порушенням процесів репарації.

Ключевые слова: конститутивные изоформы NOS, постэкстракционные осложнения, экспериментальный сахарный диабет, крысы.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 148–153

Нарушение экспрессии конститутивных изоформ синтазы монооксида азота как патогенетический фактор формирования осложнений после экстракции зуба на фоне экспериментального сахарного диабета

К. С. Ганчев, А. В. Абрамов

Роль конститутивных изоформ NOS эндотелиальной и нейрональной в патогенезе формирования осложнений и нарушения репаративных механизмов в пародонте после экстракции зуба на фоне сахарного диабета почти не изучена.

Цель работы – установить особенности изменений показателей экспрессии изоформ синтазы оксида азота нейрональной и эндотелиальной в тканях пародонта крыс с экспериментальным стрептозотоциновым диабетом в разные периоды (1, 7 и 14 сутки) после экстракции первого нижнего моляра.

Материалы и методы. Иммуногистохимическое исследование показателей экспрессии эндотелиальной и нейрональной NOS (содержания, концентрации и удельной площади распределения иммунореактивного материала) в тканях пародонта проведено у 120 крыс-самцов линии Wistar в возрасте 8–10 месяцев, разделенных на 8 групп по 15 животных.

Результаты. У крыс с экспериментальным сахарным диабетом (ЭСД) без экстракции зуба в пародонте содержание и концентрация обоих конститутивных изоформ характеризовались более низкими значениями по сравнению с показателями контроля. Экстракция зуба крысам с ЭСД на 1 сутки привела к существенному повышению всех показателей экспрессии обоих изоформ по сравнению с показателями крыс с ЭСД без экстракции зуба. На 7 сутки содержание и удельная площадь pNOS продолжили расти на 24,3 % и 14,2 % соответственно, а концентрация уменьшилась на 58,3 %. Показатели экспрессии eNOS достоверно не отличались от значений крыс на 1 сутки после экстракционного периода. 14 сутки после экстракции зуба у крыс с ЭСД характеризовались существенным уменьшением всех исследуемых показателей экспрессии конститутивных NOS, более того, концентрация и удельная площадь распределения pNOS, а также содержание, концентрация и площадь eNOS стали значительно меньше, чем в группе контроля.

Выводы. У крыс с ЭСД в тканях пародонта содержание и концентрация конститутивных изоформ NOS снижены. Экстракция зуба на фоне ЭСД привела к умеренному увеличению показателей содержания и концентрации pNOS и eNOS с 1 по 7 сутки. На 14 сутки после экстракционного периода установили более низкие показатели экспрессии обоих изоформ, чем в группе контроля, что свидетельствует о низком содержании эндотелиальной и нейрональной изоформ в пародонте крыс с ЭСД и, вероятно, играет важную роль в патогенезе формирования отдаленных осложнений после хирургических вмешательств с нарушением процессов репарации.

Disturbance of nitric oxide synthase constitutive isoforms expression as a pathogenetic factor of complications development after tooth extraction in experimental diabetes mellitus

K. S. Hanchev, A. V. Abramov

The role of constitutive NOS isoforms (endothelial and neuronal) in pathogenesis of complications development and repair processes disturbances in periodontium after tooth extraction in experimental diabetes mellitus is not studied completely.

The aim of work – to find out the features of constitutive NOS isoforms (endothelial and neuronal) indices alterations in periodontal tissue of rats with experimental streptozotocin-induced diabetes mellitus on different terms (1st, 7th and 14th day) after mandibular 1st molar extraction.

Materials and methods. Immunohistochemical study of endothelial and neuronal NOS isoforms expression indices (content, concentration, area of immunoreactive material distribution) in periodontium tissue was conducted on 120 male rats 8–10 months-old (8 experimental groups).

Results. In rats with experimental diabetes mellitus (EDM) without tooth extraction content and concentration of both constitutive NOS isoforms in periodontium were lower than in control group of animals. The extraction of tooth in rats with EDM resulted in significant increase of all indices of both isoforms expression in comparison with EDM rats without tooth extraction. On the 7th day after tooth extraction nNOS content and area of distribution was also increased by 24.3 % and 14.2 % respectively, and concentration decreased by 58.3 %. Indices of eNOS were not reliably changed in comparison with the 1st day after tooth extraction. On the 14th day after tooth extraction in rats with EDM, a significant decrease in all the indices of expression of constitutive NOS was observed, moreover, the concentration and area of nNOS distribution and the content, concentration and area of eNOS become significantly lower than in the corresponding control group.

Conclusions. In rats with EDM in periodontal tissues the content and concentration of NOS constitutive isoforms are reduced. Extraction of the tooth in the animal with EDM leads to a moderate increase in the content and concentration of nNOS and eNOS from the 1st to the 7th day. On the 14th day after the extraction, the expression indices of both isoforms decrease lower than in the corresponding control groups, that indicates a low content of endothelial and neuronal isoforms in the periodontium of rats with EDM and probably plays an important role in the pathogenesis of long-term complications development after surgery along with violation of repair processes.

Key words:

nitric oxide synthase, tooth extraction complications, experimental diabetes mellitus, rats.

Pathologia

2018; 15 (2), 148–153

Нині в жодного лікаря-стоматолога не виникає сумніву, що порушення обмінних процесів при цукровому діабеті (ЦД) призводять до різноманітних змін у зубощелепній системі. Так, встановлено, що у 95 % хворих на ЦД визначають ксеростомію, у 100 % – зубні відкладення та наліт через високу концентрацію глюкози в ротовій рідині, у 5,7 % – запально-деструктивні захворювання пародонта, у 26 % – кровоточивість ясен [1,2]. Різноманітність стоматологічних проблем та ускладнень у хворих на ЦД пов'язана з тим, що саме діабет формує всі складові етіології та патогенезу захворювань пародонта: порушення кровообігу та метаболізму тканин, підтримання бактеріальної інвазії, зниження захисних властивостей організму та тканин пародонтального комплексу [1,2].

Патогенез пошкоджень і судинних ускладнень при ЦД пов'язують із дисфункцією ендотелію та порушенням регуляції судинного тону. Особливу зацікавленість у цьому аспекті викликає оксид азоту (NO) – вільний радикал, що чинить різноспрямовані ефекти. Так, встановлена ендотеліозалежна вазодилатація, пригнічення агрегації тромбоцитів, адгезії лейкоцитів до ендотелію та проліферації гладком'язових клітин судинної стінки [3]. Доведена його роль у регуляції нейротрофічних процесів і пошкодження клітин. Цитотоксичну дію NO чинить переважно при запальних і нейродегенеративних процесах, ефект спрямований переважно на мітохондрії клітин, які не мають власної NOS, і тому є мішенню для NO, що надходить із цитозолу. При високих концентраціях NO пригнічує поглинання кисню та окисне фосфорилування, порушує потенціал і проникність мембран, посилює вихід із мітохондрій Ca^{2+} і проапоптотичних білків;

результат цього – дистрофічні процеси, порушення репарації та регенерації, формування множинних ускладнень [3].

Під час дослідження ролі NO в патогенезі ускладнень після стоматологічних втручань у пацієнтів із ЦД отримали суперечливі дані, що пов'язано як з різноманітністю клінічних характеристик хворих, так і з різними методичними підходами до оцінювання синтезу NO. Саме ці розбіжності та нез'ясованість ролі NO та ізоформ його ферменту при ЦД у формуванні патологічних процесів і станів у щелепно-лицевій ділянці потребують поглибленого вивчення, здійснення експериментального дослідження. Нові факти нададуть розуміння патогенетичної ролі у тканинах пародонта балансу конститутивних ізоформ NOS у розвитку запального процесу та механізмів репарації після хірургічного втручання (екстракції зуба) на тлі експериментального цукрового діабету.

Мета роботи

Встановити особливості змін показників експресії ізоформ синтази монооксиду азоту нейрональної та ендотеліальної у тканинах пародонта щурів з експериментальним стрептозоточиновим діабетом у різні періоди після екстракції першого нижнього моляра.

Матеріали і методи дослідження

Експериментальна частина дослідження виконана відповідно до національних «Спільних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001),



Рис. 1. Блок-схема поділу тварин на групи.

Таблиця 1. Показники експресії конститутивних ізоформ NOS у пародонті щурів експериментальних груп ($M \pm m$)

Групи, n = 15		Вміст IPM до ізоформи, OD_{490}	Концентрація IPM до ізоформи, $OD_{490}/\mu\text{м}^2$	Питома площа IPM до ізоформи, %
Нейрональна NOS				
Без екстракції	Контроль-0	151,40 $\pm$ 7,36	20,49 $\pm$ 1,07	45,56 $\pm$ 1,4
	Діабет-0	132,60 $\pm$ 4,32 ²	16,75 $\pm$ 0,95 ²	62,44 $\pm$ 1,17 ²
1 доба	Контроль-1	162,80 $\pm$ 8,14	17,37 $\pm$ 1,02 ¹	69,15 $\pm$ 2,01 ¹
	Діабет-1	218,80 $\pm$ 17,56 ^{2,3}	38,85 $\pm$ 2,81 ^{2,3}	65,11 $\pm$ 1,27
7 доба	Контроль-7	139,20 $\pm$ 6,21 ¹	28,33 $\pm$ 2,21 ¹	68,34 $\pm$ 1,99
	Діабет-7	272,20 $\pm$ 18,45 ^{2,3}	24,54 $\pm$ 0,95 ³	74,37 $\pm$ 1,73 ^{2,3}
14 доба	Контроль-14	168,30 $\pm$ 5,41	30,24 $\pm$ 2,14 ¹	52,41 $\pm$ 1,68 ¹
	Діабет-14	201,70 $\pm$ 16,43 ²	21,62 $\pm$ 1,78 ^{2,3}	46,89 $\pm$ 1,26 ^{2,3}
Ендотеліальна NOS				
Без екстракції	Контроль-0	214,50 $\pm$ 16,17	38,67 $\pm$ 1,97	55,34 $\pm$ 1,95
	Діабет-0	172,40 $\pm$ 12,11 ^{2,3}	20,42 $\pm$ 1,16 ^{2,3}	49,46 $\pm$ 1,07 ^{2,3}
1 доба	Контроль-1	134,20 $\pm$ 8,16 ¹	19,754 $\pm$ 0,670 ¹	78,16 $\pm$ 2,09 ¹
	Діабет-1	274,20 $\pm$ 12,46 ^{2,3}	28,65 $\pm$ 3,09 ^{2,3}	64,76 $\pm$ 1,44 ^{2,3}
7 доба	Контроль-7	272,20 $\pm$ 8,45 ¹	24,54 $\pm$ 0,95 ¹	66,37 $\pm$ 0,73 ¹
	Діабет-7	286,90 $\pm$ 14,73	27,56 $\pm$ 1,85	61,59 $\pm$ 1,21 ²
14 доба	Контроль-14	284,30 $\pm$ 7,16	31,24 $\pm$ 1,22 ¹	58,11 $\pm$ 2,05 ¹
	Діабет-14	213,90 $\pm$ 9,75 ^{2,3}	17,66 $\pm$ 1,67 ²	36,03 $\pm$ 1,19 ³

¹: вірогідна різниця показників контрольних груп ($p_{st} < 0,05$) щодо відповідних показників контрольної групи з попереднім строком екстракції; ²: вірогідна різниця показників груп з ЕЦД ($p_{st} < 0,05$) щодо показників контрольної групи відповідного строку екстракції; ³: вірогідна різниця показників груп з ЕЦД ($p_{st} < 0,05$) щодо показників щурів з ЕЦД попереднього строку екстракції.

що узгоджуються з директивою Ради 2010/63/EU Європейського парламенту і Ради від 22 вересня 2010 р. щодо захисту тварин, яких використовують для наукових цілей (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). Протокол дослідження погоджено з локальним етичним комітетом. Експериментальні дослідження виконали на 120 щурах-самцях лінії Wistar віком 8–10 місяців, яких поділили на 8 груп по 15 тварин у кожній (рис. 1).

Експериментальний цукровий діабет (ЕЦД) мо-

делювали одноразовим введенням внутрішньочеревно стрептозотоцину (SIGMA Chemical, США) в дозі 50 мг/кг, розчиненого у 0,5 мл 0,1 М цитратного буфера (pH 4,5) ex tempore [4]. На 21 добу ЕЦД тваринам виміряли рівень глікемії натще (глюкозооксидазним методом із використанням стандартних тест-смужок Test Strip II, глюкометр Glucocard, Японія), що становив $24,75 \pm 2,14$ мм/л.

Екстракцію нижнього моляра в 45 контрольних щурів і 45 щурів з ЕЦД здійснили вранці о 10:00. Напередодні ввечері о 18:00 тварин позбавляли їжі, залишали вільний доступ до води. Перед екстракцією зуба щурів наркотизували тіопенталовим наркозом (доза – 40 мг/кг) із додатковою місцевою інфільтраційною анестезією «Убістезином» («3М ESPE» AG, Germany).

На 1, 7 та 14 добу після екстракції зуба тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (доза – 40 мг/кг) шляхом одномоментної декапітації. Об'єкт дослідження в щурів – тканини пародонта нижньої щелепи праворуч.

Після стандартної гістологічної підготовки фрагменти пародонта фіксували у парапластових блоках. На ротаційному мікротомі Microm-325 (Microm Corp., Germany) готували серійні зрізи тканин пародонта завтовшки 5 мкм. Для дослідження показників експресії конститутивних ізоформ NOS на першому етапі гістологічні зрізи поділили на 2 групи: першу групу зрізів інкубували з кролячими IgG до нейрональної NOS (nNOS) (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200; другу групу зрізів інкубували з кролячими IgG до ендотеліальної NOS (eNOS) (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200. Скельця з нанесеними первинними антитілами тримали в полімерних фіксаторах при $T = +4^\circ\text{C}$ 24 години, тричі по 10 хв відмивали фосфатним буфером 0,1 М (pH 7,2). На другому етапі на скельця обох груп наносили вторинні мишачі IgG до повної молекули IgG кроля, кон'юговані з FITC (Santa Cruz Biotechnology, USA) у розведенні 1:200 і тримали при $T = +37^\circ\text{C}$ 45 хв, промивали тричі по 10 хв фосфатним буфером й укладали в суміш гліцерин/фосфатний буфер (9:1).

Зрізи пародонта вивчали в ультрафіолетовому спектрі збудження 390 нм за допомогою світлофільтра 38NE з високою емісією (Carl Zeiss, Germany) на мікроскопі AxioScope (Carl Zeiss, Germany). Під час аналізу зображення в інтерактивному режимі виділяли зони зі статистично значущою флуоресценцією. Показники експресії ізоформ NOS: вміст матеріалу, імунореактивного (IPM) до неї (OD_{490}), концентрація IPM у 1 мкм² зрізу ($OD_{490}/\mu\text{м}^2$) та питома площа розподілу IPM (%). Дослідили не менше ніж 60 полів зору з кожної серії.

Усі статистичні обчислення виконали в табличному процесорі Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corp., USA). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії та помилки середньої (m). Для виявлення вірогідності відмінностей результатів досліджень в експериментальних і контрольних групах щурів обчислювали коефіцієнт Стюдента (t), після чого визначали ймовірність відмінності вибірок (p) і довірчий інтервал середньої за таблицями розподілу Стюдента. Вірогідними вважали розбіжності значень, для яких $p_{st} < 0,05$ [5].

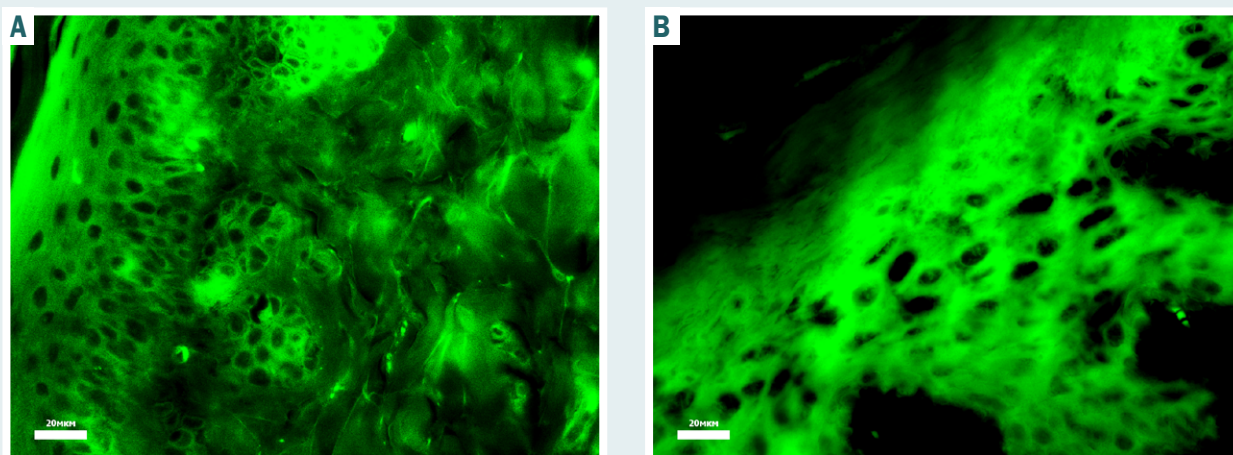


Рис. 2. Вміст ендотеліальної (А) та нейрональної (В) ізоформ NOS у пародонті щурів контрольної групи. Реакція непрямої імуофлуоресценції з антитілами до eNOS та nNOS. Ок. $\times 40$.

Результати

Порівняльний аналіз показників експресії конститутивних ізоформ NOS у тканинах пародонта щурів контрольної групи показав: більше представленою за вмістом, концентрацією та питомою площею була ендотеліальна форма (рис. 2), досліджувані показники її експресії перевищували значення нейрональної ізоформи відповідно на 41,6 %, 88,7 % та 21,4 % (табл. 1).

На 1 добу після екстракції зуба в контрольних щурів у тканинах пародонта відбулося суттєве зменшення концентрації обох ізоформ і загального вмісту eNOS, однак при цьому питома площа розподілу ізоформ eNOS і nNOS збільшувалась на 51 % та 41 % відповідно (табл. 1). На нашу думку, це пов'язано з прогресуванням запального процесу та розвитком вторинної альтерації [6].

На 7 добу після екстракційного періоду показники експресії конститутивних ізоформ суттєво відрізнялися. Так, вміст nNOS зменшувався на 17 %, питома площа не змінювалася, а концентрація збільшувалася на 63 %, що, ймовірно, пов'язано з активацією процесів репарації та регенерації в пародонті. eNOS показала чимале збільшення показників вмісту та концентрації ферменту вдвічі та на 24 % відповідно. Однак питома площа її розподілу зменшилась на 17,7 % (табл. 1).

14 доба характеризувалася збільшенням вмісту nNOS і концентрації eNOS, а також зменшенням питомої площі їх розподілу в пародонті, що може бути пов'язано зі зменшенням зони запалення і наступними активними процесами репарації та регенерації (табл. 1).

У щурів з ЕЦД, яким не виконували екстракцію зуба, в пародонті вміст і концентрація обох конститутивних ізоформ характеризувалися значно нижчими значеннями порівняно з показниками контролю. Так, вміст nNOS і eNOS були меншими за значення контролю на 14,0 % та 24,4 %, концентрація – на 22,3 % та 89,0 % відповідно. Питома площа, яку займали ізоформи, порівняно з відповідним контролем для nNOS була більшою на 37 %, а eNOS займала меншу

площу на 11,8 % (табл. 1). На нашу думку, ці факти пояснюють ключові ланки патогенезу мікроангіопатій і нейропатій, що завжди формуються при ЦД [7,8].

Екстракція зуба щурам з ЕЦД на 1 добу призводила до суттєвого підвищення всіх показників експресії обох ізоформ порівняно з показниками щурів з ЕЦД без екстракції зуба. На 7 добу порівняно з попереднім терміном після екстракції вміст і питома площа nNOS зростали на 24,3 % та 14,2 % відповідно, а концентрація зменшувалася на 58,3 %. Показники експресії eNOS вірогідно не відрізнялися від значень щурів на 1 добу після екстракційного періоду. 14 доба після екстракції зуба в щурів з ЕЦД характеризувалася суттєвим зменшенням усіх досліджуваних показників експресії конститутивних NOS, навіть більше, концентрація та питома площа розподілу nNOS, а також вміст, концентрація та площа eNOS були значно меншими, ніж у групі відповідного контролю (табл. 1).

Обговорення

Ранні роботи з вивчення ролі NO при запаленні не давали змоги говорити про сприятливі або регуляторні ефекти цієї надзвичайно лабільної молекули з дуже коротким періодом життя [3,9]. Вважали, що її утворення та ефекти необхідні тільки для пошкодження-елімінації патогенних агентів, а надмірне утворення NO при запаленні – ключовий фактор аутоальтерації та формування ускладнень [9].

Нині концепція біологічної ролі NO суттєво змінилася. Відкриття ендотеліального фактора релаксації, який являє собою нітрозосполуку й активним вазодилатуючим компонентом якого є NO [3,10], встановлення його дезагрегантної активності, нейротрансмітерної та антиоксидантної властивостей підняли цілу хвилю перспективних досліджень системи монооксиду азоту [11,12].

Накопичений чималий фактичний матеріал про роль NO як у нормі, так і при різноманітних захворюваннях. Викликає інтерес факт регуляції активності процесу утворення NO через певні ізоформи NOS.

Відомі ізоформи nNOS, iNOS та eNOS відрізняються локалізацією, шляхом активації та кількістю утворення NO, являють собою важливу систему ферментів із найбільш складним алгоритмом регуляції. У зв'язку з цим система генерації NO є найбільш чутливою до змін, що відбуваються в організмі [12]. Логічно припустити, що низькі показники вмісту та концентрації обох конститутивних ізоформ NOS у пародонті при ЕЦД, які були отримані під час дослідження, стануть підґрунтям не тільки у формуванні мікроангіопатії та периферичної нейропатії, слід очікувати розвиток ускладнень після можливих хірургічних втручань. Ці факти неодноразово підтверджували клінічні спостереження, в яких доведено, що перебіг ранового процесу в пацієнтів, які страждають на цукровий діабет, характеризується пролонгованістю фази запалення та затримкою регенеративних процесів [13]. Виходячи з цього, встановлений факт суттєвого зниження на 14 добу після екстракції зуба в щурів з ЕЦД показників вмісту і концентрації нейрональної та ендотеліальної NOS свідчить про можливу роль недостатності утворення NO у формуванні віддалених ускладнень через порушення васкуляризації, інервації та репарації тканин пародонта [14].

Висновки

1. Результати досліджень показали, що в щурів з ЕЦД у тканинах пародонта знижені вміст і концентрація конститутивних ізоформ NOS.

2. Екстракція зуба на тлі ЕЦД призводить до помірного збільшення показників вмісту та концентрації nNOS та eNOS від 1 до 7 доби.

3. На 14 добу після екстракційного періоду відбувається зниження показників експресії обох ізоформ нижче, ніж у групі відповідного контролю, що свідчить про низький вміст ендотеліальної та нейрональної ізоформ у пародонті щурів з ЕЦД та, ймовірно, відіграє важливу роль у патогенезі формування віддалених ускладнень після хірургічних втручань.

Перспективи подальших досліджень передбачають дослідження та комплексний аналіз експресії в пародонті щурів з ЕЦД усіх трьох ізоформ NOS (ендотеліальної, нейрональної та індукційної) та вміст кінцевих метаболітів NO (нітратів і нітритозину).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Ганчев К.С., асистент каф. пропедевтичної та хірургічної стоматології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Абрамов А.В., д-р мед. наук, професор каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Ганчев К.С., ассистент каф. пропедевтической и хирургической стоматологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Абрамов А.В., д-р мед. наук, профессор каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Hanchev K. S., Assistant Professor of the Department of Propaedeutical and Surgical Dentistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Abramov A. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 21.06.2018

Після доопрацювання / Revised: 17.07.2018

Прийнято до друку / Accepted: 19.07.2018

Список літератури

- [1] Хміль О.В. Характеристика стану місцевого імунітету ротової порожнини при хронічному рецидивуючому афтозному стоматиті у підлітків з цукровим діабетом / О.В. Хміль // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Вип. 1. – Т. 2(99). – С. 306–308.
- [2] Engebretson S. Evidence that periodontal treatment improves diabetes outcomes: a systematic review and meta-analysis / S. Engebretson, T. Kocher // J. Periodontol. – 2013. – Vol. 79. – №84 (4 Suppl). – P. S153–S163.
- [3] The role of nitric oxide in diabetic skin (patho) physiology / A. Stancic, A. Jankovic, A. Korac et al. // Mech Ageing Dev. – 2018. – Vol. 172. – P. 21–29.
- [4] Колесник Ю.М. Нейроэндокринные и иммунные механизмы развития сахарного диабета / Ю.М. Колесник, А.В. Абрамов // Патология. – 2005. – Т. 2. – №3. – С. 20–23.
- [5] Халафян А.А. Современные статистические методы медицинских исследований / А.А. Халафян. – М.: URSS. 2014. – 320 с.
- [6] Van Dyke T. Infection and inflammatory mechanisms / T. Van Dyke, A. Winkelhoff // J. of clinic. Periodontol. – 2013. – Vol. 40. – Suppl 14. – S1–7.
- [7] Современные аспекты патогенеза пародонтита у больных сахарным диабетом / К.Р. Григорян, Г.М. Барер, О.Р. Григорян и др. // Сахарный диабет. – 2006. – №2. – С. 64–68.
- [8] Shi Y. Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes / Y. Shi, P.M. Vanhoutte // J Diabetes. – 2017. – Vol. 9. – №5. – P. 434–449.
- [9] Peroxynitrite and protein nitration in the pathogenesis of diabetic peripheral neuropathy / R. Stavniichuk, H. Shevalye, S. Lupachyk et al. // Diabetes Metab Res Rev. – 2014. – Vol. 30. – №8. – P. 669–678.
- [10] Expression profiles of NOS isoforms in gingiva of nNOS knockout mice / M. Ishioka, Y. Ishizuka, S. Shintani et al. // Tissue Cell. – 2014. – Vol. 46. – №2. – P. 122–126.
- [11] Neuronal Nitric Oxide Synthase in Vascular Physiology and Diseases / E.D. Costa, B.A. Rezende, S.F. Cortes et al. // Front Physiol. – 2016. – Vol. 7. – P. 206.
- [12] Nitric oxide, a biological double-faced janus—is this good or bad? / T. Thippeswamy, J.S. McKay, J.P. Quinn et al. // Histol Histopathol. – 2006. – Vol. 21. – №4. – P. 445–458.
- [13] Современная концепция лечения гнойно-воспалительных заболеваний лица и шеи у больных сахарным диабетом / Е.В. Фомичев, С.В. Поройский, М.В. Кирпичников и др. // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2014. – Т. 3. – С. 35–40.
- [14] Стоматологическое здоровье детей, страдающих сахарным диабетом I типа и пути его улучшения / А.К. Иорданишвили, Л.Н. Солдатова, В.С. Переверзев и др. // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – Т. 62. – №1. – С. 121–126.

References

- [1] Khmil, E. (2013). Kharakterystyka stanu mistvevoho imunitetu rotovoi porozhnyny pry khronichnomu retsydyvuiuchomy aftoznomu stomatytі u pidlitkiv z tsukrovym diabetom [Characterization of the state of the local immunity of the oral cavity with chronic recurrent aphthozus stomatitis in adolescents with diabetes]. *Visnyk problem biologii i medytyny*, 1(2(99)), 306–308. [in Ukrainian].
- [2] Engebretson, S., & Kocher, T. (2013). Evidence that periodontal treatment improves diabetes outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Periodontology*, 84(4s), 1527–1534. doi: 10.1902/jop.2013.1340017.
- [3] Stancic, A., Jankovic, A., Korac, A., Buzadzic, B., Otasevic, V., & Korac, B. (2018). The role of nitric oxide in diabetic skin (patho)physiology. *Mech Ageing Dev.*, 172, 21–29. doi: 10.1016/j.mad.2017.08.018.
- [4] Kolesnik, Y., & Abramov, A. (2005). Neyroendokrynne i immunnne mehanizmy razvitiya saharnogo diabeta [Neuroendocrine and immune mechanisms of the development of diabetes mellitus]. *Pathologia*, 2(3), 20–23. [in Russian].

Генетические предикторы риска развития сочетанного течения кариеса и хронического катарального гингивита у детей

И. А. Трубка¹, З. И. Россоха², С. П. Кирьяченко², Н. О. Савичук¹, Н. Г. Горovenko¹

¹Национальная медицинская академия последилового образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина,

²ГУ «Референс-центр по молекулярной диагностике МЗ Украины», г. Киев, Украина

Ключевые слова:

кариес, гингивит, полиморфизм генетический, дети.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 154–160

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.2.141341

E-mail: itrubka@ukr.net

Цель работы – определение роли генетического компонента в развитии сочетанного течения кариеса и гингивита у детей.

Материалы и методы. В исследовании принимали участие 49 детей школьного возраста – 7–15 лет. Стоматологическое обследование провели по общепринятой методике. Дети были разделены в зависимости от активности кариозного процесса на две группы: КПУ 0–4 (компенсированный кариес – группа сравнения, n = 27) и КПУ 5–8 (субкомпенсированный кариес – основная группа, n = 22). В этих группах хронический генерализованный катаральный гингивит (ХГКГ) установлен у 8 (29,62 %) из 27 пациентов и 15 (68,18 %) из 22 пациентов соответственно. У детей провели биохимический анализ ротовой жидкости, который включал оценку содержания кальция, фосфора, активности кислой и щелочной фосфатаз, малонового диальдегида (МДА), каталазы. Молекулярно-генетическое исследование базировалось на выделении геномной ДНК из букального эпителия. Для определения полиморфных вариантов генов *GSTT1*, *GSTM1* использовали метод мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР), а для генов *IL-1β* (C3953T, rs1143634) и *MMP13* (A77G, rs2252070) – ПЦР с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов.

Результаты. Установлено, что вероятность развития кариеса у детей ассоциирована с наличием делеционного полиморфизма гена *GSTM1* в сочетании с полиморфным вариантом 3953CT по гену *IL-1β*. Показано, что развитие кариеса ассоциировано с ХГКГ, а указанную сочетанную стоматологическую патологию достоверно чаще диагностировали у пациентов с генотипами 3953CT и 3953TT по гену *IL-1β*. Наличие генотипа 3953CC по гену *IL-1β* у детей снижало вероятность развития данной сочетанной стоматологической патологии. Определено достоверное повышение показателя малонового диальдегида и снижение активности каталазы при наличии полиморфных вариантов 3953CT и 3953TT по гену *IL-1β*.

Выводы. Установлены генетические предикторы, повышающие вероятность развития сочетанной стоматологической патологии – субкомпенсированного кариеса и ХГКГ, которые патогенетически связаны с повышением активности и интенсивности поражения тканей пародонта у детей.

Ключові слова:

карієс, гінгівіт, поліморфізм генетичний, діти.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 154–160

Генетичні предиктори ризику розвитку поєднаного перебігу карієсу та хронічного катарального гінгівіту в дітей

І. О. Трубка, З. І. Россоха, С. П. Кир'яченко, Н. О. Савичук, Н. Г. Горovenko

Мета роботи – визначення ролі генетичного компонента в розвитку поєднаного перебігу карієсу та гінгівіту в дітей.

Матеріали та методи. В дослідженні брали участь 49 дітей шкільного віку – 7–15 років. Стоматологічне обстеження виконали за загальноприйнятою методикою. Дітей поділили залежно від активності кариозного процесу на дві групи: КПУ 0–4 (компенсований карієс – група порівняння, n = 27) і КПУ 5–8 (субкомпенсований карієс – основна група, n = 22). У цих групах хронічний генералізований катаральний гінгівіт (ХГКГ) виявили у 8 (29,62 %) із 27 пацієнтів і 15 (68,18 %) із 22 пацієнтів відповідно. У дітей виконали біохімічний аналіз ротової рідини, який включав оцінювання вмісту кальцію, фосфору, активності кислої та лужної фосфатаз, малонового діальдегіду (МДА), каталази. Молекулярно-генетичне дослідження базувалося на виділенні геномної ДНК із букального епітелію. Для визначення поліморфних варіантів генів *GSTT1*, *GSTM1* використовували метод мультиплексної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), а для генів *IL-1β* (C3953T, rs1143634) і *MMP13* (A77G, rs2252070) – ПЛР із наступним аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів.

Результати. Встановили, що вірогідність розвитку карієсу в дітей асоційована з наявністю делеційного поліморфізму гена *GSTM1* в поєднанні з поліморфним варіантом 3953CT за геном *IL-1β*. Показано, що розвиток карієсу асоційований із ХГКГ, а зазначену поєднану стоматологічну патологію вірогідно частіше виявляли в пацієнтів із генотипами 3953CT і 3953TT за геном *IL-1β*. Наявність генотипу 3953CC за геном *IL-1β* у дітей знижувала вірогідність розвитку цієї поєднаної стоматологічної патології. Визначили вірогідне підвищення показника малонового діальдегіду та зниження активності каталази за наявності поліморфних варіантів 3953CT і 3953TT за геном *IL-1β*.

Висновки. Виявили генетичні предиктори, що підвищують імовірність розвитку поєднаної стоматологічної патології – субкомпенсованого карієсу та ХГКГ, які патогенетично пов'язані з підвищенням активності та інтенсивності ураження тканин пародонта в дітей.

Key words:

dental caries, gingivitis, polymorphism genetic, child.

Pathologia 2018; 15 (2), 154–160

Genetic predictors of development risk of combined caries and chronic catarrhal gingivitis course in children

I. O. Trubka, Z. I. Rossokha, S. P. Kyriachenko, N. O. Savychuk, N. G. Gorovenko

The purpose of this work was to determine the role of the genetic component in the development of the combined course of caries and gingivitis in children.

Materials and methods. The study involved 49 schoolchildren aged 7–15 years. Dental examination was carried out according to the generally accepted method. The children were divided according to the carious process activity into two groups: 0–4 (compensated caries-comparison group) and 5–8 (subcompensated caries – main group). Chronic generalized catarrhal gingivitis (CGCG) was detected in these groups with frequency: 8 (29.62 %) of 27 patients and 15 (68.18 %) of 22 patients, respectively. Biochemical analysis of the oral fluid parameters, which included an assessment of calcium, phosphorus content, the activity of acid and alkaline phosphatases, malondialdehyde (MDA), catalase, was carried out for children. Molecular genetic research was based on the genomic DNA isolation from the buccal epithelium. To determine the polymorphic variants of *GSTT1*, *GSTM1* genes the method of multiplex polymerase chain reaction (PCR) was used and for the *IL-1β* (C3953T, rs1143634) and *MMP13* (A77G, rs2252070) gene s– PCR followed by restriction fragment length polymorphism analysis.

Results. The development chance of caries in children was associated with the *GSTM1* gene deletion polymorphism in combination with the 3953CT polymorphic variant in the *IL-1β* gene. It was shown, that the development of caries was associated with CGCG, and this combined dental pathology was more reliably detected in patients with 3953CT and 3953TT genotypes in the *IL-1β* gene. Significantly increased index of malonic dialdehyde and decreased catalase activity in the presence of 3953CT and 3953TT polymorphic variants in the *IL-1β* gene are determined.

Conclusions. Genetic predictors of increased development chance of combined dental pathology – subcompensated caries and CGCG, pathogenetically combined with increased activity and intensity of periodontal tissue damage among children, were revealed.

Распространенность кариеса во всех возрастных группах детей в Украине остается стабильно высокой: у 12-летних детей этот показатель достигает 72,7–91,4 %, а у 15-летних – 81,3–94,3 % [1]. К сожалению, в последнее время показателям распространенности кариеса не уступают показатели распространенности заболеваний тканей пародонта. Наличие заболеваний пародонта отмечают у 46,7–74,3 % при клиническом обследовании детей 9–15 лет, в 90,0–96,3 % случаев диагностируют хронический катаральный гингивит [2]. Из этого следует, что у 70–80 % детей школьного возраста одновременно диагностируют кариес и заболевания тканей пародонта. Сочетанное формирование этих заболеваний обусловлено единством патогенетических механизмов, прежде всего чрезмерной контаминацией поверхности зубов и десневой борозды патогенной микрофлорой и общими факторами риска: плохой гигиеной полости рта, микро- и макроэлементозами, отягощенной наследственностью [3]. Многофакторность развития кариеса и заболеваний тканей пародонта обосновывает современную концепцию профилактики этих заболеваний, которая включает разработку прогностических моделей их развития с учетом факторов риска. Применение молекулярно-генетических методов для понимания причин повышенного риска развития этих заболеваний вызывает интерес у многих исследователей. Развитие молекулярной биологии инициировало исследования генетических механизмов, которые модулируют развитие тканей зубов и пародонта, иммунный ответ, функции слюны или углеводный обмен, определяющих роль наследственных признаков в возникновении стоматологических заболеваний [4,5]. Несмотря на многочисленные исследования последних двух десятилетий, ни для одного гена не установили высоко достоверную и постоянно воспроизводимую ассоциацию с риском развития заболеваний тканей пародонта или кариеса. Учитывая факт, что большинство исследований обычно фокусируются на одном из этих компонентов, последующие работы должны основываться на изучении многофакторных взаимодействий, поскольку они могут влиять на развитие сочетанной патологии [6].

Цель работы

Определение роли генетического компонента в развитии сочетанного течения кариеса и гингивита у детей.

Материалы и методы исследования

В исследовании принимали участие 49 детей школьного возраста – от 7 до 15 лет. Стоматологическое обследование провели по общепринятой методике: жалобы, данные анамнеза, стоматологический статус. Индекс КПУ, гигиенические и пародонтальные индексы определяли в соответствии с возрастом ребенка. Детей разделили в зависимости от активности кариозного процесса на две группы: КПУ 0–4 (компенсированный кариес – группа сравнения, n = 27) и КПУ 5–8 (субкомпенсированный кариес – основная группа, n = 22). В этих группах хронический генерализованный катаральный гингивит (ХГКГ) установлен у 8 (29,62 %) из 27 пациентов и 15 (68,18 %) из 22 пациентов соответственно. Исходя из достоверного увеличения частоты распространения ХГКГ в основной группе ($\chi^2 = 7,23$, $p = 0,008$, OR=5,08; CI 95 % (1,51–17,23)) на момент включения в исследование, становится очевидным, что актуально изучение именно сочетанного течения данных стоматологических патологий у детей. У включенных в исследование детей проведен биохимический анализ показателей ротовой жидкости, который предусматривал оценку содержания кальция, фосфора, активности кислой и щелочной фосфатазы, малонового диальдегида (МДА), каталазы [7].

Молекулярно-генетическое исследование проведено в молекулярно-генетической лаборатории ГУ «Референс-центр по молекулярной диагностике МЗ Украины» и базировалось на выделении геномной ДНК из буккального эпителия. ДНК экстрагировали с использованием набора Quick-DNA Universal Kit согласно протоколу производителя («ZymoResearch», США). Для определения полиморфных вариантов генов *GSTT1*, *GSTM1* использовали метод мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР), а для генов *IL-1β* (C3953T, rs1143634) и *MMP13* (A77G, rs2252070) – ПЦР с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов. ПЦР про-

Таблиця 1. Олигонуклеотидные праймеры

Ген (полиморфизм)	Последовательность праймеров (5' – 3')	Размер амплифицированного участка ДНК
<i>MMP</i> (A77G)	F: GACAAATCATCTTCATCACC R: GATACGTTCTTACAGAAGGC	445 п.н.
<i>IL-1β</i> (C3953T)	F: GTTGTGCATCAGACTTTGACC R: TTCAGTTCATATGGACCAGA	249 п.н.
<i>GSTT1</i>	F: TTCCTTACTGGTCTCAGATCTC R: TCACCGGATCATGGCCAGCA	480 п.н.
<i>GSTM1</i>	F: GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC R: GTTGGGCTCAAATATACGGTGG	215 п.н.
Фрагмент гена альбумина	F: GCCCTCTGCTAACAGTCCTAG R: GCCCTAAAAGAAATCGCCAATC	350 п.н.

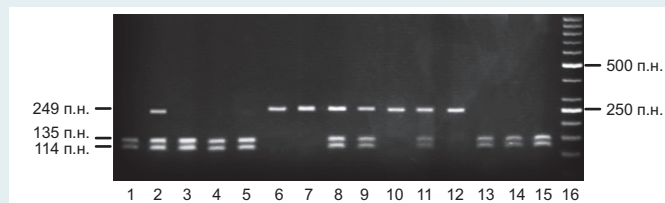


Рис. 1. Электрофореграмма распределения рестрикционных фрагментов гена *IL-1β* (C3953T). Образцы 1, 3, 4, 5, 13–15 – генотип CC; образцы 2, 8, 9, 11 – генотип CT; образцы 6, 7, 10, 12 – генотип TT, образец 16 – маркер молекулярного веса.

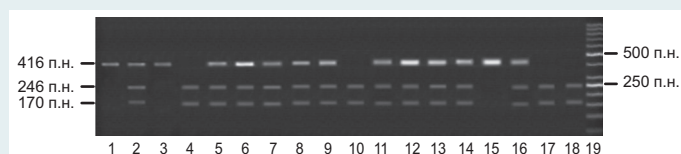


Рис. 2. Электрофореграмма распределения рестрикционных фрагментов гена *MMP13* (A77G). Образцы 1, 3, 15 – генотип AA; образцы 2, 5–9, 11–14, 16 – генотип AG; образцы 4, 10, 17, 18 – генотип GG; образец 19 – маркер молекулярного веса.

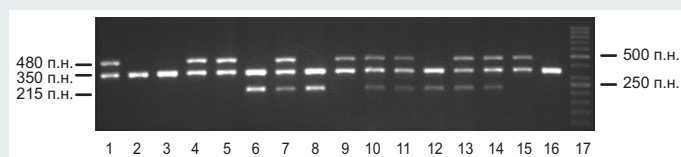


Рис. 3. Электрофореграмма распределения продуктов амплификации генов *GSTT1*, *GSTM1*. Образцы 1, 4, 5, 9, 15 – генотип *GSTT1* «аллель»/ *GSTM1* «делеция»; образцы 6, 8, 12 – генотип *GSTT1* «делеция»/ *GSTM1* «аллель»; образцы 2, 3, 16 – генотип *GSTT1* «делеция»/ *GSTM1* «делеция»; образцы 7, 10, 11, 13, 14 – генотип *GSTT1* «аллель»/ *GSTM1* «аллель».

водили на термоциклере «FlexCycler» (AnalyticJena, ФРГ) с соблюдением температурного режима реакции. Исследуемые участки генов амплифицировали с помощью специфических олигонуклеотидных праймеров («Metabion», ФРГ) указанных в таблице 1.

Продукты амплификации фрагментов ДНК генов *MMP13* (A77G) и *IL-1β* (C3953T) подлежали гидролитическому расщеплению с помощью эндонуклеаз рестрикции *BsrI*, *TaqI* («ThermoScientific», США) соответственно. Реакцию рестрикции участка гена *IL-1β* (C3953T) и *MMP13* (A77G) проводили в микро-термостате TDB-120 Dry Block Thermostat («Biosan», Латвия) при 65 °C в течение 12 часов. Реакцию ре-

стрикции участка гена *IL-1β* (C3953T) останавливали перемещением пробирок в штатив при комнатной температуре, а гена *MMP13* (A77G) – повышением температуры до 80 °C в течение 20 минут. Состояние фрагментов анализировали в 3 % агарозном геле (агароза фирмы «Cleaver Scientific», Великобритания) с добавлением бромистого этидия. Для оценки размера фрагментов использовали маркер молекулярного веса Gene Ruler 50bp DNALadder («Thermo Scientific», США) с визуализацией в системе гель-документации microDOC с УФ трансиллюминатором CLEAVER («Cleaver Scientific», Великобритания). Как видно на рис. 1, ампликоны гена *IL-1β* (C3953T) подлежали гидролитическому расщеплению по имеющемуся сайту рестрикции 5'-T ↓ CGA-3', в результате чего образовывались фрагменты с молекулярным весом 135 п.н. и 114 п.н. – генотип CC. Сайт рестрикции исчезал при нуклеотидной замене C на T в позиции 3953, поэтому при нуклеотиде T размер фрагмента амплифицированного участка ДНК после воздействия рестриктазы оставался неизменным – 249 п.н. Соответственно при генотипе CT на электрофореграмме наблюдали все три длины фрагментов одновременно: 249 п.н., 135 п.н. и 114 п.н.

На рис. 2 представлена электрофореграмма рестриктот гена *MMP13* (A77G). Гидролитическое расщепление амплифицированного участка ДНК рестриктазой происходило при наличии сайта рестрикции TGAC ↓ CN, вследствие чего образовывались фрагменты с молекулярным весом 246 п.н., 170 п.н. и 29 п.н. (генотип GG). Наличие амплифицированного фрагмента 416 п.н. и 29 п.н. (генотип AA). Размер фрагмента амплифицированного участка ДНК после воздействия рестриктазы – 416 п.н., 246 п.н., 170 п.н. и 29 п.н. (генотип AG).

На рис. 3 представлена электрофореграмма фрагментов ДНК после проведения мультиплексной ПЦР генов *GSTT1*, *GSTM1*. При наличии амплифицированного фрагмента ДНК 480 п.н. регистрировали генотип *GSTT1* «аллель» (аллельный полиморфизм), а при наличии фрагмента длиной 215 п.н. – *GSTM1* «аллель» (аллельный полиморфизм). При отсутствии фрагментов ДНК для генов *GSTT1* и *GSTM1* результат учитывали как «делеция» (делеционный полиморфизм). Качество выделения ДНК и условия постановки ПЦР контролировали, амплифицируя фрагмент гена альбумина с молекулярным весом 350 п.н. При отсутствии фрагмента альбумина в амплифицированном образце результаты не учитывали.

Статистическую обработку полученных данных провели с использованием программных пакетов SPSS17.0 («IBM SPSS Statistics 17 Free PC Software Full Version», USA) и MS Excel 2010 (лицензионный номер K93660931 2016). Биохимические и клинико-лабораторные показатели представлены в виде средние значения (M) ± стандартная ошибка среднего (SEM). Для сравнения средних использовали критерий Стьюдента. Достоверными считали различия при уровне значимости <0,05. Для оценки рисков использовали показатель OR – «отношение шансов» и его 95 % доверительный интервал (CI).

Таблица 2. Частота распределения полиморфных вариантов в группах сравнения

Ген / Полиморфизм	Генотипы	Группа сравнения (n = 27)		Основная группа (n = 22)		Результаты статистического анализа			
		n	%	n	%	χ^2	OR	95 % CI	p
GSTT1	allele	22	81,48	18	81,82	0,12	0,98	0,23–4,19	0,733
	deletion	5	18,52	4	18,18		1,02	0,24–4,38	
GSTM1	allele	9	33,33	11	50,00	0,79	0,50	0,16–1,59	0,374
	deletion	18	66,67	11	50,00		2,00	0,63–6,36	
IL-1 β C3953T	3953CT	8	29,63	10	45,45	0,71	0,51	0,16–1,64	0,398
	3953TT	2	7,41	2	9,09	0,10	0,80	0,10–6,19	0,756
	3953CT+TT	18	33,33	22	50,00	2,14	0,50	0,20–1,13	0,143
MMP13 A77G	77AA	10	37,04	10	45,45	0,09	0,71	0,22–2,22	0,761
	77AG	12	44,44	8	36,36	0,08	1,40	0,44–4,44	0,779
	77GG	5	18,52	4	18,18	0,12	1,02	0,24–4,38	0,733
	77AG+GG	17	62,96	12	54,55	0,09	1,42	0,45–4,46	0,761

Таблица 3. Частота распределения полиморфных вариантов в группах сравнения

Ген / Полиморфизм	Генотипы	Группа сравнения КПУ 0–4 без ХГКГ (n = 19)		Основная группа КПУ 5–8 с ХГКГ (n = 15)		Результаты статистического анализа			
		n	%	n	%	χ^2	OR	95CI	p
GSTT1	allele	19	100	11	73,33	3,46	-	-	0,063
	deletion	0	0,00	4	26,67		-	-	
GSTM1	allele	6	31,58	5	33,33	0,07	0,92	0,22–3,92	0,792
	deletion	13	68,42	10	66,67		1,08	0,26–4,60	
IL-1 β C3953T	3953CC	13	68,42	5	33,33	4,14	0,23	0,05–0,98	0,042*
	3953CT+TT	8	21,05	18	60,00	5,76	5,85	1,55–22,02	0,016*
MMP13 A77G	77AA	7	36,84	7	46,67	0,01	0,73	0,18–2,91	0,925
	AG+GG	19	50,00	13	43,33	1,60	0,36	0,10–1,29	0,205

*: p < 0,05.

Результаты

Проведен анализ генетического риска, обусловленного влиянием исследованных генов *GSTT1*, *GSTM1*, *IL-1 β* (C3953T) *MMP13* (A77G), в развитии активности кариеса у детей (табл. 2).

При сравнительном анализе частот полиморфных вариантов исследуемых генов в основной и группе сравнения достоверные отличия не установили, хотя другие исследования показывают наличие определенных ассоциаций. Так, для носителей мутантных аллелей гена *MMP13* продемонстрировано значительное снижение вероятности развития кариеса (OR = 0,538, 95 % CI 0,313–0,926) [8]. Многочисленные исследования подтверждают существующие представления о генетической склонности к кариесу и предполагают, что диапазон наследственности составляет от 40 % до 70 % [9]. Описано возможное влияние генов-кандидатов на восприимчивость к кариесу посредством контроля структуры твердых тканей зубов, свойств эмали и слюны, иммунитета, кальциево-фосфорного обмена, композиции микроорганизмов в полости рта, алиментарных предпочтений и других факторов [10–13]. Их идентификация и знание механизмов влияния имеют важное значение для полного понимания сущности кариозной болезни [14,15]. В то же время, несмотря на понимание важности геномики в развитии кариеса, из результатов исследований становится очевидным, что отдельные гены не могут быть представлены в качестве маркеров. Кариес – мультифакторное заболевание, природа которого

обусловлена комплексом экзогенных и эндогенных факторов риска [9].

Поэтому провели сравнительный анализ возможного влияния комбинаций полиморфных вариантов исследованных генов на вероятность развития кариеса, учитывая его мультифакторный патогенез. Из 124 возможных комбинаций генотипов по генам *GSTT1*, *GSTM1*, *IL-1 β* , *MMP13* значимым было только сочетание делеционного полиморфизма гена *GSTM1* с полиморфным вариантом 3953CT по гену *IL-1 β* ($\chi^2 = 4,55$, p = 0,033, OR = 4,85, 95% CI (1,29–18,15)), которое превалировало в основной группе и свидетельствует о возрастании вероятности развития кариеса при данной комбинации почти в 5 раз. Можно предположить, что влияние такого сочетания полиморфизма генов реализуется посредством свойств ротовой жидкости, которая, как известно, имеет различные защитные механизмы: иммунологические, ферментативные и система антиоксидантов [16,17].

Дальнейшее сравнение исследуемых групп в зависимости от сочетанного течения кариеса с хроническим генерализованным катаральным гингивитом показало достоверное отличие в частоте распространения полиморфных вариантов (табл. 3).

Среди детей группы сравнения без ХГКГ достоверно чаще отмечен полиморфный вариант 3953CC по гену *IL-1 β* ($\chi^2 = 4,14$, p = 0,042, OR = 0,23, 95 % CI (0,05–0,98)), а у детей основной группы с ХГКГ была увеличена частота распространенности полиморфных вариантов 3953CT и 3953TT

Таблица 4. Оценка влияния полиморфных вариантов гена *IL-1β* на биохимические показатели у детей с сочетанной патологией

Биохимические показатели	Генотипы	Группа сравнения КПУ 0–4 без ХГКГ (n = 19)	Основная группа КПУ 5–8 с ХГКГ (n = 15)
Кальций	3953CC	0,61 ± 0,16	0,65 ± 0,15
	3953CT+ TT	0,54 ± 0,15	0,74 ± 0,18
Фосфор	3953CC	4,98 ± 0,29	5,42 ± 0,52
	3953CT+ TT	5,00 ± 0,16	4,63 ± 0,56
Кислая фосфатаза	3953CC	0,30 ± 0,04	0,36 ± 0,10
	3953CT+ TT	0,31 ± 0,08	0,65 ± 0,11*
Щелочная фосфатаза	3953CC	0,35 ± 0,05	0,49 ± 0,10
	3953CT+TT	0,29 ± 0,08	0,61 ± 0,08*
Каталаза	3953CC	9,48 ± 1,15	8,39 ± 2,66
	3953CT+TT	10,54 ± 1,05	7,92 ± 0,58*
МДА	3953CC	0,21 ± 0,10	0,40 ± 0,11
	3953CT+TT	0,20 ± 0,06	0,95 ± 0,18*

*: p < 0,05.

($\chi^2 = 5,76$, $p = 0,016$, OR = 5,85, 95 % CI (1,55–22,02)). Полученные результаты свидетельствуют о наличии ассоциации полиморфного варианта 3953CC со снижением шансов развития ХГКГ, а у детей с полиморфными вариантами 3953CT и 3953TT увеличивается вероятность развития ХГКГ, то есть для реализации неблагоприятного эффекта достаточно даже одной аллели гена. В ряде исследований отмеченный эффект также нашел подтверждение. У носителей аллеля 3953T по гену *IL1β* в гомо- и гетерозиготном состояниях синтезируется повышенный уровень цитокина в ответ на определенные стимулы и развивается более интенсивная воспалительная реакция со склонностью к хронизации [18,19].

Для данных групп пациентов оценили комплексное влияние полиморфных вариантов по генам *GSTT1*, *GSTM1*, *IL-1β*, *MMP13* на шанс возникновения сочетанной патологии. Установлено, что аллель 3953T по гену *IL-1β* взаимосвязана с повышенным риском сочетанной стоматологической патологии у детей, и в комбинации с делеционным полиморфизмом гена *GSTT1* также был повышен ($\chi^2 = 4,48$, $p = 0,035$, OR = 5,42; 95 % CI (1,08–12,14)). Полученные результаты дают возможность утверждать, что комбинации полиморфизма генов глутатион-S-трансферазы *GSTT1*, *GSTM1* и *IL-1β*, играя важную роль в антиоксидантной, антиоксидантной и противовоспалительной защите, могут выступать в роли предикторов развития сочетанного течения кариеса и хронического катарального генерализованного гингивита.

Оценивали взаимосвязь полиморфных вариантов генов с клиническими показателями проявления воспаления в тканях пародонта и биохимическими показателями ротовой жидкости. В основной группе детей отмечена зависимость повышения показателя РМА от полиморфных вариантов генов *IL1β* и *MMP13*. Установлено, что при наличии полиморфного варианта 3953TT показатель РМА был достоверно хуже (24,10 ± 3,08), чем при полиморфном варианте 3953CC (14,20 ± 3,46) по гену *IL1β*. При полиморфном варианте 77GG (28,14 ± 2,88) показатель РМА был достоверно худшим по сравнению с полиморфным ва-

риантом 77AA (13,78 ± 4,54) по гену *MMP13*. Учитывая, что индекс РМА является показателем степени воспаления тканей пародонта, установленная взаимосвязь между РМА и полиморфным вариантом гена *IL1β* еще раз подтверждает, что наличие полиморфного варианта 3953TT увеличивает вероятность развития ХГКГ у детей. Наличие полиморфного варианта 77GG по гену *MMP13*, который регулирует процессы организации органической матрицы эмали, дентина и челюстных костей, увеличивает риск развития именно тяжелых форм заболеваний пародонта.

Установленные генетические эффекты указывают на известные по данным специализированной литературы патогенетические механизмы, вовлеченные в патологический процесс. У носителей одновременно мутантных аллелей -511T, +3953T гена *IL-1* и аллеля 2R гена *IL-1RN* клинические проявления заболеваний тканей пародонта имеют более выраженный характер, что, возможно, свидетельствует о возможном сочетанном генетическом влиянии, тогда как эффект одного гена может быть незначительным [18,20,21]. Согласно некоторым авторам, при наличии гетерозиготного полиморфного варианта A77G по гену *MMP13* наблюдают повышение расщепления белков межклеточного матрикса и, как следствие, возрастает склонность к повышенной деструкции тканей пародонта [19,22].

В нашем исследовании у детей основной группы с ХГКГ отмечено достоверное повышение показателей уровней кислой и щелочной фосфатазы при полиморфных вариантах 3953CT и 3953TT гена *IL1β*, в отличие от группы сравнения без ХГКГ (табл. 4). Кислая и щелочная фосфатазы принимают участие в фосфорно-кальциевом обмене, тем самым обеспечивая минерализацию костей и зубов. Общеизвестно, что активность этих ферментов при воспалительных заболеваниях полости рта, в том числе некоторых форм гингивитов, резко повышается. Это связано, прежде всего, с нарушением стабилизации лизосомальных и клеточных мембран и выходом гидролитических ферментов в процессе воспаления под действием его медиаторов, активируемых микробными агентами [23,24].

Для основной группы детей с ХГКГ характерно достоверное повышение показателя МДА и снижение каталазы при наличии полиморфного варианта 3953CT+TT (0,95 ± 0,18 и 7,92 ± 0,58 соответственно) в отличие от группы сравнения без ХГКГ. Повышенный уровень МДА – одно из неблагоприятных последствий перекисного окисления липидов, накопление которого отражает степень оксидативного стресса в организме, о чем свидетельствуют низкие значения активности каталазы (табл. 4). Оценка этого показателя необходима для определения причин и механизмов развития того или иного патологического процесса [25].

Исследованные гены могут выступать в качестве предикторов, повышающих вероятность возникновения сочетанного течения субкомпенсированного кариеса и хронического катарального гингивита у детей, но, учитывая мультифакторную природу кариеса и заболеваний тканей пародонта, реализация их влияния определяется изменяемыми экзогенными и эндогенными факторами риска.

Выводы

1. Установлено, что вероятность развития кариеса возрастала при наличии у пациента комбинации делеционного полиморфизма гена *GSTM1* и полиморфного варианта 3953CT по гену *IL-1β* ($\chi^2 = 4,55$, $p = 0,033$, OR = 4,85, 95 % CI (1,29–18,15)).

2. Показано, что развитие кариеса ассоциировано с ХГКГ, а указанную сочетанную стоматологическую патологию достоверно чаще диагностировали у пациентов с генотипами 3953CT и 3953TT по гену *IL-1β* ($\chi^2 = 5,76$, $p = 0,016$, OR = 5,85, 95 % CI (1,55–22,02)), наличие генотипа 3953CC по гену *IL-1β* ($\chi^2 = 4,14$, $p = 0,042$, OR = 0,23, 95 % CI (0,05–0,98)) у детей свидетельствовало о протективном влиянии на сочетанную стоматологическую патологию.

3. Установлено, что аллель 3953T по гену *IL-1β* взаимосвязана с повышенным риском сочетанной стоматологической патологии у детей и в комбинации с делеционным полиморфизмом гена *GSTT1* повышает вероятность развития данной патологии.

4. Отмечено достоверное повышение показателя малонового диальдегида и снижение каталазы при наличии полиморфных вариантов 3953CT и 3953TT по гену *IL-1β*, а также повышение активности и интенсивности поражения тканей пародонта (индекс РМА) у детей с сочетанной стоматологической патологией.

Перспективы дальнейших исследований состоят в разработке индивидуализированных схем профилактики и лечения кариеса и хронического генерализованного катарального гингивита у детей с учетом генетических предикторов сочетанной стоматологической патологии у детей.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Сведения об авторах:

Трубка И. А., канд. мед. наук, доцент, зав. каф. стоматологии детского возраста, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина.

Россоха З. И., канд. мед. наук, директор ГУ «Референс-центр по молекулярной диагностике МЗ Украины», г. Киев.

Кирьяченко С. П., канд. биол. наук, биолог молекулярно-генетической лаборатории, ГУ «Референс-центр по молекулярной диагностике МЗ Украины», г. Киев.

Савичук Н. О., д-р мед. наук, профессор каф. стоматологии детского возраста, проректор по научной работе, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина.

Горovenko Н. Г., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. медицинской и лабораторной генетики, чл.-корр. НАМН Украины, Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина.

Відомості про авторів:

Трубка І. О., канд. мед. наук, доцент, зав. каф. стоматології дитячого віку, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Россоха З. І., канд. мед. наук, директор ДЗ «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України», м. Київ.

Кир'яченко С. П., канд. біол. наук, біолог молекулярно-генетичної лабораторії, ДЗ «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України», м. Київ.

Савичук Н. О., д-р мед. наук, професор каф. стоматології дитячого віку, проректор з наукової роботи, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Горovenko Н. Г., д-р мед. наук, професор, зав. каф. медичної та лабораторної генетики, чл.-кор. НАМН України, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Information about authors:

Trubka I. O., MD, PhD, Associate Professor, Head of the Department of Children's Dentistry, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine. Rossokha Z. I., MD, PhD, Director of State Institution "Reference-Centre for molecular diagnostic of Public Health Ministry of Ukraine", Kyiv.

Kyriachenko S. P., PhD in Biology, Biologist of Molecular-Genetic laboratory, State Institution "Reference-Centre for molecular diagnostic of Public Health Ministry of Ukraine", Kyiv.

Savychuk N. O., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Children's Dentistry, Pro-Rector for Science, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine. Gorovenko N. G., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Medical and Laboratory Genetics, Corresponding Member of the NAMS of Ukraine, Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 09.04.2018

Після доопрацювання / Revised: 23.04.2018

Прийнято до друку / Accepted: 26.04.2018

Список литературы

- Хоменко Л.О. Екологічні аспекти стоматологічних захворювань у дітей / Л.О. Хоменко, О.І. Остапко, О.В. Дуда // Клінічна стоматологія. – 2011. – №1–2. – С. 53–63.
- Попович З.Б. Поширеність захворювань пародонту у дітей, які проживають на екологічно забруднених територіях / З.Б. Попович, Г.В. Кіндрат, Г.О. Трушик // Вісник стоматології. – 2010. – №2. – С. 32–37.
- Савичук Н.О. Дисбиоз и воспаление в комплексной терапии хронического генерализованного катарального гингивита у детей школьного возраста / Н.О. Савичук, О.А. Марченко // Современная стоматология. – 2015. – №3. – С. 46–50.
- Genome-wide association scan for childhood caries implicates novel genes / J.R. Schaffer, X. Wang, E. Feingold, et al // Journal of Dental Research. – 2011. – Vol. 90(12). – P. 1457–1462.
- Penes N.O. Role of genetic polymorphism in nutritional supplementation therapy in personalized medicine / N.O. Penes, B. Weber, S.D. Paun // Rom J Morphol Embryol. – 2017. – Vol. 58(1). – P. 53–58.
- Piekoszewska-Ziętek P. Single Nucleotide Polymorphism in the Aetiology of Caries: Systematic Literature Review / P. Piekoszewska-Ziętek, A. Turska-Szybka, D. Olczak-Kowalczyk // CariesRes. – 2017. – Vol. 51(4). – P. 425–435.
- Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А.М. Горячковский. – 3-е изд., испр. и доп. – Одесса : Экология, 2005. – 607 с.
- MMP13 polymorphism decreases risk for dental caries / P.N. Tannure, E.C. Küchler, P. Falagan-Lotsch et al. // Caries Research. – 2012. – Vol. 46. – P. 401–407.
- Divaris K. Precision Dentistry in Early Childhood The Central Role of Genomics / K. Divaris // Dent Clin N Am. – 2017. – Vol. 61(3). – P. 619–625.
- Gene-environment interactions in the Etiology of Dental Caries / G. Yildiz, R.B. Ermis, N.S. Calapoglu, et al. // Journal of Dental Research. – 2016. – Vol. 95(1). – P. 74–79.
- A Polymorphism in the MTRR Gene Is Associated with Early Childhood Caries and Underweight / L.A.A. Antunes, C.M.C. Machado, A.C.K. Couto, et al. // Caries Res. – 2017. – Vol. 51. – P. 102–108.
- Genes Involved in the Enamel Development Are Associated with Calcium and Phosphorus Level in Saliva / E.C. Küchler, G.D. Pecharki, M.L. Castro et al. // Caries Res. – 2017. – Vol. 51. – P. 225–230.
- Piekoszewska-Ziętek P. Single Nucleotide Polymorphism in the Aetiology of Caries: Systematic Literature Review / P. Piekoszewska-Ziętek, A. Turska-Szybka, D. Olczak-Kowalczyk // Caries Res. – 2017. – Vol. 51. – P. 425–435.
- Opal S. Genetic factors affecting dental caries risk / S. Opal, S. Garg, J. Jain, I. Wallia // Aust Dent J. – 2015. – Vol. 60. – P. 2–11.

- [15] Genetic and environmental factors associated with dental caries in children: the Iowa Fluoride Study / X. Wang, M.C. Willing, M.L. Marazita, et al. // *Caries Res.* – 2012. – Vol. 46. – P. 177–184.
- [16] Spinei A. State of antioxidant system glutathione – glutathione S-transferase in deep fluoridation of tooth enamel in children with high risk of dental caries / A. Spinei, L. Gavriluc, Iu. Spinei // *Curierul medical.* – 2015. – Vol. 58(3). – P. 3–5.
- [17] Total antioxidant capacity of saliva and dental caries / F. Ahmadi-Motamayel, M.T. Goodarzi, S.S. Hendi et al. // *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* – 2013. – Vol. 18(4). – P. 553–556.
- [18] Karimbux N.Y. Interleukin-1 Gene Polymorphisms and Chronic Periodontitis in Adult Whites: A Systematic Review and Meta-Analysis / N.Y. Karimbux, V.M. Saraiya // *J. Periodontology.* – 2012. – Vol. 83. – №11. – P. 1407–1419.
- [19] Prioritization of Candidate Genes for Periodontitis Using Multiple Computational Tools / Y. Zhan, R. Zhang, X. Song, et al. // *J. Periodontology.* – 2014. – Vol. 85(8). – P. 1059–1069.
- [20] Гасюк Н.В. Сучасні уявлення про етіологію та патогенез хвороб пародонту / Н.В. Гасюк, Г.А. Єрошенко, О.В. Палій // *Світ медицини та біології.* – 2013. – №2(38). – С. 207–211.
- [21] Interleukin-1 Genetic Association With Periodontitis in Clinical Practice / M.J. McDevitt, Dr. H.-Y. Wang, C. Knobelmann, et al. // *Journal of Periodontology February.* – 2000. – Vol. 71(2). – P. 156–163.
- [22] Jain A. Role of matrix metalloproteinase in dental caries, pulp and periapical inflammation: an overview / A. Jain, R. Bahuguna // *Journal of oral biology and craniofacial research.* – 2015. – Vol. 5. – P. 212–218.
- [23] Dabra S. Evaluating the levels of salivary alkaline and acid phosphatase activities as biochemical markers for periodontal disease: A case series / S. Dabra, P. Singh // *Dent Res J (Isfahan).* – 2012. – Vol. 9(1). – P. 41–45.
- [24] Сирак С.В. Динамика биохимических показателей ротовой жидкости у детей и подростков при использовании разработанного зубного эликсира / С.В. Сирак, А.Г. Сирак, И.М. Быков // *Стоматология детского возраста и профилактика.* – 2013. – Т. 12. – №4(47). – С. 61–65.
- [25] Tóthová L. Salivary markers of oxidative stress in oral diseases / L. Tóthová, N. Kamodyová, T. Červenka, P. Celec // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2015. – Vol. 5. – P. 73.
- [12] Kuchler, E. C., Pecharki, G. D., Castro, M. L., Ramos, J., Barbosa, Jr. F., Brancher, J. A., et al. (2017) Genes Involved in the Enamel Development Are Associated with Calcium and Phosphorus Level in Saliva. *Caries Res*, 51(3), 225–230 doi: 10.1159/000450764.
- [13] Piekoszewska-Ziętek, P., Turska-Szybka, A., & Olczak-Kowalczyk, D. (2017) Single Nucleotide Polymorphism in the Aetiology of Caries: Systematic Literature Review. *Caries Res*, 51(4), 425–435. doi: 10.1159/000476075.
- [14] Opal, S., Garg, S., Jain, J., & Walia, I. (2015) Genetic factors affecting dental caries risk. *Aust Dent J*, 60(1), 2–11. doi: 10.1111/adj.12262.
- [15] Wang, X., Willing, M. C., Marazita, M. L., Wendell, S., Warren, J. J., Broffitt, B., et al. (2012) Genetic and environmental factors associated with dental caries in children: the Iowa Fluoride Study. *Caries Res*, 46(3), 177–184. doi: 10.1159/000337282.
- [16] Spinei, A., Gavriluc, L., & Spinei, Iu. (2015) State of antioxidant system glutathione – glutathione S-transferase in deep fluoridation of tooth enamel in children with high risk of dental caries. *Curierul medical*, 58(3), 3–5.
- [17] Ahmadi-Motamayel, F., Goodarzi, M. T., Hendi, S. S., Kasraei, S., & Moghimbeigi, A. (2013) Total antioxidant capacity of saliva and dental caries. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 18(4), 553–556. doi: 10.4317/medoral.18762.
- [18] Karimbux, N. Y., & Saraiya, V. M. (2012). Interleukin-1 Gene Polymorphisms and Chronic Periodontitis in Adult Whites: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Periodontology*, 83(11), 1407–1419. doi: 10.1902/jop.2012.110655.
- [19] Zhan, Y., Zhang, R., Lv, H., Song, X., Xu, X., Chai, L., et al. (2014) Prioritization of Candidate Genes for Periodontitis Using Multiple Computational Tools. *J Periodontology*, 85(8), 1059–1069. doi: 10.1902/jop.2014.130523.
- [20] Gasyuk, N. V., Yeroshenko, G. A., & Paliy, E. V. (2013) Suchasni uiaavlennia pro etiologiiu ta patohenez khvorob parodontu [Modern idea about etiology and pathogenesis of paradontal tissues' diseases]. *Svit medytyny ta biolohii*, 2(38), 207–211. [in Ukrainian].
- [21] McDevitt, M. J., Wang, H. -Y., Knobelmann, C., Newman, M. G., di Giovine, F. S., Timms, J., et al. (2000) Interleukin-1 Genetic Association With Periodontitis in Clinical Practice. *Journal of Periodontology*, 71(2), 156–163. doi: 10.1902/jop.2000.71.2.156.
- [22] Jain, A., & Bahuguna, R. (2015) Role of matrix metalloproteinase in dental caries, pulp and periapical inflammation: an overview. *Journal of oral biology and craniofacial research*, 5(3), 212–218. doi: 10.1016/j.jobcr.2015.06.015.
- [23] Dabra, S., & Singh, P. (2012) Evaluating the levels of salivary alkaline and acid phosphatase activities as biochemical markers for periodontal disease: A case series. *Dent Res J (Isfahan)*, 9(1), 41–45. doi: 10.4103/1735-3327.92942.
- [24] Sirak, S. V., Sirak, A. G., & Bykov, I. M. (2013) Dinamika biokhimicheskikh pokazatelej rotovoj zhidkosti u detej i podrostkov pri ispol'zovanii razrabotannogo zubnogo e'liksira [Dynamics of biochemical parameters oral liquid of children and youth from the use of the newly developed mouth wash]. *Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika*, 12(47), 61–65. [in Russian].
- [25] Tóthová, L., Kamodyová, N., Červenka, T., & Celec, P. (2015) Salivary markers of oxidative stress in oral diseases. *Front. Cell. Infect. Microbiol*, 5, 73. doi: 10.3389/fcimb.2015.00073.

References

Research of distribution pattern of allelic genes and genotypes of C/A polymorphism of COL1A1_1 collagen gene (RS1107946) in children with nasal obstruction of allergic genesis and orthodontic pathology

T. Ye. Shumna, O. M. Kamyshnyi, T. P. Zinchenko

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Purpose. Determination of the genotypes of C/A polymorphism of COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) and patterns of distribution of allelic genes in children with nasal obstruction and orthodontic pathology.

Materials and methods. A molecular-genetic study for determination of C/A polymorphism of COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) was performed in 99 children at the age of 6 to 17 years, for 11 months and 30 days inclusive; 30 children of which had nasal obstruction due to allergic rhinitis without abnormal distal occlusion (the first group); 23 children had just the distal occlusion (the second group); 26 children had allergic rhinitis and distal occlusion (the third group); 20 almost healthy children (the fourth group). Genotyping was performed by the polymerase chain reaction method (Applied Biosystems, USA) using the total DNA samples isolated from whole venous blood using a set of reagents SNP-Screen (Syntol manufacturer) on the CFX96TM Real-Time PCR Detection Systems amplifier (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Non-parametric statistic methods of the licensed software package Statistica for Windows 6.1.RU, serial number AXXR712D833214SAN5 was used for processing the research results.

Results. Molecular-genetic study of the distribution patterns of allelic genes and genotypes of the C/A polymorphism of the COL1A1_1 (rs1107946) collagen gene in the examined children showed that the frequency of occurrence of the C allele was significantly higher than the A allele (71.72 % and 28.28 %, respectively). In this case, the homozygous C/C genotype was registered most often (68.69 %), homozygous genotype A/A (25.25 %) was rarely registered and heterozygous C/A (6.06 %) was very rarely registered. In the observation groups, in children with allergic rhinitis, distal occlusion and a combination of allergic and orthodontic pathology, the genotypes had the following distribution: the C/C genotype – 76.67 %; 34.78 %; 73.00 %; A/A genotype – 20.00 %; 56.52 %; 17.39 %; A/C genotype – 3.33 %; 8.70 %; 11.54 %. The occurrence frequency of alleles of the C/A polymorphism of the COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) in the examined children showed that the children with distal occlusion were significantly frequent carriers of A allele (60.87 %), whereas the carriers of C allele were predominantly children with allergic rhinitis (78.33 %), with combined allergic and orthodontic pathology (78.85 %) and healthy (90.00 %), $P < 0.05$. The correlation between the results of the study conducted in groups of children with the distal occlusion and practically healthy showed that the sensitivity of the presence of A allelic gene was equal to 60.87 %, specificity – 90.00 %, accuracy – 61.54 %. Since the sensitivity and specificity of the diagnostic test exceeded 50.00 %, the prognostic value for the positive result was equal to 87.50 % and for the negative result – 66.67 % and confirm this prognostic significance for the development of the orthodontic pathology in children. This will allow improving the preventive measures in children with orthodontic pathology.

Conclusions. The molecular-genetic studies for determining the A allele (rs1107946) of the COL1A1_1 collagen gene in children could be recommended to determine the risk of development and the need for early prevention of the distal occlusion in children.

Key words:

alleles, genotype, collagen, distal occlusion, allergic rhinitis, children.

Pathologia

2018; 15 (2), 161–168

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.2.141355

E-mail:

tshumnaya72@gmail.com

Дослідження закономірностей розподілу алельних генів і генотипів поліморфізму С/А гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) у дітей із назальною обструкцією алергічного генезу та ортодонтичною патологією

Т. Є. Шумна, О. М. Камишний, Т. П. Зінченко

Мета роботи – визначення генотипів поліморфізму С/А гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) і закономірностей розподілу алельних генів у дітей із назальною обструкцією алергічного генезу та ортодонтичною патологією.

Матеріали та методи. Молекулярно-генетичне дослідження для визначення поліморфізму С/А гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) здійснили у 99 дітей віком від 6 до 17 років, 11 місяців 30 днів включно; із них 30 дітей з назальною обструкцією внаслідок алергічного риніту без аномального дистального прикусу (I група); 23 дитини тільки з дистальним прикусом (II група спостереження); 26 дітей з алергічним ринітом та дистальним прикусом (III група спостереження); 20 практично здорових дітей (IV, контрольна група). Генотипування виконали методом полімеразної ланцюгової реакції згідно з інструкцією (Applied Biosystems, USA) з використанням зразків тотальної ДНК, котра виділена з цільної венозної крові, з використанням набору реагентів «SNP-Скрін» (виробник «Syntol») на ампліфікаторі CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Для статистичного аналізу результатів дослідження використали непараметричні методи статистики ліцензійного пакета програм Statistica for Windows 6.1.RU, серійний номер AXXR712D833214SAN5.

Результати. Молекулярно-генетичне дослідження закономірностей розподілу алельних генів і генотипів поліморфізму С/А гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) в обстежених дітей показало, що частота виявлення алеля С була вірогідно більшою, ніж алеля А (71,72 % та 28,28 % відповідно). При цьому найбільш часто реєстрували гомозиготний генотип

Ключові слова:

алельні гени, генотип, колаген, дистальний прикус, алергічний риніт, діти.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 2(43). – С. 161–168

C/C (68,69 %), рідше – гомозиготний генотип A/A (25,25 %) і дуже рідко – гетерозиготний C/A (6,06 %). У групах спостереження у дітей з алергічним ринітом, дистальним прикусом і з поєднанням алергічної та ортодонтічної патологій генотипи мали такий розподіл: генотип C/C – 76,67 %; 34,78 %; 73,00 %; генотип A/A – 20,00 %; 56,52 %; 17,39 %; генотип A/C – 3,33 %; 8,70 %; 11,54 %. Аналіз частоти виявлення алелей поліморфізму C/A гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) показав: діти з фенотиповими ознаками дистального прикусу вірогідно частіше були носіями алеля A (60,87 %), а носіями алеля C переважно були діти з алергічним ринітом (78,33 %), з поєднаною алергічною та ортодонтічною патологіями (78,85 %) і здорові (90,00 %), $p < 0,05$. Прогностична чутливість наявності алельного гена A в розвитку дистального прикусу в дітей становила 60,87 %, специфічність – 90,00 %, точність – 61,54 % (перевищували 50,00 %), прогностична цінність для позитивного результату становила 87,50 %, для від'ємного – 66,67 %, що підтверджувало його прогностичну значущість у визначенні ризику розвитку ортодонтічної патології в дітей із наданням більшої можливості рано й ефективно вживати профілактичні заходи.

Висновки. Молекулярно-генетичне дослідження з визначенням алеля A (rs1107946) гена колагену COL1A1_1 у дітей можна рекомендувати для визначення ризику розвитку та необхідності ранньої профілактики дистального прикусу в дітей.

Ключевые слова:

аллельные гены, генотип, коллаген, дистальный прикус, аллергический ринит, дети.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 161–168

Исследование закономерностей распределения аллельных генов и генотипов полиморфизма C/A гена колагена COL1A1_1 (rs1107946) у детей с назальной обструкцией аллергического генеза и ортодонтической патологией

Т. Е. Шумная, А. М. Камышный, Т. П. Зинченко

Цель работы – определение генотипов полиморфизма C/A гена колагена COL1A1_1 (rs1107946) и закономерностей распределения аллельных генов у детей с назальной обструкцией аллергического генеза и ортодонтической патологией.

Материалы и методы. Молекулярно-генетическое исследование для определения полиморфизма C/A гена колагена COL1A1_1 (rs1107946) проведено у 99 детей в возрасте от 6 до 17 лет, 11 месяцев, 30 дней включительно; из них 30 детей с назальной обструкцией аллергического генеза без аномального дистального прикуса (I группа); 23 ребенка только с дистальным прикусом (II группа); 26 детей с аллергическим ринитом и дистальным прикусом (III группа); 20 практически здоровых детей (IV, контрольная группа). Генотипирование проведено методом полимеразной цепной реакции согласно инструкции (Applied Biosystems, USA) с использованием образцов тотальной ДНК, выделенной из цельной венозной крови, с использованием набора реагентов «SNP-Скрин» (производитель «Syntol») на амплификаторе CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Для статистического анализа результатов исследования использованы непараметрические методы статистики лицензионного пакета программ Statistica for Windows 6.1.RU, серийный номер AXXR712D833214SAN5.

Результаты. Молекулярно-генетическое исследование закономерностей распределения аллельных генов и генотипов полиморфизма C/A гена колагена COL1A1_1 (rs1107946) у обследованных детей показало, что частота встречаемости аллеля C была достоверно выше, чем аллеля A (71,72 % и 28,28 %, соответственно). При этом наиболее часто регистрировали гомозиготный генотип C/C (68,69 %), реже был выявлен гомозиготный генотип A/A (25,25 %), очень редко – гетерозиготный C/A (6,06 %). В группах наблюдения у детей с аллергическим ринитом, дистальным прикусом и сочетанием аллергической и ортодонтической патологий генотипы имели следующее распределение: генотип C/C – 76,67 %; 34,78 %; 73,00 %; генотип A/A – 20,00 %; 56,52 %; 17,39 %; генотип A/C – 3,33 %; 8,70 %; 11,54 %. Анализ частоты встречаемости аллелей полиморфизма C/A гена колагена COL1A1_1 (rs1107946) показал: дети с фенотипическими признаками дистального прикуса достоверно чаще были носителями аллеля A (60,87 %), а носителями аллеля C преимущественно были дети с аллергическим ринитом (78,33 %), с сочетанной аллергической и ортодонтической патологией (78,85 %) и здоровые (90,00 %), $p < 0,05$. Прогностическая чувствительность наличия аллельного гена A в развитии дистального прикуса у детей составила 60,87 %, специфичность – 90,00 %, точность – 61,54 % (превышали 50,00 %), прогностическая ценность для положительного результата составила 87,50 %, для отрицательного – 66,67 %, что подтверждало его прогностическую значимость при определении риска развития ортодонтической патологии у детей для более раннего и эффективного проведения профилактических мероприятий.

Выводы. Молекулярно-генетическое определение аллеля A (rs1107946) гена колагена COL1A1_1 у детей может быть рекомендовано для определения риска развития и необходимости ранней профилактики дистального прикуса у детей.

Introduction

Recently, the interest of both medical academics and practitioners to understanding of the genetic aspects of the formation of various diseases in children, including both somatic and orthodontic pathology, has grown significantly. Nowadays one of the most common maxillary dental anomalies in children is a distal occlusion, the frequency of which ranges from 34.8 % to 52.6 %, and one of the leading etiological factors in the formation of distal occlusion is heredity and violation of the nasal type of respiration, that is nasal obstruction [1,2]. The

individual differences in the child's phenotype with orthodontic pathology and/or nasal obstruction are caused by genes polymorphisms, and polymorphic genes are genes that are represented in the population by many alleles (various forms of the same gene), which causes the diversity of intrinsic features [3]. Typical examples of phenotypic manifestations of orthodontic pathology and nasal obstruction in children can be the following known stigma of dysembryogenesis, such as anomalies of the nasopharyngeal and oral structure, hypoplasia of one half of the nose, distortion of the nasal septum, hypoplasia of the nose, shortening or lengthening of the distance from

the tip of the nose to the upper lip, the upper jaw displacement forward and backward due to actual changes in size or relative growth inconsistency of the upper and lower jaws – prognathia and retrognathia, similar anomalies of the lower jaw – progenia, or lower prognathia and microgenia, increase and decrease in the size of the mouth – macrostomy and microstomy, teeth – macrodontia and microdontia, reduced number and complete absence of teeth – adentia, oligodontia, the presence of gap between the central incisors – diastema, high growth disturbance and teeth overcrowding, growth of teeth outside the tooth row, “Gothic” high arch-like palate and various bite anomalies [4]. Most often, they are caused by various hereditary syndromes, including those associated with genes mutations of collagen of the first type (COL1A1), such as Ehlers-Danlos syndrome, of the first and seventh types and Ehlers-like phenotype; Marfan syndrome and Marfan-like phenotype or Marfanoid appearance; imperfect osteogenesis; syndrome of connective tissue dysplasia [5–9].

Collagen is a fibrillar protein that forms the basis of the connective tissue of the body and the main insoluble protein in the teeth tissues. More than 90 % of collagen is collagen of the first type, which is the main protein element of the skin, blood vessels, tendons, cartilage, bones, teeth and which provides them with the greatest strength and elasticity under mechanical stress [10]. Therefore the gene mutations, responsible for collagen which forms the connective tissue, promote the development of connective tissue dysplasia syndrome, one of the phenotypic manifestations of which is the development of an orthodontic pathology and an irregular occlusion in children.

The special role of collagen in the functioning of the human teeth-jaw system is also connected with the fact that the teeth in the wells of the alveolar processes are fixed with periodontal bonds, formed precisely by collagen fibers [11]. At the same time, the formation of orthodontic pathology in children, including distal occlusion as well, may also be due to nasal obstruction of allergic genesis. Nowadays, the incidence of allergic rhinitis in children reaches from 10 % to 40 % in urbanized large cities [12]. Year-round or even seasonal rhinitis leads to the fact that the nose is permanently clogged or has secretions and the baby always breathe through the mouth. When breathing through the mouth, the upper jaw narrows, the high palate is formed, the form of the jaw arches changes and distal occlusion is formed [2].

Therefore, at present stage, to understand development genesis of orthodontic pathology and to evaluate the individual differences in the phenotype it is necessary to perform molecular-genetic research in order to determine the collagen gene polymorphism and bone marrow metabolism (COL1A1), that will allow to predict the developmental risks and prevention of distal occlusion in children. It is known that the preventive orthodontic, myotherapeutic and other exercises are conducted during the specific age and are aimed at the prevention of the stable occlusion disorders. The occlusion abnormalities prophylaxis is prevention, detection and elimination of the risk factors of dento-gnathic abnormalities occurrence at the stage of the child's growth and development. The first prophylaxis period may be conducted before the child

conceiving during the medico-genetic parents consultation. In the second pre-natal period much attention is paid to the health condition and food ration of the pregnant which is very essential for the normal development of the child and its dental apparatus. In the third lactation period during the first 6 months of the child's life the breastfeeding is of utmost importance for the correct development of the child's dento-gnathic system, and if there is no such possibility the teats shall be used which, by their form and elasticity are similar to the breast nipple. The child should not suck its fingers, tongue and fist, in extreme cases the “orthodontic” teats shall be used. It is also necessary to accustom the child to the right position in its bed during sleeping. In the fourth period (from 6 months to 2.0–2.5 years) of the temporary occlusion and during the fifth changeable occlusion period (6–13 years) the children should be provided with optimal conditions for the normal growth and development of the dento-gnathic apparatus with the prevention of the calcium exchange disorders and diseases of nose, nasopharynx and larynx, mouth cavity including the teeth and gums. The children shall be taught how to brush their teeth correctly and quickly, mill the solid food with their teeth, as well as dry bread, crude vegetables and fruits. For the stimulation of the growth of underdeveloped sections of jaws and normalization of the correlation of the teeth range the myogymnastics is prescribed which includes special exercises for chewing and mimic muscles and special orthodontic equipment. In the sixth period of the permanent occlusion (starting from 13 years) it is necessary to continue sanitizing the oral cavity in time, provide for the normal nasal breathing and appropriate nutrition, continue the myogymnastics and, if necessary, conduct the apparatus treatment [2]. The molecular-genetic research will allow considering the risks of the development and will improve the preventive measures of the children's disto-occlusion especially during the periods of the child's growth when the external symptoms of dento-gnathic abnormalities are invisible or they are minimal as yet.

Purpose

Determination of the genotypes of C/A polymorphism of COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) and patterns of distribution of allelic genes in children with nasal obstruction and orthodontic pathology.

Materials and methods

A molecular-genetic study for determination of C/A polymorphism of COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) was performed in 99 children at the age of 6 to 17 years, for 11 months, 30 days inclusive; 30 children of which had nasal obstruction due to allergic rhinitis without abnormal distal occlusion (the first group); 23 children had just the distal occlusion (the second group); 26 children had allergic rhinitis and distal occlusion (the third group); 20 almost healthy children (the fourth group). All the groups were compared by age and sex ($P > 0.05$) examined by doctors (allergist and orthodontist) who, when establishing the appropriate diagnosis, were guided by data from general clinical and introspective surveys and the requirements of the current orders of the Ministry of

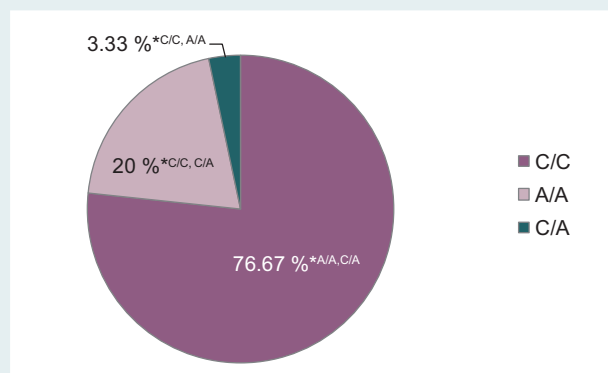


Fig. 1. Distribution of the COL1A1_1 collagen gene genotypes in children with nasal obstruction caused by allergic rhinitis (*C/C, A/A, C/A; reliability of the difference between the corresponding groups of children, $P < 0.05$).

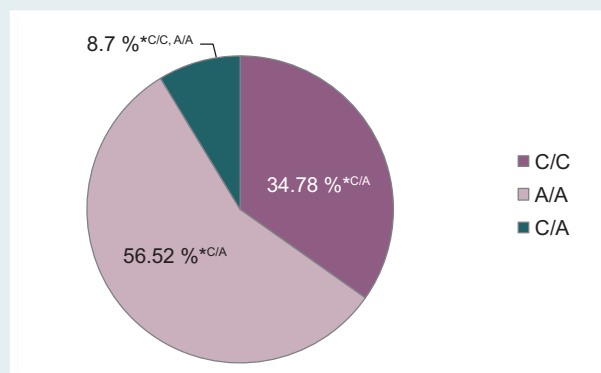


Fig. 2. Distribution of COL1A1_1 collagen gene genotypes in children with distal occlusion (*C/C, A/A, C/A; reliability of the difference between the corresponding groups of children, $P < 0.05$).

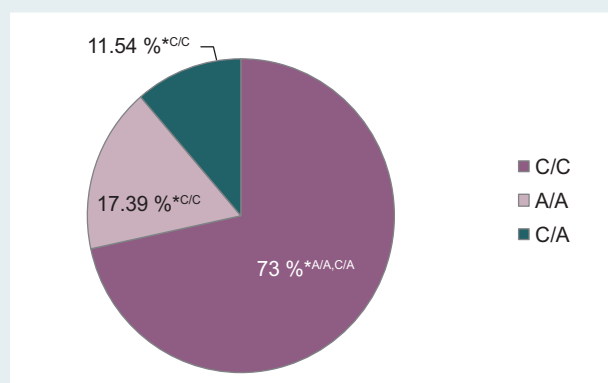


Fig. 3. Distribution of the COL1A1_1 collagen gene genotypes in children with allergic rhinitis and distal occlusion (*C/C, A/A, C/A; reliability of the difference between the corresponding groups of children, $P < 0.05$).

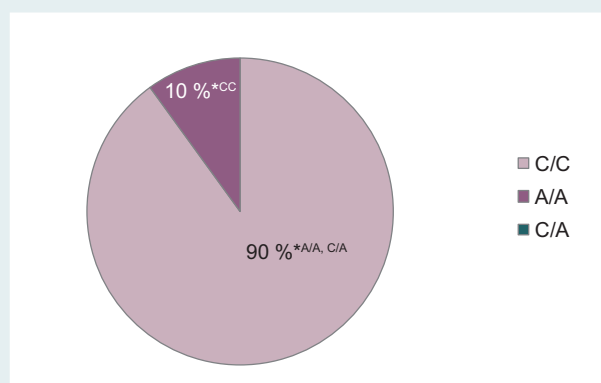


Fig. 4. Distribution of genotypes of the COL1A1_1 collagen gene in healthy children (*C/C, A/A, C/A; reliability of the difference between the corresponding groups of children, $P < 0.05$).

Healthcare of Ukraine. Genotyping was performed by the polymerase chain reaction method (Applied Biosystems, USA) using the total DNA samples isolated from whole venous blood using a set of reagents SNP-Screen (Syntol manufacturer) on the CFX96TM Real-Time PCR Detection Systems amplifier (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). This research was carried out in the Molecular-Genetic Research Division of the Academic Medical Laboratory Center at the Microbiology Department of Zaporizhzhia State Medical University in the city of Zaporizhzhia (Head of the Microbiology Department, Head of the Molecular-Genetic Research Division of the Medical and Laboratory Center of Zaporizhzhia State Medical University – MD, PhD, DSc, Professor O. M. Kamyshnyi). The obtained results of the distribution of the frequencies of the alleles and genotypes of the studied gene were used to analyze the genetic structure of the population according to the Hardy-Weinberg Law [13]. In order to compare the frequencies of alleles and genotypes in different groups, the non-parametric statistical method "2 × 2 Table", the Chi-square ($df = 1$) was used. Also, the odds ratio (OR) was calculated using the four-column table with the confidence interval (CI) calculation by means of the Woolf method. To assess diagnostic significance, such indicators as sensitivity, specificity, accuracy and predictive value of positive and negative results were determined. Difference $P < 0.05$ when comparing the indicators in the observation and control groups was consid-

ered statistically significant [14]. Non-parametric statistic methods of the licensed software package Statistica for Windows 6.1.RU, serial number AXXR712D833214SAN5 was used for processing the research results.

Results

The performed molecular-genetic examination of all examined children in order to determine the C/A polymorphism of the COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) showed that the frequency of occurrence of A allelic gene was equal to 28.28 % (0.2828), C allele gene – 71.72 % (0.7172), Chi-square ($df = 1$) 74.71, $P = 0.0001$. Upon that the homozygous C/C genotype was most frequently registered and amounted to 68.69 % (0.6869) in 25.25 % (0.2525) cases, while the homozygous A/A genotype was found definitely less frequently (Chi-square ($df = 1$) 37.49, $P = 0.0001$). The heterozygous C/A genotype was recorded only in 6.06 % (0.0606) children, that was definitely less frequently than homozygous C/C genotypes (Chi-square ($df = 1$) 82.95, $P = 0.0001$ and A/A genotypes (Chi-square ($df = 1$) 13.81 $P = 0.0002$). Depending on the presence or absence of such pathology as nasal obstruction of the allergic genesis, distal occlusion or its combinations, an analysis of the distribution of allelic genes and C/A genotypes polymorphism of the COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) was also performed in ill and healthy

children. Thus, in the first group of children with nasal obstruction due to the allergic rhinitis, the homozygous C/C genotype polymorphism of the COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) was significantly prevalent, which was registered in 76.67 % (23/30) of the studied cases. The homozygous genotype A/A was recorded in 20 % (6/30) of the examined children, Chi-square (df = 1) 19.29 (P = 0.0001). Only one child with allergic rhinitis revealed a heterozygous C/A genotype (3.33 %), which was significantly less frequent than homozygous C/C genotypes (Chi-square (df = 1) 33.61) (P = 0.0001) and A / A genotypes, Chi-square (df = 1) 4.04 (P = 0.0444). These data are shown in the Fig. 1.

In the second group of children with distal occlusion the homozygous C/C and A/A genotypes of the COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) predominated. At the same time the A/A genotype didn't show any significant differences even though it was recorded more often (56.52 % (13/23) than the C/C genotype (34.78 % (8/23). Also, as in the previous group, in children with distal occlusion, the heterozygous C/A genotype (8.7 % (2/23) was significantly less frequent than the C/C genotype, Chi-square (df = 1) 4.60 (P = 0.0320) and A/A genotype, Chi-square (df = 1) 11.97 (P = 0.0005). These data are shown in the Fig. 2.

In the third group of children with combined course of allergic and orthodontic pathologies: allergic rhinitis and distal occlusion, 73 % (19/26) patients were carriers of the predominant homozygous C/C genotype of COL1A1_1 collagen gene (rs1107946). The homozygous A/A genotype (17.39 % (4/26) and the heterozygous C/A genotype (11.54 % (3/26)) were significantly less common in comparison with the C/C genotype, Chi-square (df = 1) 17.54 (P = 0.0001) and Chi-square (df = 1) 20.17 (P = 0.0001), respectively. These data are shown in the Fig. 3.

In the fourth control group of comparison, that is, in practically in almost healthy children, only the homozygous genotypes (C/C and A/A) of the C/A polymorphism of the COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) were recorded. At the same time, the C/C genotype definitely predominated more frequently, which was found in 90 % (18/20) of healthy children, compared with the A/A genotype, Chi-square (df = 1) 25.60 (P = 0.000001) and C/A genotype, Chi-square (df = 1) 32.73 (P = 0.0001), respectively. And only in 10 % (2/20) of healthy children the A/A genotype was registered, and the heterozygous version of the C/A genotype was not detected in this group of children at all. These data are shown in the Fig. 4.

Further we performed the compared characteristics of the frequency of occurrence of each of the genotypes of the C/A polymorphism of the COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) not only within each of the examined groups of children but also within each of the genotype, depending on the presence or absence of nasal obstruction of allergic genesis, distal occlusion or the presence of a combination of these pathological states in the examined children.

Thus, in the group of children with only distal occlusion, the homozygous C/C genotype of the COL1A1_1 collagen gene was significantly less frequent (34.78 % (8/23) than in the group of children with allergic rhinitis (76.67 %), Chi-square (df = 1) 9.41 (P = 0.0022), in the group of

Table 1. Characteristics of genotypes of C/A polymorphism of the COL1A1_1 (rs1107946) collagen gene (abs. / %)

Groups	n	Genotypes		
		C/C	A/A	C/A
I	30	23/76.67* ^{AA,CA}	6/20* ^{CC,CA}	1/3.33* ^{AA,CC}
II	23	8/34.78* ^{CA}	13/56.52* ^{CA}	2/8.7* ^{CC,AA}
P (I–II)		<0.05	<0.05	>0.05
III	26	19/73* ^{AA,CA}	4/17.39* ^{CC}	3/11.54* ^{CC}
P (I–III)		>0.05	>0.05	>0.05
P (II–III)		<0.05	<0.05	>0.05
IV	20	18/90* ^{AA,CA}	2/10* ^{CC}	0* ^{CC}
P (I–IV)		>0.05	>0.05	>0.05
P (II–IV)		<0.05	<0.05	>0.05
P (III – IV)		>0.05	>0.05	>0.05

P: reliability of the difference between the corresponding groups of children;

*C/C, A/A, C/A: reliability of the difference between the corresponding groups of children, P < 0.05.

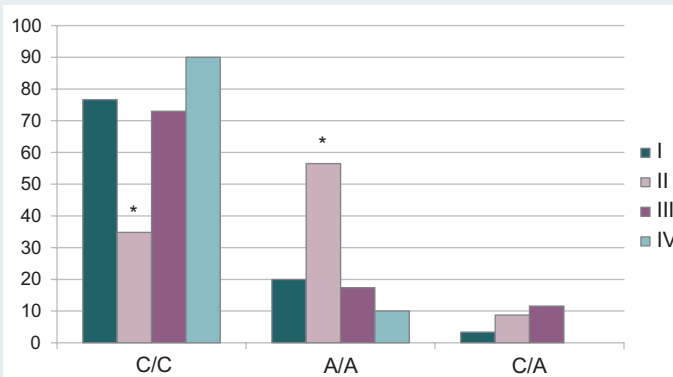


Fig. 5. Results of the distribution of genotypes of the COL1A1_1 collagen gene in children.

*: P < 0.05 in comparison with the corresponding group of children.

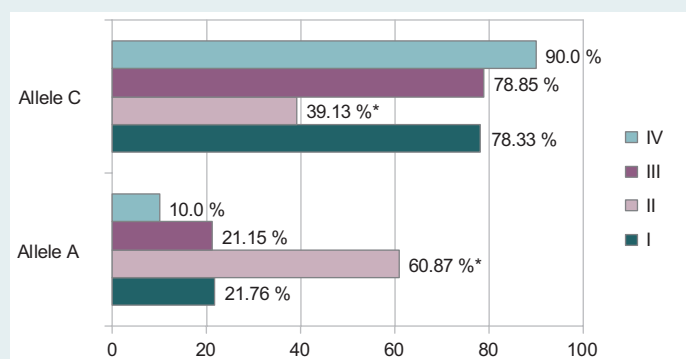
children with combined pathology (73 %), Chi-square (df = 1) 7.23 (P = 0.0072) and in the healthy group (90%), Chi-square (df = 1) 13.64 (P = 0.0002). However, in children with only orthodontic pathology, the homozygous A/A genotype of the COL1A1_1 collagen gene was detected significantly more often (56.52 %) than in children with allergic rhinitis (20 %), Chi-square (df = 1) 7.55 (P = 0.0060) or in children with combined allergic and orthodontic pathology (17.39 %), Chi-square (df = 1) 9.12 (P = 0.0025) or in healthy ones (10 %), Chi-square (df = 1) 10.19 (P = 0.0014). These data are clearly shown in the Fig. 5 and the Table 1.

Analyzing the odds ratio of development of phenotypic signs of diseases in children depending on their genotype, it was found that in children with A/A genotype (rs1107946) of the COL1A1_1 collagen gene, the odds ratio (OR) of allergic rhinitis development was equal to 2.25, CI [0.41–12.48] (P > 0.05); development of only distal occlusion – OR = 11.70, CI [2.19–62.62] (P < 0.05); combined allergic and orthodontic pathology – OR = 1.64, CI [0.27–9.98] (P > 0.05). In children with A / C genotype (rs1107946) of the COL1A1_1 collagen gene, the odds ratio (OR) of allergic rhinitis development was equal to 2.08, CI [0.08–53.76] (P > 0.05); only distal occlusion – OR = 4.77, CI [0.22–105.42] (P > 0.05); combined allergic and orthodontic pathology OR = 6.11, CI [0.30–125.36] (P > 0.05).

Table 2. Characteristics of the distribution of allelic genes in children according to the data of multiplicative models of inheritance

Groups	n	Allelic genes	
		A	C
I	30	0.217	0.783
II	23	0.609	0.391
P (I–II)		<0.05	
III	26	0.212	0.788
P (I–III)		>0.05	
P (II–III)		<0.05	
IV	20	0.100	0.900
P (I–IV)		>0.05	
P (II–IV)		<0.05	
P (III–IV)		>0.05	

P: reliability of the difference between the corresponding groups of children.

**Fig. 6.** Frequency of occurrence of alleles of C/A polymorphism of COL1A1_1 collagen gene in children.

*: $P < 0.05$ in comparison with the corresponding group of children.

Also, according to the Hardy-Weinberg Equilibrium Law, the occurrence frequency of alleles of the C/A polymorphism of the COL1A1_1 collagen gene (rs1107946) in the examined children, presented in the Fig. 6, showed that the children with distal occlusion were significantly frequent carriers of A allele (60.87 %), whereas the carriers of C allele were predominantly children with allergic rhinitis (78.33 %), with combined allergic and orthodontic pathology (78.85 %) and healthy (90 %), $P < 0.05$, respectively.

Characteristics of the distribution of the allelic genes in children, according to the data of multiplicative inheritance models, also showed that the inheritance of such a phenotypic sign as the distal occlusion is associated with the prevalence of the A allele rs1107946 of the COL1A1_1 collagen gene in the children's genotype with orthodontic pathology (Table 2).

Analyzing the odds ratio of development of phenotypic signs of diseases depending on the distribution of alleles in children, it was found that in children with A allele, the odds ratio (OR) of allergic rhinitis development was equal to 2.49 with 95 % confidence interval CI [0.75–8.28] ($P > 0.05$); combined allergic and orthodontic pathology – OR = 2.41, CI [0.71–8.25] ($P > 0.05$); distal occlusion – OR = 14.00, CI [4.26–46.05] ($P < 0.05$). In the groups of the examined children, in most cases, the C allele was not associated with high risks of the allergic,

orthodontic or combined pathology development. The correlation between the results of the study conducted in groups of children with the distal occlusion and practically healthy ones made it possible to determine the prognostic significance of the presence of A allelic gene in the development of the distal occlusion in children, while the sensitivity of this sign was equal to 60.87 %, specificity – 90 %, accuracy – 61.54 %. Since the sensitivity and specificity of the diagnostic test exceeded 50 %, the prognostic value for the positive result was equal to 87.5 % and for the negative result – 66.67 %, then the molecular-genetic studies for determining the A allele (rs1107946) of the COL1A1_1 collagen gene in children could be recommended to determine the risk of development of the distal occlusion in children. This will allow improving the preventive measures in children with orthodontic pathology.

Discussion

The data that we received in our work were compared with the results of other scientists. It should be noted at once that the problem of the formation of bone and orthodontic pathology due to genetic predisposition and hereditary disorders of the formation of connective tissue and its fibrillar protein of collagen, caused by the action of functional polymorphic alleles of a large number of genes, is actual and has not been fully studied due to the variability of single-nuclide polymorphisms (SNP) of the COL1A1_1 collagen gene. At the same time, the achievements in the field of molecular testing to date allow identifying causal mutations for many patients whose phenotypes are a clinically and genetically heterogeneous group of heritable connective tissue diseases, including the cases of Ehlers-Danlos syndrome, in which genetic defects were detected in fibrillar collagens or in collagen-forming ferments [8,15].

Also, the clinical symptoms of Ehlers-Danlos syndrome and imperfect osteogenesis syndrome, which include abnormal craniofacial growth, abnormal bite of teeth and imperfection of dentinogenesis, cause certain mutations in the COL1A1 and COL1A2 genes [16]. In Sweden, when studying the patterns of distribution of the genotypes of polymorphisms of the COL1A1 and COL1A2 genes in 223 people with imperfect osteogenesis, it was revealed that N-ended spiral mutations in both $\alpha 1$ and $\alpha 2$ chains were associated with the lack of dentinogenesis imperfection [17]. At the same time in Georgia, nowadays, a special place is given to studying such dental diseases as imperfect dentinogenesis (Dentinogenesis Imperfecta) and pathological occlusion [18]. And in Estonia, for example, COL1A1 mutations were identified in 76.92 % of cases, and COL1A2 – only in 23.08 % of patients [19].

Also, the literature sources described data on the study of the relationship between the genotypes of COL1A1, COL1A2 collagen and the severity of the mal-occlusion process in 49 patients aged 5 to 19 years with imperfect osteogenesis, but the results obtained stated that the patients, in particular male ones with COL1A2 mutations, had a more severe course of the diverse orthodontic pathology than those with COL1A1 mutations,

but the study of the genotypes of the polymorphism of the COL1A2 collagen gene was not the goal of our work [20].

Since the collagen of the first type is the main constituent of the organic matrix of bone tissue, then while studying the effect of the polymorphism of the COL1A1 gene on the development of dental diseases, including periodontal tissue in young people, it was revealed that the frequency of repetitions of the allelic gene encoding the imperfect link of collagen, was equal to 57.60 %, which agrees with the data, obtained in our studies, namely that the patients with distal occlusion occurred to be significantly frequent carriers of the A allele (60.87 %) [21].

Storozhenko K. V. and co-authors determined that the development of the pathological occlusion "class III" was associated with the alleles of SNP rs1800012 (+ 1245G / T (S/s)) of the COL1A1 gene and showed the protective effect of the homozygous genotype G/G (SS) relative to the development of the orthodontic pathology [22]. In our research, we studied the association of distal occlusion in children with alleles of SNP rs1107946 of the COL1A1_1 collagen gene and also obtained data indicating that the carriage of A allele (rs1107946) is also a prognostic value for early diagnostics and prevention of distal occlusion in children. But, in Byelorussia, on the contrary, in adult patients from 40 to 55 years (45 men and 76 women), while carrying out a molecular-genetic study with the determination of a functionally significant G-T genetic polymorphism of the collagen gene of the first $\alpha 1$ type, the association of the pathologies of the temporomandibular joints after prosthesis with non-removable orthopedic structures on dental implants with connective tissue diseases were not observed [23]. At the same time, on the contrary there was an increase in the frequency of anomalies associated with the shape or size of the teeth ($11 + 2.17$ % of cases) in the group of young people with signs of severe degree of connective tissue dysplasia [24].

We also compared the data obtained by us on the frequency distribution of the alleles and genotypes of the C/A polymorphism of the COL1A1_1 (rs1107946) collagen gene with the data obtained in European populations using the dbSNP database of the National Center for Biotechnological Information in USA [25].

Thus, in our study, the frequency of occurrence of the allele A gene was equal to 28.28 % and the allele C gene – 71.72 %, while in the European population the frequency of the A allele was twice less and was only 14.00 % and respectively the frequency of the C allele was registered more often (86.00 %). At the same time, in other populations the prevalence of A and C alleles is variable and varies from 24 % and 76 % (SAS) to 31 % and 69.00 % (AFR) Africa, respectively. Our indicators approach data characterizing the ALL (26 % and 74 %) and AMR and EAS (30 % and 70 %) populations.

In our studies the homozygous C/C genotype was recorded in 68.69 % of cases, and was close to the frequency rates of occurrence of the C / C genotype in CEU (69.70 %). The variability of this genotype in populations ranges from 24.70 % (PEL) to 78.50 % (TSI), and in Europe it is equal to 73.20 %.

The homozygous genotype A/A was detected in 25.25 % of cases, while in Europe it was registered only in 0.80 % cases and in FIN this genotype was not registered

at all. The highest frequency of A/A genotype was found in CHB (18.40 %).

The heterozygous C/A genotype was observed only in 6.06 % of children, in other populations the frequency of this genotype ranged from 20.60 % (TSI) to 48.50 % (GIH), while in the European population it was equal to 26.00 %.

The differences in the distribution of alleles and genotypes of the polymorphic markers of the COL1A1_1 (rs1107946) collagen gene in the patients examined by us, namely, the allelic A gene and A/A and A/C genotypes, confirm their prognostic significance for the development of the orthodontic pathology in children. This will enable early and effective preventive measures.

Conclusions

1. The study of the distribution patterns of allelic genes and genotypes of the C / A polymorphism of the COL1A1_1 (rs1107946) collagen gene in the examined children showed that the frequency of occurrence of the C allele was significantly higher than the A allele (71.72 % and 28.28 %, respectively). In this case, the homozygous C/C genotype was registered most often (68.69 %), homozygous genotype A/A (25.25 %) was rarely registered and heterozygous C/A (6.06 %) was very rarely registered.

2. Phenotypic and clinical manifestations of the diseases in children with allergic rhinitis, distal occlusion and a combination of allergic and orthodontic pathology, the genotypes had the following distribution: the C/C genotype – 76.67 %; 34.78 %; 73.00 %; A/A genotype – 20.00 %; 56.52 %; 17.39 %; A/C genotype – 3.33 %; 8.70 %; 11.54 %.

3. The molecular-genetic studies for determining the A allele (rs1107946) of the COL1A1_1 collagen gene in children could be recommended to determine the risk of development and the need for early prevention of the distal occlusion in children.

Prospects for further researches. In the future we are planning to continue studying the distribution patterns of allelic genes and genotypes of the C/A polymorphism of the COL1A1_1 collagen gene for SNP (rs1107946) in a larger number of patients with nasal obstruction of the allergic genesis, distal occlusion and combined allergic and orthodontic pathology, and also to begin the study of the distribution of allelic genes and genotypes of the C/A polymorphism of the COL1A1_1 collagen gene for SNP (rs114611911); (rs76291943); (rs7744275), with a comparative analysis of the results obtained.

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

Information about authors:

Shumna T. Ye., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Faculty Pediatrics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kamyshnyi O. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Head of the Molecular-Genetic Research Division of the Medical and Laboratory Center of Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Zinchenko T. P., MD, Assistant of the Department of Therapeutic, Orthopedic and Pediatric Dentistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Шумна Т. Є., д-р мед. наук, доцент кафедри факультетської педіатрії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Камишний О. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. мікробіології, вірусології і імунології, керівник відділу молекулярно-генетичних досліджень навчального медико-лабораторного центру, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Зінченко Т. П., асистент каф. терапевтичної, ортопедичної та дитячої стоматології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Шумная Т. Е., д-р мед. наук, доцент кафедры факультетской педиатрии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Камышный А. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, руководитель отдела молекулярно-генетических исследований учебного медико-лабораторного центра, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Зинченко Т. П., ассистент каф. терапевтической, ортопедической и детской стоматологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Надійшла до редакції / Received: 14.05.2018

Після доопрацювання / Revised: 04.06.2018

Прийнято до друку / Accepted: 06.06.2018

References

- [1] Boitsaniuk, S. I., Falinsky, M. M., & Ostrovskiy, P. Yu. (2017). Poshyrenist zuboschepnykh anomalii sered ditei shkilnoho viku mista Ternopil [Prevalence of tooth anomalies among school children Ternopil]. *Molodyi vcheny*, 5(45), 57–60. [in Ukrainian].
- [2] Flis, P. S. (2007). *Ortodontia [Orthodontics]*. Vinnytsia: Nova knyha. [in Ukrainian].
- [3] Asanov, A. Yu., Namazova, L. S., Pinelis, V. G., Zhurkova, N. V., Voznesenskaya, N. I. (2008). Geneticheskyye osnovy bronkhialnoy astmy [Genetic foundations of the bronchial asthma]. *Henetyka v pedyatrii*, 8, 31–48. [in Russian].
- [4] Marushko, Yu. V. (2012). Dysplazii spooluchnoi tkany [Dysplasia of connective tissue]. *Zdorovia Ukrainy*, 33–36. [in Ukrainian].
- [5] Belozero, Yu. M. (2008). *Detskaya kardiologiya (nasledstvennyye sindromy) [Pediatric cardiology (hereditary syndromes)]*. Elista: Dzhankhar. [in Russian].
- [6] Nesterenko, Z. V. (2010). Klassifikatsionnye konceptii displazii soedinitel'noy tkani [Classification concepts of connective tissue dysplasia]. *Zdorov'e rebenka*, 5, 131–133. [in Russian].
- [7] Nesterenko, Z. V. (2010). Preobrazovanie struktury organov i tkanej cheloveka [Transformation of the structure of human organs and tissues]. *Zdorov'e rebenka*, 4, 136–139. [in Russian].
- [8] Brady, A. F., Demirdas, S., Fournel-Gigleux, S., Ghali, N., Giunta, C., Kapferer-Seebacher, I., et al. (2017). The Ehlers-Danlos syndromes, rare types. *Am J. Med Genet C Semin Med Genet.*, 175(1), 70–115. doi: 10.1002/ajmg.c.31550.
- [9] Malfait, F., Symoens, S., Goemans, N., Gyftodimou, Y., Holmberg, E., López-Gonzalez, V., et al. (2013). Helical mutations in type I collagen that affect the processing of the amino-propeptide result in an Osteogenesis Imperfecta / Ehlers-Danlos Syndrome overlap syndrome. *Orphanet J. Rare Dis.*, 8, 78, 1–10. doi: 10.1186/1750-1172-8-78.
- [10] Hubskey, Yu. I., Nizhenkovska, I. V., Korda, M. M., et al. (2016). *Biologichna i bioorganichna khimiia [Biological and bioorganic chemistry]*. Kyiv: Medytyna [in Ukrainian].
- [11] Lukianenko, N. S., Petritsa, N. A. & Kens, K. A. (2015). Mistse nedifferentsiirovanoi displazii spooluchnoi tkany v patolohii dytiachoho viku [Place of undifferentiated connective tissue dysplasia in childhood pathology]. *Zdorov'e rebenka*, 2, 80–85. [in Ukrainian].
- [12] Brozek, J. L., Bousquet, J., Agache, I., Agarwal, A., Bachert, C., Bosnic-Anticevich, S., et al. (2017). Allergic rhinitis and its impact on Asthma (ARIA) guidelines-2016 revision. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 140(4), 950–958. doi: 10.1016/j.jaci.2017.03.050.
- [13] Mandel', B. R. (2016). *Osnovy sovremennoj genetiki [Fundamentals of modern genetics]*. Moscow; Berlin: Direkt-Media [in Russian].
- [14] Rebrova, O. Yu. (2006). *Statisticheskij analiz medicinskih dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA [Statistical analysis of medical data. Application of the STATISTICA software package]*. Moscow: MediaSfera [in Russian].
- [15] Malfait, F., Francomano, C., Byers, P., Belmont, J., Berglund, B., Black, J., et al. (2017). The 2017 international classification of the Ehlers-Danlos syndromes. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.*, 175(1), 8–26. doi: 10.1002/ajmg.c.31552.
- [16] Eimar, H., Tamimi, F., Retrouvey, J. -M., Rauch, F., Aubin, J. E., & McKee, M. D. (2016) Craniofacial and Dental Defects in the Col1a1Jrt/+ Mouse Model of Osteogenesis Imperfecta [Craniofacial and Dental Defects in the Col1a1Jrt/+ Mouse Model of Osteogenesis Imperfecta]. *J Dent Res.*, 95(7), 761–8. doi: 10.1177/0022034516637045.
- [17] Lindahl, K., Åström, E., Rubin, C. J., Grigeliuniene, G., Malmgren, B., Ljunggren, Ö., & Kindmark, A. (2015). Genetic epidemiology, prevalence, and genotype-phenotype correlations in the Swedish population with osteogenesis imperfect. *Eur J Hum Genet.*, 23(8), 1042–50. doi: 10.1038/ejhg.2015.81.
- [18] Abashidze, N., Ivereli, M., & Alaniya, K. (2012). Klassifikatsiya, klinicheskie osobennosti i chastota sluchae v nesovershennogo dentinogeneza u pacientov s nesovershennym osteogenezom [Classification, clinical features and incidence of imperfect dentinogenesis in patients with imperfect osteogenesis]. *Dent Art*. Retrieved from <http://dentart.org/?p=2295/>. [in Russian].
- [19] Zhytnik, L., Maasalu, K., Reimann, E., Prans, E., Koks, S., & Martson, A. (2017). Mutational analysis of COL1A1 and COL1A2 genes among Estonian osteogenesis imperfecta patients. *Human Genomics*, 11, 19. doi: 10.1186/s40246-017-0115-5.
- [20] Jabbour, Z., Al-Khateeb, A., Eimar, H., Retrouvey, J. M., Rizkallah, J., Glorieux, F. H., et al. (2018). Genotype and malocclusion in patients with osteogenesis imperfect [Genotype and malocclusion in patients with osteogenesis imperfect]. *Orthod Craniofac Res*, 21(2), 71–77. doi: 10.1111/ocr.12218.
- [21] Luchynskyi, M. A., Boliuk, Y. V., & Luchynskyi, V. M. (2017). Vplyv polimorfizmu henu PTHR1 ta COL1A1 na rozvytok zakhvoriuvan tkany parodontu u liudei molodoho viku [Influence of PTHR1 and COL1A1 genes polymorphism on the development of periodontal tissue diseases in young people]. *Klinichna stomatohiia*, 2, 4–8. doi: 10.11603/2311-9624.2017.2.7936. [in Ukrainian].
- [22] Storozhenko, K. V., Shkarupa, V. M. & Koliada, O. K. (2016). Polimorfizm hena COL1A1 u osib z patolohichnym prykusom «KLASU III» [Polymorphism of the COL1A1 gene in patients with pathological bite «CLASS III»]. *Visnyk stomatohiia*, 1, 16–21. [in Ukrainian].
- [23] Naumovych, S. A., & Derkach, S. Yu. Markery nedifferencirovanoi displazii soedinitel'noy tkani i riska razvitiya patolohii visochno-nizhnechelyustnykh sustavov u lic, protezirovannykh nes'emnymi ortopedicheskimi konstrukciyami na dental'nykh implantatakh [Markers of undifferentiated connective tissue dysplasia and risk of development of temporomandibular joint pathology in persons implanted with permanent orthopedic structures on dental implants]. Retrieved from <http://www.bsmu.by/files/755ece625d32d1076c18a5148f7ff1b4.pdf>. [in Russian].
- [24] Sesorova, I. S., Shnitkova, E. V., Lazorenko, T. V., Zdorikova, M. A., & Podosenkova, A. A. (2016). Displaziya soedinitel'noy tkani kak faktor riska razvitiya zubochelyustnykh anomalii [Dysplasia of connective tissue as a risk factor for development of dentofacial anomalies]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 6. Retrieved from <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25789/>. [in Russian].
- [25] National Center for Biotechnology information, dbSNP database. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>.

Поліморфізм гена рецептора ангіотензину II першого типу в жінок з есенціальною артеріальною гіпертензією та відповідні особливості структурно-функціональних показників міокарда

О. О. Сакович, В. М. Жебель, Т. В. Поліщук, С. В. Франчук, Л. М. Сурсаєва

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна

Мета роботи – вдосконалити діагностику схильності жінок постменопаузного віку до розвитку есенціальної артеріальної гіпертензії (ЕГ) та виникнення у них хронічної серцевої недостатності (ХСН) на її тлі шляхом визначення поліморфних генотипів рецептора ангіотензину II першого типу (AT1-P) та відповідного структурно-функціонального стану міокарда.

Матеріали та методи. Обстежили 180 жінок постменопаузного віку, мешканок Подільського регіону України; 80 осіб без ознак серцево-судинних захворювань склали групу контролю, 100 жінок з ЕГ увійшли в основну групу дослідження. Генотипування гена ангіотензину II першого типу виконали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. Розподіл частот генотипів гена AT1-P перевірили на відповідність закону рівноваги Харді-Вайнберга. Структурно-функціональні показники міокарда оцінювали за допомогою ехокардіографічного дослідження. Систолічну функцію лівого шлуночка вважали збереженою у випадках, коли його фракція викиду становила понад 40 %. Математичне опрацювання виконали з використанням стандартного статистичного пакета Statistica 6.0.

Результати. У пацієнток з ЕГ найчастіше визначали генотип AC гена AT1-P (49 %), генотипи AA та AC виявили відповідно у 40 % та 11 % хворих ($p_{AA-CC} \leq 0,05$, $p_{AC-CC} \leq 0,05$). Носійство алелі C гена AT1-P асоціюється з більшою імовірністю виникнення в майбутньому ХСН у пацієнток з ЕГ, більш вираженими порушеннями структури міокарда, суттєвішими порушеннями як систолічної, так і діастолічної функції лівого шлуночка за псевдонормальним і рестриктивним типами.

Висновки. Алель C гена AT1-P асоціюється з наявністю ЕГ і більшою ймовірністю виникнення ХСН у жінок постменопаузного віку, мешканок Подільського регіону України, суттєвішими порушеннями структури міокарда, переважним виявленням діастолічної та систолічної дисфункції лівого шлуночка при різному перебігу ЕГ. Наводимо математичні моделі, котрі дають можливість орієнтовно визначати структуру гена AT1-P за показниками інтракардіальної гемодинаміки, коли лабораторне дослідження не можливе.

Ключові слова:

есенціальна артеріальна гіпертензія, постменопауза, поліморфізм генетичний, гіпертрофія лівого шлуночка.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 169–175

DOI:
10.14739/2310-1237.2018.2.141398

E-mail:
elena.sakovich0804@gmail.com

Полиморфизм гена рецептора ангиотензина II первого типа у женщин с эссенциальной артериальной гипертензией и соответствующие особенности структурно-функциональных показателей миокарда

Е. А. Сакович, В. Н. Жебель, Т. В. Полищук, С. В. Франчук, Л. Н. Сурсаева

Цель работы – усовершенствовать диагностику предрасположенности женщин постменопаузного возраста к развитию эссенциальной артериальной гипертензии (ЭГ) и возникновению у них хронической сердечной недостаточности (ХСН) на ее фоне путем определения полиморфных генотипов рецептора ангиотензина II первого типа (AT1-P) и соответствующего структурно-функционального состояния миокарда.

Материалы и методы. Обследовали 180 женщин постменопаузного возраста, жительниц Подольского региона Украины; 80 человек без признаков сердечно-сосудистых заболеваний составили группу контроля, 100 женщин с ЭГ вошли в основную группу исследования. Генотипирование гена AT1-P проводили с помощью полимеразной цепной реакции. Распределение частот генотипов гена AT1-P проверили на соответствие закону равновесия Харди-Вайнберга. Структурно-функциональные показатели миокарда оценивали с помощью эхокардиографического исследования. Систолическую функцию левого желудочка считали сохранившейся в случаях, когда его фракция выброса составляла более 40 %. Математическую обработку выполнили с использованием стандартного статистического пакета STATISTICA 6.0.

Результаты. У пациенток с ЭГ чаще всего определяли генотип AC гена AT1-P (49 %), генотипы AA и AC установлены соответственно у 40 % и 11 % больных ($p_{AA-CC} \leq 0,05$, $p_{AC-CC} \leq 0,05$). Носительство аллели C гена AT1-P ассоциируется с большей вероятностью возникновения ХСН в будущем у пациенток с ЭГ, более выраженными нарушениями структуры миокарда, более значительными нарушениями как систолической, так и диастолической функции левого желудочка по псевдонормальному и рестриктивному типам.

Выводы. Аллель C гена AT1-P ассоциируется с наличием ЭГ и большей вероятностью возникновения ХСН у женщин постменопаузного возраста, жительниц Подольского региона Украины, более выраженными нарушениями структуры миокарда, с преимущественным установлением диастолической и систолической дисфункции левого желудочка при различном течении ЭГ. Представлены математические модели, позволяющие ориентировочно определять структуру гена AT1-P по показателям интракардиальной гемодинамики при невозможности лабораторного исследования.

Ключевые слова:

эссенциальная артериальная гипертензия, полиморфизм генетический, гипертрофия левого желудочка.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 169–175

Key words:
essential
hypertension,
polymorphism
genetic, left
ventricular's
hypertrophy.

Pathologia
2018; 15 (2), 169–175

Polymorphism of the second type angiotensin II receptor's gene in women with essential hypertension and the corresponding features of structural and functional parameters of myocardium

O. O. Sakovych, V. M. Zhebel, T. V. Polishchuk, S. V. Franchuk, L. M. Sursaieva

Objective. To improve the diagnosis of predisposition to Essential arterial hypertension (EH) and Chronic heart failure (CHF) in postmenopausal age's women by determining the polymorphic genotypes of the first type angiotensin II receptor's gene (AT1-R) and the corresponding structural and functional state of myocardium.

Materials and methods. The study involved 180 women of postmenopausal age, they were residents of Podillya Region of Ukraine. 80 women without signs of cardiovascular diseases were the control group, 100 women with EH included the main study's group. Genotyping of AT1-R was carried out using the polymerase chain reaction. The distribution of the frequencies of genotypes AT1-R was checked in accordance with the Hardy–Weinberg equilibrium law. The structural and functional parameters of myocardium were evaluated using an echocardiography. The left ventricular's systolic function was preserved in cases where the left ventricular's ejection fraction was more than 40 %. Mathematical processing was performed using the standard statistic package Statistica 6.0.

Results. In patients with EH genotype AC was detected most often (49 %), AA and AC genotypes were determined in 40 % and 11 % of patients ($P_{AA-CC} \leq 0.05$, $P_{AC-CC} \leq 0.05$) respectively. Carrying allele C of the AT1-P gene was associated with a higher probability of future occurrence of CHF in patients with EH, more significant structural disorders of myocardium and disturbances of systolic and diastolic functions of left ventricle (LV) such as pseudonormal and restrictive types.

Conclusions. Allele C associates with the presence of EH and a greater probability of occurrence of CHF in postmenopausal women, residents of Podillya Region, more pronounced disturbances in the structure of myocardium, with diastolic and systolic dysfunctions of LV. Developed mathematical models help to determine approximately the structure of AT1-R according to the parameters of cardiac hemodynamics in the case of impossibility of laboratory investigation.

Есенціальна артеріальна гіпертензія (ЕГ) – один з основних неклапаних факторів ризику розвитку інших захворювань системи кровообігу та, безсумнівно, заслуговує на увагу в медико-соціальному аспекті [1]. Незважаючи на певні успіхи у вивченні патогенезу та діагностиці ЕГ, у великої частини пацієнтів не вдається досягти адекватного контролю підвищеного артеріального тиску (АТ), що зумовлює збільшення ризику розвитку ускладнень ЕГ [2].

Підвищений АТ є провідним спадковим фактором ризику серцево-судинних захворювань у всьому світі. Отримані результати, які показали генетичний вплив на регуляцію артеріального тиску. Дослідження спадкової ролі однонуклеотидних поліморфізмів (SNP), найбільш значущих маркерів «статичного» генома, висвітлюють нові біологічні шляхи регуляції артеріального тиску, збагачені генами, що експресуються в судинних тканинах, і виявляють потенційні терапевтичні мішені при ЕГ [4,5]. Саме вивчення SNP стало особливо зручним для картування генів, ідентифікації мутацій, що сприяло вивченню різноманітних генетичних механізмів, які спричиняють виникнення захворювань, зокрема і серцево-судинної патології, а також зумовило виділення генів, продукти експресії яких здатні брати участь у регуляції АТ та, відповідно, розвитку ЕГ [5]. Результати моделювання генетичного ризику дають можливість профілактичній медицині за допомогою раннього втручання в життя компенсувати вплив спадковості на підвищення кров'яного тиску та майбутні ризики серцево-судинних захворювань [4]. Моногенні форми дисрегуляції артеріального тиску дають важливу інформацію щодо його регулювання та розширення розуміння механізмів розвитку й лікування ЕГ. Дослідження асоціації геномів виявили понад 100 SNP, одиночних нуклеотидних поліморфізмів, що пов'язані з фенотипами артеріального тиску, а це дало змогу визначити нові шляхи розвитку ЕГ [6].

За даними фахової літератури, ЕГ є мультифакторним захворюванням із чималим внеском генетичної складової. У зв'язку з цим доцільним є вивчення особливостей формування, розвитку цієї патології залежно від поліморфізму генів РААС, зокрема гена AT1-R, оскільки саме через стимуляцію AT1-R реалізуються основні ефекти ангіотензину-II, неадекватне виділення котрого, як відомо, зумовлює не тільки підвищення артеріального тиску, але й ремоделювання серця та судин [7].

Зацікавленість дослідників спрямована на вивчення поліморфізму гена AT-II першого типу (AT1-R) A1166C, який полягає в заміні в положенні 1166 основи аденіну на цитозин. Саме цей поліморфізм пов'язують із варіабельністю функціональної активності рецептора AT1-R, що зумовлює розвиток ЕГ. Дослідження впливу активації ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС) на розвиток ЕГ та її ускладнення – хронічну серцеву недостатність (ХСН) – у жінок постменопаузного віку нечисленні [3].

Мета роботи

Удосконалення діагностики схильності жінок постменопаузного віку до розвитку ЕГ і виникнення в них ХСН шляхом визначення поліморфних генотипів рецептора ангіотензину II першого типу та відповідного структурно-функціонального стану міокарда.

Матеріали і методи дослідження

Обстежили 180 жінок постменопаузного віку, мешканок Подільського регіону України, середній вік становив $57,17 \pm 0,30$ року. Група контролю – 80 осіб без ознак серцево-судинних захворювань. Основна група дослідження – 100 жінок з ЕГ: 50 пацієнток з ЕГ II стадії (середній вік – $56,46 \pm 0,50$ року); у 50 хворих виявили

клінічні ознаки ХСН II–III функціональних класів (ФК), що розвинулась на тлі ЕГ, середній вік – $57,49 \pm 0,48$ року, вірогідно не відрізнявся від віку пацієнток із неускладненою ЕГ. Діагноз гіпертонічна хвороба (ГХ) встановлювали на підставі скарг хворих, даних анамнезу, фізикального обстеження, лабораторних та інструментальних методів дослідження згідно з клінічними рекомендаціями з лікування артеріальної гіпертензії Європейського товариства гіпертензії (ESH) та Європейського товариства кардіологів (ESC) (2013) [8]. Діагноз ХСН встановлювали відповідно до рекомендацій Асоціації кардіологів України з діагностики та лікування хронічної серцевої недостатності [9].

Обов'язкові критерії залучення в дослідження: відсутність в анамнезі та за медичною документацією даних про перенесені ускладнення ЕГ (інфаркт міокарда, гостре порушення мозкового кровообігу), наявність симптомів та анамнестичних вказівок на ішемічну хворобу серця, розвиток якої передував виникненню ЕГ.

У дослідження не залучали осіб із вторинною артеріальною гіпертензією, наявністю ендокринологічних, аутоімунних, гематологічних, паранеопластичних захворювань, із порушенням функції печінки та нирок, хронічним обструктивним захворюванням легень.

Визначення алелей поліморфної ділянки (A1166C) гена AT1-P виконали за допомогою полімеразної ланцюгової реакції на ампліфікаторі PHC-2 («Techn», Велика Британія) в лейкоцитах венозної крові. Це дослідження здійснили спільно з НДІ генетичних та імунологічних основ розвитку патології та фармакогенетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава, керівник – проф. І. П. Кайдашев).

Для оцінювання параметрів внутрішньосерцевої гемодинаміки застосовували ЕхоКГ на ехокардіографі «Biomedica Sim 5000plus». За допомогою лінійних розмірів визначали масу міокарда лівого шлуночка (ММЛШ) з використанням формули Penn Convention, розраховували індекс ММЛШ (iММЛШ) [8]. Критерієм гіпертрофії лівого шлуночка (ГЛШ) вважали iММЛШ ≥ 95 г/м² за рекомендаціями Асоціації кардіологів України з діагностики та лікування хронічної серцевої недостатності (2017) [9]. Діастолічну функцію лівого шлуночка (ЛШ) оцінювали відповідно до чинних рекомендацій [10]. Стан систолічної функції міокарда ЛШ оцінювали за показником фракції викиду (ФВ). Систолічну функцію вважали збереженою у випадках, коли ФВ становила понад 40 %.

Математичне опрацювання виконали на персональному комп'ютері з використанням стандартного статистичного пакета Statistica 6.0 (версія 6.0.437.0, серійний номер 31415926535897). Застосовували параметричні та непараметричні статистичні методи: при нормальному розподілі показників вірогідність відмінностей середніх величин двох вибірок оцінювали за критерієм Стюдента (t); для вибірок, які не відповідали закону нормального розподілу, розраховували непараметричний критерій U – Манна–Уїтні. Аналіз відмінностей частот генотипів у групах виконали із застосуванням критерію χ^2 -Пірсона (з поправкою Йейтса для малих груп). Перевірку розподілу частот поліморфних генів у популяції виконали відповідно до

закону рівноваги Харді–Вайнберга. Відношення шансів розраховували на підставі таблиць спряженості. Результати вважали вірогідними при $p \leq 0,05$.

Результати

Розподіл частот генотипів гена AT1-P серед жінок постменопаузного віку, мешканок Подільського регіону України, відповідав рівновазі Харді–Вайнберга. У жінок без ознак серцево-судинних захворювань частота генотипу AA гена AT1-P становить 67,5 % ($n = 54$), генотипу AC – 27,5 % ($n = 22$), генотипу CC – 5,0 % ($n = 4$) ($p_{AA-AC} \leq 0,05$; $p_{AA-CC} \leq 0,05$; $p_{AC-CC} > 0,05$). Вивчаючи розподіл частот генотипів та алелей гена AT1-P у хворих на ЕГ, встановили: пацієнтки є переважно носіями генотипу AC – 49 (49,0 %). Генотип AA успадкували 40,0 % хворих ($n = 40$), а генотип CC визначили в найменшій частині пацієнток – 11,0 % ($p_{AA-CC} \leq 0,05$, $p_{AC-CC} \leq 0,05$).

Враховуючи особливості нейрон-гуморальної регуляції функції міокарда та відомий вплив ангіотензину II та альдостерону на структуру міокарда та шляхи його реалізації, цікаво вивчити структурно-функціональні показники стану міокарда в носіїв поліморфних генів AT1-P (табл. 1).

Встановили, що в пацієнток з ЕГ, як і в жінок без ознак серцево-судинних захворювань, успадкування генотипів AC і CC характеризується суттєвішими порушеннями внутрішньосерцевої та системної гемодинаміки, ніж успадкування генотипу AA. В осіб без ознак серцево-судинної патології, носіїв алелі C, індекс маси міокарда ЛШ перевищував нормативний показник, що може свідчити про можливість субклінічних змін серця, що зумовлені наявністю цієї алелі в генотипі AT1-P. Такі зміни в міокарді врешті можуть призвести до швидкого формування «гіпертензивного» серця в разі розвитку в таких жінок ЕГ. Хворим на ЕГ, які є носіями алелі C, притаманні вірогідно вищі середні величини розмірів та об'ємів ЛШ, величини iММЛШ, лівого передсердя (ЛП), ніж носіям генотипу AA ($p < 0,05$) (табл. 1).

Відомо, що здебільшого першим етапом формування ХСН у хворих на ЕГ є розвиток діастолічної дисфункції (ДД) лівого шлуночка. Це підтверджується й у виконаному дослідженні: ДД визначили у 40 % хворих з ЕГ без ознак ХСН IIA стадії та у 100 % пацієнтів з ознаками ХСН. Ознаки ДД виявили у 17 (68,00 %) пацієнток з ЕГ без ознак ХСН IIA стадії, які є носіями генотипу AC, у всіх хворих, носіїв генотипу CC, та тільки в 1 (4,35 %) носія генотипу AA (рис. 1).

Серед порушень діастолічної функції ЛШ у пацієнток з ЕГ без ознак ХСН IIA стадії у 18 (36 %) хворих виявили гіпертрофічний тип трансмітрального кровотоку (ТМК) (1 пацієнтка – носій генотипу AA, 17 – носії генотипу AC), у 2 – псевдонормальний тип ТМК, всі хворі з цим типом ТМК є носіями генотипу CC.

Підсумовуючи наведені результати, можна зробити висновок: у хворих на неускладнену ЕГ діастолічна дисфункція серця певною мірою компенсована, але вираженіша в носіїв генотипу з алеллю C – AC. У цих пацієнток вірогідно частіше реєструють ДД ЛШ із виявленням переважно гіпертрофічного типу ТМК.

Таблиця 1. Показники внутрішньосерцевої гемодинаміки у жінок постменопаузного віку, носіїв генотипів гена AT1-P (M ± m)

Показники	Група дослідження	Носії генотипу AA	Носії генотипу AC	Носії генотипу CC	p < 0,05
Особі без ознак серцево-судинних захворювань (n = 80)					
ТЗСЛШ, см	0,94 ± 0,01	0,90 ± 0,01	1,002 ± 0,010	1,02 ± 0,01	P _{AA-AC} P _{AA-CC}
ТМШП, см	0,93 ± 0,01	0,89 ± 0,01	0,98 ± 0,01	1,020 ± 0,004	P _{AA-AC} P _{AA-CC}
iММЛШ г/м ²	85,21 ± 1,62	79,70 ± 1,95	96,44 ± 0,79	99,07 ± 0,32	P _{AA-AC} P _{AA-CC}
КДО, мл	88,53 ± 1,50	84,47 ± 1,85	97,56 ± 1,92	93,54 ± 0,94	P _{AA-AC}
КСО, мл	31,49 ± 0,78	31,56 ± 0,89	30,71 ± 1,60	34,91 ± 4,89	—
ФВ, %	64,03 ± 0,85	62,30 ± 0,93	68,51 ± 1,55	62,72 ± 5,18	P _{AA-AC}
ЛП, см	3,28 ± 0,04	3,29 ± 0,05	3,26 ± 0,08	3,33 ± 0,11	—
IVRT, мс	76,54 ± 0,89	72,66 ± 0,71	82,64 ± 1,07	95,25 ± 1,25	P _{AA-AC} P _{AA-CC} P _{AC-CC}
DT, мс	164,64 ± 1,95	155,52 ± 1,15	178,64 ± 2,47	210,75 ± 1,89	P _{AA-AC} P _{AA-CC} P _{AC-CC}
Хворі на ЕГ (n = 100)					
ТЗСЛШ, см	1,20 ± 0,01*	1,14 ± 0,01*	1,23 ± 0,01*	1,27 ± 0,01*	P _{AA-AC} P _{AA-CC}
ТМШП, см	1,21 ± 0,01*	1,67 ± 0,01*	1,24 ± 0,01*	1,27 ± 0,05*	P _{AA-AC} P _{AA-CC}
iММЛШ г/м ²	161,44 ± 3,24*	135,58 ± 3,83*	172,15 ± 2,99*	207,79 ± 6,12*	P _{AA-AC} P _{AA-CC} P _{AC-CC}
КДО, мл	128,35 ± 2,39*	109,36 ± 2,77*	137,68 ± 2,64*	155,89 ± 3,44*	P _{AA-AC} P _{AA-CC} P _{AC-CC}
КСО, мл	63,16 ± 2,35*	50,05 ± 2,56*	67,07 ± 3,12*	93,38 ± 5,88*	P _{AA-AC} P _{AA-CC} P _{AC-CC}
ФВ, %	51,96 ± 1,09*	54,96 ± 1,42*	52,07 ± 1,60*	40,52 ± 2,83*	P _{AA-CC} P _{AC-CC}
ЛП, см	3,91 ± 0,05*	3,53 ± 0,07*	4,08 ± 0,05*	4,53 ± 0,12*	P _{AA-AC} P _{AA-CC} P _{AC-CC}
Е/А, ум.од.	1,15 ± 0,08*	0,99 ± 0,07*	1,02 ± 0,09*	2,30 ± 0,43*	P _{AA-CC} P _{AC-CC}
IVRT, мс	91,55 ± 1,74*	92,33 ± 2,34*	93,68 ± 2,69*	79,27 ± 4,89*	P _{AA-AC} P _{AA-CC}
DT, мс	221,03 ± 5,63*	92,33 ± 2,34*	93,68 ± 2,69*	79,27 ± 4,89*	P _{AA-AC} P _{AA-CC} P _{AC-CC}

*: відмінність вірогідна (p ≤ 0,05) порівняно з групою контролю.

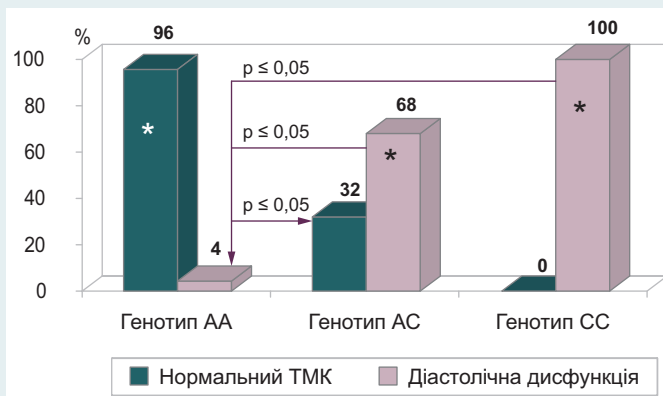


Рис. 1. Діагностична функція лівого шлуночка у хворих на неускладнену ЕГ, носіїв різних генотипів AT1-P, (%).

*: різниця показників вірогідна при p ≤ 0,05.

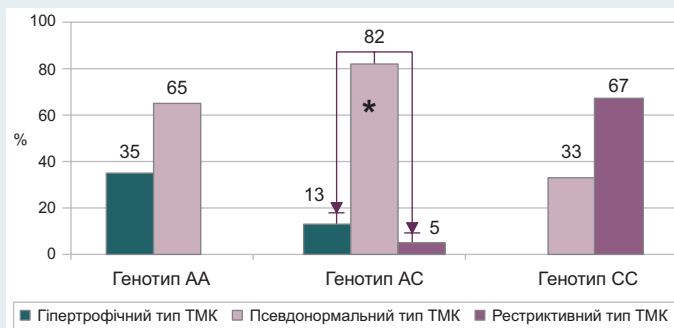


Рис. 2. Діагностична функція ЛШ у жінок постменопаузного віку з ЕГ та ознаками ХСН, носіїв різних генотипів AT1-P, (%).

*: різниця показників вірогідна в межах генотипу (p ≤ 0,05).

Успадкування генотипу AC гена AT1-P у пацієнок з ЕГ, що ускладнена ХСН, також асоціюється з порушенням діастолічної функції за псевдонормальним і рестриктивним типами (рис. 2).

Враховуючи високий ризик виникнення такого ускладнення ЕГ, як ХСН у жінок, які є носіями генотипів з алеллю С, перспективним є визначення структурної організації гена AT1-P. За допомогою дискримінантного аналізу розробили математичні моделі, завдяки яким можливе попереднє визначення варіанта структурної організації гена AT1-P у жінок постменопаузного віку. Як вихідні дані використали показники внутрішньосерцевої та системної гемодинаміки.

Для практично здорових жінок:

«Апель А» = $-1,07 \times \text{ММЛШ} + 104,18 \times \text{ФВ} + 0,63 \times \text{DT} - 1,79 \times \text{IVRT} - 74,08 \times \text{іКДО} + 207,5 \times \text{іКСО} - 3401,68$;

«Апель С» = $-0,84 \times \text{ММЛШ} + 103,45 \times \text{ФВ} + 0,76 \times \text{DT} - 1,39 \times \text{IVRT} - 73,9 \times \text{іКДО} + 205,76 \times \text{іКСО} - 3417,03$.

Величини показника класифікації дають змогу вважати практично здорових жінок постменопаузного віку носіями алелі А при значеннях показника, що близькі до 3401,68 (точність – 97 %), носіями алелі С – 3417,03 з точністю 96 % (статистика Wilks' Lambda = 0,21, F(8,71) = 34,04, p < 0,001).

Для жінок з ЕГ:

«Апель А» = $97,57 \times \text{ЛП} + 0,05 \times \text{ММЛШ} + 4,37 \times \text{ФВ} + 0,21 \times \text{DT} + 15,32 \times \text{Е/А} - 1,16 \times \text{УІ} - 311,25$;

«Апель С» = $102,38 \times \text{ЛП} + 0,11 \times \text{ММЛШ} + 4,62 \times \text{ФВ} + 0,24 \times \text{DT} + 16,62 \times \text{Е/А} - 1,26 \times \text{УІ} - 362,33$.

Величини показника класифікації дають можливість вважати жінок постменопаузного віку з ЕГ

носіями алелі А при значеннях показника, що близькі до 311,25, носіями алелі С – 362,33 (статистика Wilks' Lambda = 0,38, F(6,9) = 24,73, $p < 0,001$). Точність класифікації в категорію носіїв алелі А становить 80 %, алелі С – 96 %.

Обговорення

За даними багатьох досліджень, поліморфізм гена AT1-P є фактором, який може відігравати одну з основних ролей у виникненні та прогресуванні ЕГ. Так, успадкування алелі С гена AT1-P можна вважати чинником загального серцево-судинного ризику, оскільки зв'язок між успадкуванням алелі С і розвитком ГХ встановлено в результаті численних досліджень, здійснених у різних країнах (Данія [11], Польща [11], Франція [11], Норвегія [12], Японія [12,13], Китай [14], Індія [15], регіони Росії [7,12,16]).

Дослідження поліморфізму гена AT1-P виконали і в Україні. В результаті показано зв'язок між успадкуванням генотипів з алеллю С та ЕГ у жителів Полтавщини [10], Дніпропетровщини [17], Одещини [18], Харкова [19,20]. Дещо відмінні результати показали дослідження, здійснені на Буковині, коли виявили переважне успадкування генотипів АА гена AT1-P [21].

Поліморфізм гена AT1-P вивчали і серед чоловіків зрілого віку, мешканців Вінницької області. Встановили асоціацію носійства генотипу АС та алелі С у хворих на ГХ з формуванням вираженої ексцентричної гіпертрофії лівого шлуночка, розвитком діастолічної та систолічної дисфункції міокарда лівого шлуночка та розвитком ХСН [12].

Дані, що навели, показують: у рамках обстеження населення України є певні відмінності в успадкуванні варіантів генів AT1-P. Однією з можливих причин цього, крім безпосередньо генетичних факторів, є методологічні розбіжності. Тому вивчення названих поліморфізмів в окремій популяції з дотриманням відповідних правил для генетичних досліджень може дати точніший у прогностичному аспекті результат.

Протягом статистичного аналізу, який наведено, встановили: у практично здорових жінок частота виявлення генотипу АА переважає над такою для генотипів АС і СС ($p \leq 0,05$). Під час вивчення розподілу різних варіантів генотипу AT1-P серед жінок постменопаузального віку, які страждають на ЕГ (ЕГ II стадії та ЕГ, яка ускладнена ХСН ІІА стадії), та порівняння результатів з контрольною групою встановили: найбільша частота носійства генотипу АА зареєстрована в осіб контрольної групи, генотипу АС – у хворих на неускладнену гіпертонічну хворобу II стадії, а СС – у пацієнток із гіпертонічною хворобою, що ускладнена ХСН ІІА стадії. Ці відомості збігаються з результатами досліджень, котрі виконані серед населення інших країн і серед жителів Полтавської, Харківської, Одеської областей України.

Враховуючи названі особливості розподілу генотипів та алелей гена AT1-P у жінок постменопаузального віку, мешканок Поділля, виконали розрахунок ймовірності виникнення ЕГ і ХСН на її тлі серед практично здорових жінок постменопаузального віку, мешканок Вінниччини. Визначили, що ймовірність виникнення ЕГ у таких жінок становить для носіїв алелі А 46 %, у разі успадкування алелі С – 50 %.

Імовірність мати ЕГ, що ускладнена ХСН, у випадку успадкування алелі А становить 34 %, алелі С – 64 % (модель вірогідна при $\chi^2 = 16,81$, $p < 0,01$). Отже, успадкування алелі С можна вважати фактором, що здатен зумовлювати формування такого ускладнення ЕГ, як ХСН у жінок постменопаузального віку, котрі живуть у Подільському регіоні країни.

Протягом вивчення структурно-функціональних параметрів серця в жінок постменопаузального віку з ЕГ різних стадій, носіїв різних генотипів гена AT1-P, визначили: в носіїв генотипів АС і СС процеси ремоделювання лівого шлуночка, зміни його систолічної, діастолічної функції були вираженішими, ніж у носіїв гомозиготного генотипу АА.

Висновки

1. Успадкування генотипів гена AT1-P з алеллю С – АС і СС жінками постменопаузального віку, мешканок Подільського регіону України, асоціюється з наявністю ЕГ та більшою ймовірністю виникнення ХСН. Носійство алелі С визначає ймовірність виникнення ХСН на тлі ЕГ – 64 % (модель вірогідна при $\chi^2 = 16,81$, $p < 0,01$).

2. Успадкування жінками з ЕГ генотипів гена AT1-P із наявністю алелі С також асоціюється з переважним виявленням діастолічної та систолічної дисфункції лівого шлуночка при різному перебігу ЕГ. При цьому в пацієнток з ЕГ, що ускладнена ХСН, носійство алелі С асоціюється з суттєвішими порушеннями діастолічної функції лівого шлуночка за псевдонормальним і рестриктивним типами.

3. У випадку неможливості лабораторного визначення генетичної структури гена AT1-P, враховуючи більшу ймовірність виникнення в носіїв алелі С гена AT1-P такого ускладнення ЕГ, як ХСН, можуть бути використані математичні моделі для орієнтовного визначення структури гена за показниками внутрішньосерцевої гемодинаміки.

Перспективи подальших досліджень. Визначення генетичних маркерів схильності до розвитку ЕГ, що дасть змогу контролювати рівень захворюваності на цю патологію шляхом прогнозування ризику її розвитку та формування ускладнень, а також вивчення фармакогенетичних особливостей, які асоціюються з успадкуванням різних генотипів гена AT1-P жінками постменопаузального віку, мешканок Подільського регіону країни.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Сакович О. О., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішньої медицини медичного факультету № 2, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.
 Жебель В. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. внутрішньої медицини медичного факультету № 2, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.
 Поліщук Т. В., асистент каф. внутрішньої медицини медичного факультету № 2, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Франчук С. В., канд. мед. наук, асистент каф. внутрішньої медицини медичного факультету № 2, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.
Сурсаєва Л. М., аспірант каф. внутрішньої медицини медичного факультету № 2, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Сведения об авторах:

Сакович Е. А., канд. мед. наук, доцент каф. внутренней медицины медицинского факультета № 2, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.
Жебель В. Н., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. внутренней медицины медицинского факультета № 2 Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.
Полищук Т. В., ассистент каф. внутренней медицины медицинского факультета № 2, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.
Франчук С. В., канд. мед. наук, ассистент каф. внутренней медицины медицинского факультета № 2, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.
Сурсаева Л. Н., аспирант каф. внутренней медицины медицинского факультета № 2, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Information about authors:

Sakovych O. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Internal Medicine of the Medical Faculty № 2, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.
Zhebel V. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Internal Medicine of the Medical Faculty № 2, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.
Polishchuk T. V., MD, Assistant of the Department of Internal Medicine of the Medical Faculty № 2, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.
Franchuk S. V., MD, PhD, Assistant of the Department of Internal Medicine of the Medical Faculty № 2, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.
Sursaieva L. M., MD, PhD student of the Department of Internal Medicine of the Medical Faculty № 2, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 29.05.2018

Після доопрацювання / Revised: 01.06.2018

Прийнято до друку / Accepted: 08.06.2018

Список літератури

- [1] Пашкова Ю.П. Структурно-функціональні показники міокарда у чоловіків мешканців Подільського регіону України з гіпертонічною хворобою II стадії, носіїв різних варіантів гена мозкового натрій-уретичного пептиду / Ю.П. Пашкова, Г.О. Палагнюк, В.М. Жебель // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2016. – Т. 20. – №1(2). – С. 165–171.
- [2] Хвороби системи кровообігу як медико-соціальна і суспільно-політична проблема / під ред. В.М. Коваленка, В.М. Корнацького. – К., 2014. – 280 с.
- [3] Сакович О.О. Успадкування поліморфних генотипів гена рецептора ангіотензину II 1-го типу та фактори ризику розвитку гіпертонічної хвороби у жінок, які проживають у Вінницькій області / О.О. Сакович, В.М. Жебель, А.Ф. Гуменюк // Запорозький медичний журнал. – 2011. – Т. 13. – №4. – С. 44–47.
- [4] Genome-wide association analysis identifies novel blood pressure loci and offers biological insights into cardiovascular risk / H. Warren, E. Evangelou, C. Cabrera, et al. // Nature Genetics. – 2017. – Vol. 49(3). – P. 403–415.
- [5] Zeller T. Genomewide association studies in cardiovascular disease: an update 2011/ T. Zeller, S. Blankenberg, P. Diemert // Clin. Chem. – 2012. – Vol. 58. – №1. – P. 92–103.
- [6] Padmanabhan S. Genomics of hypertension / S. Padmanabhan, A. Aman, A.F. Dominiczak // Pharmacological Research. – 2017. – Vol. 121. – P. 219–229.
- [7] Особенности клинического течения артериальной гипертензии в зависимости от полиморфного варианта гена AGTR1 / Т.Ю. Зотова, А.П. Кубанова, М.М. Азова, А. Аит Аисса // Клиническая медицина. – 2017. – Т. 95. – №5. – С. 404–407.

- [8] 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC) / G. Mancia, R. Fagard, K. Narkiewicz, et al. // Journal of Hypertension. – 2013. – Vol. 31(7). – P. 1281–1357.
- [9] Рекомендації Асоціації кардіологів України з діагностики та лікування хронічної серцевої недостатності (2017) / Л.Г. Воронков, К.М. Амосова, Г.В. Дзяк та ін. // Серцева недостатність та коморбідні стани. – 2017. – №1(1). – С. 6–66.
- [10] Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging / S.F. Nagueh, O.A. Smiseth, C.P. Appleton, et al. // Journal of the American Society of Echocardiography. – 2016. – Vol. 29(4). – P. 277–314.
- [11] Полиморфизм рецептора ангиотензина II 1-го типа у больных эссенциальной гипертензией в украинской популяции / И.П. Кайдашев, М.С. Расин, Л.Г. Савченко и др. // Цитология и генетика. – 2005. – №5. – С. 51–55.
- [12] Генотип рецептора ангіотензину II 1-го типу як фактор впливу на структуру та функцію міокарда у хворих на гіпертонічну хворобу різної тяжкості / В.М. Жебель, О.Л. Старжинська, Ю.О. Гефтер та ін. // Артеріальна гипертензия. – 2009. – №1(3). – С. 24–29.
- [13] Association of interactions between dietary salt consumption and hypertension-susceptibility genetic polymorphisms with blood pressure among Japanese male workers / T. Imaizumi, M. Ando, M. Nakatochi, et al. // Clin Exp Nephrol. – 2017. – Vol. 21. – №3. – P. 457–464.
- [14] Tong J. Effect of Interaction Between Noise and A1166C Site of AT1R Gene Polymorphism on Essential Hypertension in an Iron and Steel Enterprise Workers / J. Tong, Y. Wang, J. Yuan, et al. // J Occup Environ Med. – 2017. – №59(4). – P. 12–416.
- [15] Role of angiotensin II type I (AT1 A1166C) receptor polymorphism in susceptibility of left ventricular dysfunction / A. Mishra, A. Srivastava, S. Kumar, et al. // Indian Heart J. – 2015. – Vol. 67(3). – P. 214–221.
- [16] Анализ полиморфизмов генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и связь с вазопрессорами при эссенциальной артериальной гипертензии с гипертрофией левого желудочка в дагестанской популяции / М.З. Саидов, С.Н. Маммаев, А.А. Абдуллаев и др. // Российский кардиологический журнал. – 2017. – Т. 22. – №10(150). – С. 76–84.
- [17] Дзяк Г.В. Генотипические «ансамбли» полиморфных маркеров генов ренин-ангиотензиновой системы у больных с гипертонической болезнью / Г.В. Дзяк, Т.В. Колесник // Український кардіологічний журнал. – 2008. – №4. – С. 34–39.
- [18] Тихонова С.А. Полиморфизм генов рецептора ангиотензина II первого типа и синтазы альдостерона у молодых мужчин с разными уровнями артериального давления и наследственным анамнезом по гипертонической болезни / С.А. Тихонова // Український терапевтичний журнал. – 2008. – №3. – С. 61–66.
- [19] Полиморфизм гена рецептора ангиотензина II 1-го типа и его влияние на эффективность терапии олдесартаном у пациентов с гипертонической болезнью / В.И. Целуйко, Т.Р. Брегадзе, Н.Е. Мишук, З.С. Вашикидзе // Український кардіологічний журнал. – 2013. – №4. – С. 21–27.
- [20] Особливості ремоделювання серця і судин у пацієнтів з гіпертонічною хворобою і супутнім цукровим діабетом 2 типу в залежності від поліморфізму гена AGTR1 / А.С. Шалімова, О.М. Біловол, М.М. Кочуєва та ін. // Кардиология от науки к практике. – 2015. – №3(16). – С. 22–29.
- [21] Sydoruk L.P. Influence of pharmacogenetically determined treatment on parameters of peripheral hemodynamics in patients with arterial hypertension / L.P. Sydoruk, K.M. Amosova // The New Armenian Medical Journal. – 2011. – Vol. 5. – №2. – P. 35–43.

References

- [1] Pashkova, I. P., Palahniuk, H. O., & Zhebel, V. M. (2016). Strukturno-funktsionalni pokaznyky miokarda u choloivik meshkantsiv Podilskoho rehionu Ukrainy z hipertoničnoiu khvoroboiu II stadii, nosiiv riznykh variantiv hena mozkovoho natriuretychnoho peptydu [Structural and functional indicators of myocardium in men citizens of podillia region in ukraine with essential hypertension stage ii carriers of different variants of the brain natriuretic peptide gene]. *Visnyk Vinnytskoho natsionalnoho medychnoho universytetu*, 20, 1(2), 165–171. [in Ukrainian].
- [2] Kovalenko, V. M., & Kornatskyi, V. M. (Eds.) (2014). *Khvoroby systemy krovoobihu yak medyko-sotsialna i suspilno-politychna problema [Diseases of the circulatory system as medical-social and socio-political problem]*. Kyiv. [in Ukrainian].
- [3] Sakovych, O. O., Zhebel, V. M., & Humeniuk, A. F. (2011). Uspadkuvannia polimorfnykh henotypiv hena retseptora anghiotenzynu II 1-ho typu ta faktory ryzyku rozvytku hipertoničnoiu khvorobu u zhinok, yaki prozhyvaiut u Vinnytskii oblasti [Inheritance of polymorphic genotypes of

- the angiotensin II receptor type II and risk factors for the development of hypertonic disease in women living in the Vinnytsia region]. *Zaporozhye medical journal*, 13(4), 44–47. [in Ukrainian].
- [4] Warren, H., Evangelou, E., Cabrera, C., Gao, H., Ren, M., Mifsud, B., Ntalla, I., et al. (2017). Genome-wide association analysis identifies novel blood pressure loci and offers biological insights into cardiovascular risk. *Nature Genetics*, 49(3), 403–415. doi: 10.1038/ng.3768.
 - [5] Zeller, T., Blankenberg, S., & Diemert, P. (2012). Genomewide association studies in cardiovascular disease—an update 2011. *Clin. Chem.*, 58(1), 92–103. doi: 10.1373/clinchem.2011.170431.
 - [6] Padmanabhan, S., Aman, A., & Dominiczak, A. F. (2017). Genomics of hypertension. *Pharmacological Research*, 121, 219–229. doi: 10.1016/j.phrs.2017.04.031.
 - [7] Zotova, T. Yu., Kubanova, A. P., Azova, M. M., & Aut Aissa Amira. (2017). Osobennosti klinicheskogo techeniya arterial'noj gipertenzii v zavisimosti ot polimorfnoho varianta gena AGTR1 [Peculiarities of the clinical picture of arterial hypertension depending on polymorphic variant of AGTR1 gene]. *Klinicheskaya medicina*, 95(5), 404–407. doi: 10.18821/0023-2149-2017-95-5-404-407. [in Russian].
 - [8] Mancia, G., Fagard, R., Narkiewicz, K., Redón, J., Zanchetti, A., Böhm, M., et al. (2013). 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Journal of Hypertension*, 31(7), 1281–1357. doi: 10.1097/01.hjh.0000431740.32696.cc.
 - [9] Voronkov, L. H., Amosova, K. M., Dziak, H. V., Zharinov, O. I., Kovalenko, V. M., Korkushko, et al. (2017). Rekomendatsii Asotsiatsii kardiologiv Ukrainy z diahnozyky ta likuvannia khronichnoi sertsevoi nedostatnosti (2017) [Recommendations of the Association of Cardiologists of Ukraine for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure (2017)]. *Sertseva nedostatnist ta komorbidni stany*, 1(1), 6–66. [in Ukrainian].
 - [10] Nagueh, S. F., Smiseth, O. A., Appleton, C. P., Byrd, B. F. 3rd, Dokainish, H., Edvardsen, T., et al. (2016). Recommendations for the Evaluation of Left Ventricular Diastolic Function by Echocardiography: An Update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 29(4), 277–314. doi: 10.1016/j.echo.2016.01.011.
 - [11] Kajdashev, I. P., Rasin, M. S., Savchenko, L. G., Shlykova, O. A., & Yakimishyna, L. I. (2005). Polimorfizm retseptora angiotenzina II 1-go tipa u bol'nykh e'ssentsial'noj gipertenziei v ukrainskoj populyatsii [Polymorphism of the angiotensin II type 1 receptor in patients with essential hypertension in Ukrainian population]. *Citologiya i genetika*, 5, 51–55. [in Russian].
 - [12] Zhebel, V. M., Starzhynska, O. L., Gefter, Yu. O., Blonar, O. L., Palii, I. K., & Shevchuk, O. K. (2009). Henotyp retseptora anhiotenzynu II 1-ho typu yak faktor vplyvu na strukturu ta funktsiiu miokarda u khvorykh na hipertonichnu khvorobu riznoi tiazhkosti [The genotype of angiotensin II receptor type II as a factor of influence on the structure and function of the myocardium in patients with Essential hypertension of different severity]. *Arterial'naya gipertenziya*, 1(3), 24–29. [in Ukrainian].
 - [13] Imaizumi, T., Ando, M., Nakatochi, M., Maruyama, S., Yasuda, Y., Honda, H., et al. (2017). Association of interactions between dietary salt consumption and hypertension-susceptibility genetic polymorphisms with blood pressure among Japanese male workers. *Clin Exp Nephrol.*, 21(3), 457–464. doi: 10.1007/s10157-016-1315-3.
 - [14] Tong, J., Wang, Y., Yuan, J., Yang, J., Wang, Z., Zheng, Y., et al. (2017). Effect of Interaction Between Noise and A1166C Site of AT1R Gene Polymorphism on Essential Hypertension in an Iron and Steel Enterprise Workers. *J Occup Environ Med.*, 59(4), 412–416. doi: 10.1097/JOM.0000000000000970.
 - [15] Mishra, A., Srivastava, A., Kumar, S., Mittal, T., Garg, N., Agarwal, S. K., et al. (2015). Role of angiotensin II type I (AT1 A1166C) receptor polymorphism in susceptibility of left ventricular dysfunction. *Indian Heart J.*, 67(3), 214–221. doi: 10.1016/j.ihj.2015.04.013.
 - [16] Saidov, M. Z., Mammaev, S. N., Abdullaev, A. A., Arapkhanova, T. B., & Israilova, G. R. (2017). Analiz polimorfizmov genov renin-angiotenzin-al'dosteronovoy sistemy i svyaz' s vazopressorami pri e'ssentsial'noj arterial'noj gipertenzii s gipertrofiyev legovo zheludochka v dagestanskoj populyatsii [Analysis of polymorphisms of renin-angiotensin-aldosterone system and relation to vasopressors in essential systemic hypertension with the left ventricle hypertrophy in dagestan republic]. *Rossiyskij kardiologicheskij zhurnal*, 22, 10(150), 76–84. doi: 10.15829/1560-4071-2017-10-76-84. [in Russian].
 - [17] Dzyak, G. V., & Kolesnik, T. V. (2008). Genotipicheskie «ansambli» polimorfnykh markerov genov renin-angiotenzinovoy sistemy u bol'nykh s gipertonicheskoy bolezn'yu [Genotypic «ensembles» of polymorphic markers of genes of the renin-angiotensin system in patients with essential hypertension]. *Ukrainskyi kardiologichnyi zhurnal*, 4, 34–39. [in Russian].
 - [18] Tykhonova, S. A. (2008). Polimorfizm genov receptora angiotenzina II pervogo tipa i sintazy al'dosterona u molodykh muzhchyn s raznymi urovnyami arterial'nogo davleniya i nasledstvennym anamnezom po gipertonicheskoy boleznii [Gene polymorphism of angiotensin II receptor of the 1st type and aldosterone synthase in young men with different blood pressure levels and hereditary predisposition to primary hypertension]. *Ukrainskyi terapevtychnyi zhurnal*, 3, 61–66. [in Russian].
 - [19] Tseluyko, V. J., Bregvadze, T. R., Mishchuk, N. E., & Vashakidze, Z. S. (2013). Polimorfizm gena receptora angiotenzina II 1-go tipa i ego vliyanie na jeffektivnost' terapii olmesartanom u pacientov s gipertonicheskoy bolezn'yu [Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism and its influence upon efficiency of olmesartan treatment in patients with essential hypertension]. *Ukrainskyi kardiologichnyi zhurnal*, 4, 21–27. [in Ukrainian].
 - [20] Shalimova, A. S., Bilovol, O. M., Kochueva, M. M., et al. (2015). Osoblyvosti remodeliuvannia sertsia i sudyn u patsientiv z hipertonichnoiu khvoroboiu i suputnim tsukrovym diabetom 2 typu v zalezhnosti vid polimorfizmu gena AGTR1 [Features of cardiac and vascular remodeling in patients with hypertension and concomitant diabetes mellitus type 2, depending on the polymorphism of the AGTR1]. *Kardiologiya ot nauki k praktike*, 3(16), 22–29. [in Ukrainian].
 - [21] Sydoruk, L. P., & Amosova, K. M. (2011). Influence of pharmacogenetically determined treatment on parameters of peripheral hemodynamics in patients with arterial hypertension. *The New Armenian Medical Journal*, 5(2), 35–43.

Quantitative characteristics of the neurotensin content in the hypothalamic arcuate nucleus in arterial hypertension of different etiologies

O. V. Hancheva, S. V. Tishchenko, T. V. Ivanenko

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Key words:

hypothalamus, arcuate nucleus, neurotensin, hypertension, rats.

Pathologia

2018; 15 (2), 176–179

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.2.141399

E-mail:

gancheva@zsmu.pp.ua

The aim of this work is to determine the features of the neurotensin content in the hypothalamic ARC in Wistar rat and SHR strains in arterial hypertension of different etiology: endocrine-salt and essential.

Materials and methods. The study was performed on 24 adult male rats at the age of 13–14 months, weight of 250–270 g, which were divided into three experimental groups of 8 animals each. The 1st group (control) – Wistar rats with normal BP indices (Psys / Pdias = 110/75 ± 5 mm Hg), the 2nd – Wistar rats with endocrine-salt model of hypertension (Psys/Pdias = 145/110 ± 10 mm Hg); the 3rd – SHR with spontaneous arterial hypertension (Psys/Pdias = 150/110 ± 10 mm Hg). An immunohistochemical method was used to study the content of neurotensin in the arcuate nucleus, analyzed by digital processing with Image J and EXCEL-7.0.

Results. Persistent increase in BP is accompanied by an increase in the content and concentration of neurotensin in the hypothalamic ARC, does not depend on the etiology of hypertension and has a compensatory character. In SHR with essential hypertension there is a higher expression of neurotensin in the hypothalamic ARC in comparison with the endocrine-salt model of hypertension, but the number of neurons involved in the synthesis and accumulation of the neurohormone is significantly lower, which characterizes the morphological features of cellular populations in the hypothalamus of the animals of this strain and can play a role in the development and progression of hypertension.

Ключові слова:

гіпоталамус, аркуатне ядро, нейротензин, артеріальна гіпертензія, щури.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 2(43). – С. 176–179

Кількісні характеристики вмісту нейротензину в аркуатному ядрі гіпоталамуса при різних за етіологією артеріальних гіпертензіях

О. В. Ганчева, С. В. Тищенко, Т. В. Іваненко

Мета роботи – встановити особливості вмісту нейротензину в аркуатному ядрі (АрЯ) гіпоталамуса в щурів ліній Wistar і SHR при етіологічно різних артеріальних гіпертензіях (ендокринно-сольовій та есенціальній).

Матеріали та методи. Дослідження виконали на 24 статевозрілих щурах-самцях масою 250–270 г, віком 13–14 місяців, яких поділили на 3 експериментальні групи по 8 тварин у кожній: 1 – контрольна з нормальними показниками АТ (Рс/Рд = 110/75 ± 5 мм рт. ст.), щури лінії Wistar; 2 – щури лінії Wistar з ендокринно-сольовою моделлю АГ (145/110 ± 10 мм рт. ст.); 3 – щури лінії SHR зі спонтанною АГ (Рс/Рд = 150/110 ± 10 мм рт. ст.). Для вивчення вмісту нейротензину в аркуатному ядрі використали імуногістохімічний метод. Надалі дані опрацювали в програмах ImageJ і EXCEL-7.0.

Результати. Стійке підвищення артеріального тиску супроводжується збільшенням вмісту та концентрації нейротензину (НТ) в АрЯ гіпоталамуса й не залежить від етіології АГ, має компенсаторний характер. При есенціальній АГ у щурів лінії SHR визначили вищу експресію НТ в АрЯ гіпоталамуса порівняно з ендокринно-сольовою моделлю гіпертензії, але кількість нейронів, залучених у накопичення і синтез нейрогормона, вірогідно менша, що характеризує морфологічну особливість клітинних популяцій гіпоталамуса у тварин цієї лінії та може відігравати роль у розвитку, прогресуванні АГ.

Ключевые слова:

гипоталамус, аркуатное ядро, нейротензин, артериальная гипертензия, крысы.

Патология. – 2018. –

Т. 15, № 2(43). – С. 176–179

Количественные характеристики содержания нейротензина в аркуатном ядре гипоталамуса при разных по этиологии артериальных гипертензиях

О. В. Ганчева, С. В. Тищенко, Т. В. Иваненко

Цель работы – установить особенности содержания нейротензина в аркуатном ядре (АрЯ) гипоталамуса у крыс линий Wistar и SHR при этиологически различных артериальных гипертензиях (эндокринно-солевой и эссенциальной).

Материалы и методы. Исследование проведено на 24 половозрелых крысах-самцах массой 250–270 г, в возрасте 13–14 месяцев, которых поделили на 3 экспериментальные группы по 8 животных в каждой: 1 – контрольная с нормальными показателями АД (Рс/Рд = 110/75 ± 5 мм рт. ст.), крысы линии Wistar; 2 – крысы линии Wistar с эндокринно-солевой моделью АГ (145/110 ± 10 мм рт. ст.); 3 – крысы линии SHR со спонтанной АГ (Рс/Рд = 150/110 ± 10 мм рт. ст.). Для изучения содержания нейротензина в аркуатном ядре использовали иммуногистохимический метод с последующей цифровой обработкой данных в программах ImageJ и EXCEL-7.0.

Результаты. Стойкое повышение АД сопровождается увеличением содержания и концентрации нейротензина в АрЯ гипоталамуса, не зависит от этиологии АГ и носит компенсаторный характер. При эссенциальной АГ у крыс линии SHR отмечена более высокая экспрессия НТ в АрЯ гипоталамуса по сравнению с эндокринно-солевой моделью гипертензии, но при этом количество вовлеченных нейронов в накопление и синтез нейрогормона достоверно ниже, что характеризует морфологическую особенность клеточных популяций гипоталамуса у животных этой линии и может играть роль в развитии и прогрессировании АГ.

At the present stage of society development the prevalence of cardiovascular diseases has increased, among which arterial hypertension (AH) takes a leading place. So, at the current stage AH is diagnosed in 972 million people with a tendency to increase in the number of patients. The disease is polyetiologic, however among all diagnosed cases of AH about 50 % had neurogenic origin. This type of AH arises as a result of central regulatory mechanisms for arterial blood pressure (BP) violation. [1]. The second leading cause of AH is the endocrine system pathology [2].

Today it is well known that the central element of arterial BP regulation is the hypothalamus and its nuclei which provide interaction between suprasegmental and segmental centers of the autonomic nervous system, participate in maintenance of an organism homeostasis, endocrine balance and vascular tone [3–4]. Adequate regulation of arterial BP in changing conditions requires coordination of a hypothalamus with superior and inferior neuroendocrine centers as well as coordination of intra-hypothalamic nuclei and structures. Hypothalamic ARC carries out this function due to its topographical features, a large number of projections to other nuclei, a wide range of synthesized neuropeptides in it and also the multireceptor apparatus. Multi-year researches of neuropeptide complexes in hypothalamic various structures have shown their imbalance regardless of the AH etiology, however it has its own particular characteristics depending on a disease etiology and topographical relation of structure [5–6].

Among a wide range of the synthesized neuropeptides in ARC, we have chosen neurotensin (NT), a tridecapeptide that is distributed in various organs and tissues in humans, its highest concentrations are found in the GIT and the CNS. It should be noted that the highest concentration of NT localized in CNS is observed in hypothalamus [7]. The physiological effect of NT is dependent on its concentration and place of action therefore number of authors describe its multidirectional effects. Central injection of NT led to hypothermia, analgesia, relaxation of muscles and decreased arterial pressure [8] whereas NT peripheral action was characterized by vasoconstriction, stimulation of intestine motility, inhibition of hydrochloric acid secretion [9].

The purpose

The purpose of the work was to determine the features of the neurotensin content in the hypothalamic ARC in Wistar rat and SHR strains in arterial hypertension of different etiology: endocrine-salt and essential

Materials and methods

The study was performed on 24 adult male rats at the age of 13–14 months, weight of 250–270 g, which were divided into three experimental groups of 8 animals each: the 1st group (control) – Wistar rats with normal BP indices (Psys / Pdias = 110/75 ± 5 mm Hg); the 2nd – Wistar rats with endocrine-salt model (ESM) of hypertension (Psys / Pdias = 145/110 ± 10 mm Hg), (Ukraine patent № UA 102234); the 3rd – SHR with spontaneous arterial hypertension (Psys / Pdias = 150/110 ± 10 mm Hg). An experimental part of the study was carried out in accordance with the

National «General Ethical Principles of Experiments on Animals» (Ukraine, 2001), approved by the Directive 2010/63/EU, adopted in September 22, 2010, by the European Parliament and Council for the protection of animals used for scientific purposes.

To improve the neuropeptides detection animals underwent the intracerebroventricular injection of colchicine two days prior to removing from the experiment that led to axonal transport violation and promoted local accumulation of neuropeptides in the hypothalamus.

The object of study in experimental animals was the hypothalamus, in 14 µm sections of which immunohistochemical study was performed to research the NT expression in ARC. Serial sections of the hypothalamus were incubated with rabbit anti-NT IgG (Santa Cruz Biotechnology, USA), diluted 1:200, for 24 hours at T = + 40 °C in polymeric chambers, then FITC-conjugated mouse anti-rabbit IgG (Santa Cruz Biotechnology, USA), diluted 1:200, were added for 45 minutes at T = +37 °C and placed in a mixture of glycerol/phosphate buffer (9:1).

Specificity control of antibody binding was carried out in a similar manner, but the sections before the primary antibodies application were incubated with the corresponding blocking peptide (Santa Cruz Biotechnology, USA), diluted 1:50. The sections were examined with ultraviolet microscopy (Axio Imager microscope-M2, Carl Zeiss, Germany) with an excitation wavelength 390 nm, using a filter 38HE with high emission (Carl Zeiss, Germany). The images were captured using an 8-bit camera AxioCam-ERc5s (Carl Zeiss, Germany) and recorded into computer file. Images analysis was performed semi-automatically using Image J software with an open source (National Institutes of Health, USA).

For accurate identification of the fluorescence area and thus the structure of ARC a «mask» was applied in which the content of immunoreactive material (IRM) to NT in relative units (Uif), the IRM to NT concentration in 1 µm² (Uif/µm²) and the IRM to NT specific area (%) in relation to the «mask» square were calculated. At least 200 fields of view in each series were subjected to study. All experimental data were processed using the software EXCEL 7.0 (Microsoft Corporation, USA). The arithmetic average value of the sample (M), its dispersion and mean error (m) were calculated for all indicators. In order to determine significance of study results differences in the experimental groups, Student's coefficient (t) was used and then definition of differences between samples (p) probability and confidence interval of mean by Student's distribution tables were carried out. P value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

In the present study of distribution of NT in hypothalamic ARC in Wistar rats and SHR strain it has been found that persistent increase in BP was accompanied by stereotype changes in NT expression in etiologically different AH that was characterized by a significant increase in both IRM content and concentration in SHR by 42 % and 10 %; in rats with endocrine-salt hypertension by 40 % and 6 % respectively (Table 1, Fig. 1).

Table 1. NT expression in hypothalamic ARC in the experimental animal groups (M ± m)

	Neurotensin		
	Immunoreactive material content, Uif	Immunoreactive material concentration, Uif/μm ²	Immunoreactive material specific area, %
Wistar	160.144 ± 3.598	14.969 ± 0.225	53.418 ± 0.59
SHR	249.249 ± 8.526 ¹	24.369 ± 0.741 ¹	46.017 ± 0.732 ¹
ESM	177.708 ± 3.957 ²	16.347 ± 0.362 ²	55.144 ± 0.626

¹: significant difference of the experimental groups indices (P value < 0.05) in comparison with the control indices; ²: significant difference of SHR strain indices (P value < 0.05) in comparison with endocrine-salt hypertension animal group indices.

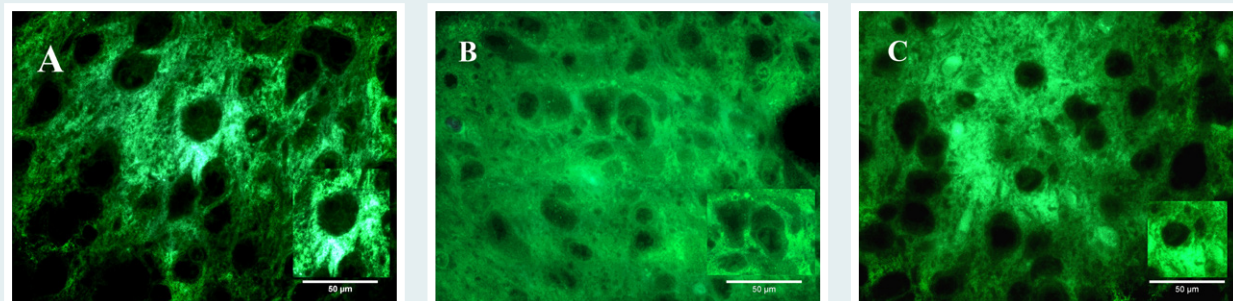


Fig. 1. Distribution of IRM in hypothalamic ARC neurons in the control (A), SHR (B) and endocrine-salt hypertension (C) groups. Reaction of indirect immunofluorescence, magn. ×400.

NT distribution in the ARC structure, which depends on the number of NT expressing and accumulating neurons is associated with the etiology and pathogenesis of AH. Thus, in essential hypertension (SHR strain) IRM to NT specific area was significantly lower by 13 % than in the rats of control group, whereas in animals with endocrine-salt hypertension it was not significantly different from that of the control (Table 1, Fig. 1).

Comparative analysis of the IRM to NT expression in hypothalamic ARC in rats with AH showed that the highest content and concentration of neurohormone were observed in the SHR group by 40 % and 50 %, respectively higher in comparison with group of animals with endocrine-salt hypertension. Although the IRM to NT specific area was 16 % less (Table 1).

Discussion

The results obtained in the course of study: the IRM to NT expression and content in hypothalamic ARC in rats with AH raise a number of issues and require deeper analysis. Today there is no clear opinion concerning intrahypothalamic NT concentration, its role and importance in the etiologically different AH. Moreover, even in the well studied SHR strain with genetically determined AH, different researchers show opposite results of NT content, making various hypotheses of its role in hypertension development and progression [10]. So, in the 1980–1990s a group of scientists (A. Shulkes, S. J. Lewis and B. Jarrott) carried out the study and found that NT distribution in the brain of SHR and normotensive rats Wistar-Kyoto (WKY) was similar, its highest concentration (55–75 pmol/g) was in the hypothalamus and the lowest in the cerebellum (3–6 pmol/g). While in comparison with WKY rats SHR had significantly lower levels of NT in the hypothalamus (-17 %), medulla oblongata

(-18 %), pituitary gland (-52 %) and spinal cord (-44 %). The authors explain obtained results by a possible role of NT as a neurotransmitter and its cardiovascular effects following central and peripheral administration. They believe that reduced levels of this peptide may be relevant to its regulatory influence in conditions of increased blood pressure of SHR [10,11]. However, we believe that the quantitative indices of any neurohormone expression and prevalence in the brain structures depend on the detection method, state of animals at the time of study (anesthetized or awake), topographical relation to certain nuclear structures of the brain and their function, axonal transport velocity, neurohormone synthesis and accumulation in the neurons.

So, in the described above work, the study of local NT concentrations in the brain structures was carried out using neurohormone extraction from homogenates of the hypothalamus, pituitary gland, cerebellum and the brain stem and then its restoring and identification with radioimmunoassay.

The advantage of our study were 2–3 days prior intracerebroventricular injection of colchicine in vivo, which contributed to the IRM accumulation in hypothalamic neurons, direct identification of NT in the ARC structure, exclusion of the adjacent hypothalamic structures, which can synthesize or accumulate NT with the help of region of interest selection ("mask") in the quantitative indices calculation.

Thus, the established fact of NT expression increase in hypothalamic ARC with persistent increase in blood pressure, the uniformity of its content changes in etiologically different AH indicate this neuropeptide involvement in the control and regulation of BP. The same effect of NT was proved by the results of experimental studies, conducted by Rioux and his colleagues who observed that intracerebroventricular injections of NT led to significant hypotension in anesthetized rats [11].

The fact of immunoreactive to NT specific area decrease in hypothalamic ARC in SHR strain characterizes the morphological features of hypothalamic cell populations as it has repeatedly been noted by other researchers [12]. Here, the recent morphological studies have shown that the number of neurons in several hypothalamic nuclei (including paraventricular and periventricular optic nuclei) was reduced in SHR strain in comparison with WKY rats. If the reduction in the number of cells is a common phenomenon for SHR, this may explain the significant increase in both concentration and content of local NT levels in hypothalamic ARC in comparison with Wistar rats with endocrine-salt hypertension.

Conclusions

1. Persistent increase in BP is accompanied by an increase in the content and concentration of NT in the hypothalamic ARC, it does not depend on the etiology of hypertension and has a compensatory character.

2. In SHR with essential hypertension there is a higher expression of neurotensin in the hypothalamic ARC in comparison with the endocrine-salt model of hypertension, but the number of neurons involved in the synthesis and accumulation of the neurohormone is significantly lower, which characterizes morphological features of the hypothalamic cellular populations in the animals of this strain and can play a role in the development and progression of hypertension.

Prospects of the further researches: intracerebroventricular injections of NT are planned with simultaneous BP measuring for the profound study of NT influence on the hypertension development.

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

Information about authors:

Hancheva O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Tishchenko S. V., MD, Assistant of the Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Ivanenko T. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Physiology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

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.
Іваненко Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної фізіології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Ганчева О. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Тіщенко С. В., ассистент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.
Іваненко Т. В., канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Надійшла до редакції / Received: 14.06.2018

Після доопрацювання / Revised: 03.07.2018

Прийнято до друку / Accepted: 06.07.2018

References

- [1] Mozaffarian, D., Benjamin, E. J., Go, A. S., Arnett, D. K., Blaha, M. J., Cushman, M., et al. (2015). Heart disease and stroke statistics-2015 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, 131(4), e29–322. doi: 10.1161/CIR.000000000000152.
- [2] Gerasimova, A. S., & Olejnikov, V. E. (2008). Arterial'naya gipertoniya, asociirovannaya s metabolicheskim sindromom: osobennosti techeniya i porazheniya organov-mishenej [Arterial hypertension associated with metabolic syndrome: features of the course and lesion of target organs]. *Medicinskie nauki. Obzory literatury*, 3. [in Russian].
- [3] Kawabe, T., Kawabe, K., & Sapru, H. N. (2012). Cardiovascular Responses to Chemical Stimulation of the Hypothalamic Arcuate Nucleus in the Rat: Role of the Hypothalamic Paraventricular Nucleus. *PLoS ONE*, 7(9), e45180. doi: 10.1371/journal.pone.0045180.
- [4] Chronwall, B. (1985). Anatomy and physiology of the neuroendocrine arcuate nucleus. *Peptides*, 6(2), 1–11. doi: 10.1016/0196-9781(85)90128-7.
- [5] Littlejohn, N. K., Siel, R. B. Jr., Ketsawatsomkron, P., Pelham, C. J., Pearson, N. A., Hilzendeger, A. M., et al. (2013). Hypertension in mice with transgenic activation of the brain renin-angiotensin system is vasopressin dependent. *Physiology Publisher*, 304(10), R818–28. doi: 10.1152/ajpregu.00082.2013.
- [6] Garlow, S. J., Boone, E., Kinkead, B., & Nemeroff, C. B. (2006). Genetic Analysis of the Hypothalamic Neurotensin System. *Neuropsychopharmacology*, 31(3), 535–543. doi: 10.1038/sj.npp.1300870.
- [7] Merchenthaler, I., & Lennard, D. E. (1991). The Hypophysiotropic Neurotensin-Immunoreactive Neuronal System of the Rat Brain. *Endocrinology*, 129(6), 2875–2880. doi: 10.1210/endo-129-6-2875.
- [8] Nemeroff, C., Luttinger, D., & Prange, A. (1980). Neurotensin: central nervous system effects of a neuropeptide. *Trends in Neurosciences*, 3(9), 212–216. doi: https://doi.org/10.1016/0166-2236(80)90080-6.
- [9] Osadchuk, M. A., Osadchuk, A. M., Balashov, D. V., & Kvetnoy, I. M. (2011). Refrakternaya forma gastroezofageal'noj refluksnoj bolezni: kliniko-e'ndoskopicheskie, funktsional'nye i morfofunktsional'nye kriterii [The refractory form of gastroesophageal reflux disease: clinical and endoscopic, functional and morphofunctional criteria]. *Rossiiskij zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*, 21(2), 30–36. [in Russian].
- [10] Summers, C., Phillips, M. I., & Richards, E. M. (1982). Central pressor action of neurotensin in conscious rats. *Hypertension*, 4(6), 888–893.
- [11] Quirion, R., Rioux, F., Regoli, D., & St-Pierre, S. (1980). Compound 48/80 inhibits neurotensin-induced hypotension in rats. *Life Sciences*, 27(20), 1889–1895. doi: 10.1016/0024-3205(80)90435-X.
- [12] Nelson, D., & Boulant, J. (1981). Altered CNS neuroanatomical organization of spontaneously hypertensive (SHR) rats. *Brain Research*, 226(1–2), 119–130.

Состояние биоэлектрической активности миокарда у гандболистов

Е. Л. Михалюк¹, Л. М. Гунина²

¹Запорожский государственный медицинский университет, Украина, ²Сумский государственный педагогический университет имени А. С. Макаренко, Украина

Ключевые слова:

спортсмены, электрокардиография, синдром ранней реполяризации желудочков, неполная блокада правой ножки пучка Гиса.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 180–186

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.2.141346

E-mail:

evg.mikhaliuk@gmail.com

Ключові слова:

спортсмени, електрокардіографія, синдром ранньої реполяризації шлуночків, неповна блокада правої ніжки пучка Гіса.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 180–186

Key words:

athletes, electrocardiography, syndrome of early repolarization ventricles, bundle branch block.

Pathologia

2018; 15 (2), 180–186

Цель работы – изучение показателей электрокардиограммы у высококвалифицированных гандболистов и сравнение полученных данных у спортсменов, различающихся по квалификации.

Материалы и методы. Проведено сравнение электрокардиографических показателей 49 гандболистов уровня мастер спорта-мастер спорта международного класса (МС-МСМК) и 22 спортсменов квалификации кандидат в мастера спорта-1 разряд (КМС-1 разряд).

Результаты. Установлено, что у гандболистов уровня МС-МСМК с достоверно большим стажем тренировочных занятий чаще отмечают синусовую брадикардию – 69,4 % против 38,1 % ($p = 0,003$), более чем вдвое реже значения ЧСС в пределах 61–67 уд/мин – 30,6 % против 63,7 % ($p = 0,009$) по сравнению со спортсменами квалификации КМС-1 разряд. У них также чаще отмечено проявление синдрома ранней реполяризации желудочков – 71,4 % против 18,2 % ($p < 0,00001$), среди них достоверно больше лиц с изменениями на ЭКГ ($p = 0,023$).

Выводы. Элитные гандболисты были старше, имели больший стаж занятий гандболом, массу тела; среди них больше спортсменов с синусовой брадикардией, изменениями на ЭКГ, синдромом ранней реполяризации желудочков.

Стан біоелектричної активності міокарда в гандболістів

Є. Л. Михалюк, Л. М. Гунина

Мета роботи – вивчення показників електрокардіограми у висококваліфікованих гандболістів і порівняння отриманих даних у спортсменів, які відрізняються за кваліфікацією.

Матеріали та методи. Порівняли електрокардіографічні показники 49 гандболістів рівня майстер спорту-майстер спорту міжнародного класу (МС-МСМК) і 22 спортсменів кваліфікації кандидат у майстри спорту-1 розряд (КМС-1 розряд).

Результати. Встановили, що в гандболістів рівня МС-МСМК із вірогідно більшим стажем тренувальних занять частіше виявляють синусову брадикардію – 69,4 % проти 38,1 % ($p = 0,003$), більш ніж удвічі рідше значення ЧСС у межах 61–67 уд/хв – 30,6 % проти 63,7 % ($p = 0,009$) порівняно зі спортсменами кваліфікації КМС-1 розряд. У них також частіше визначали прояв синдрому ранньої реполяризації шлуночків – 71,4 % проти 18,2 % ($p < 0,00001$), серед них вірогідно більше осіб зі змінами на ЕКГ ($p = 0,023$).

Висновки. Елітні гандболісти були старші, мали більший стаж занять гандболом, масу тіла; серед них більше спортсменів із синусовою брадикардією, змінами на ЕКГ, синдромом ранньої реполяризації шлуночків.

The state of bioelectric activity of myocardium in handball players

Ye. L. Mykhaliuk, L. M. Hunina

The aim of the work was to study the parameters of the electrocardiogram in highly skilled handball players and compare the data obtained among athletes with different qualifications.

Materials and methods. A comparison of electrocardiographic indicators of 49 handball players of the level of master of sports-master of sports of international class (MS-MSIC) and 22 – qualification of candidate for master of sports-1 category (CMS-1 category).

Results. It has been established that in handball players of the MS-MSIC level with a significantly longer training experience, a sinus bradycardia occurs more often – 69.4 % vs. 38.1 % ($P = 0.003$), there is more than twice less the heart rate within the range of 61-67 beats/min – 30.6 % vs. 63.7 % ($P = 0.009$) in comparison with the athletes of qualification CMS-1 category. They are also more often manifesting the phenomenon of the SEVR – 71.4 % vs. 18.2 % ($P < 0.00001$) and there are significantly more individuals with ECG changes ($P = 0.023$).

Conclusions. Elite handball players were older, had more experience of handball, body weight, persons with sinus bradycardia, changes in ECG and athletes with the SEVR.

Современный спорт, с его многократными тренировочными нагрузками в недельном цикле тренировочного процесса и увеличивающимся числом соревновательных дней, особенно в игровых видах спорта, предъявляет высокие требования к функциональным системам организма спортсмена. Специалисты по

спортивной медицине доказали, что сердечно-сосудистая система лимитирует развитие приспособительных реакций организма, она больше всего реагирует на изменения как внешней, так и внутренней среды, и от ее состояния зависит работоспособность мышечной системы.

Важным методом диагностики состояния сердечно-сосудистой системы спортсмена является электрокардиография. Она характеризует отклонения от состояния нормы, выявляя локальность и специфику патогенетических изменений, и позволяет оценить функциональную готовность не только сердечно-сосудистой системы, но и организма в целом, не прибегая к сложным и дорогостоящим методам аппаратного контроля [10].

Картина ЭКГ у спортсменов вариабельна и отличается от ЭКГ у лиц, не занимающихся спортом, настолько, что Американская ассоциация кардиологов, по данным В. J. Maron [23], не рекомендует проводить ЭКГ спортсменам, указывая на ее низкую чувствительность и специфичность, «что приводит к получению большого количества ложноположительных результатов, а также значительно увеличивает конечную стоимость диагностики потенциально жизнеугрожающего заболевания».

В 2010 г. изданы рекомендации [19], рассматривающие разницу между физиологическими и потенциально злокачественными изменениями на ЭКГ спортсмена. В этих рекомендациях ЭКГ-феномены разделены на 2 группы: 1) связанные со спортом и встречающиеся часто; 2) не связанные со спортом и встречающиеся редко. Поскольку эта статья посвящена изучению ЭКГ у спортсменов, более актуальными для нас были феномены первой группы: синусовая брадикардия, синдром ранней реполяризации желудочков (СРРЖ), неполная блокада правой ножки пучка Гиса (НБПНПГ), АВ-блокада 1 степени и изолированные вольтажные критерии гипертрофии миокарда левого желудочка.

В настоящее время вольтажные критерии гипертрофии миокарда левого желудочка не свидетельствуют о действительно существующей гипертрофии миокарда у спортсменов, поскольку, по данным А. Pelliccia et al. [25], ни один из случаев не подтвердился в ходе ультразвукового обследования.

Среди изменений на ЭКГ чаще отмечают синусовую брадикардию (ЧСС менее 60 уд/мин). Этот феномен, согласно мнению большинства исследователей, у спортсменов является вариантом нормы, и его следует расценивать как проявление экономизации деятельности сердца. Обследование 3000 спортсменов в возрасте от 10 до 21 года шести видов спорта (борьба, велоспорт, гребля, легкоатлетический бег, плавание, спортивные игры) показало наличие синусовой брадикардии у 435 человек (14,5 %) [16]. Среди 206 лыжников высокого класса О. Н. Котцова и соавт. [6] обнаружили синусовую брадикардию в 39 % случаев. Согласно данным Е. В. Бучиной и В. М. Умарова [1], из 252 спортсменов высокой квалификации лиц с ЧСС 60 уд/мин и менее было 44,8 %. Обследование 375 элитных спортсменов (и мужчины, и женщины), по данным Л. М. Макарова с соавт. [7], обнаружило 50,9 % лиц с синусовой брадикардией. Из 42 мужчин, занимающихся оздоровительным плаванием, М. А. Чичкова и соавт. [17] в 52 % зафиксировали синусовую брадикардию. Среди 200 спортсменов (135 юношей и 65 девушек) уровня кандидат в мастера спорта (КМС), мастер спорта (МС) и мастер спорта

международного класса (МСМК) число лиц с синусовой брадикардией составило 52 % [13].

Таким образом, синусовую брадикардию отмечают довольно часто у спортсменов, и она требует дифференциальной диагностики с синдромом слабости синусового узла. Последний проявляется жалобами на головокружение и обмороки, низкой возбудимостью пульса при проведении пробы с физической нагрузкой и подтверждается результатами функциональных и медикаментозных проб [6].

Известно, что истинное нарушение атриовентрикулярной проводимости устанавливают достаточно редко, и оно не имеет конкретного отношения к определенному виду спорта [1]. Изменения АВ-проводимости у спортсменов чаще всего носят функциональный характер и обусловлены высоким тонусом блуждающего нерва, что в большинстве случаев нивелируется после проб с физической нагрузкой или атропином. Встречаемость АВ-блокады 1 степени у спортсменов, по данным О. Н. Котцовой и соавт. [6], составила 1,5 %; Е. В. Бучина и В. М. Умаров [1] сообщают об 1,6 %; по данным А. Е. Филиевич [15], – 4,7 %; Э. В. Земцовский [3], обследовав 1293 спортсмена, обнаружил АВ-блокаду 1 степени в 2,6 % случаев. Наличие АВ-блокады 1 степени требует дополнительного обследования только при сопутствующем уширении комплекса QRS, удлинении интервала PQ более чем на 300 мс и при ухудшении АВ-проводения при нагрузочных тестах или пробе с гипервентиляцией.

Данные специализированной литературы свидетельствуют, что наибольший процент изменений на ЭКГ у спортсменов высокого класса обусловлен СРРЖ и НБПНПГ. Так, распространенность СРРЖ в популяции, по данным разных авторов, колеблется в широких пределах (от 1,0 % до 35,5 %), наиболее часто его регистрируют у молодых лиц и спортсменов [13,14,21]. У мужчин СРРЖ отмечают в 2–3 раза чаще, чем у женщин [22]. СРРЖ диагностируют у 20–50 % спортсменов, тренирующихся на развитие качества выносливости [24], что является следствием физиологической неравномерности протекания процессов де- и реполяризации желудочков. Согласно этому, подъем сегмента ST в грудных отведениях при СРРЖ отражает передненаправленное смещение вектора ST как результат задержанной реполяризации в субэндокардиальной зоне либо ранней реполяризации субэпикардиальной зоны сердца [2,26]. Такую точку зрения признают большинство авторов, полностью оправдывая термин «ранняя реполяризация желудочков» [2]. О вагусном генезе СРРЖ свидетельствует проба с физической нагрузкой, после которой признаки синдрома минимизируются [18].

Распространенность СРРЖ у спортсменов колеблется также в широких пределах, что может быть связано с направленностью тренировочного процесса на развитие физических качеств, возрастом, полом, спортивной квалификацией. Согласно нашим данным [11], обследование 5539 спортсменов от III разряда до ЗМС в возрасте от 5 до 30 лет, занимающихся разными видами спорта, показало наличие СРРЖ у 9,8 %. Обзор научных исследований свидетельствует, что распространенность этого феномена зависит от

специализации и спортивной квалификации спортсмена. При обследовании 200 спортсменов высокого класса обоих полов, выполненном А. А. Светличкиной и О. А. Козлятниковым [13], обнаружено 16,4 % лиц с СРРЖ. Обследование бегунов на дистанции 100–200 метров от III разряда до ЗМС демонстрирует встречаемость СРРЖ в 30,7 % [8], а бегунов на дистанции 400 метров подобной квалификации – 31,0 % [9]. Обследования спортсменов высокого класса, проведенные М. Ю. Чичковым и соавт. [16] и S. F. Crouse et al. [20], показали наличие СРРЖ в 31,4 % и 33,8 % соответственно.

Из нарушений внутрижелудочковой проводимости для спортсменов характерно замедление проведения электрического импульса по правой ножке пучка Гиса, которое проявляется наличием комплексов rSR¹ в правых грудных отведениях; в ряде случаев встречается комплекс rSR¹ без значительного уширения желудочкового комплекса. Подобное нарушение проводимости чаще всего трактуется как неполная блокада правой ножки пучка Гиса, которая является наиболее часто регистрируемым у спортсменов феноменом. НБПНПГ диагностируют примерно у 50 % спортсменов. Иногда (при малой выраженности) специалисты по спортивной кардиологии даже не выносят его в заключение [1]. Этот феномен, как и СРРЖ, имеет свою распространенность, зависящую от специализации спортсмена, его пола и квалификации. Согласно данным [5], среди пловцов в возрасте от 15 до 25 лет с квалификацией от 1 разряда до мастера спорта НБПНПГ отмечена в 3,6 %. Обследование 206 лыжников высокого класса показало наличие данного феномена в 10 % случаев

[6], среди бегунов-спринтеров квалификации от II–III разряда до ЗМС – 10,4 % [8]. Обследование 5539 спортсменов от III разряда до ЗМС различных видов спорта показало наличие НБПНПГ у 13 % [11], среди бегунов квалификации от II–III разряда до мастер спорта-мастер спорта международного класса (МС-МСМК) на дистанции 400 метров – у 15,5 % [9]. Из 3000 спортсменов различных видов спорта НБПНПГ диагностирована у 13,9 % [15], а Л. М. Макаров и соавт. [7], обследовав 375 спортсменов высокого класса, установили 20,8 % лиц с НБПНПГ. При обследовании 73 элитных спортсменов (мужчины и женщины) в возрасте от 21 до 34 лет, занимающихся гандболом, каяком, велоспортом, современным пятиборьем и другими видами спорта, НБПНПГ установлена в 71,2 % случаев [27], что подтверждает положительную связь частоты встречаемости НБПНПГ со спортивной квалификацией спортсменов.

Цель работы

Изучение показателей электрокардиограммы у высококвалифицированных гандболистов и сравнение полученных данных у спортсменов, различающихся по квалификации.

Материалы и методы исследования

В начале подготовительного периода обследовали 71 гандболиста (49 – уровня МС-МСМК, 22 – квалификации КМС-1 разряд), участников Чемпионата Украины среди команд суперлиги.

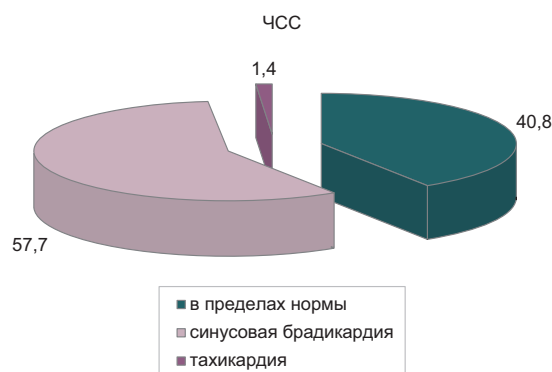
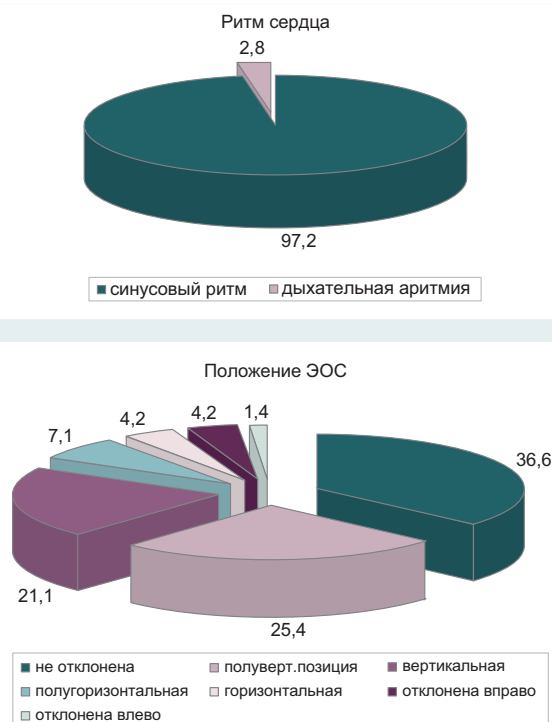


Рис. 1. Параметры ЭКГ у гандболистов в состоянии покоя.

Исследования биоэлектрической активности миокарда выполнили на диагностическом автоматизированном комплексе «Кардио+». Для дифференциальной диагностики спортсменам с АВ-блокадой 1 степени, левожелудочковой экстрасистолией и изменениями конечной части желудочкового комплекса проводили пробу с физической нагрузкой на велоэргометре в виде субмаксимального теста PWC₁₇₀, а спортсменам с неполной блокадой передней ветви левой ножки пучка Гиса (НБПВЛНПГ) – эхокардиографию на аппарате Sim 5000 Plus (Италия).

Полученные в исследовании данные обработаны методом вариационной статистики с помощью пакета прикладных программ Statistica for Windows 6,0 (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5). Рассчитывали значения среднего арифметического (M), ошибки среднего арифметического (m) во всех группах наблюдения. Изучаемые количественные признаки с нормальным распределением представлены в виде $M \pm m$. Достоверность различий для двух групп оценивали по критерию Стьюдента, различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Из общего числа обследованных спортсменов у 69 (97,2 %) зафиксирован правильный синусовый ритм, у 2 (2,8 %) – дыхательная аритмия. Достаточный вольтаж обнаружен у 57 спортсменов (80,3 %), повышенный – у 14 (19,7 %) (рис. 1).

Электрическая ось сердца не отклонена у 36,6 %, у 25,4 % – полувертикальная позиция сердца, у 21,1 % – вертикальная, полугоризонтальная – у 7,1 %, горизонтальная и ось сердца отклонена вправо – по 4,2 %, ось отклонена влево – у 1,4 %. Синусовая брадикардия установлена у 41 спортсмена (57,7 %), ЧСС в пределах 61–79 уд/мин – у 29 (40,8 %), ЧСС более 80 уд/мин – у одного (1,4 %).

Изменения на ЭКГ были у 56 (78,8 %) спортсменов: СРРЖ – у 39 (54,9 %), НБПНПГ – у 12 (16,9 %), замедление АВ-проводимости 1 степени – у 2 (2,8 %), по 1 гандболисту (по 1,4 %) – с левожелудочковой экстрасистолией, изменениями конечной части желудочкового комплекса и сочетанием НБПВЛНПГ и НБПНПГ (рис. 2).

Для выяснения влияния многолетних занятий гандболом проведен анализ данных ЭКГ у спортсменов, различающихся по спортивной квалификации. Среди гандболистов уровня МС-МСМК ($n = 49$) (средний возраст – $24,3 \pm 0,7$ года, стаж занятий гандболом – $12,64 \pm 0,73$ года, длина тела – $189,60 \pm 3,93$ см, масса – $93,80 \pm 1,79$ кг) у 95,9 % был правильный синусовый ритм, у 4,1 % – дыхательная аритмия. У 75,5 % отмечен достаточный вольтаж, у 12 (24,5 %) он был повышен. Электрическая ось сердца не отклонена в 38,8 % случаев, в 24,5 % – вертикальная позиция сердца, в 22,5 % – полувертикальная, в 6,1 % – полугоризонтальная, в 4,1 % – горизонтальная, по 2 % – отклонена вправо и влево. Синусовая брадикардия установлена у 69,4 %, ЧСС в пределах 61–79 уд/мин – у 30,6 %, гандболистов с ЧСС 80 уд/мин и более не было.

Изменения на ЭКГ зафиксированы у всех 49 гандболистов: СРРЖ – у 35 (71,4 %), у 10 (20,4 %) – НБПНПГ, по одному спортсмену (по 2,05 %) – с левожелудочковой экстрасистолией, замедлением АВ-проводимости 1 степени, изменением конечной части желудочкового комплекса и сочетанием НБПВЛНПГ и НБПНПГ.

Среди гандболистов квалификации КМС-1 разряд ($n = 22$) (средний возраст – $17,8 \pm 0,3$ лет, стаж занятий спортом – $7,60 \pm 0,56$ года, длина тела – $189,70 \pm 1,97$ см, масса – $82,90 \pm 2,32$ кг) у 95,5 % зафиксирован правильный синусовый ритм сердца, у 1 спортсмена (4,5 %) – дыхательная аритмия. В 90,9 % случаев отмечен достаточный вольтаж ЭКГ, в 9,1 % вольтаж был повышен. Электрическая ось сердца не отклонена

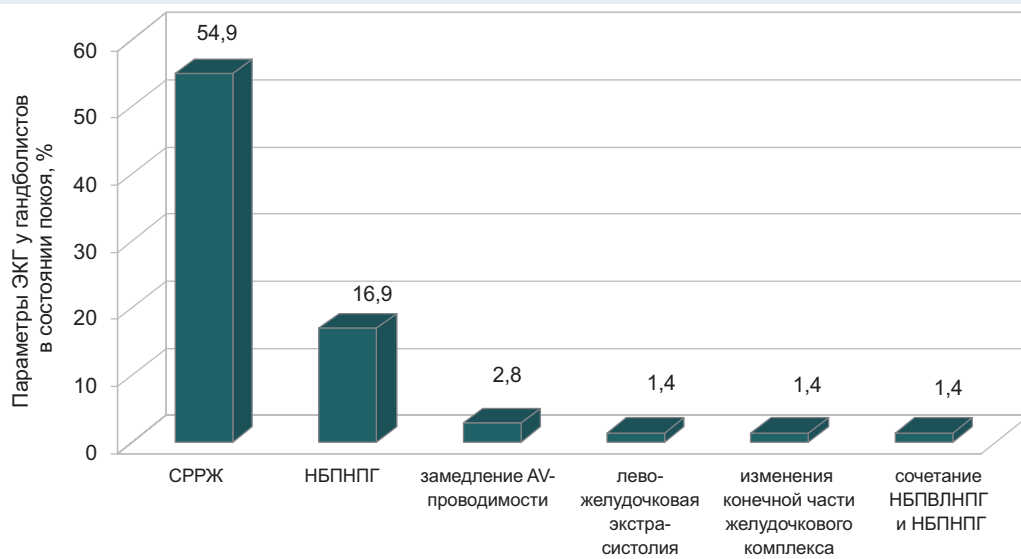


Рис. 2. Изменения на ЭКГ у гандболистов.

у 31,8 %, полувертикальная позиция – у 7 (31,8 %), вертикальная – у 3 (13,6 %), полугоризонтальное положение и отклонение оси вправо – по 2 (по 9,1 %), у 1 (4,6 %) гандболиста было горизонтальное положение оси сердца. Синусовая брадикардия установлена у 7 (31,8 %) гандболистов, ЧСС в пределах 61–79 уд/мин – у 14 (63,6 %), 1 (4,6 %) спортсмен – с ЧСС 80 уд/мин и более. Изменения на ЭКГ зафиксированы у 7 (31,8 %) гандболистов: СРРЖ – у 4 (18,2 %), НБП-НПГ – у 2 (9,1 %), у 1 (4,5 %) – замедление AV-проводимости 1 степени.

Обсуждение

Таким образом, группы сравнения по спортивной квалификации практически не отличались по количеству лиц с нормальным синусовым ритмом ($p = 0,938$), нормальным вольтажом ($p = 0,132$), повышенным вольтажом ($p = 0,132$). Электрическая ось была не отклонена в обеих группах ($p = 0,571$), количество спортсменов с вертикальной ($p = 0,298$), полувертикальной ($p = 0,405$), полугоризонтальной ($p = 0,647$) и горизонтальной ($p = 0,923$) позицией сердца достоверно не отличалось в группах. Синусовую брадикардию статистически значимо чаще отмечали у гандболистов уровня МС-МСМК ($p = 0,003$), при этом среди спортсменов квалификации КМС-1 разряд было больше лиц с ЧСС в пределах 61–79 уд/мин ($p = 0,009$), один (1,4 %) – с ЧСС больше 80 уд/мин. Следует отметить, согласно данным Л. А. Мкртычана с соавт. [12], среди 30 представителей игровых видов спорта, включая гандболистов, синусовая брадикардия установлена у 33,0 %, а Н. В. Иванова и соавт. [4], обследовав 150 спортсменов игровых видов спорта, синусовую брадикардию обнаружили в 68,0 % случаев.

Изменения на ЭКГ зафиксированы у всех гандболистов уровня МС-МСМК (100 %) по сравнению с менее квалифицированными спортсменами (31,8 %, $p = 0,023$), при этом среди первых статистически достоверно больше лиц с СРРЖ (71,4 % против 18,2 %, $p = 0,00001$), а с НБПНПГ (20,4 % против 9,1 %), различия носили недостоверный характер ($p = 0,240$). Данные специализированной литературы свидетельствуют о значительном разбросе сведений об изменениях на ЭКГ у представителей игровых видов спорта. Так, СРРЖ и НБПНПГ установлены, по данным Л. А. Мкртычана с соавт. [12], у 53,0 % и 23,0 %, тогда как Н. В. Иванова и соавт. [4] приводят несколько меньшие цифры – 27,3 % и 14,7 % соответственно. Замедление AV-проводимости 1 степени установлено у одного спортсмена в каждой группе сравнения, а в группе МС-МСМК было по одному спортсмену с левожелудочковой экстрасистоліей, изменениями конечной части желудочкового комплекса и сочетанием НБПВЛНПГ и НБПНПГ.

После физической нагрузки в виде субмаксимального теста PWC₁₇₀ у спортсменов с AV-блокадой 1 степени, левожелудочковой экстрасистоліей и ЭКГ-изменениями конечной части желудочкового комплекса происходила их нормализация. У гандболистов с НБПВЛНПГ по данным эхокардиографии не установили дилатацию и гипертрофию камер сердца, а наличие НБПНПГ и СРРЖ следует рассматривать

как особенности ЭКГ у этой категории спортсменов. На основании медицинского осмотра все спортсмены получили допуск для участия в Чемпионате Украины 2017/2018 года по гандболу.

Выводы

1. Гандболисты уровня МС-МСМК в сравнении с гандболистами квалификации КМС-1 разряд были старше по возрасту ($p < 0,01$), имели больший стаж занятий гандболом ($p < 0,01$) и массу тела ($p < 0,01$), но практически не отличались по длине тела ($p > 0,05$).

2. У гандболистов уровня МС-МСМК достоверно чаще отмечены брадикардия ($p = 0,003$), изменения на ЭКГ ($p = 0,02$), СРРЖ ($p < 0,0001$), но среди них меньше лиц с ЧСС в пределах 61–79 уд/мин.

Перспективы дальнейших исследований. Планируется продолжение исследований, касающихся изучения особенностей электрокардиографических показателей у представителей других видов спорта с учетом пола, спортивной квалификации и возраста.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Сведения об авторах:

Михалюк Е. Л., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. физической реабилитации, спортивной медицины, физического воспитания и здоровья, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Номер ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3607-7619>

Гунина Л. М., д-р биол. наук, профессор, зав. каф. биологии человека и животных, Сумский государственный педагогический университет имени А. С. Макаренко, главный специалист Национального антидопингового центра Украины.

Відомості про авторів:

Михалюк Є. Л., д-р мед. наук, професор, зав. каф. фізичної реабілітації, спортивної медицини, фізичного виховання і здоров'я, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Гуніна Л. М., д-р біол. наук, професор, зав. каф. біології людини і тварин, Сумський державний педагогічний університет імені А. С. Макаренка, головний спеціаліст Національного антидопінгового центру України.

Information about authors:

Mykhaliuk Ye. L., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Physical Rehabilitation, Sports Medicine, Physical Education and Health, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Hunina L. M., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Human and Animal Biology, A.S. Makarenko Sumy State Pedagogical University, Chief Specialist of the National Anti-Doping Center of Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 09.04.2018

Після доопрацювання / Revised: 08.06.2018

Прийнято до друку / Accepted: 11.06.2018

Список литературы

- Бучина Е.В. Сравнительная характеристика электрокардиографических показателей спортсменов высокой квалификации в различных видах спорта / Е.В. Бучина, В.М. Умаров // Вестник спортивной науки. – 2012. – №5. – С. 19–24.
- Горохов С.С. Синдром ранней реполяризации желудочков на ЭКГ – современное состояние вопроса. Сообщение 1 / С.С. Горохов // Военная медицина. – 2013. – №4(24). – С. 117–124.

- [3] Земцовский Э.В. Спортивная кардиология / Э.В. Земцовский. – СПб.: Гиппократ, 1995. – 329 с.
- [4] Анализ электрокардиографических данных у спортсменов циклических и игровых видов спорта / Н.В. Иванова, А.П. Веремейчик, М.И. Дворяков, Е.Э. Петрова // Актуальные проблемы биохимии и биоэнергетики спорта XXI века : материалы Всероссийской научной заочной конференции (г. Москва, 10–12 апреля 2018 г.). – М., 2018. – С. 239–245.
- [5] Котцова О.Н. Нарушения ритма сердца в спорте / О.Н. Котцова, И.Н. Крайнова // Потенциал современной науки. – 2017. – №2(28). – С. 43–45.
- [6] Особенности ЭКГ у спортсменов, занимающихся лыжным спортом / О.Н. Котцова, И.Н. Крайнова, А.Н. Щербак, О.И. Ичетовкина // Сборник тезисов 18-го конгресса РОХМ и НЭ, 10-го Всероссийского конгресса «Клиническая электрокардиология», 3-й Всероссийской конференции детских кардиологов ФМБА России (г. Нижний Новгород, 26–27 апреля 2017 г.). – М.: Изд-во 1 МГМУ им. И.М. Сеченова, 2017. – С. 48.
- [7] Особенности ЭКГ у молодых спортсменов уровня высшего спортивного мастерства / Л.М. Макаров, В.Н. Комолотова, И.И. Киселева, Н.Н. Федина // Прикладная спортивная наука. – 2015. – №2. – С. 108–114.
- [8] Михалюк Е.Л. Стан біоелектричної активності міокарда у легкоатлетів-спринтерів залежно від статі / Е.Л. Михалюк // Науковий часопис Нац. пед. ун-ту ім. М.П. Драгоманова. Серія №15 «Науково-педагогічні проблеми фізичної культури». – 2017. – Вип. 3К (84)17. – С. 296–299.
- [9] Михалюк Е.Л. Сравнительный анализ данных ЭКГ у женщин и мужчин, специализирующихся в беге на 400 метров / Е.Л. Михалюк // Прикладная спортивная наука. – 2017. – №1(5). – С. 69–76.
- [10] Михалюк Е.Л. Анализ электрокардиографических показателей у бегунов, специализирующихся в беге на 100–200 и 400–800 м / Е.Л. Михалюк, С.Н. Малахова, М.В. Диденко // Медицинское обеспечение спорта высших достижений : сборник материалов 1-й научно-практической конференции (г. Москва, 17 октября 2014 г.). – М., 2017. – С. 126–128.
- [11] Михалюк Е.Л. Синдром ранней реполяризации желудочков в спортивной кардиологии / Е.Л. Михалюк, С.Н. Малахова. Е.М. Скорик // Актуальні проблеми фізичного виховання, спорту та туризму : тези доповідей IV Міжнародної наук.-практ. конф. (м. Запоріжжя, 18–19 жовтня 2012 р.). – Запоріжжя : КПУ, 2012. – С. 186–187.
- [12] Мкртчян Л.А. Оценка состояния сердечно-сосудистой системы у спортсменов ациклических видов спорта / Л.А. Мкртчян, О.В. Сухарукова, Е.Г. Калмыкова // СпортМед-2017 : сборник материалов XII Международной научной конференции по вопросам состояния и перспективам развития медицины в спорте высших достижений (г. Москва, 7–8 декабря 2017 г.). – М., 2017. – С. 104–105.
- [13] Светличкина А.А. Планирование интенсивности физических нагрузок на основании исследований электрокардиографии у высококвалифицированных спортсменов и студентов Астраханского ГМУ / А.А. Светличкина, О.А. Козлянтикова // Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта. – 2016. – №3(133). – С. 214–217.
- [14] Синдром и феномен преждевременного возбуждения желудочков: структура аритмий и особенности временного анализа вариабельности ритма сердца / А.В. Туев, А.Ю. Вышинская, Л.М. Василец, Н.Г. Потешкина // Российский кардиологический журнал. – 2003. – Т. 8. – №3. – С. 11–14.
- [15] Филиевич А.Е. Электрокардиографический атлас спортсмена / А.Е. Филиевич ; отв. ред. проф. А.М. Мариц. – Кишинев: Штиинца, 1982. – С. 8.
- [16] Синдром ранней реполяризации желудочков у профессиональных спортсменов / М.Ю. Чиков, А.А. Светличкина, М.А. Чикова, Н.А. Ковалева // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – №5. – С. 89–93.
- [17] Чикова М.А. Индивидуальное планирование физических нагрузок у пловцов любительского уровня с учетом показателей электрокардиограммы / М.А. Чикова, А.А. Светличкина, А.В. Доронцов // Ученые записки университета им. П.Ф. Лесгафта. – 2017. – №7(149). – С. 203–206.
- [18] Ягода А.В. Синдромы предвозбуждения или ранней реполяризации желудочков при недифференцированной дисплазии соединительной ткани / А.В. Ягода, Н.Н. Гладких // Вестник аритмологии. – 2003. – №32. – С. 75–78.
- [19] Recommendations for interpretation of 12-lead electrocardiogram in the athlete / D. Corrado, A. Pelliccia, H. Heidbuchel, et al. // Eur. Heart J. – 2010. – Vol. 31(2). – С. 243–259.
- [20] Electrocardiograms of collegiate football athletes / S.F. Crouse, T. Meade, B.E. Hansen, et al. // Clinical Cardiology. – 2009. – Vol. 32(1). – P. 37–42.
- [21] Sudden cardiac arrest associated with early repolarization / M. Haïssaguerre, N. Derval, F. Sacher, et al. // N. Engl. J. Med. – 2008. – Vol. 358(19). – P. 2016–2023.
- [22] Sudden cardiac arrest: ECG repolarization after resuscitation / N. Lellouche, F. Sacher, P. Jorrot, et al. // J. Cardiovasc. Electrophysiol. – 2011. – Vol. 22(2). – P. 131–136.
- [23] Sudden deaths in young competitive athletes: analysis of 1866 deaths in the United States, 1980–2006 / B.J. Maron, J.J. Doerer, T.S. Haas, et al. – 2009. – Vol. 119(8). – P. 1085–1092.
- [24] Park R.C. Heart of the Athlete / R.C. Park, M.H. Crawford // Curr. Probl. Cardiol. – 1985. – Vol. 10(5). – P. 1–73.
- [25] Clinical significance of abnormal electrocardiographic patterns in trained athletes / A. Pelliccia, B.J. Maron, F. Culasso, et al. // Circulation. – 2000. – Vol. 102(3). – P. 278–284.
- [26] AHA/ACCF/HRS recommendations for the standardization and interpretation of the electrocardiogram: part IV: the ST segment, T and U waves, and the QT interval: a scientific statement from the American Heart Association Electrocardiography and Arrhythmias Committee, Council on Clinical Cardiology; the American College of Cardiology Foundation; and the Heart Rhythm Society. Endorsed by the International Society for Computerized Electrocardiology. American Heart Association Electrocardiography and Arrhythmias Committee, Council on Clinical Cardiology; American College of Cardiology Foundation; Heart Rhythm Society / P.M. Rautaharju, B. Surawicz, L.S. Gettes, et al. // J. Am. Coll. Cardiol. – 2009. – Vol. 53(11). – P. 982–991.
- [27] Analysis of 12-lead electrocardiogram in top competitive professional athletes in the light of recent guidelines / A. Swiatowiec, W. Krol, M. Kuch, et al. // Kardiologia Polska. – 2009. – Vol. 67. – P. 1095–1102.

References

- [1] Buchina, E. V., & Umarov, V. M. (2012) Sravnitel'naya kharakteristika e'lektrokardiograficheskikh pokazatelej sportsmenov vysokoj kvalifikacii v razlichnykh vidakh sporta [The comparative characteristic of electrocardiographic indicators of athletes of high qualification in different types of sports]. *Vestnik sportivnoj nauki*, 5 19–24. [in Russian].
- [2] Gorokhov, S. S. (2013) Sindrom rannej repolarizacii zheludochkov na E'KG – sovremennoe sostoyanie voprosa [Early repolarization syndrome on an electrocardiogram – a question current state. The message 1]. *Voennaya medicina*, 4(24), 117–124. [in Russian].
- [3] Zemcovskij, E. V. (1995). *Sportivnaya kardiologiya [Sports Cardiology]*. Saint Petersburg: Gippokrat. [in Russian].
- [4] Ivanova, N. V., Veremeychik, A. P., Dvoryakov, M. I., Petrova, E. E'. (2018) Analiz e'lektrokardiograficheskikh dannykh u sportsmenov ciklicheskikh i igrovyykh vidov sporta [Analysis of electrocardiographic data in cyclists and game sports]. *Aktual'nye problemy biokhimii i bioenergetiki sporta XXI veka* Proceedings of the All-Russian Scientific Extraordinary Conference. (P. 239–245). Moscow [in Russian].
- [5] Kottsova, O. N., & Krainova, I. N. (2017) Narusheniya ritma serdca v sporte [Heart rhythm disturbances in sports]. *Potencial sovremennoj nauki*, 2(28), 43–45. [in Russian].
- [6] Kottsova, O. N., Krainova, I. N., Shcherbakova, A. N., & Ichetovkina, O. I. (2017) Osobennosti E'KG u sportsmenov, zanimayushchikhsya lyzhnym sportom [Features of ECG in athletes engaged in cross-country skiing]. *Klinicheskaya e'lektrokardiologiya*. Abstracts of Papers of the 18th Congress of the ROKHM and NE, 10th All-Russian Congress, (P. 48). Moscow. [in Russian].
- [7] Makarov, L. M., Komolyatova, V. N., Kiseleva, I. I., & Fedina, N. N. (2015) Osobennosti E'KG u molodykh sportsmenov urovnya vysshego sportivnogo masterstva [Features of electrocardiogram at young athletes at the level of higher sporting craftsmanship]. *Prikladnaya sportivnaya nauka*, 2, 108–114. [in Russian].
- [8] Mikhalyuk, E. L. (2017) Stan bioelektrychnoi aktivnosti miokarda u lekkoatletiv-spynteriv zalezno vid stati [State bioelectrical activity of the myocardium at athletes-sprinters depending on gender]. *Naukovyi chasopys Nats. ped. un-tu im. M.P. Dragomanova. Seriya №15 «Науково-педагогічні проблеми фізичної культури»*, 3K(84)17, 296–299. [in Ukrainian].
- [9] Mikhalyuk, E. L. (2017) Sravnitel'nyy analiz dannykh E'KG u zhenshchin i muzhchin, specializiruyushchikhsya v bege na 400 metrov [Comparative analysis of ECG data for women and men who specialize in running at 400 meters]. *Prikladnaya sportivnaya nauka*, 1(5), 69–76. [in Russian].
- [10] Mikhalyuk, E. L., Malakhova, S. N., & Didenko, M. V. (2014) Analiz e'lektrokardiograficheskikh pokazatelej u begunov, specializiruyushchikhsya v bege na 100–200 i 400–800 m [An analysis of electrocardiographic indices for runners specializing in running on 100–200 and 400–800 m]. *Meditsinskoe obespechenie sporta vysshih dostizhenij* Proceedings of the 1st Scientific and Practical Conference, (P. 126–128). Moscow. [in Russian].
- [11] Mikhalyuk, E. L., Malakhova, S. N., & Skorik, E. M. (2012). Sindrom rannej repolarizacii zheludochkov v sportivnoj kardiologii [Syndrome of early repolarization of ventricles in sports cardiology]. *Aktual'nye problemy fizicheskogo vykhovannia, sportu ta turizmu*. Abstracts of Papers of the 4rd International Scientific and Praktical Conference, (P. 186–187). Zaporizhzhia: KPU. [in Russian].

- [12] Mkrtychan, L. A., Sukharukova, A. V., Kalmykova, E. G. (2017) Ocenka sostoyaniya serdechno-sosudistoy sistemy u sportsmenov acikliche-skikh vidov sporta [Evaluation of the cardiovascular system in athletes of acyclic sports]. *SportMed – 2017 Proceedings of the XII International scientific conference on the state and prospects of the development of medicine in the sport of higher achievements*, (P. 104–105). Moscow. [in Russian].
- [13] Svetlichkina, A. A., & Kozljatnikov, O. A. (2016) Planirovanie intensivnosti fizicheskikh nagruzok na osnovanii issledovaniy e'lektrokardiografii u vysokokvalificirovannykh sportsmenov i studentov Astrakhanskogo GMU [Planning the intensity of physical activity based on the research of the ECG among the professional athletes and students of Astrakhan State Medical University]. *Uchenye zapiski universiteta im. P.F. Lesgafta*, 3(133), 214–217. [in Russian]. doi: 10.5930/issn.1994-4683.2016.03.133.p214-217.
- [14] Tuyev, A. V., Vyshenskaya, A. Y., Vasilets, L. M., & Poteskina, N. G. (2003). Sindrom i fenomen prezhdevremennogo vzbuzhdeniya zheludochkov: struktura aritmii i osobennosti vremennogo analiza variabel'nosti ritma serdca [Syndrome and phenomenon of ventricular pre-excitation: structure of arrhythmias and specific features of heart rhythm variability temporal analysis]. *Rossiyskiy kardiologicheskij zhurnal*, 8(3), 11–14. [in Russian].
- [15] Filyavich, A. E. (1982) *E'lektrokardiograficheskij atlas sportsmena [Electrocardiographic atlas of an athlete]*. Kishinev: Shtiinca. [in Russian].
- [16] Chichkov, M. Y., Svetlichkina, A. A., Chichkova, M. A., & Kovaleva, N. A. (2016). Individual'noye planirovaniye fizicheskikh nagruzok u plovcov lyubitelej s uchetom pokazatelej e'lektrokardiogrammy [The syndrome of early ventricular repolarization professional athletes]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, 5, 89–93. [in Russian].
- [17] Chichkova, M. A., Svetlichkina, A. A., Dorontsev, A. V. (2017). Individual'noye planirovanie fizicheskikh nagruzok u plovcov lyubitelej s uchetom pokazatelej e'lektrokardiogrammy [Individual planning of loads at swimmers – amateurs taking into account the electrocardiogram indicators]. *Uchenye zapiski universiteta imeni P.F. Lesgafta*, 7(149), 203–206. [in Russian].
- [18] Yagoda, A. V., & Gladkikh, N. N. (2003). Sindromy predvzbuzhdeniya ili ranney repolyarizatsii zheludochkov pri nedifferencovannoy displazii soedinitel'noj tkani [Syndromes of pre-excitation or early repolarization of the ventricles with undifferentiated connective tissue dysplasia]. *Vestnik aritmologii*, 32, 75–78. [in Russian].
- [19] Corrado, D., Pelliccia, A., Heidbuchel, H., Sharma, S., Link, M., Basso, C., et al. (2010). Recommendations for interpretation of 12-lead electrocardiogram in the athlete. *Eur. Heart J.*, 31(2), 243–259. doi: 10.1093/eurheartj/ehp473.
- [20] Crouse, S. F., Meade, T., Hansen, B. E., Green, S., & Martin, S. E. (2009). Electrocardiograms of collegiate football athletes. *Clinical Cardiology*, 32(1), 37–42. doi: 10.1002/clc.20452.
- [21] Haïssaguerre, M., Derval, N., Sacher, F., Jesel, L., Deisenhofer, I., de Roy, L., et al. (2008). Sudden cardiac arrest associated with early repolarization. *N. Engl. J. Med.*, 358(19), 2016–2023. doi: 10.1056/NEJMoa071968.
- [22] Lellouche, N., Sacher, F., Jorrot, P., Cariou, A., Spaulding, C., Aurore, A., et al. (2011). Sudden cardiac arrest: ECG repolarization after resuscitation. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, 22(2), 131–136. doi: 10.1111/j.1540-8167.2010.01871.x.
- [23] Maron, B. J., Doerer, J. J., Haas, T. S., Tierney, D. M., & Mueller, F. O. (2009). Sudden deaths in young competitive athletes: analysis of 1866 deaths in the United States, 1980–2006. *Circulation*, 119(8), 1085–1092. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.804617.
- [24] Park, R. C., & Crawford, M. H. (1985). Heart of the athlete. *Curr. Probl. Cardiol.*, 10(5), 1–73.
- [25] Pelliccia, A., Maron, B. J., Culasso, F., Di Paolo, F. M., Spataro, A., Biffi, A., et al. (2000). Clinical significance of abnormal electrocardiographic patterns in trained athletes. *Circulation*, 102(3), 278–284. doi: 10.1161/circ.102.3.278.
- [26] Rautaharju, P. M., Surawicz, B., Gettes, L. S., Bailey, J. J., Childers, R., Deal, B. J., et al. (2009). AHA/ACCF/HRS recommendations for the standardization and interpretation of the electrocardiogram: part IV: the ST segment, T and U waves, and the QT interval: a scientific statement from the American Heart Association Electrocardiography and Arrhythmias Committee, Council on Clinical Cardiology; the American College of Cardiology Foundation; and the Heart Rhythm Society. Endorsed by the International Society for Computerized Electrocardiology. American Heart Association Electrocardiography and Arrhythmias Committee, Council on Clinical Cardiology; American College of Cardiology Foundation; Heart Rhythm Society. *J Am Coll Cardiol.*, 53(11), 982–991. doi: 10.1016/j.jacc.2008.12.014.
- [27] Swiatowiec, A., Król, W., Kuch, M., Braksator, W., Krysztofiak, H., Dłuzniewski, M., & Mamcarz, A. (2009). Analysis of 12-lead electrocardiogram in top competitive professional athletes in the light of recent guidelines. *Kardiologia Polska*, 67(10), 1095–1102.

Association between single nucleotide polymorphism of immunoregulatory genes and preterm premature rupture of membranes in preterm labour

K. S. Liubomyrska, O. M. Kamyshnyi, Yu. Ya. Krut

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Aim. Investigation of the association between SNP genes of IL4 (rs2243250), IL10 (rs1800896 and rs1800872) and RLN2 (rs4742076 and rs3758239) and preterm premature rupture of membranes in 26–34 weeks of gestation in Zaporizhzhia population.

Materials and methods. We have investigated markers of cytokines genes in 50 women with PPROM in 26–34 weeks of gestation period and 50 pregnant women with physiological pregnancy and term labour without complications. The genotyping using TaqMan tests was done on amplifier CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). The combined effect of the studied locus of the analyzed genes on the appearance of PPROM, PTL in the population was initiated using the Multifactorial Dimensionality Reduction (MDR) method (software MDR ver. 3.0.2).

Results. The distribution of the rs2243250 gene polymorphism alleles of the IL4 gene of the main study group – TT homozygotes were determined in 4 % cases, CT heterozygotes were found in 22 %, CC homozygotes – in 74 % cases. We have got statistically significant differences of rs4742076 polymorphisms (TT, CT, and CC) of the RLN2 gene in the study groups. We also detected statistically significant differences in all the alleles of rs3758239 polymorphism (AA, GG and AG) of the gene RLN2 – $\chi^2 = 23.86$, OR(AA) = 12.57; 95 % CI: 3.68–42.98; OR(GG) = 0.08; 95 % CI: 0.02–0.27; and OR(AG) = 0.11; 95 % CI: 0.03–0.42, respectively, $P < 0.05$, indicating the reliability of the received prognostic markers. The nature of interlocal interaction between the genes is at the level of “independent effects” of influence (IL4-IL10 rs1800896 = -23.08 %, IL10 rs1800896 – IL10 rs1800872 = -19.94 %, IL10 rs1800872-IL4 = -19.34 %). The percentage of entropy of the investigated polymorphism of each gene for the case-control status was 14.15 % for the IL4 gene, 23.08 % for the IL10 rs1800896 gene and 9.34 % for the IL10 rs1800872 gene.

Conclusions. Combination of IL4 rs2243250, IL10 rs1800896 and rs1800872 supports the role for functional polymorphisms in immunoregulatory genes in the development of PPROM and PTL. Reliable clinical association of rs4742076 and rs3758239 gene RLN2 was established with the PPROM in 26–34 weeks' gestation in Zaporizhzhia population.

Key words:

preterm labour, preterm premature rupture of membranes, single nucleotide polymorphism.

Pathologia

2018; 15 (2), 187–193

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.2.141400

E-mail:

lubomyrskaa@gmail.com

Асоціація одонуклеотидного поліморфізму імунорегуляторних генів із передчасним розривом плодових оболонок при недоношеній вагітності

К. С. Любомирська, О. М. Камишний, Ю. Я. Круть

Мета роботи – дослідити асоціацію одонуклеотидного поліморфізму генів IL4(rs2243250), IL10 (rs1800896 та rs1800872), RLN2 (rs4742076 та rs3758239) із передчасним розривом плодових оболонок (ПРПО) у 26–34 тижні гестації в популяції Запорізького регіону.

Матеріали та методи. Здійснили дослідження маркерів генів цитокінів у 50 жінок з ПРПО в терміні гестації 26–34 тижні та 50 вагітних із фізіологічним перебігом вагітності та терміновими пологамі без ускладнень. Генотипування за допомогою TaqMan проб виконали на ампліфікаторі CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США). Для моделювання та аналізу міжгенних взаємодій використали метод багатofакторного зменшення розмірності (MDR – Multifactorial Dimensionality Reduction – program version 3.0.2).

Результати. За результатами генотипування поліморфізму rs1800896 гена IL10 гомозиготи TT виявлені у 74 % випадків основної групи дослідження, гетерозиготи TC – у 4 %, гомозиготи CC – у 22 % випадків. Розподіл алелей поліморфізму rs2243250 гена IL4 основної групи дослідження: гомозиготи TT визначені у 4 % випадків, гетерозиготи CT – у 22 %, гомозиготи CC – у 74 %. Виявили статистично значущі відмінності за кожною з алелей поліморфізму rs4742076 (TT, CT та CC) гена RLN2 між основною групою дослідження та групою контролю. Отримали статистично вірогідні дані, порівнюючи основну та групу контролю, зокрема за всіма алелями поліморфізму rs3758239 (AA, GG та AG) гена RLN2 – $\chi^2 = 23,86$, OR(AA) = 12,57; 95 % CI: 3,68–42,98; OR(GG) = 0,08; 95 % CI: 0,02–0,27; OR(AG) = 0,11; 95 % CI: 0,03–0,42 відповідно, $p < 0,05$.

Характер міжлокусної взаємодії між генами – на рівні «незалежні ефекти» впливу (IL4-IL10 rs1800896 = -23,08 %, IL10 rs1800896 – IL10 rs1800872 = -19,94 %, IL10 rs1800872-IL4 = -19,34 %). Частка ентропії досліджуваного поліморфізму кожного гена щодо статусу «випадок – контроль» становила 14,15 % для IL4, 23,08 % – для IL10 rs1800896 гена, 9,34 % – для IL10 rs1800872 гена.

Висновки. Комбінація IL4 rs2243250, IL10 rs1800896 та rs1800872 підтверджує роль поліморфізму імунорегуляторних генів у розвитку ПРПО та передчасних пологів. У популяції Запорізького регіону наявна вірогідна клінічна асоціація rs4742076 та rs3758239 гена RLN2 та ПРПО в терміні гестації 26–34 тижні.

Ключові слова:

передчасні пологи, передчасний розрив плодових оболонок, одонуклеотидний поліморфізм генів.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 2(43). – С. 187–193

Ключевые слова: преждевременные роды, преждевременный разрыв плодных оболочек, однонуклеотидный полиморфизм генов.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 187–193

Ассоциация однонуклеотидного полиморфизма иммунорегуляторных генов с преждевременным разрывом плодных оболочек при недоношенной беременности

Е. С. Любомирская, А. М. Камышный, Ю. Я. Круть

Цель работы – определить ассоциацию однонуклеотидного полиморфизма генов IL4(rs2243250), IL10(rs1800896 и rs1800872), RLN2(rs4742076 и rs3758239) с преждевременным разрывом плодных оболочек (ПРПО) в 26–34 недели гестации в популяции Запорожского региона.

Материалы и методы. Исследовали маркеры генов цитокинов у 50 женщин с ПРПО в сроке гестации 26–34 недели и 50 беременных с физиологическим течением беременности и срочными родами без осложнений. Генотипирование с помощью TaqMan проб проведено на амплификаторе CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США). Для моделирования и анализа межгенного взаимодействия использовали метод многофакторного уменьшения размерности (MDR – Multifactor Dimensionality Reduction – program version 3.0.2).

Результаты. По результатам генотипирования полиморфизма rs1800896 гена IL10 гомозиготы *TT* установлены в 74 % случаев основной группы исследования, гетерозиготы *TC* – у 4 %, гомозиготы *CC* – в 22 % случаев. Распределение аллелей полиморфизма rs2243250 гена IL4 основной группы исследования: гомозиготы *TT* определены в 4 % случаев, гетерозиготы *CT* – в 22 %, гомозиготы *CC* – в 74 %. Установлены статистически значимые различия по каждой аллели полиморфизма rs4742076 (*TT*, *CT* и *CC*) гена RLN2 между группами исследования. Получены статистически достоверные данные в сравнении основной и группы контроля, в том числе по всем аллелям полиморфизма rs3758239 (*AA*, *GG* и *AG*) гена RLN2 – $\chi^2 = 23,86$, $OR(AA) = 12,57$; 95 % CI: 3,68–42,98; $OR(GG) = 0,08$; 95 % CI: 0,02–0,27; $OR(AG) = 0,11$; 95 % CI: 0,03–0,42 соответственно $p < 0,05$. Характер межлокусного взаимодействия между генами на уровне «независимые эффекты» влияния – IL4-IL10 rs1800896 = -23,08 %, IL10 rs1800896 – IL10 rs1800872 = -19,94 %, IL10 rs1800872-IL-4 = -19,34 %. Доля энтропии исследуемого полиморфизма каждого гена статуса «случай – контроль» составила 14,15 % для IL4, 23,08 % – для IL10 rs1800896 гена, 9,34 % – для IL10 rs1800872 гена.

Выводы. Комбинация IL4 rs2243250, IL10 rs1800896 и rs1800872 подтверждает роль полиморфизма иммунорегуляторных генов в развитии ПРПО и преждевременных родов. Установлена достоверная клиническая ассоциация rs4742076 и rs3758239 гена RLN2 с возникновением ПРПО в сроке гестации 26–34 недели в популяции Запорожской области.

Background

Today in Ukraine the number of normal births is an average of 32.6 % of their total. The frequency of registration of the prematurity in different regions of the country ranges from 3 % to 12 %. Spontaneous preterm labor (PTL) and preterm premature rupture of membranes (PPROM) are major contributors to neonatal mortality and serious neonatal morbidity worldwide [3]. Despite all efforts to identify preventive measures and causative mechanisms, prematurity remains an unresolved issue worldwide [5].

In recent years a great attention has been paid to associative search of polymorphic markers with different diseases and as a result creation the genetic platform for personalized medicine. However, the genetic predisposition can contribute to PTL and PPROM [11]. The sequencing of the human genome and the discovery of the phenomenon of single nucleotide polymorphism (SNP) genes became a dawn of studying the effect of the genetic code on quantitative expression changes and further biological function of proteins [8,9]. Most of the SNP genes of the cytokines are found in the regulatory regions of the gene and directly affect their transcriptional activity and the concentration of the cytokine in the blood [4]. These genetic variations have an effect on the individual characteristics involved the immune response to infection and triggering PTL and PPROM [6,7]. Most of findings, however, are controversial, which demonstrates the importance of standardized methods and reproductive techniques as well as strictly performed evaluation adjusted for potential confounding factors [3]. Additionally, great part of inconsistencies found in the literature can be due to differences in genetic background and environmental exposures, parameters that vary greatly among distinct populations [3].

But information about the polymorphism of signaling molecules during PPRM in preterm pregnancy is small, scientific work in this direction can provide resources for analysis of polymorphic markers in associative studies, deepen the concept of the immune link of PPRM and PTL pathways, develop new effective methods of prediction these complications of pregnancy [10,12].

Aim

To investigate the association between SNP genes of IL4 (rs2243250), IL10 (rs1800896 and rs1800872) and RLN2 (rs4742076 and rs3758239) and preterm premature rupture of membranes in 26–34 weeks of gestation in Zaporizhzhia population.

These SNPs genes were selected based on existing evidence in the literature for a role in the pathogenesis of the studied conditions.

Materials and methods

We had done open cohort randomized research based on Regional Perinatal Center Zaporizhzhia city during period of 2015–2017 years. The case group consisted of 50 women with PPROM in preterm pregnancy, 26–34 weeks of gestation. For the control group we collected samples from 50 women with healthy term deliveries without previous history of PTL.

The genotyping using TaqMan tests was done on amplifier CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Polymerase chain reaction (PCR) for TaqMan genotyping was performed according to the instructions of Applied Biosystems, USA.

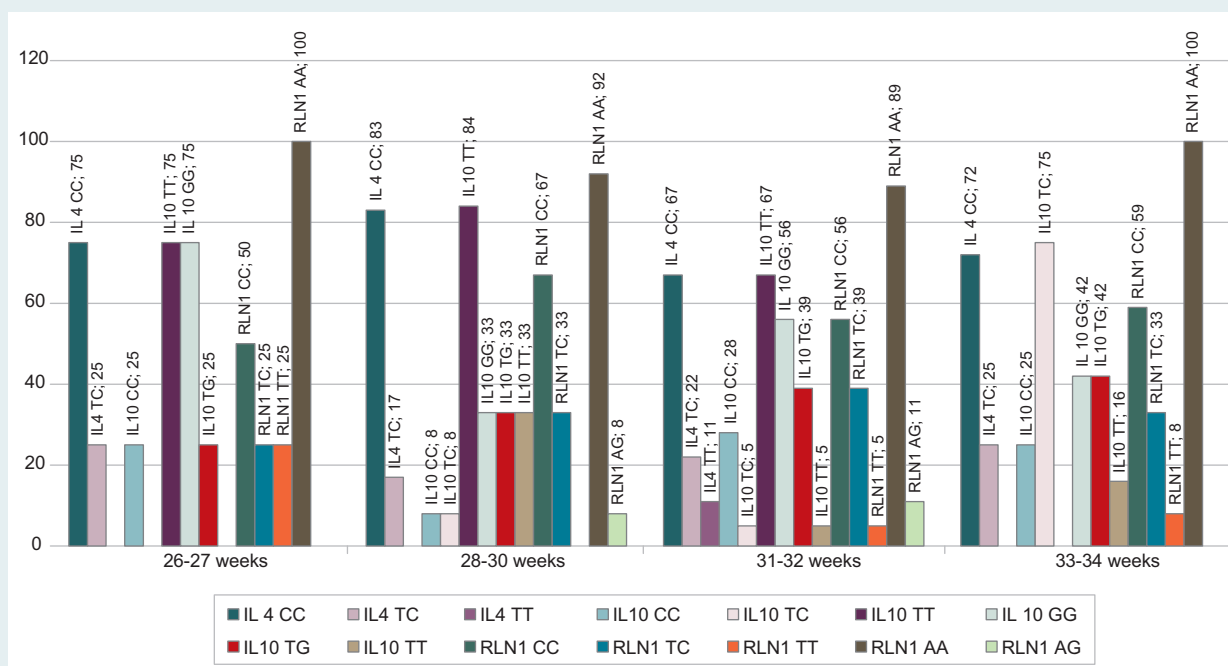


Fig. 1. Distribution of alleles/genotypes of genes IL4 rs2243250, IL10 rs1800896, IL10 rs1800872, RLN2 rs4742076, RLN2 rs3758239 depending on manifestation term of the PPRM (%).

Statistical data processing was carried out using the software package Statistica 6.0 (StatSoft Inc, No. AXXR712D833214FAN5). The comparison of qualitative indices was carried out using the χ^2 criterion with Yates's correction and Fischer's exact test (F). In order to evaluate the contribution of gene polymorphism to the probability of development of PPRM in preterm pregnancy, odds ratios (OR) were calculated with 95 % confidence interval (CI). The differences were considered to be significant at $P < 0.05$.

The combined effect of the studied locus of the analyzed genes on the appearance of PPRM, PTL in the population was initiated using the Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) method, a nonparametric statistical method that evaluates the main, independent and common effects of gene polymorphism, from deducting potential of the predicate (software MDR ver. 3.0.2). Also using the MDR method predicted the risks of PPRM, PTL with a graphic model of gene-gene interaction. The best gene-gene interaction patterns were characterized by the highest cross-validation consistency.

Results

Based on the genotyping results of rs1800896 gene polymorphism IL-10 gene TT homozygotes were detected in 37 (74 %) cases of the main study group, CT heterozygotes – in 2 (4 %) and CC homozygotes – in 11 (22 %) cases, consequently. In the study of polymorphism rs1800872 of the IL10 gene, in the main group of study homozygous TT were identified in 7 (14 %) cases, TG heterozygotes were found in 18 (36 %), GG homozygotes – in 25 (50 %) cases.

The distribution of the rs2243250 gene polymorphism alleles of the IL4 gene of the main study group – TT homozygotes were determined in 2 (4 %) cases, CT heterozygotes were found in 11 (22 %), CC homozygotes in 37 (74 %) cases. The prevalence of genotypes depending on term of PPRM is demonstrated in Fig. 1.

We have got statistically significant differences of rs4742076 polymorphisms (TT, CT, and CC) of the RLN2 gene in the study groups ($\chi^2 = 25.46$, OR(TT) = 33.0; 95 % CI: 4.37–249.1; OR(CT) = 25.24; 95 % CI: 3.20–198.96; and OR(CC) = 0.03; 95 % CI: 0.00–0.23, respectively $P < 0.05$). We also detected statistically significant differences in all the alleles of rs3758239 polymorphism (AA, GG and AG) of the gene RLN2 – $\chi^2 = 23.86$, OR(AA) = 12.57; 95 % CI: 3.68–42.98; OR(GG) = 0.08; 95 % CI: 0.02–0.27; OR(AG) = 0.11; 95 % CI: 0.03–0.42, respectively $P < 0.05$, indicating the reliability of the received prognostic markers. The received data of frequency of alleles/genotypes distribution is set in Figure 2 and 3.

The analysis of the multiplicative model of inheritance has shown that the relative frequency of the investigated polymorphic variants of genes IL4 (rs2243250), IL10 (rs1800896 and rs1800872) and RLN2 (rs4742076 and rs3758239) was significantly different between the study groups (Table 1). In general, the favorable CC polymorphic variant of the IL4 (rs2243250) gene over TT was dominant in the surveyed population (18.5 times more among patients ($P < 0.05$), 9.33 times – among healthy term deliveries ($P < 0.05$), T-alleles of the IL10 (rs2243250) gene over TC polymorphic variant (18.5 times among patients ($P < 0.05$), 5.5 times among healthy ($P < 0.05$), GG genotype of IL10 (rs1800872) gene over TT polymorphism (3.57 times among patients ($P < 0.05$), 18.5 times among

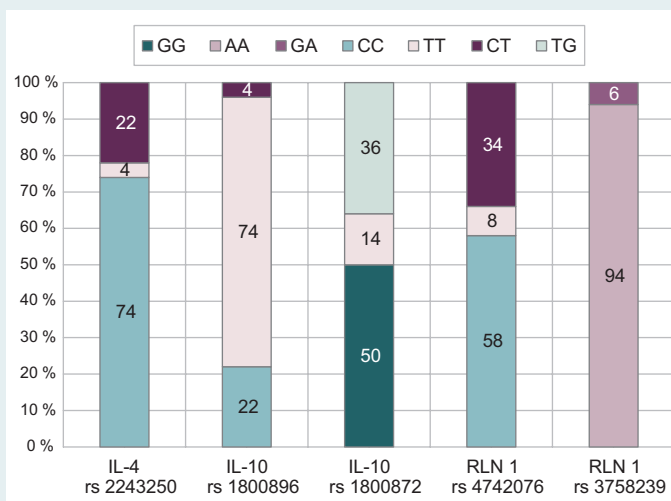


Fig. 2. Frequency of genotypes distribution in women with PPRM and PTL (%).

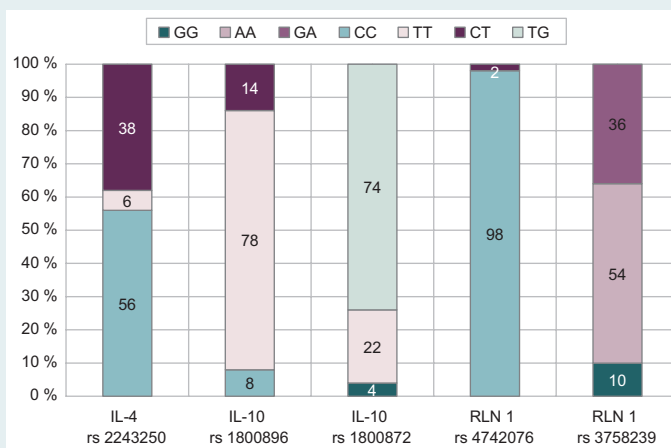


Fig. 3. Frequency of genotypes distribution in women with physiological pregnancy and labour (%).

healthy ($P < 0.05$). Regarding of the RLN2 (rs4742076) gene the favorable CC variant over polymorphic CT was dominant in the surveyed population (1.71 times among patients ($P < 0.05$), 49 times among control group ($P < 0.05$), C-alleles over T-alleles – 7.25 times among women with PPRM. It should be noted that TT genotype was absent in control group. Concerning the frequency of polymorphic variants in RLN2 (rs3758239) the favorable AA variant over AG (15.7 times more in patients ($P < 0.05$), 1.5 times among healthy term labour ($P < 0.05$), A-alleles prevails over G-alleles (47 times in patients ($P < 0.05$), 5.4 times among control ($P < 0.05$)).

The best gene-gene interaction models including taking into account the balanced testing and training accuracy, the highest cross-validation consistency, high sensitivity and specificity are given in Table 2. Combinations of best MDR models associated with high and low risk of PPRM are graphically presented in Fig. 4 and in Fig. 6 – polymorphic variants of best MDR models in term deliveries.

The circular graph of the cluster analysis of the results of gene-gene interaction simulation using the MDR-method is shown in Figure 5. The nature of interlocal interaction between the genes is at the level of «independent effects» of influence (IL4-IL10 rs1800896 = -23.08 %, IL10 rs1800896 – IL10 rs1800872 = -19.94 %, IL10 rs1800872 – IL4 = -19.34 %). The percentage of entropy of the investigated polymorphism of each gene for the case-control status was 14.15 % for the IL4 gene, 23.08 % for the IL10 rs1800896 gene and 9.34 % for the IL10 rs1800872 gene, indicating the high significance of the all present genes and their significant effect on the appearance of PPRM in preterm pregnancies.

In control group with term healthy pregnancy and labour the percentage of entropy of the investigated polymorphism of each gene, based on the results of the cluster analysis, simulates gene-gene interaction, is high and makes for the gene IL4 – 29.55 %, for IL10 rs1800896 – 14.74 %, for IL10 rs1800872 – 7.89 % (Figure 7), in the presence of an independent but sta-

Table 1. Association between polymorphic locks of cytokine genes and high risk of PPRM and PTL in Zaporizhzhia region

SNPs	Allel / Genotype	Public location	OR	95 % CI	χ^2	P-value
IL4 rs2243250	Allel C	132673462	3.94	2.0–7.76	16.77	$4 \times 10^{-5}^*$
	Genotype CT		4.42	1.15–16.97		
	Allel T		0.25	0.13–0.50		
IL10 rs1800896	Genotype CC	206773552	3.24	1.07–11.00	6.1	0.05 *
	Genotype CT		0.26	0.05–0.93		
	Genotype TT		0.8	0.32–0.84		
IL10 rs1800872	Allel T	206773062	0.33	0.18–0.58	14.7	0.0001 *
	Genotype TG		0.2	0.08–0.47		
	Allel G		24.0	5.25–109.65		
RLN2 rs4742076	Allel C	5309831	0.03	0.00–0.23	25.46	$5 \times 10^{-7}^*$
	Allel T		33.0	4.37–249.1		
RLN2 rs3758239	Allel A	5306824	12.57	3.68–42.98	23.86	$1 \times 10^{-6}^*$
	Allel G		0.08	0.02–0.27		

*: reliability of the difference, $P < 0.05$.

Table 2. Best MDR models SNPs associated with high risk of PPRM and PTL in Zaporizhzhia region

Model SNPs	Balanced accuracy	Cross-validation consistency	Sensitivity	Specificity	χ^2	P-value
IL4 rs2243250	0.7589	9/10	1.0	0.8298	11.3153	0.0008
IL4 rs2243250 + IL10 rs1800896	0.9232	10/10	1.0	0.8468	11.1172	0.0008
IL4 rs2243250 + IL10 rs1800896 + IL10 rs1800872	0.9149	10/10	1.0	0.8298	11.3153	0.0008

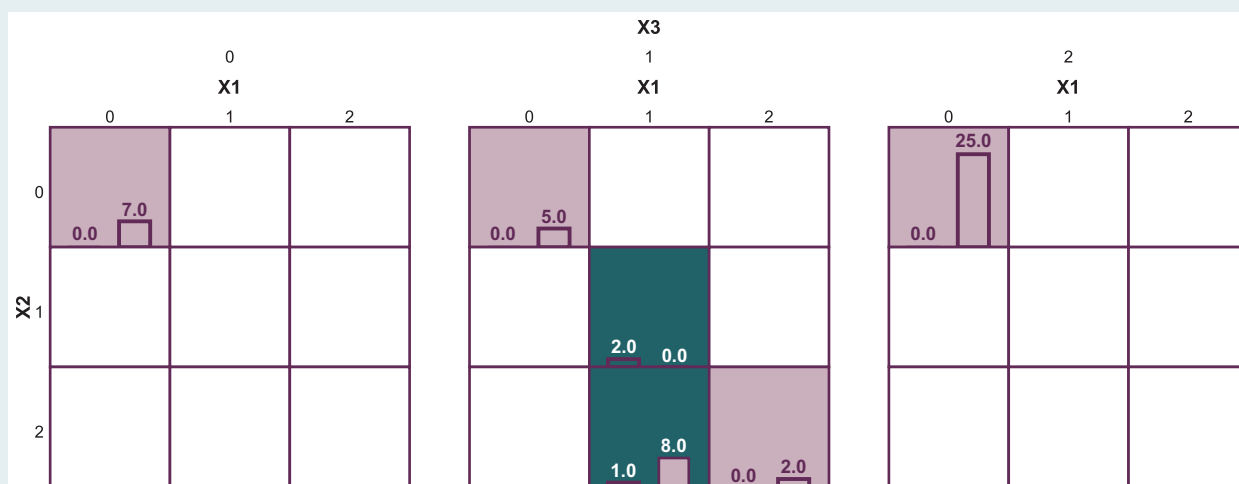


Fig. 4. Combination of polymorphic variants of genes X1 (IL4 rs 2243250), X2 (IL10 rs1800896), X3 (IL10 rs1800872) associated with high (dark gray cell) and low risk (light gray cell) of PPROM and PTL in Zaporizhzhia population.

IL4 (rs 2243250) 0, 1, 2: polymorphic variants of IL4 gene CC (0), TC (1), TT (2); **IL10 (rs1800896) 0, 1, 2:** polymorphic variants of IL10 gene TT (0), TC (1), CC (2); **IL10 (rs1800872) 0, 1, 2:** polymorphic variants of IL10 gene TT (0), TG (1), GG (2).

tistically significant effect on the occurrence of PPROM in PTL in the Zaporizhzhia surveyed population. The nature of interlocal interaction between the genes is at the level of «antagonistic effects» of influence (IL4-IL10 rs1800896 = -14.74 %, IL10 rs1800896 – IL10 rs1800872 = -14.76 %, IL10 rs1800872-IL-4 = -7.89 %).

Discussion

The data that we received in our work were compared with the results of other scientists. It should be noted at once that the number of studies on genetic polymorphism in relation to PPROM and PTL has dramatically multiplied. In addition, the results of studies of the same gene polymorphisms are determined by the design of the study, the choice of patient groups, are significantly differentiated in different populations and ethnic groups, and the expression of these mutations depends on a combination of cultural, socioeconomic and semantic factors, which are determined by the style of life in general and the style of habitation, in particular. However, many of polymorphisms exhibit inconsistency and remain inconclusive.

Being a global problem preterm birth warrants global solutions. Recent genomic approaches are beginning to reveal the information for understanding the causes of PTL. To fully appreciate and understand the complexity of PPROM and PTL, further approaches using high-throughput genome sequencing methods such as whole-genome sequencing studies are essential. Therefore, the challenge is to identify high risk women and provide them a personalized medical care for reducing the burden of PTL.

Common biological pathways that play important role in the pathogenesis of PTL are infections and inflammation, maternal-fetal hypothalamic-pituitary-adrenal activation, decidual defects and pathological uterine overdistension. PTL has multifactorial origins and often several systems in the body and many different factor classifications interact in increasing the risk of PTL. In

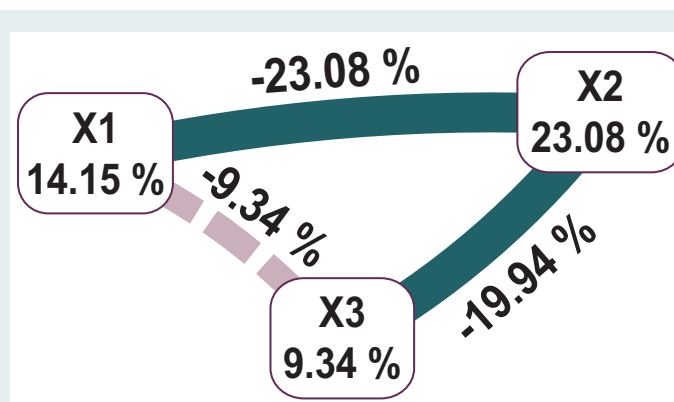


Fig. 5. Cluster analysis of gene-gene interaction of the three genes IL4, IL10, IL10 in patients with PPROM and PTL (circular dendrogram of Fruchterman-Rheingold).

— : an intensely pronounced antagonistic interaction;
 - - - : moderately expressive antagonistic interaction.

the contrast, it is estimated that only 50% of PTLs can be assigned to a known risk or causative factor, while the rest remain idiopathic.

In connection with the above, there was a need for the study of frequent mutations of genes IL4 (rs2243250), IL10 (rs1800896 and rs1800872) and RLN2 (rs4742076 and rs3758239) in Zaporizhzhia population to determine their role in the pathogenesis of PPROM and PTL in order to identify patterns and mechanisms for the formation of PPROM, the division of high-risk groups, early diagnosis, prediction and prophylactics. In Ukraine, the study of such a combination of genes in the pathology of software at the start of this study was not conducted.

In the study performed by A. Heinzmann haplotypes IL13/IL4 in a German population were presented as associated with PTL [2]. We proved association of IL4 rs2243250 with high risk or PPROM in Zaporizhzhia region. IL10 is an anti-inflammatory cytokine and at-

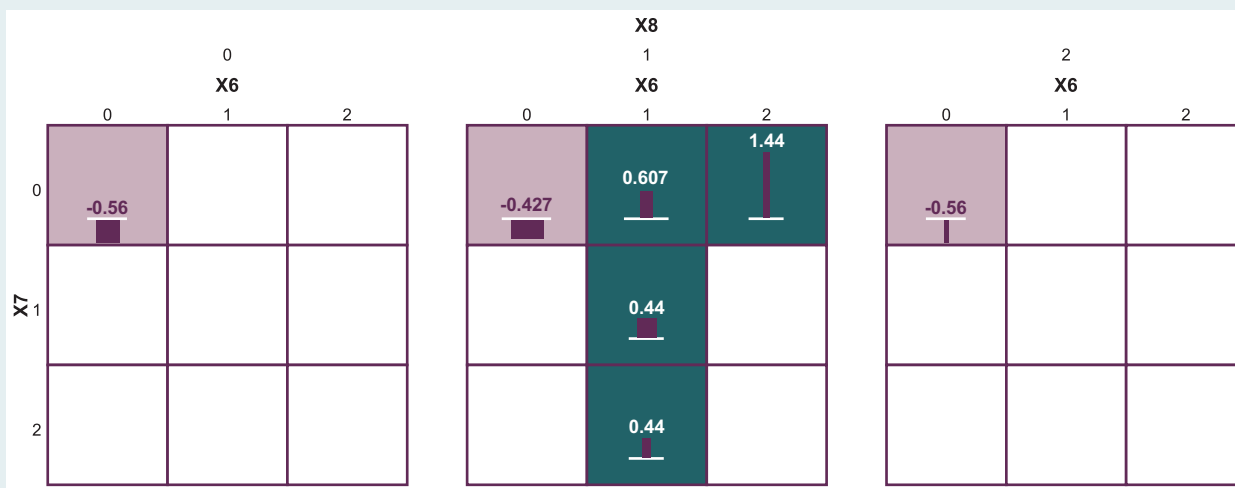


Fig. 6. Combination of polymorphic variants of genes X6 (IL4 rs2243250), X7 (IL10 rs1800896), X8 (IL10 rs1800872) associated with healthy term deliveries in Zaporizhzhia population.

IL4 (rs2243250) 0, 1, 2: polymorphic variants of IL4 gene CC (0), TC (1), TT (2); IL10 (rs1800896) 0, 1, 2: polymorphic variants of IL10 gene TT (0), TC (1), CC (2); IL10 (rs1800872) 0, 1, 2: polymorphic variants of IL10 gene TT (0), TG (1), GG (2).

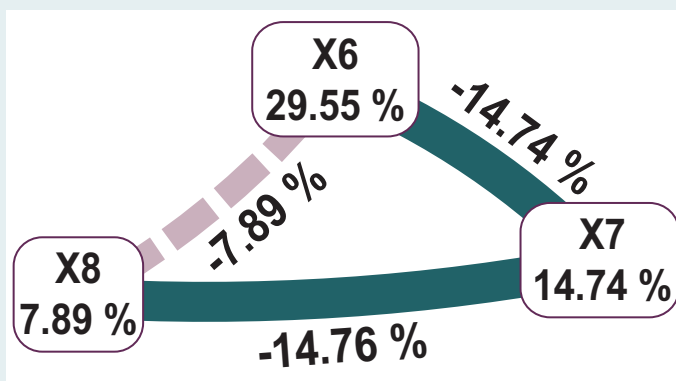


Fig. 7. Cluster analysis of gene-gene interaction of three genes IL4, IL10, IL10 in women with healthy term deliveries (circular dendrogram of Fruchterman-Rheingold).

— : an intensely pronounced antagonistic interaction;
 - - - : moderately expressive antagonistic interaction.

tenuates the inflammatory response through effects on pro-inflammatory cytokines and reduces the function of host immune cells, such as neutrophils and macrophages. Stonek F., Metzenbauer M. in their studies have found no association of IL10 with PTL [1]. Results of our study are controversial to researches of F. Stonek. We evaluated the contribution of maternal IL10 rs1800896 and rs1800872 in the susceptibility to PPRM and PTL. Based on received reliable statistical data presented above this marker can be used for prognosis PPRM in PTL, using also for example method of Multifactor Dimensionality Reduction.

Multifactor Dimensionality Reduction program helped us to create graph gene-gene interaction models with the highest cross-validation consistency and established a complex «independent» effect of polymorphic locus of genes IL4 rs2243250, IL10 rs1800896 and rs1800872 for the appearance of PPRM and PTL in Ukrainian population. The classification ability of the cre-

ated models, considering the high consistency (90 % or 100 %), confirmed the probability of a three-component model involving three abovementioned genes, which increase the risk of PPRM in PTL with an accuracy of 91.49 % and specificity of 82.98 % respectively.

RLN2 is produced by the corpus luteum and enters the systemic circulation in pregnancy. The action of RLN2 from the maternal decidua and fetal trophoblast is purely autocrine, it does not enter the systemic circulation. Women with spontaneous PTL have lower RLN levels in the early pregnancy but higher levels in later gestation, compared with women who deliver term. On the other hand, G. D. Bryant-Greenwood et al. analyzed that increased expression of intrauterine RLN is present in patients with PPRM without infection [9]. A recent study by I. Vogel with homogeneous Danish population improved that women who are homozygous for specific SNP in the promoter region of RLN2 have a genetic susceptibility for PTL [13].

In a study performed by Frederico G. Rocha et al. the contribution of SNP rs4742076 and rs3758239 in the RLN2 promoter in Filipino population was shown [9]. We obtained high reliable data on SNP genes RLN2 rs4742076 and rs3758239 in Zaporizhzhia women. Therefore, multiplicative inheritance model on this sign could be used for pregnant women our Zaporizhzhia region.

Summarizing the data of repertoire of SNP genes involved in our study, we have got significant difference in all the markers, as evidenced by MDR-data, χ^2 and odds ratio. The presence of these alleles may disrupt the balance between pro- and anti-inflammatory cytokines, modify the inflammatory response, increasing the risk for PPRM and PTL.

Conclusions

1. Combination of IL4 rs2243250, IL10 rs1800896 and rs1800872 supports the role for functional polymorphisms in immunoregulatory genes in the development

of PPROM and PTL.

2. Reliable clinical association between rs4742076 and rs3758239 gene RLN2 and the PPROM in 26–34 weeks gestation in Zaporizhzhia population was established.

3. Genotyping rs4742076 and rs3758239 of the RLN2 gene can be used to predict PPROM in preterm pregnancies, which will facilitate the timely implementation of preventive measures and reduce the premature births rate.

Prospects for further researches. In the future, we are planning to evaluate the contribution of maternal SNPs in systemic cytokines IL1 β (rs 1143627) and TNF α (rs1800629) and the influence in the susceptibility to PPROM and PTL in Ukrainian women. The another direction of further research will be devoted to determination the expression of innate and adaptive immunity components, specifically m-RNA quantity of TLR2, TLR4, pro-inflammatory cytokines IL-1 β and IL-17 α , differential regulators Th1, Th17, Treg in decidua and amniotic membranes. That will significantly enhance the understanding of PPROM and PTL leading to the formulation of preventive interventions.

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

Information about authors:

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

Kamyshnyi O. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Head of the Molecular-Genetic Research Division of the Medical and Laboratory Center of Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Krut Yu. Ya., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

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

Камішний О. М., д-р мед. наук, професор, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, керівник відділу молекулярно-генетичних досліджень навчального медико-лабораторного центру, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Круть Ю. Я., д-р мед. наук, професор, зав. каф. акушерства та гінекології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Любомирская Е. С., PhD аспирант каф. акушерства и гинекологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Камышный А. М., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, руководитель отдела молекулярно-генетических исследований учебного медико-лабораторного центра, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Круть Ю. Я., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. акушерства и гинекологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Прийнято до друку / Accepted: 20.08.2018

References

- [1] Stonek, F., Metzenbauer, M., Hafner, E., Phillip, K., & Tempfer, C. (2008). Interleukin-10-1082 G/A promoter polymorphism and pregnancy complications: results of prospective cohort study in 1616 pregnant women. *Acta Obstet Gynecol Scand.* – *Acta Obstet Gynecol Scand.*, 87, 430–43. doi: 10.1080/00016340801995657.
- [2] Heinzmann, A., Mailaparambil, B., Mingirulli, N., & Krueger, M. (2009). Association of Interleukin 13/4 and toll-like receptor 10 with preterm births. *Neonatology*, 96(3), 175–81. doi: 10.1159/000210091.
- [3] Ramos, B. R., Mendes, N. D., Tanikawa, A. A., Amador, M. A., dos Santos, N. P., dos Santos, S. E., et al. (2016). Ancestry informative markers and selected single nucleotide polymorphisms in immunoregulatory genes on preterm labor and preterm premature rupture of membranes: a case control study. *BMC Pregnancy Childbirth*, 16, 30. doi: 10.1186/s12884-016-0823-1.
- [4] Zare-Bidaki, M., Sadrinia, S., Erfani, S., Afkar, E., & Ghanbarzade, N. (2017). Antimicrobial properties of amniotic and chorionic membranes: a comparative study of two human fetal sacs. *J Reprod Infertil*, 18(2), 218–224.
- [5] Tchirikov, M., Schlabrutz-Loutsevitch, N., Maher, J., Buchmann, J., Naberezhnev, Y., Winarno, A. S., & Seliger, G. (2018). Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): etiology, diagnosis, classification, international recommendations of treatment options and outcome. *J. Perinat. Med.*, 46(5), 465–488. doi: 10.1515/jpm-2017-0027.
- [6] Bukowski, R., Sadovsky, Y., Goodarzi, H., Zhang, H., Biggio, J. R., Varner, M., et al. (2017). Onset of human preterm and term birth is related to unique inflammatory transcriptome profiles at the maternal fetal interface. *Peer J.*, 5, e3685. doi: 10.7717/peerj.3685.
- [7] Musilova, I., Kutová, R., Pliskova, L., Stepan, M., Menon, R., Jacobsson, B., & Kacerovsky, M. (2015). Intraamniotic inflammation in women with preterm prelabour rupture of membranes. *Plos One.*, 10(7), e0133929 doi: 10.1371/journal.pone.0133929.
- [8] Sneikh, A. I., Ahmad, E., Jamal, M. S., Rehan, M., Assidi, M., Tayubi, I. A., et al. (2016). Spontaneous preterm birth and single nucleotide gene polymorphisms: a recent update. *BMC Genomics*, 17(Suppl 9), 759. doi: 10.1186/s12864-016-3089-0.
- [9] Rocha, F. G., Slavin, T. P., Li, D., Tiirikainen, M. I., & Bryant-Greenwood, G. D. (2013). Genetic associations of relaxin: preterm birth and premature rupture of fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol.*, 209(3), 258.e1–8. doi: 10.1016/j.ajog.2013.05.020.
- [10] Salema, H., Yatchenko, E., Anosova, M., Rosenfeld, T., Altarescub, G., Grisaru-Granovsky, S., & Birk, R. (2018). Maternal and neonatal irisin precursor gene FND5 polymorphism is associated with preterm birth. *Gene.*, 649, 58–62. doi: 10.1016/j.gene.2018.01.097.
- [11] National Center for Biotechnology information, dbSNP database. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>.
- [12] Wang, Y., H. Luo, G. Che, Y. Li, J., Gao, J., Yang, Q., et al. (2018). Placental protein 14 as a potential biomarker for diagnosis of preterm premature rupture of membranes. *Mol Med Rep.*, 18(1), 113–122. doi: 10.3892/mmr.2018.8967.
- [13] Vogel, I., Hollegaard, M. V., Hougaard, D. M., Thorsen, P., & Grove, J. (2009). Polymorphism in the promoter region of relaxin-2 and preterm birth: involvement of relaxin in the etiology of preterm birth. *In Vivo*, 23(6), 1005–9.

Надійшла до редакції / Received: 14.06.2018

Після доопрацювання / Revised: 15.08.2018

Нові підходи до прогнозування пreeклампсії у вагітних

Т. О. Лоскутова

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

Ключові слова: вагітність, пreeклампсія, поліморфізм генів, антифосфоліпідні антитіла, прогнозування.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 194–198

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.2.141336

E-mail: Loskutovata@gmail.com

Мета роботи – розробка та оцінювання ефективності способу прогнозування розвитку пreeклампсії у вагітних за результатами тестування генів тромбофілії, визначення рівнів антитіл до $\beta 2$ глікопротеїну-1, кількості D-dimer, значення коефіцієнта атерогенності.

Матеріали та методи. Здійснили ретроспективне дослідження «випадок – контроль», до якого залучили 156 жінок у третьому триместрі вагітності; серед них 112 осіб із пreeклампсією (ПЕ) різного ступеня тяжкості та 44 жінки з фізіологічним перебігом вагітності. Прогностична модель ПЕ побудована на результатах визначення генних поліморфізмів (675 4G / 5G у гені PAI-1, 455 G $\rightarrow$ A в гені фібриногену β методом ПЛР), даних про кількість антитіл до $\beta 2$ глікопротеїну-1 (ИФА), концентрації D-dimer (імунотурбодиметричний аналіз), значенні коефіцієнта атерогенності.

Результати. Чутливість запропонованої прогностичної моделі становила 82,5 % (95 %, CI 74,2–88,9 %), специфічність – 90,9 % (95 %, CI 78,3–97,5 %). Модель враховує не тільки внесок кожного прогностичного маркера, але і їхню взаємодію. Апробація прогностичної моделі на групі вагітних (108 жінок у першому триместрі вагітності) показала її високу ефективність: частота ПЕ у групі з прогнозованим низьким ризиком розвитку ПЕ становила 2,5 % проти 57,1 % у групі з прогнозованим високим ризиком ($p < 0,05$).

Висновки. Запропонована модель залежності ймовірності розвитку пreeклампсії у вагітних жінок від рівня D-dimer, значення коефіцієнта атерогенності, кількості антитіл до $\beta 2$ глікопротеїну 1, наявності поліморфізму -455 G $\rightarrow$ A в гені фібриногену β і -675 4G/5G в гені інгібітора активатора плазміногену 1 типу. У моделі враховується роль у розвитку ПЕ не тільки кожного окремого фактора, але і їхня дія в сукупності. Запропонована модель дає змогу з високою точністю визначити ризики розвитку пreeклампсії, починаючи з першого триместру вагітності.

Ключевые слова: беременность, преэклампсия, полиморфизм генотипа, антифосфолипидные антитела, прогнозирование.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 194–198

Новые подходы к прогнозированию преэклампсии беременных

Т. А. Лоскутова

Цель работы – разработка и оценка эффективности способа прогнозирования развития преэклампсии у беременных по результатам тестирования генов тромбофилии, определения уровня антител к $\beta 2$ гликопротеину-1, количества D-dimer, значения коэффициента атерогенности.

Материалы и методы. Проведено ретроспективное исследование «случай – контроль», в котором задействованы 156 женщин в третьем триместре беременности; среди них 112 с ПЭ различной степени тяжести и 44 с физиологическим течением беременности. Прогностическая модель ПЭ построена на результатах определения генных полиморфизмов (675 4G/5G в гене ингибитора активатора плазминогена 1 типа, 455 G $\rightarrow$ A в гене фибриногена β методом ПЦР), данных о количестве антител к $\beta 2$ гликопротеину-1 (ИФА), концентрации D-dimer (иммунотурбодиметрический анализ), значении коэффициента атерогенности.

Результаты. Чувствительность предложенной прогностической модели составила 82,5 % (95 %, CI 74,2–88,9 %), специфичность – 90,9 % (95 %, CI 78,3–97,5 %). Модель учитывает не только вклад каждого прогностического фактора, но и их взаимодействие. Апробация прогностической модели на группе беременных в первом триместре беременности показала ее высокую эффективность: частота ПЕ в группе с прогнозируемым низким риском развития ПЭ составила 2,5 % против 57,1 % в группе с прогнозируемым высоким риском ($p < 0,05$).

Выводы. Предложена модель зависимости вероятности развития преэклампсии у беременных женщин от уровня D-dimer, значения коэффициента атерогенности, количества антител к $\beta 2$ гликопротеину-1, наличия полиморфизма -455 G $\rightarrow$ A в гене фибриногена β и -675 4G / 5G в гене ингибитора активатора плазминогена 1 типа. В модели учитывается роль в развитии ПЭ не только каждого отдельного фактора, но и их взаимное воздействие. Предложенная модель позволяет с большой точностью определить риски развития преэклампсии, начиная с первого триместра беременности.

Key words: pregnancy, pre-eclampsia, genetic polymorphism, antibodies, prognosis.

Pathologia 2018; 15 (2), 194–198

New approaches to the prognosis of pre-eclampsia in pregnant woman

T. O. Loskutova

Objective – development and evaluation of the effectiveness of the method for predicting pre-eclampsia in pregnant women by testing thrombophilia genes, measuring the levels of antibodies to $\beta 2$ glycoprotein-1, D-dimer and coefficient of atherogenicity.

Materials and methods. This retrospective, case – control study was conducted on 156 patients who were in third trimester of pregnancy: 112 with PE and 44 healthy normotensive pregnant women. A combined approach to the prognosis of preeclampsia which is based on the level of D-dimer (immunoturbidimetric analysis), the value of the atherogenicity coefficient, the number of antibodies to $\beta 2$ glycoprotein-1 (ELISA-analysis), the presence of polymorphism 455 G $\rightarrow$ A in the gene of fibrinogen β and 675 4G/5G in the gene of the plasminogen activator inhibitor type 1 (PCR) was proposed.

Results. It was established that the sensitivity of the proposed prognostic model was 82.5 % (95 % CI 74.2–88.9 %), specificity 90.9 % (95 % CI 78.3–97.5 %). The model takes into account the role in pre-eclampsia development not only of each individual factor, but also of their combination. Approbation of the prognostic model in the group of pregnant women in the first trimester of pregnancy showed its high efficacy: the incidence of PE in the group with a predicted low risk of developing PE was 2.5 % versus 57.1 % in the group with a predictable high risk ($P < 0.05$).

Conclusions. The proposed model has good prognostic features, which allow assessing the risk of pre-eclampsia development in pregnant women with high probability beginning from first trimester of pregnancy.

Преєклампсія – провідна причина перинатальної та материнської захворюваності та смерті [3,6,7]. Незважаючи на те, що точний патогенез преєклампсії все ще залишається незрозумілим, запропоновано кілька механізмів – від імунної недостатності до експресії генів. Поступово стає зрозумілим, що патологічні процеси виникають на межі плодової та материнської циркуляції та призводять до генералізованої дисфункції ендотеліальних клітин [3]. Є ряд факторів, які суттєво збільшують ризик розвитку преєклампсії (ПЕ): плацентарна ішемія, імунна дезадаптація, підвищений вміст холестерину у крові, оксидативний стрес [2,3,5].

Нині обговорюють роль антифосфоліпідного синдрому та генетичних форм тромбофілії (мутації в генах фактора V Leiden, протромбіну 20210 G → A, метилентетрагідрофолатредуктази 677 C → T; поліморфізм 455 G → A в гені фібриногену β (FGB) і 675 4G/5G в гені інгібітора активатора плазміногену 1 типу (PAI-1) в патогенезі багатьох акушерських ускладнень, в тому числі ПЕ [1,4,6]. Названі фактори діють спільно та зазвичай викликають потенціюючий ефект. Симптоми захворювання добре відомі, вони, як правило, проявляються у другому, третьому триместрах, хоча основні патогенетичні механізми розвиваються на більш ранніх стадіях вагітності.

Виявлення надійних маркерів скринінгу може передбачити початок преєклампсії перед її клінічними проявами [7]. Доведено, що комбіновані способи прогнозування – найкращий спосіб збільшити чутливість і специфічність багатьох скринінгових тестів [7]. Це дасть змогу поліпшити акушерську допомогу шляхом націлювання на нагляд в антенатальному періоді, виявлення вагітностей високого ризику, що може бути корисним для ранніх терапевтичних або профілактичних втручань.

Мета роботи

Розробка та оцінювання ефективності способу прогнозування розвитку преєклампсії у вагітних за результатами тестування генів тромбофілії, визначення рівнів антитіл до β2-глікопротеїну-1 і кількості D-dimer, значення коефіцієнта атерогенності.

Матеріали і методи дослідження

Для реалізації мети обстежили 156 жінок у третьому триместрі вагітності. Дослідження виконали на базі кафедри акушерства і гінекології КЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» та пологового будинку КЗ «Обласна клінічна лікарня імені І. І. Мечникова» (м. Дніпро). Контрольна група (К) – 44 жінки з фізіологічним перебігом вагітності. Преєклампсію

різного ступеня тяжкості мали 112 жінок: 59 (52,7 %) – гестаційну артеріальну гіпертензію та преєклампсію легкого ступеня, 53 (47,3 %) – ПЕ середнього та тяжкого ступеня. Критерій залучення у дослідження – наявність ПЕ відповідно до наказу МОЗ України № 676 від 31.12.2004 року. Середній вік жінок і поділ за віковими категоріями між групами майже не відрізнявся: у групі з ПЕ – $28,5 \pm 0,7$ року, в групі К – $26,7 \pm 0,8$ ($p > 0,05$). Середній термін вагітності на момент обстеження в групі з ПЕ становив $33,3 \pm 0,3$ тижня, у групі контролю – $36,7 \pm 0,2$ тижня ($p < 0,05$).

Концентрації загального холестерину (ХС), холестерину ЛПВЩ, холестерину ЛПНЩ, тригліцеридів у плазмі крові вимірювали на автоматичному аналізаторі Biochemistry Analyzer 88 з використанням реактивів «Біо-Ла-Тест» (Lachema-Pliva, Чеська Республіка). Коефіцієнт атерогенності (КА) розраховували за загальноприйнятою формулою.

Рівень D-dimer у плазмі крові визначали на підставі імунотурбодиметричного аналізу за допомогою латекс-тесту Tina-quant a D-Dimer (Roche Diagnostics, США) на системі Roche/Hitachi Cobas c 6000.

Виконали дослідження генетичних поліморфізмів факторів згортання крові та фібринолізу (-675 5G/4G інгібітор активатора плазміногену 1 типу (PAI-1), -455 G→A фібриноген β) за допомогою алельспецифічної полімеразної ланцюгової реакції (ампліфікатор «MyCycler» виробництва «Bio-rad», США) з наступною детекцією методом електрофорезу в 3 % агарозному гелі (ультрафіолетовий транслюмінатор «Vilber Lourmat», Франція). Використовували комплект реагентів «SNP-експрес» (НВФ «Літех», Російська Федерація). Для аналізу використовували ДНК із лейкоцитів крові, яку виділяли за допомогою реагента «ДНК-експрес-кров» (НВФ «Літех», Російська Федерація).

Сумарні антитіла класів IgM та IgG до β2-ГП-1 у сироватці крові визначили методом непрямого твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) за допомогою реагентів виробництва Orgentec Diagnostica GmbH (ФРН). Дослідження виконали на базі клініко-діагностичної лабораторії КЗ «Дніпропетровська обласна клінічна лікарня імені І. І. Мечникова».

Статистичне опрацювання результатів дослідження виконали з використанням ліцензійних комп'ютерних програм Microsoft Excel 2010 і Graph Pad Prism 5 (номер ліцензії 35B73650-6899-11DA-6784-00232A9018BE). Основні характеристики наведені у вигляді кількості спостережень (n), середньої арифметичної величини (M), стандартної помилки середньої ($\pm m$), відносних величин (абс., %), рівня статистичної значущості (p). Нормальність розподілу кількісних ознак оцінювали за допомогою критеріїв Шапіро–Уїлка та Колмогорова–Смірнова. Статистичні характеристики у групах порівняли з використанням параметричних і

Таблиця 1. Порівняння лабораторних показників між групами дослідження, $M \pm m$

Показники	ПЕ (n = 112)	Контрольна група (n = 44)	P-value
D-dimer, мкг/мл	1,14 ± 0,07	0,48 ± 0,03	p < 0,001
KA	3,82 ± 0,09	3,16 ± 0,15	p < 0,001
Ig M/G β 2-ГП-1, Од/мл	5,86 ± 0,30	4,02 ± 0,24	p < 0,001

Таблиця 2. Розподіл поліморфних варіантів генів FGB -455 G → A та PAI-1 -675 4G/5G, n (%)

Генотип	ПЕ (n = 112)	Контрольна група (n = 44)	P-value
FGB 455 G → A			
-455 GG	49 (43,8)	34 (77,3)	p < 0,001
-455 GA	51 (45,5)	9 (20,4)	p = 0,007*
-455 AA	12 (10,7)	1 (2,3)	p > 0,05 [†]
PAI-1 675 4G/5G			
-675 5G/5G	27 (24,1)	23 (52,3)	p < 0,001
-675 5G/4G	58 (51,8)	17 (38,6)	p = 0,14
-675 4G/4G	27 (24,1)	4 (9,1)	p < 0,05 [†]

*: χ^2 з поправкою Йетса, [†]: точний критерій Фішера.

непараметричних критеріїв: оцінювання вірогідності відмінностей середніх для незв'язаних вибірок – за критерієм Стюдента (t), вірогідність відмінностей якісних показників – за критерієм Хі-квадрат Пірсона (χ^2), у тому числі з поправкою Йетса (Yates corrected), точним критерієм Фішера, логістичний регресійний аналіз виконали для створення прогностичної моделі. Для прогностичного тесту визначили чутливість (Se) і специфічність (Sp).

Чутливість – частка хворих із позитивним результатом прогнозування серед усіх хворих:

$$Se = a / (a + c) \quad (1),$$

a: кількість випадків з ПЕ та з позитивним прогнозом; c – кількість хворих, які не виявлені за результатами прогнозування.

Специфічність – частка здорових із негативним результатом прогнозу серед усіх здорових:

$$Sp = d / (b + d) \quad (2)$$

b – кількість здорових із негативним результатом прогнозування, d – кількість здорових із позитивним результатом.

Розбіжність вважали вірогідною за умови p < 0,05.

Результати

Як прогностичні маркери розвитку ПЕ та як фактори ризику появи ПЕ запропоновано розглядати концентрацію Д-дімера, поліморфізм у гені людини (675 4G/5G PAI-1, 455 G→A в гені FGB); а також рівень антитіл до β2-ГП-1 і КА. Цей вибір заснований на фактах, котрі наведені нижче. Визначено, що рівень D-dimer у групі з ПЕ перевищував відповідні показники контрольної групи (p < 0,001) в 2,38 раза, кількість сумарних антитіл до β2 ГП-1 класів Ig M, Ig G – в 1,46 раза, а коефіцієнт атерогенності – в 1,20 раза (табл. 1). Кількість носіїв нормальної гомозиготи гена

FGB -455 GG у групі з ПЕ менше в 1,76 раза, носіїв гетерозиготи FGB -455 GA більше у 2,23 раза порівняно з К групою (p < 0,001). Носіїв нормальної гомозиготи 675 5G / 5G гена PAI-1 у групі з ПЕ у 2,17 раза менше, носіїв патологічної гомозиготи 675 4G / 4G у 2,6 раза більше, ніж у контрольній групі (p < 0,05) (табл. 2).

Далі будемо використовувати позначення: x_D – концентрація Д-дімера, x_{KA} – значення КА, $x_{A\beta 2}$ – кількість антитіл до β2-ГП-1, x_{PAI} – значення PAI-1, x_{FGB} – значення FGB. Значення x_{PAI} дорівнює 1, якщо ген нормальний; дорівнює 2, якщо ген гетерозиготний; дорівнює 3, якщо ген – аномальна гомозигота; x_{FGB} аналогічно приймає значення 1, 2 або 3.

Кожний вагітний приписуємо вектор факторів: $x = (x_D, x_{KA}, x_{A\beta 2}, x_{PAI}, x_{FGB})$ – результати її лабораторного обстеження. Будемо виходити з того, що ймовірність розвитку прееклампсії у вагітних є функцією

$$P(y) = P(x_D, x_{KA}, x_{A\beta 2}, x_{PAI}, x_{FGB}) = 1 / (1 + \exp\{-y\}) \quad (3)$$

від лінійної комбінації чинників:

$$y = a + b_D x_D + b_{KA} x_{KA} + b_{A\beta 2} x_{A\beta 2} + b_{PAI} x_{PAI} + b_{FGB} x_{FGB} \quad (4)$$

Функцію (4) будемо називати функцією ризику, її значення, виражене за значеннями факторів $x_D, x_{KA}, x_{A\beta 2}, x_{PAI}, x_{FGB}$, визначає ймовірність розвитку гіпертензивних порушень. Коефіцієнти $b_D, b_{KA}, b_{A\beta 2}, b_{PAI}, b_{FGB}$ оцінили за вибіркою так, щоб залежність $P(y) = P(x_D, x_{KA}, x_{A\beta 2}, x_{PAI}, x_{FGB})$ розвитку гіпертензивних порушень від лінійної комбінації чинників (4) була найкращою. Відповідні оцінки отримані за методом максимальної правдоподібності, в результаті функція ризику отримує такий вигляд:

$$y = -11,74 + 6,25x_D + 0,80x_{KA} + 0,49x_{A\beta 2} + 1,08x_{PAI} + 1,25x_{FGB} \quad (5)$$

Ймовірність розвитку гіпертензивних порушень у вагітної з вектором факторів $x = (x_D, x_{KA}, x_{A\beta 2}, x_{PAI}, x_{FGB})$ дорівнює:

$$P(y) = P(x_D, x_{KA}, x_{A\beta 2}, x_{PAI}, x_{FGB}) = 1 / (1 + \exp\{-y\}) = 1 / (1 + \exp\{-(-11,74 + 6,25x_D + 0,80x_{KA} + 0,49x_{A\beta 2} + 1,08x_{PAI} + 1,25x_{FGB})\}) \quad (6)$$

Графік функції $P(y) = 1 / (1 + \exp\{-y\})$ наведено на рис. 1. По осі абсцис відкладені значення функції ризику, по осі ординат – значення ймовірностей $P(y)$ розвитку ПЕ. За залежності (6) ймовірності $P(y)$ розвитку ПЕ від значення у функції ризику можна оцінити різні частотні характеристики, пов'язані з небезпекою її розвитку. Зокрема, можна встановити значення функції ризику у, перевищення якої у вагітної з ймовірністю, більшою за значення Р, відносить її до групи високого ризику розвитку ПЕ. Наприклад, для Р, що дорівнюють 0,75; 0,80; 0,90; 0,95, відповідні $P(1,099) = 0,75$; $P(1,386) = 0,80$; $P(2,197) = 0,90$; $P(2,944) = 0,95$. Якщо у вагітної значення функції ризику дорівнювало 1,099 або більше, то з ймовірністю, що становить не менше ніж 0,75, вона виявиться у групі високого ризику розвитку ПЕ (в середньому з 100 вагітних зі значенням функції ризику, що перевищує 1,099, не менше ніж у 75 буде ПЕ).

Приклад визначення ймовірності розвитку прееклампсії.

Таблиця 3. Фактична та прогнозована кількість преєклампсії серед обстежених вагітних.

Порядковий номер восьми-квантиля	Діапазон зміни значень функції ризику y	Діапазон зміни ймовірності $P(y)$	Кількість вагітних				Загалом
			Із преєклампсією		Без преєклампсії		
			фактична	прогнозована	фактична	прогнозована	
1	–3,41; –1,418	0; 0,195	1	2	20	18	21
2	–1,419; 0,068	0,196; 0,517	8	6	10	11	18
3	0,069; 0,765	0,518; 0,683	10	12	10	8	20
4	0,766; 2,455	0,684; 0,921	18	16	2	4	20
5	2,456; 4,860	0,922; 0,922	18	19	2	1	20
6	4,861; 6,325	0,923; 0,998	19	19	0	1	19
7	6,326; 9,511	0,9981; 0,999	20	20	0	0	20
8	9,512; 27,873	0,9991; 1,00	18	18	0	0	18

Вагітна М., результати обстеження: концентрація Д-дімера – 1,1 мкг/мл, сумарні антитіла до $\beta 2$ -ГП-1 – 3,7 Од/мл. Результати генетичного тестування: поліморфізм у гені PAI-1 675 4G / 5G – гетерозигота (2), поліморфізм у гені FGB 455 G → A – нормальна гомозигота (1); КА – 3,3. Вектор факторів $x = (x_D, x_{KA}, x_{A\beta 2}, x_{PAI}, x_{FGB}) = (1, 1; 3, 3; 3, 7; 2; 1)$. Значення функції ризику: $y = -11,74 + 6,25 \times 1,1 + 0,80 \times 3,3 + 1,08 \times 2 + 1,25 \times 1 + 0,49 \times 3,7 = 2,998$.

Ймовірність $P(y)$ розвитку преєклампсії у вагітної М. становить:

$$P(y) = 1/(1 + \exp\{-2,998\}) = 0,952.$$

Для визначення відповідності прогнозованого та фактичного ризику розвитку преєклампсії впорядкували значення функції ризику всіх вагітних (з контрольної групи та групи з ПЕ) від менших до більших і поділили значення, що отримали, на 8 близьких за чисельністю частин – восьми-квантилів (табл. 3). У першу восьми-квантиль увійшли жінки, значення функції ризику в яких мінімальні, у другу – з наступними за величиною значеннями функції ризику і так далі. Останню, восьму восьми-квантиль, склали пацієнти з максимальними значеннями цієї функції. Для кожної восьми-квантилі підраховували фактичне та прогнозоване числа вагітних із преєклампсією, а також фактичне та прогнозоване числа жінок із нормальним перебігом вагітності (табл. 3).

Значення статистики Hosmer–Lemeshow, що характеризує ступінь ухилення між прогнозованим числом і спостережуваним, становить 7,99 при критичному значенні статистики, яке дорівнює 12,59 ($p < 0,05$), що свідчить про високий ступінь відповідності моделі фактичним даним.

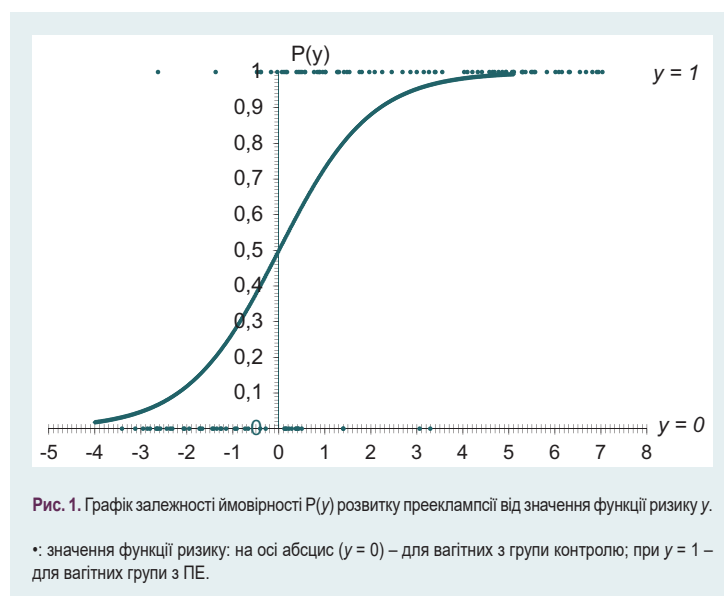
Аналіз результатів свідчить, що при значенні $P(0,765) = 0,683$ число вагітних із фактичною та прогнозованою кількістю ПЕ різко підвищується, а число здорових різко падає. Тому рівень значення $P(0,765) = 0,683$ прийнято як критичний, при перевищенні якого вагітну слід відносити до групи з високою ймовірністю розвитку ПЕ. Чутливість запропонованої моделі становить 82,5 % (95 % CI 74,2–88,9 %), специфічність – 90,9 % (95 % CI 78,3–97,5 %).

Для оцінювання ефективності способу прогнозування розвитку ПЕ його апробували на групі зі 108 жінок, які протестовані в першому триместрі вагітності. Серед них 84 – група з прогнозованим низьким ризиком ($P(y) < 0,683$), 24 – з прогнозованим високим ризиком ($P(y) \geq 0,683$) розвитку ПЕ. У 3 (12,5 %) пацієнток

Таблиця 4. Частота розвитку преєклампсії у групах прогнозування, n (%)

Групи	Без преєклампсії	Преєклампсія	
		легкого ступеня	середнього ступеня
Високий ризик ($n = 21$)	9 (42,9)*	5 (23,8) Загалом 12 (57,1)*	7 (33,3)
Низький ризик ($n = 81$)	79 (97,5)	2 (2,5) Загалом 2 (2,5)	0 (0,0)

*: відмінність показників між групами статистично вірогідна ($p < 0,05$).



із групи високого ризику і 3 (3,5 %) з групи низького ризику вагітність перервалася у термін 10–14 тижнів, і вони були виключені з дослідження. У решті оцінили результати вагітності та пологів. У групі прогнозованого високого ризику вагітність частіше ускладнювалася розвитком ПЕ (табл. 4).

Висновки

1. Встановлено, що для вагітних із преєклампсією притаманні вищі показники D-dimer ($1,14 \pm 0,07$ vs $0,48 \pm 0,03$ мкг/мл), кількості сумарних антитіл до $\beta 2$ ГП-1 класів Ig M, Ig G ($5,86 \pm 0,3$ vs $4,02 \pm 0,24$), коефіцієнта атерогенності ($3,82 \pm 0,09$ vs $3,16 \pm 0,15$) порівняно з контрольною групою ($p < 0,001$). Кількість носіїв нормальної гомозиготи гена фібриногену β -455 GG у групі з преєклампсією менше в 1,76 раза, гетеро-

зиготи -455 GA – більше у 2,23 раза, носіїв нормальної гомозиготи 675 5G / 5G гена інгібітора активатора плазміногену 1 типу у 2,17 раза менше, а патологічної гомозиготи 675 4G / 4G у 2,6 раза більше порівняно зі здоровими вагітними ($p < 0,05$).

2. На підставі отриманих даних запропонована модель залежності ймовірності розвитку прееклампсії у вагітних жінок від рівня D-dimer, значення коефіцієнта атерогенності, кількості антитіл до $\beta 2$ глікопротеїну 1, наявності поліморфізму 455 G $\rightarrow$ A в гені фібриногену $\beta 1$ -675 4G/5G у гені інгібітора активатора плазміногену 1 типу, в якій врахована роль у розвитку прееклампсії не тільки кожного окремого чинника, але і їхній сукупний вплив.

3. Чутливість запропонованої моделі становить 82,5 % (95 %, CI 74,2–88,9 %), специфічність – 90,9 % (95 %, ДІ 78,3–97,5 %).

Перспективи подальших досліджень полягають у розробці алгоритму ранніх терапевтичних або профілактичних втручань у вагітних групи високого ризику розвитку прееклампсії.

Подяка

Автор висловлює подяку В. Н. Турчину, завідувачу кафедри статистики й теорії ймовірностей Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара за допомогу в підготовці прогностичної моделі.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР кафедри акушерства та гінекології Державного закладу «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»: «Розробка нових підходів до діагностики, лікування, прогнозування і профілактики акушерських і перинатальних ускладнень у вагітних» (№ держреєстрації 0111U002792).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про автора:

Лоскутова Т. О., д-р мед. наук, доцент, професор каф. акушерства та гінекології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Сведения об авторе:

Лоскутова Т. А., д-р мед. наук, доцент, профессор каф. акушерства и гинекологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

Information about author:

Loskutova T. O., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 19.02.2018

Після доопрацювання / Revised: 05.07.2018

Прийнято до друку / Accepted: 15.08.2018

Список літератури

- [1] Brusch A. The Significance of Anti-Beta-2-Glycoprotein I Antibodies in Antiphospholipid Syndrome / A. Brusch // *Antibodies*. – 2016. – Vol. 5(4). – P. 16.
- [2] Dawood F. Pregnancy and Thrombophilia / F. Dawood // *J. Blood Disorders Transf.* – 2013. – Vol. 4. – P. 164.

- [3] Gathiram P. Pre-eclampsia: its pathogenesis and pathophysiology / P. Gathiram, J. Moodley // *Cardiovascular Journal of Africa*. – 2016. – Vol. 27. – №2. – P. 71–78.
- [4] Morgan J.A. Association of Plasminogen Activator Inhibitor-Type 1 (-675 4G/5G) Polymorphism with Pre-Eclampsia: Systematic Review / J.A. Morgan, S. Bombell, W. McGuire // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8(2). – e56907.
- [5] Singh M. A Study on Atherogenic Indices of Pregnancy Induced Hypertension Patients as Compared to Normal Pregnant Women / M. Singh, M.S. Pathak, A. Paul // *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. – 2015. – Vol. 9(7). – P. BC05–8.
- [6] Thrombophilia and Pregnancy Complications / L.E. Simcox, L. Ormesher, C. Tower, I.A. Greer // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2015. – Vol. 16(12). – P. 28418–28428.
- [7] First-trimester screening for early and late preeclampsia using maternal characteristics, biomarkers, and estimated placental volume / J. Sonek, D. Krantz, J. Carmichael, C. Downing, et al. // *American Journal Of Obstetrics And Gynecology*. – 2018. – Vol. 218. – №1. – P. 126.e1–126.e13.

References

- [1] Brusch, A. (2016). The Significance of Anti-Beta-2-Glycoprotein I Antibodies in Antiphospholipid Syndrome. *Antibodies*, 5(4), 16. doi: 10.3390/antib5020016.
- [2] Dawood, F. (2013). Pregnancy and Thrombophilia. *Journal Of Blood Disorders & Transfusion*, 4, 164. doi: 10.4172/2155-9864.1000164.
- [3] Gathiram, P., & Moodley, J. (2016). Pre-eclampsia: its pathogenesis and pathophysiology. *Cardiovascular Journal of Africa*, 27(2), 71–78. doi: 10.5830/CVJA-2016-009.
- [4] Morgan, J., Bombell, S., & McGuire, W. (2013). Association of Plasminogen Activator Inhibitor-Type 1 (-675 4G/5G) Polymorphism with Pre-Eclampsia: Systematic Review. *Plos ONE*, 8(2), e56907. doi: 10.1371/journal.pone.0056907.
- [5] Singh, M., Pathak, M. S., & Paul, A. (2015). A Study on Atherogenic Indices of Pregnancy Induced Hypertension Patients as Compared to Normal Pregnant Women. *Journal Of Clinical And Diagnostic Research*, 9(7), BC05–8. doi: 10.7860/JCDR/2015/13505.6241.
- [6] Simcox, L., Ormesher, L., Tower, C., & Greer, I. (2015). Thrombophilia and Pregnancy Complications. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12), 28418–28428. doi: 10.3390/ijms161226104.
- [7] Sonek, J., Krantz, D., Carmichael, J., Downing, C., Jessup, K., Haidar, Z. et al. (2018). First-trimester screening for early and late preeclampsia using maternal characteristics, biomarkers, and estimated placental volume. *American Journal of Obstetrics And Gynecology*, 218(1), 126.e1–126.e13. doi: 10.1016/j.ajog.2017.10.024.

Predictive value and changes of inducible nitric oxide synthase expression in patients with rectal cancer under the influence of antitumor therapy

V. V. Holotiuk, A. Ye. Kryzhanivska, I. Ya. Sadovyi, B. B. Tataryn

SHEI "Ivano-Frankivsk National Medical University", Ukraine

The aim of investigation – to establish the features of iNOS expression in the rectum wall under the influence of various neoadjuvant therapy options in patients with rectal cancer (RC) and to find out its predictive significance.

Materials and methods. In 88 patients with stage II–III rectal adenocarcinoma we established iNOS expression in the tumor before and after neoadjuvant radiotherapy (NRT), therapeutic pathomorphosis grade and density of immune cell infiltrates. Patients were divided into 3 groups: 1 – patients after the course of NRT on the tumor site; 2 – patients who underwent chemoradiomodification of the NRT with drug tegafur; 3 – patients who underwent chemoradiomodification of the NRT with tegafur and L-arginine.

Results. In the tumors of rectal cancer the level of iNOS expression by 4.5 times exceeded that in the intact rectum wall ($P < 0.001$), correlated with metastatic lesion of the regional lymph nodes ($r = 0.55$; $P = 0.026$) and depended on the type of growth of RC. The level of iNOS expression in the tumor prior to treatment in Group 3 patients, in which the high efficacy of NRT was reported, was 54.61 ± 3.55 versus 35.10 ± 2.28 CU in the rest of the patients ($P = 0.01$). After NRT, most Groups 1–2 patients reduced the iNOS expression in the RC tissue – on the average to 37.30 ± 4.13 CU, more in the residual parenchyma as compared to the tumor stroma, while Group 1 patients showed the lowest total immunosensitivity intensity of iNOS – 24.34 ± 3.10 CU, and Group 3 patients – the highest – 45.35 ± 5.84 CU.

Conclusions. After the use of NRT, iNOS expression in the residual parenchyma of the RC decreased, but in the stroma the marker expression remained unchanged or there was an increase in the marker expression, which was most inherent to therapeutic pathomorphosis grades III–IV. iNOS expression in the RC stroma was highest in patients after NRT with radiomodification using tegafur and L-arginine and positively correlated with the density of immune cell infiltrates in the tumor. Evaluation of the preoperative level of iNOS in patients with RC can serve as a predictive test of advisability of NRT used on the background of radiomodification with L-arginine.

Key words:

inducible nitric oxide synthase, rectal cancer, pathology, chemotherapy, radiotherapy, L-arginine, tegafur.

Pathologia

2018; 15 (2), 199–203

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.2.141349

E-mail:

golotiuk1@ukr.net

Предиктивне значення та зміни експресії індукцельної синтази оксиду азоту у хворих на рак прямої кишки під впливом протипухлинної терапії

В. В. Голотюк, А. Є. Крижанівська, І. Я. Садовий, Б. Б. Татарин

Мета роботи – визначити особливості змін експресії iNOS у стінці прямої кишки під впливом застосування різних варіантів неoad'ювантної терапії у хворих на рак прямої кишки (РПК), з'ясувати її предиктивне значення.

Матеріали та методи. У 88 хворих на аденокарциному прямої кишки II–III стадій імунофлуоресцентно визначили експресію iNOS у пухлині до та після неoad'ювантної променевої терапії (НПТ), ступінь лікувального патоморфозу та щільність імуноклітинних інфільтратів. Пацієнтів поділили на 3 групи: I – хворі після курсу НПТ на ділянці пухлини; II – пацієнти, яким виконали радіомодифікацію НПТ препаратом тегафур; III – хворі, які отримали радіомодифікацію НПТ препаратами тегафур та L-аргініну.

Результати. У пухлинах РПК рівень експресії iNOS в 4,5 раза перевищував таку в інтактній стінці прямої кишки ($p < 0,001$), корелював з метастатичним ураженням регіонарних лімфовузлів ($r = 0,55$; $p = 0,023$) і залежав від типу росту РПК. Рівень експресії iNOS у пухлині до лікування у хворих III групи, в яких констатована висока ефективність НПТ, становив $54,61 \pm 3,55$ проти $35,10 \pm 2,28$ ум. од. у решти хворих ($p = 0,01$). Після НПТ у більшості хворих I–II груп визначили зниження експресії iNOS у тканині РПК у середньому до $37,30 \pm 4,13$ ум. од., більше в резидуальній паренхімі порівняно зі стромою пухлини. У хворих I групи зареєстрували найменшу сумарну інтенсивність імуносигналу iNOS ($24,34 \pm 3,10$ ум. од.), а у хворих III групи – найвищу ($45,35 \pm 5,84$ ум. од.).

Висновки. Після застосування НПТ експресія iNOS у резидуальній раковій паренхімі РПК знижується, але у стромі залишається без змін чи спостерігається зростання експресії маркера, яке є найбільш характерним для III–IV ступенів патоморфозу. Експресія iNOS у стромі РПК найвища у хворих після НПТ із радіомодифікацією тегафуром, L-аргініном і позитивно корелює зі щільністю імуноклітинних інфільтратів у пухлині. Визначення доопераційного рівня iNOS у хворих на РПК може бути предиктивним тестом доцільності застосування НПТ із потенціюванням L-аргініном.

Ключові слова:

індукцельна синтаза оксиду азоту, рак прямої кишки, лікувальний патоморфоз, хіміопроменева терапія, L-аргінін, тегафур.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 2(43). – С. 199–203

Предиктивное значение и изменения экспрессии индуцибельной синтазы оксида азота у больных раком прямой кишки под влиянием противоопухолевой терапии

В. В. Голотюк, А. Е. Крижанивская, И. Я. Садовый, Б. Б. Татарин

Цель работы – определить особенности изменений экспрессии iNOS в стенке прямой кишки под влиянием применения различных вариантов неoad'ювантной терапии у больных раком прямой кишки (РПК) и выяснить ее предиктивное значение.

Ключевые слова:

индукцельная синтаза оксида азота, рак прямой кишки, лечебный патоморфоз, химиолучевая терапия, L-аргинин, тегафур.

Матеріали і методи. У 88 больных с аденокарциномой прямой кишки II–III стадий иммунофлуоресцентно определяли экспрессию iNOS в опухоли до и после неoadъювантной лучевой терапии (НЛТ), степень лечебного патоморфоза и плотность иммуноклеточных инфильтратов. Пациентов поделили на 3 группы: I – больные после курса НЛТ на зону опухоли; II – пациенты, которые получили радиомодификацию НЛТ препаратом тегафура; III – больные, которым провели радиомодификацию НЛТ препаратами тегафура и L-аргинина.

Результаты. В опухолях РПК уровень экспрессии iNOS в 4,5 раза превышал таковой в интактной стенке прямой кишки ($p < 0,001$), коррелировал с метастатическим поражением регионарных лимфоузлов ($r = 0,55$; $p = 0,026$) и зависел от типа роста РПК. Уровень экспрессии iNOS в опухоли до лечения у больных III группы, у которых констатирована высокая эффективность НЛТ, составил $54,61 \pm 3,55$ против $35,10 \pm 2,28$ у. е. у остальных больных ($p = 0,01$). После НЛТ у большинства больных I–II групп отмечали снижение экспрессии iNOS в ткани РПК – в среднем до $37,30 \pm 4,13$ у. е., в большей степени в резидуальной паренхиме по сравнению с стромой опухоли. При этом у больных I группы зарегистрировали наименьшую суммарную интенсивность иммуносигнала iNOS ($24,34 \pm 3,10$ у. е.), а у больных III группы – наивысшую ($45,35 \pm 5,84$ у. е.).

Выводы. После применения НЛТ экспрессия iNOS в резидуальной раковой паренхиме РПК снижается, однако в строме остается без изменений или отмечают рост экспрессии маркера, что наиболее характерно для случаев III–IV степени патоморфоза. Экспрессия iNOS в строме РПК самая высокая у больных после НЛТ с применением тегафура и L-аргинина и положительно коррелирует с плотностью иммуноклеточных инфильтратов в опухоли. Определение дооперационного уровня iNOS у больных РПК может служить предиктивным тестом целесообразности применения НЛТ с потенцированием L-аргинином.

Redox-dependent NO molecules play an important role in regulation of the proliferative processes of cancer cells due to metabolic, damaging and signaling ways [1,2]. Nowadays, it is known that nitric oxide (NO) in relation to malignant neoplasms can exhibit dual activity – both to stimulate tumour growth, and to cause antitumor effect, while the direction of action of NO in the tumours primarily and the most depends on its concentration [3,4]. NO can also have a great effect on other aspects of tumour biology, including angiogenesis and metastasizing [1,3]. It has been found out that inducible nitric oxide synthase (iNOS) is the main source of NO synthesis in tumours. Possessing the ability to synthesize large volumes of NO over a long period of time, iNOS functions as a rule in response to cell activation by cytokines or bacterial antigens [5]. In a short time, it has the ability to increase the concentration of NO fortyfold or more, depending on the intensity of the stimulating factor [2]. Nitric oxide on exposure to iNOS is formed by a two-stage hydroxylation reaction of the citrulline cycle from L-arginine, resulting in stoichiometrically formed nitric oxide in the free radical form (NO) and L-citrulline [6]. Nitrogen oxide produced by iNOS in large amounts is toxic. It enables NO to perform in the body both protective functions (neutralize tumour and bacterial cells), and to participate in pathological processes, inducing apoptosis [7].

Considering the importance of NO in the pathogenesis of malignancy and the mechanisms of antitumor therapeutic effects, researchers in various countries investigate the characteristics of the biological system of NO synthesis in colorectal cancer tumors, which serves as a basis for the development of new therapeutic approaches and personalization of patients treatment. However, nowadays, literature data on the characteristics of iNOS expression in colorectal cancer tumors, its prognostic and predictive value are ambiguous and require further study [8–10].

The aim

To establish features of iNOS expression in the rectum wall under the influence of various neoadjuvant therapy

options in patients with rectal cancer (RC) and to find out its predictive significance.

Materials and methods

The results of the examination of 88 patients with RC who were treated in the Precarpathian clinical oncological center have been analyzed. 50 patients were diagnosed at stage II ($T_{3-4}N_0M_0$) and 38 – stage III ($T_{2-4}N_{1-2}M_0$) of the disease. The mean age of the patients was 61.30 ± 1.29 years (from 45 to 74 years), there were 47 (53 %) male patients, and 41 (47 %) female patients. All patients had a verified stage II–III adenocarcinoma. Diagnosis, stage of the disease and the presence of metastases were established in accordance with the requirements of evidence-based medicine (by performing clinical and instrumental examinations and pathomorphologically). The research was performed in accordance with the principles of conducting biomedical research involving human subjects set forth in the World Medical Association Declaration of Helsinki.

Depending on the treatment received, the patients were divided into 3 groups:

Group 1 included 30 patients who received the course of neoadjuvant radiation therapy (NRT) on the tumor site to a total focal dose of 38–40 Gy (single focal dose – 2.0–2.5 Gy, 5 sessions per week) without the use of radiomodifiers with surgical after-treatment 4–6 weeks later.

Group 2 included 29 patients who received a similar course of NRT with the chemoradiomodification with tegafur at a dose of 800 mg twice per os daily to patients weighing up to 70 kg or 1200 mg three times daily to patients with a weight of more than 70 kg during the whole course of the NRT.

Group 3 included 29 patients who underwent the same course of NRT, and besides tegafur they received L-arginine infusions in a dose of 100 ml per 1 hour before the radiotherapy session (4.2 % solution of L-arginine hydrochloride), which, being a substrate for iNOS, is a precursor of NO formation in the tumour tissue.

The object of our study were fragments of intact gut 3 cm from the edge of the tumor and RC samples

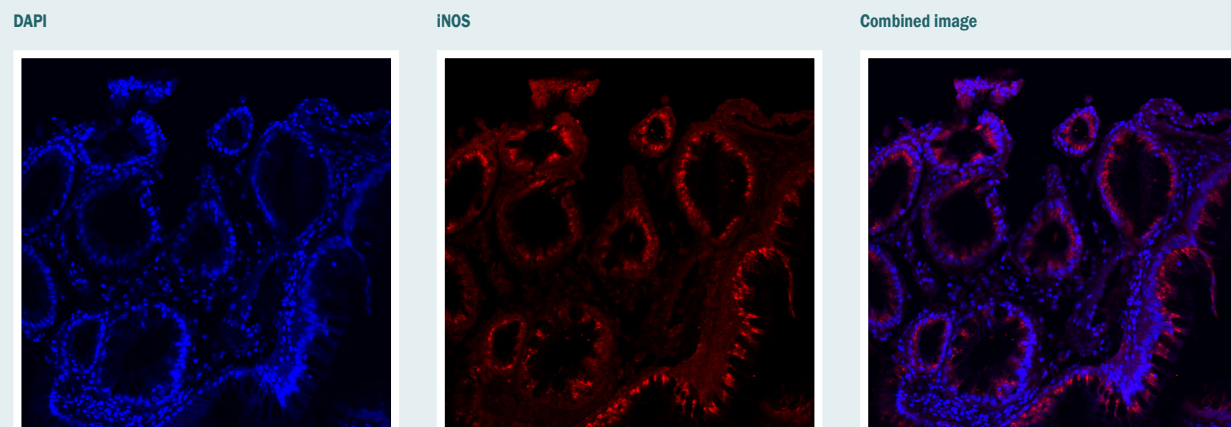


Fig. 1. iNOS expression in rectal cancer patients before treatment: high level of iNOS expression in the cytoplasm of atypical epithelial complexes of rectal cancer (Immunofluorescence microscopy). Magn. $\times 200$.

DAPI: nuclei visualization, **iNOS:** immunosignal of iNOS in the tumor tissue.

obtained during the biopsy before the treatment onset and from the surgical material. Single tissue plate was dissected from three tumor zones (peripheral, interstitial, and central) for histopathologic investigation of RC surgical material. Histologic sections on the upper, middle and lower levels of paraffin blocks were made, thus nine sections from each operated patient were analyzed. Serial paraffin sections 4–5 microns thick were stained with hematoxylin and eosin. Microscopy and photographing were performed on a microscope of Leica DME (Germany) at $\times 40$, $\times 100$, $\times 200$ and $\times 400$ magnifications. Therapeutic pathomorphosis grade was estimated according to G. O. Lavnikova, the density of immune cell infiltrates – morphometrically.

Localization and endogenous expression levels of iNOS were assessed by immunofluorescence imaging techniques which was performed in sections of biopsy and RC surgical material 4 μm thick. Anti-NOS2 (Santa Cruz, CA, USA, titer 1: 200) was used as primary antibodies. Alexa Fluor 546 (Invitrogen, USA, titer 1: 500) was used as secondary fluorescein-containing antibodies. Cell nuclei were visualized using 4.6-diamino-2-phenylindole (DAPI, 1.5 mg/ml), which was added to the phosphate buffer on the last washing. Immune positive tissues were investigated using a Zeiss LSM 510 laser confocal microscope with a 32-channel automatic polychromatic META detector (GaAsP) and an oil-immersion lens 40X/1.4NA. Five randomly chosen zones were photographed at each section. Analysis of the detected immune signal intensity was performed using the ImageJ 1.48 software. Variational and statistical analysis was performed using the application Statistica v.6.1 (s/n: RGXR412D674002FWC7). The normal distribution was evaluated according to the Shapiro–Wilk test. Digital information of all clinical investigations was processed by variance statistical method calculating the mean value (M) and its error (m). The significance of difference between two means was calculated by Student's t-test (t). Correlation analysis with calculation of Pearson's correlation (r) was used to establish the relationship between the studied indices. The difference between the values was considered reliable if significance value was 95 % ($P < 0.05$).

Results of research

The total level of the iNOS immune signal in the mucous membrane of the rectum in patients with rectal cancer (RC) before treatment was low, amounting to an average of 10.98 ± 1.07 conventional unit (CU). Expression of the marker was found mainly in the pericapillar stromal components of lamina propria of the mucous membrane in the areas of immunocytes aggregation. Immunosignal was recorded in the form of single foci of high intensity, often diffuse, and less frequently in the form of macrogranular nature. In the cytoplasm of epithelial cells, both luminal and basal part of the intestinal crypts, isolated foci of iNOS expression of moderate to low intensity were detected. They were irregular and characterized by a diffuse distribution of the marker with concentration predominantly in the zone of the basal cell pole and the juxtanuclear zone.

In RC tumors, the total iNOS expression was 4.5 times higher than in the adjacent rectal mucosa ($P < 0.001$) and averaged 49.21 ± 3.52 CU. At the same time, iNOS immunosignal was detected both in the cells of cancerous glands and in the tumors stroma. Quantitative analysis showed that the total intensity of iNOS expression in stromal cells of RC exceeded that in tumor parenchyma cells by 24% (52.54 ± 4.29 and 42.47 ± 3.18 CU respectively, $P = 0.037$). The marker in the RC tissue was unevenly distributed, in particular, within the stroma the immunosignal of iNOS was visualized mainly in the areas of immune-cell infiltrates. At the same time, full visual fields, where only the background level of the marker was detected in the cancerous cells, alternated with sites of high iNOS immunosensitivity in most cells of the cancerous epithelium parenchyma. In such cases, the iNOS expression was equal across the perimeter of atypical cancerous glands, and in the epitheliocytes themselves – homogeneous, high and medium intensities with predominance in the cytoplasm of parabasal cell parts (Fig. 1).

The level of iNOS expression in tumor tissue in patients with RC did not correlate with age, sex, localization, tumor size and differentiation grade, but at the same time,

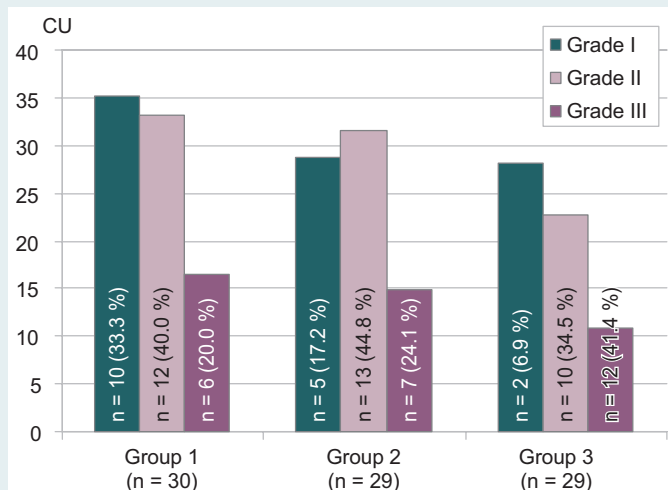


Fig. 2. Indicators of iNOS expression within residual cancer parenchyma in patients with RC of groups 1–3 depending on the post-radiation pathomorphosis grade.

%. portion of I–III pathomorphosis grades for each group of patients is indicated; patients with pathomorphosis grade IV are not reflected because of residual cancer parenchyma absence, so the sum of the number of patients in subgroups, depending on the pathomorphosis degree is less than the total number of patients in the corresponding groups.

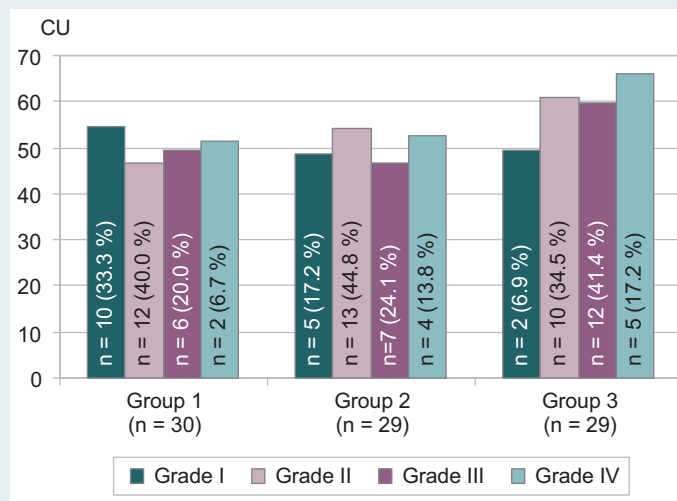


Fig. 3. Indicators of iNOS expression within the tumor stroma in patients with RC of groups 1–3 depending on the post-radiation pathomorphosis grade.

%. portion of I–IV pathomorphosis grades for each group of patients is indicated.

we found a positive relationship between iNOS expression and the number of registered lymph nodes with metastases. Thus, in the subgroup of patients with criterion N_{1-2} , the average iNOS expression was 58.63 ± 6.11 CU, whereas in the absence of metastases in the lymph nodes – 41.30 ± 5.05 CU ($r = 0.55$; $P = 0.026$). Also, a statistically significant relationship was recorded with respect to the type of growth of RC: in the exophytic tumors the iNOS index was 43.13 ± 5.27 CU, in cases of tumors with endophytic and mixed types of growth – 61.16 ± 7.19 ($P = 0.021$).

In order to investigate the effect of iNOS expression level in the tumor on the direct effect of NRT, the relation-

ship between marker expression and the level of treatment post-radiation pathomorphosis was studied. At the same time, the efficacy of the therapy was taken low for pathomorphosis grades I–II and considered high in the cases of pathomorphosis III–IV grades. It was found that the level of iNOS expression in the tumor before treatment in groups 1–2 patients, for which in the future high efficiency of NRT was registered, slightly exceeded that in patients with a low sensitivity to the received treatment: the rate was 50.24 ± 4.09 and 46.67 ± 5.47 CU respectively, while the difference in average values was unreliable ($P > 0.05$). Patients in the 3rd group experienced a similar trend, but the difference in rates was more significant and reliable, accounting for 54.61 ± 3.55 and 35.10 ± 2.28 respectively ($P = 0.01$). This suggests that patients with high iNOS levels in the tumor are more susceptible to NRT in the background of radiomodification using the precursor of biological synthesis of NO, which confirms the pathogenetic feasibility of its usage for this purpose.

After the use of NRT, in the majority of groups 1–3 patients, decrease in the iNOS expression in the RC tissue was observed – on average up to 37.30 ± 4.13 CU. Negative dynamics was significantly more pronounced in the areas of residual cancer parenchyma as compared with the stroma, where the reduction in iNOS expression after the performed treatment was negligible and unreliable by contrast to the baseline (Fig. 2, 3).

Moreover, in some cases, even an increase in the total intensity of the iNOS immune signal in the tumor stroma was noted. This phenomenon was the most characteristic for group 3 patients, where iNOS expression in stromal elements exceeded the parameters of groups 1 and 2 patients and increased in parallel with the grade of therapeutic pathomorphosis. It was the largest in cases of grade IV pathomorphosis on the background of the complete lack of viable cancer parenchyma (Fig. 3). Obviously, the latter is associated with a large area of reactive cell infiltration of functional-active iNOS-expressing macrophages and leukocytes, which take part in the postradiation reorganization of irradiated tissue and regulation of desmoplastic reactions.

The same cause, in our opinion, is the basis for different mean total iNOS expression in the tumour tissue at this stage of the study taking into account the distribution of patients to experimental groups. In particular, group 1 patients showed the

lowest total iNOS immunosignal intensity – 24.34 ± 3.10 CU, group III patients – 38.30 ± 4.41 CU and group IV patients the highest – 45.35 ± 5.84 CU (the difference between the mean values of groups 1–2 and groups 1–3 was relevant – correspondingly $P = 0.019$ and $P = 0.013$) (Fig. 4).

Indicated dynamics corresponded to different density of immune cell infiltrates established in the study of the post-radiation pathomorphosis parameters in the histopreparations of RC and correlated in the groups of patients as $1 < 2 < 3$.

Discussion

Macrophages, which are the part of peritumoral inflammatory infiltrates, can provide radiosensibilization

of the neoplasm due to the secretion of proinflammatory cytokines, therefore increasing secondarily the expression and functional activity of iNOS in tumor cells [1,4,8]. Thus, taking into account the data received in our study, it is suggested that the administration of L-arginine hydrochloride to the patients with RC before the irradiation session contributes to increased synthesis of endogenous NO in the neoplasm as a result of iNOS expressed by neutrophils and activated (M1) macrophages activity, which is known to possess the ability to increase the sensitivity of the tumor to ionizing radiation [1,2].

Conclusions

1. 4–6 weeks after the completion of NRT iNOS expression in residual parenchyma of the RC decreases, but in the stroma remains unchanged or there is an increase in the marker expression, which is the most inherent to pathomorphosis grades III–IV.

2. The iNOS expression in the stroma of RC was highest in patients after the NRT on the background of radiomodification with tegafur and L-arginine and positively correlated with the density of immune cells infiltrates in the tumor.

3. Evaluation of the preoperative level of iNOS in the tumor in patients with RC can serve as a diagnostic predictive test of advisability of radio-modification using L-arginine in the course of NRT.

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

Конфлікт інтересів: відсутній.

Information about authors:

Holotniuk V. V., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Department of Oncology, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

Kryzhanivska A. Ye., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Oncology, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

Sadovyi I. Ya., MD, PhD, Assistant, Department of Surgery #2, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

Tataryn B. B., MD, Assistant, Department of Oncology, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Голотюк В. В., д-р мед. наук, доцент каф. онкології, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.

Крижанівська А. Є., д-р мед. наук, зав. каф. онкології, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.

Садовий І. Я., канд. мед. наук, асистент каф. хірургії № 2, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.

Татарин Б. Б., асистент каф. онкології, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Голотюк В. В., д-р мед. наук, доцент каф. онкологии, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.

Крыжанивская А. Е., д-р мед. наук, зав. каф. онкологии, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.

Садовий И. Я., канд. мед. наук, ассистент каф. хирургии № 2, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.

Татарин Б. Б., ассистент каф. онкологии, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.

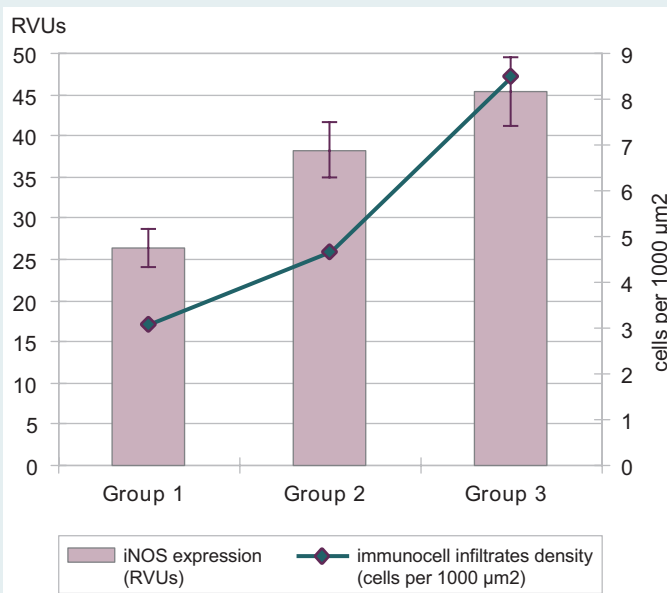


Fig. 4. Correlation of iNOS expression in the tumor and density of immune cell infiltrates in patients with RC.

Надійшла до редакції / Received: 07.05.2018

Після доопрацювання / Revised: 29.05.2018

Прийнято до друку / Accepted: 05.06.2018

References

- [1] Bonavida, B. (Ed) (2015). *Nitric Oxide and Cancer: Pathogenesis and Therapy*. Los Angeles. doi.org/10.1007/978-3-319-13611-0.
- [2] Huerta, S., Chilka, S., & Bonavida, B. (2008). Nitric oxide donors: novel cancer therapeutics (review). *Int J Oncol*, 33(5), 909–27. doi. org/10.3892/ijo.00000079.
- [3] Choudhari, S. K., Chaudhary, M., Bagde, S., Gadgil, A. R., & Joshi, V. (2013). Nitric oxide and cancer: a review. *World J Surg Oncol*, 11, 118. doi: 10.1186/1477-7819-11-118.
- [4] Wink, D. A., Hines, H. B., Cheng, R. Y., Switzer, C. H., Flores-Santana, W., Vitek, M. P., et al. (2011). Nitric oxide and redox mechanisms in the immune response. *J Leukoc Biol*, 89(6), 873–91. doi: 10.1189/jlb.1010550.
- [5] Blaise, G. A., Gauvin, D., Gangal, M., & Authier, S. (2005). Nitric oxide, cell signaling and cell death. *Toxicology*, 208(2), 177–92. doi. org/10.1016/j.tox.2004.11.032.
- [6] Stuehr, D. J. (2004). Enzymes of the L-arginine to nitric oxide pathway. *J Nutr*, 134 (10 Suppl), 2748S–2751S; discussion 2765S–2767S.
- [7] Grimm, E. A., Sikora, A. G., & Ekmekcioglu, S. (2013). Molecular pathways: inflammation-associated nitric-oxide production as a cancer-supporting redox mechanism and a potential therapeutic target. *Clin Cancer Res*, 19(20), 5557–5563. doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-12-1554.
- [8] Rahat, M. A., & Hemmerlein, B. (2013). Macrophage-tumor cell interactions regulate the function of nitric oxide. *Front Physiol*, 4, 144. doi: 10.3389/fphys.2013.00144.
- [9] Zafirellis, K., Zachaki, A., Agogiannis, G., & Gravani, K. (2010). Inducible nitric oxide synthase expression and its prognostic significance in colorectal cancer. *APMIS*, 118(2), 115–24. doi: 10.1111/j.1600-0463.2009.02569.x.
- [10] Gochman, E., Mahajna, J., Shenzer, P., Dahan, A., Blatt, A., Elyakim, R., & Reznick, A. Z. (2012). The expression of iNOS and nitrotyrosine in colitis and colon cancer in humans. *Acta Histochem*, 114(8), 827–35. doi: 10.1016/j.acthis.2012.02.004.

The influence of bronchial asthma control level on the quality of life indices

O. V. Herasymova¹, T. L. Protsiuk¹, L. O. Protsiuk¹, N. M. Surkova², L. D. Kotsur¹,
O. V. Kuleshov¹

¹National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine ²Vinnytsia Regional Children's Clinical Hospital, Ukraine

Key words:

bronchial asthma,
quality of life,
children.

Pathologia

2018; 15 (2), 204–209

DOI:

10.14739/2310-1237.
2018.2.141394

E-mail:

rossata@ukr.net

Objective – to study the indices of general and specific quality of life in schoolchildren, depending on the level of bronchial asthma control.

Materials and methods. Quality of life parameters of 189 in-patients with BA, aged 6–17 years and 95 controls were studied. Parallel questioning with subsequent analysis of quality of life indices in 189 parents of BA children and 95 parents of the control group children was performed. General QL was evaluated using PedsQL (Pediatric Quality of Life Inventory 4.0). Specific quality of life was evaluated using specific quality of life questionnaire for the children ill with bronchial asthma – PAQLQ (Pediatric Asthma Quality of Life Questionnaire). Statistical analysis of the data obtained was done by variance statistical methods using the standard program package of multivariate statistical analysis Statistica 6.0

Results. The study found the index of physical functioning to be 43.6 [31.3–62.5] points in the children with UC BA, 53.1 [37.5–68.2] points in those with PC BA, being significantly lower as compared to the control group children – 79.6 [56.0–100.0] points ($P < 0.001$). Physical functioning index in the children with UC BA was 1.7 times lower as compared to those with C BA. Comparison of the indices in those with PC BA – 53.1 [37.5–68.2] points and C BA – 74.1 [50.0–76.0] points, showed that physical activity in the children with PC BA was significantly lower as compared to those with C BA ($P < 0.001$). The analysis showed no significant difference between the answers of the children with asthma and their parents. No significant difference between the answers of healthy children's parents and the children themselves was revealed as well ($P > 0.05$). The cumulative index of QL was dependent on the level of BA control. It was 2.5 [1.4–3.6] points in the children with UC BA, being significantly lower as compared to those with PC BA – 3.9 [2.8–4.9] points, and C BA – 6.2 [5.6–6.8] points ($P < 0.001$); and in the children with PC BA this index was significantly lower as compared to those with C BA ($P < 0.01$).

Conclusions. Along with traditional methods of assessment of respiratory function and laboratory indices of inflammatory process activity in bronchial asthma, study of physical and mental health, social activity, general well-being and many other parameters of quality of life, as well as the influence of treatment on these parameters should be carried out.

Ключові слова:

бронхіальна астма,
якість життя, діти.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 2(43). –
С. 204–209

Вплив рівня контролю бронхіальної астми на показники якості життя в дітей

О. В. Герасимова, Т. Л. Процюк, Л. О. Процюк, Н. М. Суркова, Л. Д. Коцур, О. В. Кулешов

Мета роботи – вивчити показники загальної та специфічної якості життя (ЯЖ) в дітей шкільного віку залежно від рівня контролю БА.

Матеріали та методи. Під час дослідження вивчали параметри якості життя 189 хворих на БА від 6 до 17 років і 95 дітей контрольної групи. Паралельно здійснили опитування та аналіз показників якості життя 189 батьків дітей, які хворі на БА, та 95 батьків дітей контрольної групи. Оцінювання загальної ЯЖ виконали з використанням загально-го опитувальника оцінювання якості життя в педіатрії – PedsQL (Pediatric Quality of Life Inventory 4.0). Оцінювання специфічної якості життя проводили за допомогою специфічного опитувальника з якості життя дітей, які хворі на бронхіальну астму – PAQLQ (Pediatric Asthma Quality of Life Questionnaire). Статистичне опрацювання результатів виконали за допомогою методів варіаційної статистики з використанням стандартного пакета програм багатомірною варіаційно-статистичного аналізу Statistica 6.0.

Результати. Встановили, що показник фізичного функціонування в дітей із НК БА становив 43,6 [31,3–62,5] бала, в дітей із ЧК БА – 53,1 [37,5–68,2] бала та був вірогідно меншим порівняно з дітьми контрольної групи – 79,6 [56,0–100,0] бала ($p < 0,001$). Показник фізичного функціонування в дітей із НК БА був в 1,7 раза меншим порівняно з дітьми, у котрих була К БА, а порівнюючи цей показник у дітей із ЧК БА – 53,1 [37,5–68,2] бала та К БА – 74,1 [50,0–76,0] бала, встановили, що фізична активність у дітей із ЧК БА виявилася вірогідно нижчою порівняно з К БА ($p < 0,001$). Аналіз оцінювання показників загальної якості життя дітьми та їхніми батьками залежно від рівня контролю БА дав можливість встановити, що вірогідної різниці між відповідями дітей з астмою та їхніми батьками не було, а також не встановили вірогідної різниці між відповідями батьків здорових дітей і самими дітьми ($p > 0,05$). Сумарний показник ЯЖ мав особливості залежно від рівня контролю БА. Так, у дітей із НК БА він становив 2,5 [1,4–3,6] бала та був вірогідно меншим порівняно з дітьми з ЧК БА – 3,9 [2,8–4,9] бала та К БА – 6,2 [5,6–6,8] бала ($p < 0,001$), в дітей із ЧК БА цей показник був вірогідно меншим порівняно з дітьми з К БА ($p < 0,01$).

Висновки. Поряд із традиційними методами оцінювання функцій зовнішнього дихання та лабораторних показників активності запального процесу при бронхіальній астмі необхідно проводити обстеження фізичного та психічного здоров'я, соціальної активності, загального добробуту й багато інших показників якості життя, а також впливу лікування на них.

Влияние уровня контроля бронхиальной астмы на показатели качества жизни у детей

Е. В. Герасимова, Т. Л. Процюк, Л. А. Процюк, Н. М. Суркова, Л. Д. Коцур, А. В. Кулешов

Цель работы – изучить показатели общего и специфического качества жизни (КЖ) у детей школьного возраста в зависимости от уровня контроля БА.

Материалы и методы. В ходе исследования изучали параметры качества жизни 189 больных БА детей в возрасте от 6 до 17 лет и у 95 детей контрольной группы. Параллельно проводили опрос и анализ показателей качества жизни 189 родителей детей, больных БА, и 95 родителей детей контрольной группы. Оценку общего КЖ проводили с использованием общего опросника оценки качества жизни в педиатрии – PedsQL (Pediatric Quality of Life Inventory 4.0). Оценку специфического качества жизни проводили с помощью специфического опросника по качеству жизни детей, больных бронхиальной астмой – PAQLQ (Pediatric Asthma Quality of Life Questionnaire). Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью методов вариационной статистики с использованием стандартного пакета программ многомерного вариационно-статистического анализа Statistica 6.0.

Результаты. Установлено, что показатель физического функционирования у детей с НК БА составил 43,6 [31,3–62,5] балла, у детей с ЧК БА – 53,1 [37,5–68,2] балла и был достоверно меньшим по сравнению с детьми контрольной группы – 79,6 [56,0–100,0] балла ($p < 0,001$). Показатель физического функционирования у детей с НК БА был в 1,7 раза меньше по сравнению с детьми, у которых диагностирована К БА, а при сравнении данного показателя у детей с ЧК БА и К БА (53,1 [37,5–68,2] и 74,1 [50,0–76,0] балла соответственно), установлено, что физическая активность у детей с ЧК БА оказалась достоверно ниже по сравнению с К БА ($p < 0,001$). Анализ оценки показателей общего качества жизни детьми и их родителями в зависимости от уровня контроля БА позволил установить, что достоверной разницы между ответами детей с астмой и их родителями не было, а также не установлено достоверной разницы между ответами родителей здоровых детей и самими детьми ($p > 0,05$). Установлено, что суммарный показатель КЖ зависел от уровня контроля БА. Так, у детей с НК БА он был достоверно меньшим по сравнению с детьми с ЧК БА и К БА (2,5 [1,4–3,6] по сравнению с 3,9 [2,8–4,9] и 6,2 [5,6–6,8] балла соответственно, $p < 0,001$).

Выводы. Наряду с традиционными методами оценки функции внешнего дыхания и лабораторных показателей активности воспалительного процесса у больных БА необходимо проводить обследование физического и психического здоровья, социальной активности, общего благополучия и других показателей качества жизни, а также влияния лечения на эти показатели.

Ключевые слова:
бронхиальная
астма, качество
жизни, дети.

Патология. – 2018. –
Т. 15, № 2(43). –
С. 204–209

Topicality

Bronchial asthma (BA) is one of the most prevalent chronic diseases of the respiratory organs. In recent years the world scientists have been searching for ways to achieve and maintain BA control, to elaborate effective and safe therapy methods as well as to study the influence of therapy on the quality of life [1]. Every year the criteria of BA diagnostics and treatment are reviewed and improved, but many issues are still unsolved [2].

Chronic course of the disease, attacks of expiratory dyspnea, awakening at night, poor exercise capacity, necessity of constant availability of first aid drugs, limitations in occupation choice and social activity – all these factors greatly affect quality of life in the children with BA [3].

Over 30% of children suffering from BA experience communicative limitations and adaptation difficulties, and every third sick child considers himself different from the children of his age [4]. These characteristic features, typical of adolescence, can influence the attitude of the child to the disease and its treatment [5,6].

The impact of the disease extends to emotional, physical and social aspects of the patients' life. Associated depressive disorders greatly affect the quality of life (QL) of BA children, being indicative of great significance of psycho-emotional state in the children suffering from asthma [7].

Quality of life in BA patients is influenced much by the period of disease course. Exacerbation of BA considerably limits physical activity, enforces the importance of physical and emotional problems, reduces the vitality, influences the mental health, decreases social activity and worsens the patient's subjective perception of his

general state condition. In recent decade attention is being increasingly focused on the problem of quality of life in BA and its impact on general state of health [2,6–8]. The concept of BA therapy has been changed: improvement of quality of life has become its aim along with the relief of symptoms and effective disease control.

Objective

To study the indices of general and specific quality of life in schoolchildren, depending on the level of bronchial asthma control.

Materials and methods

Quality of life parameters of 189 in-patients with BA, aged 6–17 years, treated at Pulmonology Department of Vinnytsia Regional Children's Clinical Hospital and 95 controls were studied. Parallel questioning with subsequent analysis of quality of life indices in 189 parents of BA children and 95 parents of the control group children was performed. General QL was evaluated using PedsQL (Pediatric Quality of Life Inventory 4.0), developed by J. Varni in 1999, USA [9]. The questionnaire PedsQL consisted of 23 questions, united in the following scales: physical functioning (8 items), emotional functioning (5 items), social functioning (5 items), school functioning (5 items). The questionnaire included two forms: for the children and for the parents. Modules for the children and those for the parents were similar in contents but differed somewhat in the forms of questions. Total score was calculated by 100-point scale after recoding – the higher the score, the higher quality of life. Specific quality of life

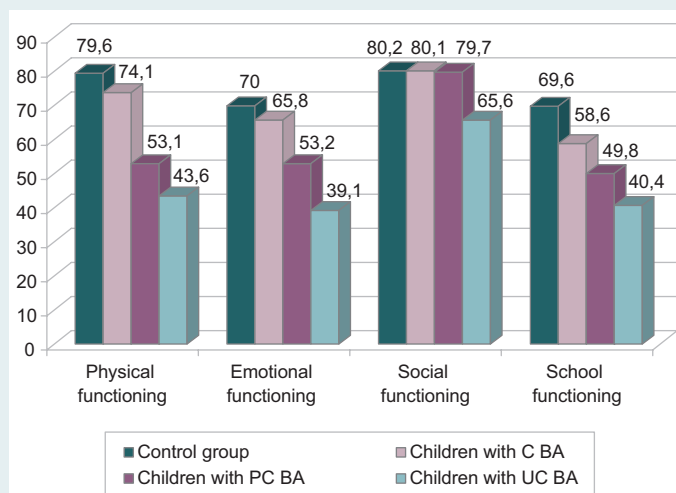


Fig. 1. Indicators of the general quality of life in children depending on the level of control of asthma (points).

was evaluated using specific quality of life questionnaire for the children ill with bronchial asthma – PAQLQ (Pediatric Asthma Quality of Life Questionnaire), developed by E. F. Juniper in 1996, UK [10]. 35 children with controlled bronchial asthma (C BA), 30 children with partially controlled (PC) BA, 124 children with uncontrolled (UC) BA were interviewed in the study, and three clinical groups identical by age and sex were formed. The questionnaire included 23 questions: 10 items on the patients' perception of their symptoms (attacks of asphyxia, dyspnea, cough, wheezing, chest tightness, labored expiration, sleep disorders, weakness), 8 items – on the emotional state, 5 items – on the physical activity. Total score was calculated by 7-point scale after recoding, the higher the score, the higher QL of children. Besides, cumulative index of specific QL was calculated.

The diagnosis was made in accordance with the criteria of unified clinical protocol of primary, secondary (specialized) medical diagnostics "Bronchial asthma in children", adopted by the Order of Ministry of Health of Ukraine № 868 of October 8, 2013, and based on the classification of BA in children, adopted by the XII Congress of Pediatricians (2010, Kyiv). The children were divided into groups according to BA control level, determined by asthma control test (ACT-test). Group 1 consisted of 124 patients ($65.60 \pm 3.45\%$) with uncontrolled course of the disease (UC BA). Group 2 consisted of 30 patients ($15.90 \pm 2.65\%$) with partially controlled BA (PC BA) and 35 patients ($18.50 \pm 2.82\%$) with controlled BA (C BA).

Statistical analysis of the data obtained was done by variance statistical methods using the standard program package of multivariate statistical analysis Statistica 6.0 № AXXR718B346705FA. The normal distribution was evaluated according to the Shapiro–Wilk test. Digital information of all clinical investigations was processed by variance statistical method calculating the mean value (M) and its error (m). The significance of difference between two means was calculated using Student's t-test (t), between two relative values – by Fisher angular transformation method (f). For all specific data,

the median (Me), lower and upper quartiles [LQ25–UQ75] were established. Two unrelated groups were compared using Mann–Whitney U-test. Two related samples were compared using Wilcoxon T-test. All P values of less than 0.05 were considered to indicate statistical significance. Correlation analysis with calculation of Spearman rank correlation (r) was used to establish the relationship between the studied indices.

Results and discussion

The study found the index of physical functioning to be 43.6 [31.3–62.5] points in the children with UC BA, 53.1 [37.5–68.2] points in those with PC BA, being significantly lower as compared to the control group children – 79.6 [56.0–100.0] points ($P < 0.001$) (Fig. 1).

Besides, physical functioning index in the children with UC BA was 1.7 times lower as compared to those with C BA. Comparison of the indices in those with PC BA – 53.1 [37.5–68.2] points and C BA – 74.1 [50.0–76.0] points, showed that physical activity in the children with PC BA was significantly lower as compared to those with C BA ($P < 0.001$), while no statistical difference between physical functioning index in the children with PC BA and UC BA was found ($P > 0.05$).

It should be noted that the study revealed negative correlation relationship between uncontrolled course of BA and physical functioning index ($r = -0.41$; $P < 0.001$). Thus, the more uncontrolled course of BA, the lower was physical activity of sick children, a finding that is similar to results published from previous studies conducted in Serbia [11] and Iran [12].

The indices of emotional functioning in the patients with UC BA, PC BA and C BA were 39.1 [20.0–50.0], 53.2 [46.0–70.0] and 65.8 [40.0–80.0] points, respectively, being significantly lower as compared to the control group ($P < 0.001$), which was indicative of considerable worsening of the patients' emotional state in the absence of control over the disease symptoms. Significant difference in functioning index was revealed in the children with UC BA – 39.1 [20.0–50.0] points, and in those with C BA – 65.8 [40.0–80.0] points ($P < 0.01$).

Similarly, Indian study concluded that mild to moderate QOL impairment occurred in activity domain (mean score 5.17) and emotional domain (mean score 5.00) [13].

Statistical analysis found negative correlation relationships both between uncontrolled course of BA and emotional functioning index ($r = -0.30$; $P < 0.001$), and between extreme cases seeking for emergency medical aid and this index value ($r = -0.42$; $P < 0.001$). Thus, the more visits requiring emergency medical aid, the worse was the emotional state of BA children.

Social functioning indices were evaluated, and it was found to be 65.6 [30.0–90.0] points in the children with UC BA, being significantly lower as compared to actually healthy children – 80.2 [68.0–100.0] points ($P < 0.05$), indicating the presence of social adaptation problems in the children with UC BA. No significant difference in this index in other groups of comparison was found ($P > 0.05$).

Negative correlation relationship between the frequency of hospitalization and social functioning index was established in the study ($r = -0.22$; $P < 0.001$). In this

Table 1. Indicators of the general quality of life in children depending on age (points), Me [LQ25-UQ75]

Data general quality of life	Control group		Children with C BA		Children with PC BA		Children with UC BA	
	6–10 years	11–17 years	6–10 years	11–17 years	6–10 years	11–17 years	6–10 years	11–17 years
PF	79.6 [60.5–100.0]	81.5 [56.2–96.8]	68.7 [53.0–75.0]	76.1 [50.0–75.0]	59.3 [50.1–68.7]	52.4 [50.1–68.7] *	43.7 [31.2–62.5]	44.6 [34.3–53.2]
EF	70.1 [60.0–100.0]	70.0 [60.0–90.0]	65.5 [58.0–75.0]	63.2 [50.0–75.0]	57.8 [50.0–70.0]	51.8 [46.8–62.6] *	36.4 [25.0–50.0]	38.1 [20.0–50.0]
Soc F	85.0 [68.0–100.0]	78.8 [68.0–100.0]	76.4 [65.0–100.0]	78.5 [65.0–100.0]	76.3 [70.0–85.0]	78.0 [68.0–85.0]	66.4 [30.0–85.0]	64.9 [28.0–90.0]
Sch F	71.2 [65.0–95.0]	69.0 [65.0–100.0]	63.0 [50.0–80.0]	56.1 [50.0–80.0]	56.8 [45.0–70.0]	50.0 [45.0–70.0] *	43.3 [20.0–5.0]	13.0 [19.1–55.0]

*: $P < 0.05$ – significance of difference of indices compared to the age group 6–10 years; **PF**: Physical functioning; **EF**: Emotional functioning; **Soc F**: Social functioning; **Sch F**: School functioning.

Table 2. Indices of the specific quality of life in children depending on the level of control of asthma (points), Me [LQ25-UQ75]

Indices specific quality of life	Children with C BA (n = 35)	Children with PC BA (n = 30)	Children with UC BA (n = 124)
Symptoms	5.7 [4.2–6.3]	3.6 [2.3–4.6]*	2.1 [1.1–4.2]**
Physical activity	6.9 [5.8–6.7]	4.3 [3.6–5.4]*	2.2 [1.0–3.8]**
Emotional state	6.4 [5.9–6.9]	4.2 [3.4–5.2]*	3.1 [2.0–3.5]**
Cumulative index of specific QL	6.2 [5.6–6.8]	3.9 [2.8–4.9]*	2.5 [1.4–3.6]**

*: significance of difference indices compared to C BA $P < 0.001$; *: significance of difference indices compared to PC BA $P < 0.001$.

case, the higher hospitalization frequency of the children, the lower was their social adaptation.

The index of school functioning was 40.4 [25.0–75.0], 49.8 [45.0–70.0] and 58.7 ± 1.20 points in the children with UC BA, PC BA and C BA, respectively, being significantly lower as compared to the controls – 69.6 [68.0–100.0] points ($P < 0.001$). There was significant difference between school functioning index in the children with C BA – 58.7 ± 1.20 and UC BA ($P < 0.05$), while it was similar in the patients with UC BA and PC BA ($P > 0.05$).

Negative correlation relationship between uncontrolled course of BA and school functioning index ($r = -0.32$; $P < 0.001$) and frequency of hospitalizations ($r = -0.22$; $P < 0.001$) was found. Thus, the more uncontrolled course of BA and the higher hospitalization frequency, the lower was school functioning index.

Dean B.B., Calimlim B.M. et al. [14] concluded that 70 % children with uncontrolled asthma versus 45% with controlled asthma missed school, with a median of 6 days versus 4 days missed respectively (during the study period).

The indices of general QL in junior and senior schoolchildren were evaluated and compared in the study. Physical functioning index in the children aged 11–17 with PC BA was 52.4 [50.1–68.7] points, emotional functioning index – 51.8 [46.8–62.6] points, and school functioning index – 50.0 [45.0–70.0] points, being significantly lower as compared to the children of 6–10 years with PC BA – 59.3 [50.1–68.7] points, 57.8 [50.0–70.0] points, 56.8 [45.0–70.0] points, respectively ($P < 0.05$). As to the social functional index, it was similar in both age groups of children with PC BA (Table 1).

Thus, senior schoolchildren with PC BA had lower physical activity, worse emotional state and more problems at school as compared to junior schoolchildren with PC BA. No significant difference in indices of general QL in junior and senior schoolchildren with UC BA and C BA was found ($P > 0.05$). Indices of physical activity, emotional state, social adaptation and study at school were considerably decreased in both age categories of

children with UC BA, this being caused by the absence of control over the symptoms of the disease.

Chromá J, Slaný J. concluded that the worst quality of life was found among children in the age group of 5–7 years. The mean quality of life of asthmatic children is 74.41, a statistically significant difference between the physical (78.81) and psychosocial (72.06) dimensions of health. No statistically significant difference in the quality of life was found between the asthmatic and healthy children [15].

Significant differences in estimation of QL of the sick child and his close relatives are presented in the literature [15–17]. In our study, perception of general QL indices by the children with various levels of BA control and their parents was analyzed. The analysis showed no significant difference between the answers of the children with asthma and their parents. No significant difference between the answers of healthy children's parents and the children themselves was revealed as well ($P > 0.05$). Thus, the parents of BA children with various levels of control, as well as their sick children, had similar perception of quality of life indices.

After the detailed study of indices of general QL in BA children with various level of control and their comparison with the control group, our aim was to analyze the indices of specific QL in BA children and to establish their characteristic features, depending on the level of BA control. Along with the evaluation of limitations in physical activity and emotional state in BA children, the impact of disease symptoms (attacks of asphyxia, dyspnea, cough, wheezing, sensation of chest tightness, labored expiration, sleep disorders, weakness) on the QL of those children was estimated, and cumulative index of specific QL was determined. The index “symptoms of disease” was found to be 2.1 [1.1–4.2] and 3.6 [2.3–4.6] points in children with UC BA and PC BA, respectively, being significantly lower as compared to the patients with C BA – 5.7 [4.2–6.3] points ($P < 0.001$). This index was also significantly lower in the children with UC BA as compared to those with PC BA (Table 2).

The analysis of physical activity limitations in BA children of various levels of control demonstrated that this index was 2.2 [1.0–3.8] and 4.3 [3.6–5.4] points in the patients with UC BA and PC BA, being significantly lower as compared to those with C BA – 6.9 [5.8–6.7] points ($P < 0.001$). Besides, physical activity in the children with UC BA was limited to significantly greater level than in those with PC BA ($P < 0.001$).

The emotional state index in the children with UC BA was 3.1 [2.0–3.5] points, being significantly lower as compared to those with PC BA – 4.2 [3.4–5.2] points and C BA – 6.4 [5.9–6.9] points ($P < 0.001$); and in children with PC BA this index was also lower than in the patients with C BA ($P < 0.001$).

Matsunaga N.Y. et al. [17] concluded that the CA and the PCA groups, when compared with the NCA group, showed higher values for the overall PAQLQ score and all PAQLQ domains (activity limitation, symptoms, and emotional function; $P < 0.001$ for all). Quality of life appears to be directly related to asthma control and asthma severity in children and adolescents, being better when asthma is well controlled and asthma severity is lower.

The cumulative index of QL was dependent on the level of BA control. It was 2.5 [1.4–3.6] points in children with UC BA, being significantly lower as compared to those with PC BA – 3.9 [2.8–4.9] points, and C BA – 6.2 [5.6–6.8] points ($P < 0.001$); and in children with PC BA this index was significantly lower as compared to those with C BA ($P < 0.01$).

While, the data obtained by M. S. Al-Gewely et al [5] showed the overall PAQLQ score ranged between 2.22 and 6.61 with a mean $\pm$ SD of 4.08 ± 1.0 . Uncontrolled asthma was associated with the lowest QoL points ($P \leq 0.01$). Users of systemic steroids had significantly lower overall PAQLQ score, score of symptoms, score of emotional function than non-users ($P < 0.05$). Difficulty in obtaining the drugs significantly adversely affects the patient QoL points apart from that of activity limitation ($P < 0.05$).

Assessment of indices of specific QL in children with BA made it possible to carry out the patients' state monitoring in the course of treatment, to determine the impact of treatment on various components of QL as well as to compare the efficacy of different therapy methods in the children with UC BA.

Conclusions

The study of QL in sick children is one of major directions in modern medicine, being an integral part of complex analysis of novel diagnostic methods, treatment and prevention of bronchial asthma.

The indices of physical, emotional, social and school functioning are significantly lower in the children with uncontrolled course of bronchial asthma.

Senior schoolchildren with PC BA have more problems with physical activity, emotional state and studies at school, as compared to junior schoolchildren with PC BA, while considerable decrease in indices of physical activity, emotional state, social adaptation and study at school in both age categories of children is observed, this being caused by the absence of control over the symptoms of the disease.

The parents of BA children with various levels of control, as well as their sick children, have similar perception of indices of general quality of life.

The perspectives of further scientific research in this direction is to study the best ways of rehabilitation in patients with BA.

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

Information about authors:

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

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

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

Surkova N. M., Allergist, Vinnytsia Regional Children's Clinical Hospital, Ukraine.

Kotsur L. D., MD, PhD, Associate Professor Department of Propedeutics of Pediatric Diseases with Patient Care, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

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

Відомості про авторів:

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

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

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

Суркова Н. М., лікар-алерголог, Вінницька обласна дитяча клінічна лікарня, Україна.

Кочур Л. Д., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики дитячих захворювань з доглядом за хворими дітьми, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

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

Сведения об авторах:

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

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

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

Суркова Н. М., врач-аллерголог, Винницкая областная детская клиническая больница, Украина.

Кочур Л. Д., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики детских заболеваний с уходом за больными детьми, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Кулешов А. В., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики детских заболеваний с уходом за больными детьми, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Надійшла до редакції / Received: 18.01.2018

Після доопрацювання / Revised: 23.03.2018

Прийнято до друку / Accepted: 26.03.2018

References

- [1] Gopal, S., & Rai, A. (2016) Parental Stress and Quality of life in Parents of Children with Bronchial Asthma. *IJHSR*, 6(6), 293–300.
- [2] Protsiuk, T. L. (2013) Yakist zhyttia khvorykh na bronkhialnu astmu ditei ta chynnyky, shcho vplyvaiut na nei [The quality of life of children with bronchial asthma and the factors affecting on it]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 3(13), 66–68. [in Ukrainian].
- [3] Wander, A., Bhargava, S., Pooni, P. A., Kakkar, S. & Arora, K. (2017) Quality of life in children with bronchial asthma. *J Pediatr Res.*, 4(06), 382–387.
- [4] Elshazly, H. M., Mahalawy, I. El., Gabr, H. M., Abd El Naby, S. A., & Elzoghby, E. E. (2015) Quality of life among asthmatic children attending the Outpatient Clinic in Menoufia University Hospital. *Menoufia Med J.*, 28, 442–6.
- [5] Al-Gewely, M. S., El-Hosseiny, M., Abou Elezz, N. F., El-Ghoneimy, D. H. & Hassan, A. M. (2013) Health-related quality of life in childhood bronchial asthma. *Egypt J. Pediatr. Allergy Immunol.*, 11(2), 83–93.
- [6] Lusk, A. T., Chipps, B. E., Rasouliyan, L., Miller, D. P., Haselkorn, T., & Dorenbaum, A. (2014). Impact of asthma exacerbations and asthma triggers on asthma-related quality of life in patients with severe or difficult-to-treat asthma. *J. Allergy Clin Immunol Pract.*, 2(5), 544–52. e1-2. doi: 10.1016/j.jaip.2014.02.011.
- [7] Heethal, J. P., Khine, K. M., Kenneth, W. C.F., Kum, Y. Z., Irigo, C. I., Nurul, S., & Sanjeev, S. (2014). A Survey on the quality of life in patients with bronchial asthma in an outpatient clinic in Malaysia. *Br. J. Med. Med. Res.*, 4(5), 1187–1194. doi: 10.9734/BJMMR/2014/5985.
- [8] Klymenko, V. A., & Karpushenko, Yu. V. (2014) Yakist zhyttia ditei z alerichnymi zakhvoriuvanniamy [The quality of life of children with allergic diseases]. *Asthma ta alergia*, 3, 27–29. [in Ukrainian].
- [9] Varni, J. W., Burwinkle, T. M., Seid, M., & Skarr, D. (2003). The PedsQL™ 4.0 as a pediatric population health measure: Feasibility, reliability, and validity. *Ambul. Pediatrics*, 3(6), 329–341.
- [10] Juniper, E. F., Guyatt, G. H., Ferrie, D. H., Ferrie, P. J., Griffith, L. E., & Townsed, M. (1996). Measuring quality of life in the parents of children with asthma. *Quality of Life Research*, 5(1), 27–34.
- [11] Cerović, S., Zivković, Z., Milenković, B., Stojanović, J. J., Bajec, A. O., Vukašinović, Z., & Veković, V. (2009). The Serbian version of the pediatric asthma quality of life questionnaire in daily practice. *J. Asthma*, 46(9), 936–9. doi: 10.3109/02770900903265812.
- [12] Zandieh, F., Moin, M. & Movahedi, M. (2006). Assessment of quality of life in Iranian asthmatic children, young adults and their caregivers. *Iran J. Allergy Asthma Immunol*, 5(2), 79–83. doi: 05.01/ijaa.7983.
- [13] Nair, S., Nair, S. & Sundaram, K. R. (2014) A prospective study to assess the quality of life in children with asthma using the pediatric asthma quality of life questionnaire. *Indian J. Allergy Asthma Immunol.*, 28(1), 13–8.
- [14] Dean, B. B., Calimlim, B. M., Kindermann, S. L., Khandker, R. K., & Tinkelman, D. (2009) The impact of uncontrolled asthma on absenteeism and health-related quality of life. *J. Asthma*, 46(9), 861–6. doi: 10.3109/02770900903184237.
- [15] Chromá, J., & Slaný, J. (2011) Quality of life of children with bronchial asthma disease. *Cas. Lek. Cesk.*, 150(12), 660–4.
- [16] Trzcieńska-Green, A., Bargiel-Matusiewicz, K., Wilczyńska, A., & Omar, H. A. Quality of Life of Parents of Children with Asthma (2015). *International Journal of Child and Adolescent Health*, 8(3), 351–355.
- [17] Matsunaga, N. Y., Gonçalves de Oliveira Ribeiro, M. A., Breda Saad, I. A. Morcillo, A. M., Ribeiro, J. D. & Dalbo Contrera Toro, A. (2015) Evaluation of quality of life according to asthma control and asthma severity in children and adolescents. *J. Bras. pneumol.*, 41(6), 206–2011. doi: 10.1590/S1806-37562015000000186.

Evaluation of quality of life of patients with pollen allergy before and after sublingual immunotherapy course

S. O. Zubchenko¹, S. R. Maruniak²

¹Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine, ²Shupyk National Medical Academy of Post-Graduate Education, Kyiv, Ukraine

Key words:

pollen allergy,
allergic rhinitis,
quality of life,
sublingual allergy
immunotherapy.

Pathologia

2018; 15 (2), 210–214

DOI:

10.14739/2310-1237.
2018.2.141395

E-mail:

svitlana_zu@meta.ua

In Ukraine, there are over 1.5 thousand types of weeds, which may provoke the development of allergic reactions. Based on our observation, most commonly sensitization to *Artemisia* and less often to *Ambrosia* is recorded in patients of Lviv region. The presence of clinical symptoms significantly deteriorates life quality of patients with pollen allergy and requires conduction of proper allergy immunotherapy.

Aim. To analyze QOL of patients with allergy to weed pollen before and after conduction of sublingual immunotherapy based on a specialized questionnaire MiniRQLQ.

Materials and methods. Totally, 485 individuals, 24.0 ± 4.5 years old were examined. Clinical diagnosis of AR was made according to ARIA criteria (2014). SPT to standard inhaled allergens (Diater-Laboratories, Spain), total serum and specific immunoglobulins IgE, IFA, type-specific components of allergens, immunofluorescent method immunoCAP ("Phadia AB", Sweden) were determined. Analysis of life quality was performed based on questionnaire MiniMRQLQ.

Results. Among patients of Lviv region with pollen allergy, the most commonly detected positive SPT were to *Artemisia* – in 62.3 %, less to *Ambrosia* – 13.9 % of individuals, combined sensitization – 23.8 % of patients. Among them, genuine allergy to *Artemisia* was confirmed in 88.1 %, to *Ambrosia* – 88.2 % of individuals, co-sensitization – in 21 patients. According to the results of molecular investigations, SLIT was performed for 69.6 % of patients (the 1st group), 30.4 % of individuals were treated symptomatically (the 2nd group). Based on questionnaire MiniRQLQ, it was revealed that QOL indices in patients with pollen allergy, who underwent SLIT, were reliably lower after the first and the second years of treatment compared to the indices before SLIT. Reliable changes were not detected in patients of the second group.

Conclusions. Improvement of QOL indices after a course of SLIT indicated the high efficacy of this treatment method in patients with pollen allergy.

Ключові слова:

пилкова алергія,
алергічний риніт,
якість життя,
сублінгвальна
алергоімунотерапія.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 2(43). –
С. 210–214

Оцінювання якості життя пацієнтів із пилковою алергією до та після курсу сублінгвальної імунотерапії

С. О. Зубченко, С. Р. Маруняк

В Україні налічується понад 1,5 тис. видів бур'янистих рослин, які можуть призвести до розвитку алергічних реакцій. За нашими спостереженнями, в пацієнтів Львівської області найчастіше виявляється сенсibiлізація до полину та меншою мірою до амброзії. Наявність клінічної симптоматики суттєво погіршує якість життя пацієнтів із пилковою алергією та потребує проведення адекватної алергоімунотерапії.

Мета роботи – проаналізувати QOL пацієнтів з алергією до пилку бур'янів до та після проведення сублінгвальної імунотерапії на підставі спеціалізованої анкети MiniRQLQ.

Матеріали та методи. Обстежили 485 осіб віком $24,0 \pm 4,5$ року. Клінічний діагноз АР визначений відповідно до критеріїв АRIA (2014). Визначали SPT до стандартних інгаляційних алергенів (Diater-Laboratories, Іспанія), загальний сироватковий та специфічні імуноглобуліни IgE, ІФА, видоспецифічні компоненти алергенів, використали імунофлуоресцентний метод ImmunoCAP («Phadia AB», Швеція). Аналіз якості життя виконали за анкетой MiniMRQLQ.

Результати. Серед пацієнтів Львівської області з пилковою алергією найчастіше визначені позитивні SPT до полину – у 62,3 %, менше до амброзії – 13,9 %, комбінована сенсibiлізація – 23,8 % осіб. З них підтверджена істинна алергія до полину у 88,1 %, до амброзії – у 88,2 % осіб, ко-сенсibiлізація у 21 особи. Відповідно до результатів молекулярних досліджень, SLIT проводили 69,6 % пацієнтам (1 група), 30,4 % осіб отримували симптоматичну терапію (2 група). На підставі опитувальника MiniRQLQ визначили, що показники QOL у пацієнтів із пилковою алергією, що отримали SLIT були вірогідно нижчими після першого та другого років лікування порівняно з показниками до SLIT. У пацієнтів 2 групи вірогідних змін не виявили.

Висновки. Компонентні дослідження дають можливість діагностувати наявність істинної алергії до пилку бур'янів і на їх підставі призначити ефективну АІТ. У нашому дослідженні істинна алергія підтверджена у 88,1 % (полін) та у 88,2 % (амброзія) пацієнтів. Поліпшення показників QOL після курсу SLIT вказувало на високу ефективність цього методу терапії в пацієнтів із пилковою алергією.

Ключевые слова:

пыльцевая алер-
гия, аллергический
ринит, качество
жизни, сублингваль-
ная алерго-
иммунотерапия.

Оценка качества жизни пациентов с пыльцевой аллергией до и после курса сублингвальной иммунотерапии

С. А. Зубченко, С. Р. Маруняк

В Украине насчитывается более 1,5 тыс. видов сорных растений, которые воздействуют развитию аллергических реакций. По нашим наблюдениям, у пациентов Львовской области чаще всего встречается сенсibiлизация к полыни

и реже к амброзии. Наличие клинической симптоматики значительно ухудшает качество жизни пациентов с аллергией на пыльцу и требует проведения адекватной аллергоиммунотерапии.

Цель работы – проанализировать QOL пациентов с аллергией к пыльце сорняков до и после проведения сублингвальной иммунотерапии на основании специализированной анкеты MiniRQLQ.

Материалы и методы. Обследовано 485 человек в возрасте $24,0 \pm 4,5$ года. Клинический диагноз AP определен в соответствии с критериями ARIA (2014). Определяли SPT к стандартным ингаляционным аллергенам (Diater-Laboratories, Испания), общий сывороточный и специфические иммуноглобулины IgE, ИФА, использовали видоспецифические компоненты аллергенов, иммунофлуоресцентный метод ImmunoCAP («Phadia AB», Швеция). Анализ качества жизни проводили по анкете MiniMRQLQ.

Результаты. Среди пациентов Львовской области с аллергией на пыльцу чаще выявлены положительные SPT к полыни – в 62,3 %, реже к амброзии – 13,9 %, комбинированная сенсibilизация – 23,8 % лиц. Из них подтверждена истинная аллергия к полыни в 88,1 %, к амброзии – 88,2 % лиц, ко-сенсibilизация у 21 пациента. Согласно результатам молекулярных исследований, SLIT проводили 69,6 % пациентам (1 группа), 30,4 % получали симптоматическую терапию (2 группа). На основании опросника MiniRQLQ определили, что показатели QOL у пациентов с пыльцевой аллергией, которые проходили SLIT, были достоверно ниже после первого и второго годов лечения по сравнению с показателями до SLIT. У пациентов 2 группы достоверных изменений не выявлено.

Выводы. Компонентные исследования дают возможность диагностировать наличие истинной аллергии к пыльце сорняков и на их основании назначить эффективную АИТ. В нашем исследовании истинная аллергия подтверждена у 88,1 % (полынь) и 88,2 % (амброзия) пациентов. Улучшение показателей QOL после курса SLIT указывало на высокую эффективность данного метода терапии у пациентов с пыльцевой аллергией.

Introduction

Allergy to weed pollen is quite common worldwide including Ukraine. It is known that over 1.5 thousand types of weed plants grow on the territory of our country, which may provoke the development of allergic reactions. The most common clinically significant weed allergens worldwide are present in the pollen of Artemisia, Ambrosia, orach, plantain, and saltwort [1].

The main clinical manifestations of allergy to weed pollen are allergic rhinitis/rhinosinusitis (AR), conjunctivitis and bronchial asthma (BA). Thus, symptoms vary in patients, and in most cases, there are rhinorrhea, sneezing, itching, conjunctivitis, cough, breathlessness, etc [2]. This condition is considerably deteriorated due to a person's quality of life (QOL) and often results in temporary disability.

The basic method of treatment of sensitized patients with clinical manifestations of allergy to weed pollen is allergy immunotherapy (AIT). Currently, there are many evidence investigations concerning AIT efficacy in patients with pollen allergy. However, the majority of them focus only on the analysis of AIT influence on reduction of clinical manifestations or comparison of efficacy of different AIT methods (sublingual, subcutaneous, etc.) [3].

Nowadays there is a need in paying more attention to investigations concerning estimation of QOL of patients with allergic pathology, especially after treatment. Undoubtedly, implementation of the notion "QOL" into somatic medicine practice can be considered a significant progress compared with the traditional tendency to focusing solely on the disease and its symptoms. Besides, medical aspects of QOL define not only patients' health condition, but also the condition of social, material, intellectual and mental well-being, etc. [4].

The aim

The aim of our research was to analyze QOL of patients with allergy to weed pollen before and after conduction of

sublingual immunotherapy (SLIT) based on specialized questionnaire MiniRQLQ.

Materials and methods

This cohort prospective investigation was performed at the department of clinical immunology and allergology of Danylo Halytsky Lviv National Medical University and in Lviv regional medical center of clinical immunology and allergology, Ukraine, with the participation of Medical Intern of Shupyk National Medical Academy of Post-Graduate Education. The research had been lasting for three years starting from March 2014.

In the given period, 485 individuals aged from 3 to 67 years were examined (average age 24.0 ± 4.5), 291 males (60.0 %), 194 females (40.0 %). The criteria for inclusion were age from 18 years, clinical diagnosis of AR made according to ARIA criteria (2014), and sensitization to at least one weed extract (Ambrosia and/or Artemisia (according to the data of skin prick tests (SPT)). The criteria for exclusion were combination of AR and BA, age under 18, adults who had received AIT previously, the presence of mental, lingual and cognitive disorders. Thus, 122 individuals were selected for further investigation.

At the time of selection, patients' allergy symptoms were evaluated and analysis of case history was done. Total laboratory, instrumental and specific immunological investigations were performed, in particular, SPT to standard inhaled allergens (Diater-Laboratories, Spain): Der. pteronyssinus, Der. farina, a mixture of spring trees, a mixture of grass, Artemisia, Ambrosia, Alternaria alternata, cats and dogs [5]. Determination of total serum and specific immunoglobulins IgE (sIgE) class was performed with enzyme immunoassay using test-systems Euro-immun. For detection of the levels of specific IgE class antibodies, ImmunoCAP (Thermo Scientific, Uppsala, Sweden). Three marker allergens of genuine sensitization to pollen of Artemisia (nArt v 1, rArt v 3) and Ambrosia (rAmb a 1) were determined. Levels of sIgE >0.35 KU/l

were considered positive. Totally, 71 individuals with AR received a two-year course of immunotherapy using sublingual allergens of Artemisia and Ambrosia Diater, Spain. Patients of the second group received symptomatic treatment in the form of non-sedative antihistamines (tablets, eye drops, nasal sprays etc.). Monitoring of QOL was conducted before therapy (SLIT or symptomatic) and after the first and the second years of treatment, during visits for consultations. More data are given in Table 1. The study was conducted in accordance with the seventh revision of the principles of the Declaration of Helsinki on Human Rights (2013). Information consent was received from the patients.

Table 1. The characteristics of the investigated groups of patients

Indicator	Results
Number of patients, n	122
Sex, n (%)	
Male	74 (60.7 %)
Female	48 (39.3 %)
Age (M±m), year	29.30 ± 2.95
Clinical symptoms, n (%)	
Rhinitis	118 (96.7 %)
Rhinoconjunctivitis	63 (51.6 %)
Allergic asthma	9 (7.4 %)
Wheezing	8 (6.6 %)
Upper palate itching	13 (10.7 %)
Cough	70 (57.4 %)
Sneezing	100 (81.9 %)
The results of SPT (average diameter of papule, mm):	
Artemisia	4.7 ± 2.7
Ambrosia	11.2 ± 3.4
Number of patients with polyvalent sensitization, n (%) – according to the data of SPT	112 (91.8 %)
Monosensitized (%)	10 (8.2 %)
Ambrosia	3 (2.5 %)
Artemisia	7 (5.7 %)

Analysis QOL

Analysis of life quality was conducted based on validated questionnaire MiniMRQLQ. The MiniRQLQ has 14 items in five domains (activity limitation [n = 3], practical problems [n = 2], nose symptoms [n = 3], eye symptoms [n = 3] and other symptoms [n = 3]). The questionnaire is in a self-administered format and is completed by patients without an interviewer's assistance. Patients are asked to consider how they have been and to respond to each question on a seven-point scale (0 = not troubled, 1 = hardly troubled at all, 2 = somewhat troubled, 3 = moderately troubled, 4 = quite a bit troubled, 5 = very troubled, 6 = extremely troubled).

The statistical processing of the obtained results was made using freeware Libre Office calc 6.1 for Ubuntu 16.04 LTS. We applied the Wilcoxon (sum of the signed ranks) criterion to define the probability of changes in patients' life quality after the 1st and the 2nd years of treatment inside the groups. We applied the Mann–Whitney U-test to define the probability of changes in patients' life quality after the 2nd year of treatment between the 1st and the 2nd groups.

Results

Among 472 patients with pollen allergy, positive SPT to weeds were detected in 122 (25.8 %) individuals. Among them, monosensitization to Artemisia was in 7 (5.7 %) persons, monosensitization to Ambrosia – in 3 (2.5 %) individuals. As predicted, polysensitization was observed in 112 (91.8 %) patients. Among polysensitized individuals, positive SPT to Artemisia were detected in 69 (61.6 %), to Ambrosia – in 14 (12.5 %) patients, combined sensitization to two types of weeds was found in 29 (25.9 %) patients. Thus, sensitization to Artemisia was observed in 76 (62.3%) individuals, to Ambrosia – in 17 (13.9 %), co-sensitization – in 29 (23.8 %) persons.

Therefore, to detect genuine sensitization to Artemisia and Ambrosia for selection of a correct treatment tactics, we offered patients with mono- and polysensitization to perform allergen-component analysis. Among 76 patients with positive SPT to Artemisia, the presence of genuine

Table 2. The estimation of results of patients' life quality with SLIT (group 1) and symptomatic therapy (group 2) before the treatment and in dynamics (the 1st and the 2nd years), Me (Q₂₅; Q₇₅)

Domains	1 st group, n = 71					2 nd group, n = 31					U**, p
	Before the SLIT	In one year	W*, p in compare with before the SLIT	In two years	W*, p in compare with before the SLIT	Before the symptomatic treatment	In one year	W*, p in compare with before the treatment	In two years	W*, p in compare with before the treatment	
Overall	4 (3;4.5)	2 (2;3)	10, P < 0.01	1 (1;2)	0, P < 0.01	4 (3;4.5)	3 (3;4)	21, P < 0.01	3 (2;3)	21, P < 0.01	1956, P < 0.05
Activities	4 (3;4)	2 (2;3)	90, P < 0.01	1 (1;2)	1, P < 0.01	3 (3;4)	3 (2;3)	88.5, P < 0.01	2 (2;2.5)	28, P < 0.01	1737, P < 0.05
Practical problems	4 (3;5)	3 (2;3)	28, P < 0.01	1 (1;2)	0, P < 0.01	4 (4;4)	3 (3;3)	24.5, P < 0.01	3 (2;3)	15, P < 0.01	1909.5, P < 0.05
Nose symptoms	4 (3;4)	2 (2;3)	15, P < 0.01	1 (1;2)	0, P < 0.01	4 (3;4)	3 (3;4)	91, P < 0.01	3 (2;4)	91, P < 0.01	2066, P < 0.05
Eye symptoms	3 (3;4)	2 (2;2)	66, P < 0.01	1 (1;1.5)	3, P < 0.01	3 (2.5;4)	3 (2;3)	153, P < 0.05	2 (2;3)	111.5, P < 0.01	1926.5, P < 0.05
Other symptoms	3 (2;3)	2 (2;2)	153, P < 0.01	1 (1;1)	3, P < 0.01	3 (2;3)	2 (2;2.5)	45, P < 0.01	2 (1.5;2.5)	61, P < 0.01	1784.5, P < 0.05

*W: Wilcoxon sum of the signed ranks; P: Probability value; **U: Mann–Whitney U test results for group 1 after 2nd year of treatment in compare with group 2.

allergy was confirmed in 67 (88.1%) individuals. Among them, two major molecules of *Artemisia* – Art v 1 and Art v 3 were detected in three patients. Out of 17 patients with positive SPT to *Ambrosia*, genuine allergy was confirmed in 15 (88.2 %) individuals. Meanwhile, co-sensitization to *Ambrosia* and *Artemisia* was observed in 21 persons. According to the results of molecular investigation, conduction of immunotherapy is recommended for 102 patients with detected major allergens of these weeds. However, SLIT was performed for only in 71 (69.6 %) patients who constituted the first group of investigation. A control group of investigation involved 31 (30.4 %) individuals, who, for different reasons, and, first of all, due to financial problems, refused SLIT and were treated only symptomatically.

Using validated mini-questionnaire MiniRQLQ for patients in both groups, QOL estimation was performed before treatment and after the first and the second years of SLIT (the 1st group) and symptomatic treatment (the 2nd group). Data of analysis are given in *Table 2*.

The reliable decrease of all indices was established in patients of both groups following SLIT after the first and the second years of treatment ($P < 0.01$), except eye symptoms for the 2nd group after the first year of treatment ($P < 0.05$). The reliable decrease of experienced allergy symptoms ($P < 0.05$) was also estimated in patients after the second year of SLIT in compare with the control group with symptomatic treatment.

Discussion

Currently, to specify QOL in patients with rhino-conjunctivitis, two basic questionnaires are used: RQLQ (rhino-conjunctivitis quality of life questionnaire) and Mini RQLQ (mini-rhino-conjunctivitis quality of life questionnaire). Usually, MiniRQLQ is used in clinical investigations, since it is more convenient as it contains fewer questions compared to RQLQ, however, it is not less valid than the latter. In particular, in Indian investigation conducted in Mumbai, QOL of patients with atopic dermatitis (AD) was studied, using MiniRQLQ. The results showed that patients with AD most often experienced symptoms, associated with rhinitis; Emotion-associated and Role limitation items were moderately revealed, while eye related, Physical functioning, Social functioning, Sleep-related & Other Symptoms items were in the low range [6].

In our examination of patients with allergy to weed pollen based on MiniRQLQ questionnaire, we observed positive changes of QOL indices, indicating the efficacy of SLIT compared with symptomatic therapy. A reliable reduction of indices was observed in patients of the first group both after the first and the second year of SLIT ($P < 0.01$). The majority of patients in this group noted a significant alleviation of physical and mental condition, since reduction of clinical symptoms in pollination season allowed them to drive a car for a long time, join sport groups, carry out everyday duties actively etc. There was tendency to improvement of seasonal clinical symptoms only in four persons of the first group among polysensitized individuals. This fact is due to exacerbation of symptoms caused by the influence of other allergens. Besides, several patients in SLIT period had frequent respiratory

viral diseases, and thus, decreased immune activity and temporary cessations of SLIT. Further, 68 patients agreed to continue SLIT, and three patients refused to proceed with the treatment due to personal causes.

In patients of the second group we also observed the reliable tendency to improvement of QOL indices after the symptomatic therapy. As expected, patients of the second group noted that clinical manifestations of allergy exacerbated from the end of July – the beginning of August (depending on weather conditions) and could only be controlled due to proper symptomatic therapy. In this group, 11 patients observed a slight reduction of clinical symptoms associating it with temporary change of living place (they moved to seashore); and five individuals noticed deterioration of their condition (clinical symptoms exacerbated and breathlessness appeared). It should be mentioned that eight patients of the second group decided to undergo SLIT in the future.

Conclusions

1. Among patients of Lviv region with pollen allergy, the most common is sensitization to *Artemisia* (62.3 %) and less to *Ambrosia* (13.9 %).
2. Component investigations enable to diagnose the presence of genuine allergy to weed pollen and thus to administer effective AIT. In our research, genuine allergy is confirmed in 88.1 % (*Artemisia*) and 88.2 % (*Ambrosia*) of patients.
3. Improvement of QOL indices after SLIT treatment indicated the high efficacy of this therapy method in patients with pollen allergy.

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

Information about authors:

Zubchenko S. O., MD, PhD, Assistant of the Department of Clinical Immunology and Allergology, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine.

Maruniak S. R., Medical Intern, specialty "Anesthesiology and Intensive Care" Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine.

Відомості про авторів:

Зубченко С. О., канд. мед. наук, асистент каф. клінічної імунології та алергології, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.

Маруняк С. Р., лікар-інтерн зі спеціальності «Анестезіологія та інтенсивна терапія», Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ, Україна.

Сведения об авторах:

Зубченко С. А., канд. мед. наук, ассистент каф. клинической иммунологии и аллергологии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина.
Маруняк С. Р., врач-интерн по специальности «Анестезиология и интенсивная терапия», Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев, Украина.

Надійшла до редакції / Received: 23.04.2018

Після доопрацювання / Revised: 04.06.2018

Прийнято до друку / Accepted: 06.06.2018

References

- [1] Movérare, R., Larsson, H., Carlsson, R., & Holmquist, I. (2011). Mugwort-Sensitized Individuals from North Europe, South Europe and North America Show Different IgE Reactivity Patterns. *International Archives of Allergy and Immunology*, 154(2), 164–172. doi: 10.1159/000320231.
- [2] Léonard, R., Wopfner, N., Pabst, M., Stadmann, J., Petersen, B., Duus, J., et al. (2010). A New Allergen from Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) with Homology to Art v 1 from Mugwort. *Journal of Biological Chemistry*, 285(35), 27192–27200. doi: 10.1074/jbc.M110.127118.
- [3] Niederberger, V. (2009). Allergen-specific Immunotherapy. *Immunology Letters*, 122(2), 131–133.
- [4] Amaral, C. S., March, M. F., Sant'Anna, C. C. (2012). Quality of life in children and teenagers with atopic dermatitis. *Brazilian Annals of Dermatology*, 87(5), 717–723. doi: 10.1590/S0365-05962012000500008.
- [5] Bousquet, J., Heinzerling, L., Bachert, C., Papadopoulos, N. G., Bousquet, P. J., Burney, P. G., et al. (2012). Position Paper EAACI Practical Guide to Skin Prick Tests in Allergy to Aeroallergens. *Allergy*, 67(1), 18–24. doi: 10.1111/j.1398-9995.2011.02728.x.
- [6] Pherwani, A., Mankekar, G., Chavan, K., & Bansode, G. (2008). The mini-rhino-conjunctivitis quality of life (qol) questionnaire (mrqlq) – self administered. *Indian Journal of Otolaryngology and Head and Neck Surgery*, 60(1), 20–4. doi: 10.1007/s12070-008-0008-y.

Monitoring of patients with chronic hepatitis B without liver cirrhosis while determining the tactics of treatment

O. V. Riabokon, A. B. Khelemendyk, Yu. Yu. Riabokon

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

Aim. The purpose of the work is to reveal the features of CHB without liver cirrhosis when assessing the need for the appointment of antiviral therapy for the implementation of the State Target Program; to compare the criteria for monitoring CHB patients without cirrhosis in existing international recommendations.

Material and methods. When assessing the features of the course of CHB in 286 patients without cirrhosis, the recommendations of NICE (2013) and WHO (2015) were taken into account to determine the need for antiviral treatment, which is the basis of the clinical protocol in Ukraine. The work analyzes the international guidelines for monitoring CHB patients without cirrhosis: the American Association for the Study of the Liver Diseases (2016), the European Association for the Study of the Liver (2012), the National Institute for Health and Care Excellence (2013), World Health Organization (2015).

Results. In the work, we analyzed the features of the course of CHB without cirrhosis using criteria for the distribution of patients depending on the indications for antiviral treatment, which are set out in the clinical protocol in Ukraine and are based on the international recommendations of NICE (2013) and WHO (2015). It is shown that 8.0 % (23 of 286) of patients require priority antiviral treatment according to laboratory criteria. The course of CHB in these patients is characterized by more frequent astheno-vegetative manifestations, more pronounced cytolytic syndrome and more frequent detection of HBeAg. Among 38.1 % (109 of 286) patients with CHB without cirrhosis with a low viral load <2000 IU / ml, which is not recommended for antiviral drugs, one third has cytolytic syndrome (34.3 %), one tenth is HBeAg-positive (10.5 %), and one fourth has liver fibrosis of F 2–3 stages (27.3 %), which requires an improvement in the monitoring of these patients. The analysis of international recommendations showed complex and different approaches to monitoring CHB patients without cirrhosis of the liver when deciding on the appointment of antiviral treatment. The AASLD recommendations (2016) differ from the others in the mandatory determination of the patient's HBeAg status and the clearly established norm of ALT. The EASL (2012) recommendations do not require mandatory determination of HBeAg status, with the main criterion being the amount of HBV-DNA in the blood. NICE recommendations (2013) determine the mandatory identification of a combination of factors in addressing this issue, taking into account the patient's age, viral load, the severity of the cytolytic syndrome. WHO recommendations (2015) are the most adapted for countries with limited resources.

Conclusion. When using the recommendations of NICE 2013 and WHO 2015 among 38.1 % of CHB patients without cirrhosis with a low viral load <2000 IU/ml, which is not recommended for antiviral therapy, 34.3 % have cytolytic syndrome, 10.5 % are HBeAg-positive, and 27.3 % have liver fibrosis F 2–3 stages, which makes it necessary to improve monitoring of these patients. Monitoring CHB patients without cirrhosis in determining the need for antiviral treatment in the world remains a complex issue and has no unambiguous approaches to the solution, as evidenced by the existence of several international clinical recommendations: AASLD 2016, EASL 2012, NICE 2013, WHO 2015.

Key words:

chronic hepatitis B, antiviral agents.

Pathologia

2018; 15 (2), 215–220

DOI:

10.14739/2310-1237.
2018.2.141428

E-mail:

RyabokonZSMU@
gmail.com

Моніторинг хворих на хронічний гепатит В без цирозу печінки при визначенні тактики лікування

О. В. Рябоконт, А. Б. Хелемендик, Ю. Ю. Рябоконт

Мета роботи – визначити особливості перебігу хронічного гепатиту В (ХГВ) без цирозу печінки при оцінюванні необхідності призначення протівірусного лікування в рамках виконання Державної цільової програми та зіставити критерії щодо моніторингу хворих на ХГВ без цирозу печінки в чинних міжнародних рекомендаціях.

Матеріали та методи. При визначенні особливостей перебігу ХГВ у 286 пацієнтів без цирозу печінки враховували рекомендації NICE (2013) та WHO (2015) для оцінювання необхідності призначення протівірусного лікування, які є основою клінічного протоколу в Україні. Здійснили аналіз міжнародних рекомендацій щодо моніторингу хворих на ХГВ без цирозу печінки: American Association for the Study of Liver Diseases (2016), European Association for the Study of the Liver (2012), National Institute for Health and Care Excellence (2013), World Health Organization (2015).

Результати. Виконали аналіз особливостей перебігу ХГВ без цирозу печінки при використанні критеріїв розподілу хворих залежно від показань до етіотропного лікування, які викладені в клінічному протоколі в Україні та ґрунтуються на Міжнародних рекомендаціях NICE (2013) та WHO (2015). Показано, що 8,0 % (23 із 286) хворих потребують першочергового призначення протівірусного лікування за сукупністю лабораторних ознак. Перебіг ХГВ у цих пацієнтів характеризується частішими астено-вегетативними проявами, більшою виразністю цитолітичного синдрому та найчастішою циркуляцією в крові HBeAg. Серед 38,1 % (109 із 286) хворих на ХГВ без цирозу печінки з низьким вірусним навантаженням <2000 IU/ml, яким призначення протівірусних засобів не рекомендується, кожен третій має цитолітичний синдром (34,3 %), кожен десятий HBeAg-позитивний (10,5 %), а кожен четвертий має фіброз печінки F 2–3 ступенів (27,3 %), що потребує удосконалення моніторингу саме цих пацієнтів. Аналіз міжнародних рекомендацій показав досить складні та різні підходи щодо моніторингу хворих на ХГВ без цирозу печінки при вирішенні питання щодо призначення протівірусного лікування. Рекомендації AASLD (2016) відрізняються від інших обов'язковим визначенням HBeAg-статусу хворих та чітко встановленою межею нормального рівня АлАТ. Рекомендації EASL (2012) не передбачають обов'язкове

Ключові слова:

хронічний гепатит В, протівірусне лікування.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 2(43). –
С. 215–220

визначення HBeAg-статусу, при цьому головним критерієм вважають кількісний вміст HBV-DNA в крові. Рекомендації NICE (2013) передбачають обов'язкове визначення певних комбінацій факторів при розв'язанні цього питання з урахуванням віку пацієнтів, рівня вірусного навантаження, виразності цитолітичного синдрому. Рекомендації WHO (2015) є найбільш адаптованими для країн з обмеженими ресурсами.

Висновки. При застосуванні в Україні рекомендацій NICE 2013 та WHO 2015 серед 38,1 % хворих на ХГВ без циррозу печінки з низьким вірусним навантаженням <2000 IU/ml, яким призначення протівірусних засобів не рекомендується, 34,3 % мають цитолітичний синдром, 10,5 % HBeAg-позитивні, а 27,3 % мають фіброз печінки F 2–3 ступенів, що потребує удосконалення моніторингу саме цих пацієнтів. Моніторинг хворих на ХГВ без циррозу печінки при розв'язанні питання щодо призначення протівірусного лікування в світі залишається проблемним і не має однозначних підходів до вирішення, що підтверджує наявність кількох міжнародних клінічних рекомендацій: AASLD 2016, EASL 2012, NICE 2013, WHO 2015.

Ключевые слова:
хронический
гепатит В,
противовирусное
лечение.

Патологія. – 2018. –
Т. 15, № 2(43). –
С. 215–220

Мониторинг больных хроническим гепатитом В без цирроза печени при определении тактики лечения

Е. В. Рябоконь, А. Б. Хелемендик, Ю. Ю. Рябоконь

Цель работы – установить особенности хронического гепатита В (ХГВ) без цирроза печени при оценке необходимости назначения протівірусной терапии в рамках выполнения Государственной целевой программы и сопоставить критерии мониторинга больных ХГВ без цирроза печени в существующих международных рекомендациях.

Материалы и методы. При оценке особенностей течения ХГВ у 286 пациентов без цирроза печени учтены рекомендации NICE (2013) и WHO (2015) для оценки необходимости назначения протівірусного лечения, которые являются основой клинического протокола в Украине. Проведен анализ международных рекомендаций мониторинга больных ХГВ без цирроза печени: American Association for the Study of Liver Diseases (2016), European Association for the Study of the Liver (2012), National Institute for Health and Care Excellence (2013), World Health Organization (2015).

Результаты. Проанализировали особенности течения ХГВ без цирроза печени при использовании критериев распределения больных в зависимости от показаний к протівірусному лечению, которые изложены в клиническом протоколе в Украине и базируются на международных рекомендациях NICE (2013) и WHO (2015). Показано, что 8,0 % (23 из 286) пациентов требуют первоочередного назначения протівірусного лечения по совокупности лабораторных критериев. Течение ХГВ у этих пациентов характеризуется более частыми астено-вегетативными проявлениями, более выраженным цитолитическим синдромом и более частым обнаружением HBeAg. Среди 38,1 % (109 из 286) больных ХГВ без цирроза печени с низкой вирусной нагрузкой <2000 IU/ml, которым назначение протівірусных препаратов не рекомендуется, каждый третий имеет цитолитический синдром (34,3 %), каждый десятый HBeAg-позитивный (10,5 %), а каждый четвертый имеет фиброз печени F 2–3 стадий (27,3 %), что требует усовершенствования мониторинга именно этих пациентов. Анализ международных рекомендаций показал сложные и различные подходы к мониторингу больных ХГВ без цирроза печени при решении вопроса о назначении протівірусного лечения. Рекомендации AASLD (2016) отличаются от других обязательным определением HBeAg-статуса пациента и четко установленной нормой АлАТ. Рекомендации EASL (2012) не требуют обязательного определения HBeAg-статуса, при этом главным критерием выдвигается количественное содержание HBV-DNA в крови. Рекомендации NICE (2013) предопределяют обязательное установление комбинации определенных факторов при решении данного вопроса с учетом возраста пациента, вирусной нагрузки, выраженности цитолитического синдрома. Рекомендации WHO (2015) являются наиболее адаптированными для стран с ограниченными ресурсами.

Выводы. При использовании в Украине рекомендаций NICE 2013 и WHO 2015 среди 38,1 % больных ХГВ без цирроза печени с низкой вирусной нагрузкой <2000 IU/ml, которым назначение протівірусной терапии не рекомендуется, 34,3 % имеют цитолитический синдром, 10,5 % HBeAg-позитивны, а 27,3 % имеют фиброз печени F 2–3 стадий, что обуславливает необходимость усовершенствования мониторинга именно этих пациентов. Мониторинг больных ХГВ без цирроза печени при решении вопроса о протівірусном лечении в мире остается проблемным и не имеет однозначных подходов к решению, что подтверждается существованием нескольких международных клинических рекомендаций: AASLD 2016, EASL 2012, NICE 2013, WHO 2015.

Chronic hepatitis B (CHB) remains a topical issue of modern infectology. In the world, there are about 400 million patients with CHB, among which in 5 years, cirrhosis is formed in 2–20 % of patients, and the cumulative risk of hepatocellular carcinoma is 2–5%. Annually in the world as a result of diseases of the liver, associated with HBV-infection, up to 2 million people dies [1,2]. Despite the presence of antiviral agents for the treatment of patients with chronic hepatitis B, complete eradication of the HBV virus is impossible due to the formation of covalent-continuous DNA (cccDNA) in the nucleus of infected hepatocytes. In addition, the genome of HBV integrates into the host cell genome, which determines the carcinogenic effect of the pathogen. Today, hepatocellular carcinoma is one of the main problems for patients with HBV

infection, as it can develop even in patients who have received effective treatment [3].

The risk of developing liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in the course of CHB is dependent on viral load [2,4]. Therefore, the main aim of the treatment is to lower the level of HBV-DNA in the blood lower than the level of determination [5,6], which allows to improve the quality and life expectancy of patients by preventing the development of liver cirrhosis and its complications, hepatocellular carcinoma and premature death [7]. Therefore, WHO's global strategy is aimed at eliminating viral hepatitis as a threat to public health [8].

Monitoring CHB patients without liver cirrhosis and solving the problem of appointing an antiviral treatment to

these patients in the world is difficult and has no unambiguous approaches to the solution. Currently, there are various international clinical recommendations for the selection of patients with CHB for antiviral therapy (AVT), namely the recommendations of the American Association for the Study of Liver Diseases, the National Institute for Health and Care Excellence, World Health Organization [7,9–11].

In Ukraine, viral hepatitis occupies one of the dominant places in the structure of infectious pathology due to the degree of negative impact on the health of the population and the extent of the incidence. Thus, in 2012, 20 346 patients with CHB (including the first diagnosis of 3245 in their lives) were registered in the State Healthcare Center of Ukraine Ministry of Health Statistics; 19 459 and 3084 patients were registered respectively in 2014. From 2013, the State Target Program for the prevention, diagnosis and treatment of viral hepatitis [8] has been implemented in Ukraine, for which the clinical protocol for monitoring and treatment of patients with CHB was created and subsequently updated [12]. The clinical guidelines outlined in the clinical protocol are based on the International Recommendations NICE (2013) and WHO (2015).

Aim of the work

To determine the features of the course of chronic hepatitis B without liver cirrhosis in assessing the necessity of appointing an antiviral treatment within the framework of the State Target Program and to compare the criteria for monitoring patients with chronic hepatitis B without liver cirrhosis in existing international recommendations.

Material and methods

286 adult patients with CHB without liver cirrhosis were examined in the hepatological center of the Communal Institution «Regional Infectious Clinical Hospital of Zaporizhzhia Regional Council». Men were 163 (56.9 %), women – 123 (43.1 %). The age of the patients ranged from 18 to 71 years and amounted to 36 (31; 48) years. Duration of CHB in patients without cirrhosis of the liver from the moment of diagnosis was 7 (3; 12) years. All patients underwent a quantitative determination of HBV-DNA in the blood by polymerase chain reaction, and the activity of ALT in serum was evaluated in the dynamics of observation. In the majority of patients (213 – 74.5 %), a determination was made for serum HBeAg, in each tenth patient (34 – 11.9 %) the degree of liver fibrosis was assessed by non-invasive methods (FibroTest or elastography). Criteria for exclusion from the study were the presence of liver cirrhosis, co-infection with other hepatotropic viruses and human immunodeficiency virus. The patients were inspected with written informed consent.

In determining the characteristics of the course of CHB in patients without liver cirrhosis, we have taken into account the recommendations of NICE (2013) and WHO (2015) to assess the need for antiviral treatment (AVT), which are the basis of the clinical protocol in Ukraine [12]. According to this protocol, AVT is primarily indicated to patients with CHB without liver cirrhosis in the presence of a combination of the following factors: age up to 30 years old, viral load of HBV-DNA >20000 IU/ml, and persistently

elevated ALT activity without taking HBeAg status into account. When monitoring other patients with chronic hepatitis without cirrhosis of the liver, the main criterion for further consideration of the recommendations of etiotropic treatment is to determine the viral load with a limit of 2000 IU/ml. If patients have a HBV-DNA level >2000 IU/ml, the AVT is considered to be prescribed in the presence of moderate or over-expressed inflammatory-necrotic process and/or hepatic F2–F3 degree fibrosis. Treatment with antiviral drugs for patients with CHB insufficiency without cirrhosis of the liver with a low viral load of <2000 IU/ml is not recommended; these patients continue their dynamic observation every 6 months.

In order to find out the features of the course of CHB in patients without cirrhosis of the liver with the application of the above mentioned criteria for the selection of patients for AVT, a comparison of the main clinical, anamnestic, biochemical and virological parameters in patients with CHB of different groups was performed. Patients were divided into groups: Group I – 23 patients with a set of signs: age up to 30 years old, viral load of HBV-DNA >20000 IU/ml, steady increased activity of ALT; Group II – 109 patients with viral load >2000 IU/ml; Group III – 154 patients with HBV-DNA levels <2000 IU/ml.

A comparison of the criteria for monitoring CHB patients without liver cirrhosis was performed in accordance with the international recommendations of the American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD), the European Association for the Study of the Liver (EASL), the National Institute for Health and Care Excellence (NICE), World Health Organization (WHO) [7,9–11].

Statistical processing of the obtained data was carried out using the prevailing base of the examined patients with CHB in the program STATISTICA® for Windows 6.0 (StatSoft Inc., No. AXXR712D833214FAN5). The research results are presented as $Me (Q_{25}; Q_{75})$. For the reliability assessment of the difference in quantitative characteristics between the samples the Mann-Whitney criterion was used, and for the qualitative characteristics – the chi-square method (χ^2).

Results

According to the results of the comparative analysis of groups of patients with CHB without cirrhosis of the liver, depending on the availability of relevant criteria prior to the appointment of AVT, it has been established that factors such as the duration of the disease and the presence in the case of history of an earlier transmitted acute hepatitis B did not affect the level of viral load and were recorded with the same frequency among patients of the studied groups. CHB was characterized by the appearance of clinical manifestations only in a small number of patients, with statistically significant differences only occurred when comparing patients in Groups I and III. Clinical symptomatology of patients of Group I that had a combination of laboratory features for the primary appointment of AVT was characterized by a more frequent appearance of astheno-vegetative syndrome manifestation (26.1 % vs 5.8 %, $\chi^2 = 10.57$, $P < 0.01$), unlike patients with a low viral load <2000 IU/ml, for which antiviral therapy has not been indicated. In addition, the severity of the cytolytic syndrome

Table 1. Clinical, anamnestic and biochemical parameters of patients on chronic hepatitis B without liver cirrhosis

Indexes	Patients with CHB without liver cirrhosis		
	Group I (n = 23)	Group II (n = 109)	Group III (n = 154)
Age of patients, Me (Q_{25} ; Q_{75})	26 (23; 28)	37 (33; 48)*	39 (33; 55)*
Patients up to 30 years old, abs (%)	23 (100 %)	9 (8.3 %)*	19 (12.3 %)*
Acute hepatitis B in case of history, abs (%)	3 (13.0 %)	15 (13.8 %)	19 (12.3 %)
Duration of CHB, Me (Q_{25} ; Q_{75})	7 (2; 16)	7 (3; 12)	6 (4; 12)
Complaints, in particular:			
general weakness	6 (26.1 %)	22 (20.2 %)	17 (11.0 %)*
heaviness in the right hypochondrium	6 (26.1 %)	8 (7.3 %)	9 (5.8 %)*
arthralgia	3 (13.0 %)	16 (14.7 %)	15 (9.7 %)
Activity of ALT, mmol/h, Me (Q_{25} ; Q_{75})	1.75 (1.28; 2.20)	0.68 (0.68; 1.36)*	0.68 (0.55; 1.26)*
Stable normal ALT level, abs (%)	–	60 (55.0 %)	101 (65.6 %)
Increase ALT to 3 norms, abs (%)	16 (69.6 %)	32 (29.4 %)*	36 (23.4 %)*
Increase ALT from 3 to 10 norms, abs (%)	7 (30.4 %)	17 (15.6 %)	16 (10.4 %)*
Increase ALT above 10 norms, abs (%)	–	–	1 (0.7 %)

*: the difference is significant ($P < 0.05$), compared with patients in Group I.

Table 2. Virological parameters and the degree of expressiveness of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B without liver cirrhosis

Indexes	Patients with CHB without liver cirrhosis		
	Group I (n = 23)	Group II (n = 109)	Group III (n = 154)
Quantitative HBV-DNA content in the blood, IU/ml	1.0×10^8 (1.3×10^5 ; 1.1×10^8)	4.1×10^4 (6.8×10^3 ; 2.1×10^5)*	7.5×10^2 (4.1×10^2 ; 1.0×10^3)*..
HBeAg-positive patients, % (abs)	73.7 % (14 of 19)	22.5 % (18 of 80)*	10.5 % (12 of 114)*..
HBeAg-negative patients, % (abs)	26.3 % (5 of 19)	77.5 % (62 of 80)*	89.5 % (102 of 114)*..
Liver fibrosis F 0–1, % (abs)	75.0 % (3 of 4)	68.4 % (13 of 19)	72.7 % (8 of 11)
Liver fibrosis F 2–3, % (abs)	25.0 % (1 of 4)	31.6 % (6 of 19)	27.3 % (3 of 11)

*: the difference is significant ($P < 0.05$), compared with patients in Group I; **: the difference is significant ($P < 0.05$), compared with patients in Group II.

was higher in patients of Group I compared to patients in Groups II and III, primarily due to the higher proportion of patients with elevated ALT activity from 3 to 10 norms. When comparing the clinical and laboratory parameters of the CHB in patients without liver cirrhosis of the Group II, for which the issue of the appointment of AVT should be considered, and those in Group III, for which etiologic treatment is not recommended, there are no statistically significant differences in the studied parameters, however, among patients in Group III 34.3 % (53 out of 154) had elevated ALT activity in the blood (Table 1).

In the analysis of virological parameters in patients with CHB without cirrhosis of the liver, the differences in the viral load of the studied groups proved to be logical, since the level of increase of HBV-DNA in blood was one of the criteria for the formation of patient groups. However, it should be noted that the rate of detection of positive HBeAg in serum was related to the level of viral load and was the highest in patients of Group I, compared with patients in Group III (73.7 % vs 10.5 %, $\chi^2 = 41.31$, $P < 0.0001$), and with patients in Group II (73.7 % vs 22.5 %, $\chi^2 = 18.38$, $P < 0.001$). In addition, a statistically significant difference was observed in the incidence of HBeAg-positive patients and in the comparison of Groups II and III (22.5 % vs 10.5 %, $\chi^2 = 5.16$, $P < 0.01$). However, in the presence of clear statistically significant differences in the virological parameters in the patients of the studied groups, the proportion of patients with different stages of liver fibrosis was the same in patients with CHB without cirrhosis of the liver of the studied groups (Table 2).

Taking into account that among patients in Group III, which is not recommended for AVT, every third had labo-

ratory signs of cytolytic syndrome – 34.3 % (53 of 154), every tenth patient was HBeAg-positive – 10.5 % (12 of 114), and more than one in four had liver fibrosis F 2–3 degrees – 27.3 % (3 of 11), existing criteria for monitoring patients with chronic hepatitis without cirrhosis of the liver require further improvement.

Discussion

Existing International Recommendations [7,9–11] demonstrate rather complicated and different approaches to monitoring CHB patients without cirrhosis of the liver when deciding on the appointment of AVT. It should be noted that all the International recommendations have the same approach only for patients with HBV-associated cirrhosis of the liver. Namely, in the presence of cirrhosis of the liver both compensated and decompensated, when detected in the blood of HBV-DNA, regardless of its quantitative content, nucleoside analogues based on tenofovir or entecavir are assigned.

The most difficult is monitoring of patients with CHB without liver cirrhosis using the recommendations of the AASLD (2016) [9]. These recommendations differ from other mandatory definitions of HBeAg-status of patients and clearly defined levels of ALT activity, which should be considered as the norm for males and females, respectively, different from the reference values of laboratories. According to the recommendations of AASLD (2016), when monitoring CHB patients, the HBeAg status of the patient, the level of ALT activity in the serum, the level of viral load and, in some cases, the results of the morphological examination of the liver, are to be taken into account in order

to decide on the appointment of AVT. Antiviral treatment for patients with CHB impairment without liver cirrhosis, which is HBeAg-positive, is performed under the condition of histological evidence of significant liver damage and viral load >20000 IU/ml. Treatment of patients with antiviral agents in HBeAg-negative CHB without cirrhosis of the liver is carried out under histological evidence of significant liver damage and viral load >2000 IU/ml. It should be noted that according to the criteria of AASLD (2016), the upper limit of the norm for the activity of ALT for patients with chronic hepatitis B should be 30 U/l for men and 19 U/L for women, regardless of the reference values of this indicator offered by the laboratory. In this case, the preparations for antiviral therapy are pegylated interferons and nucleoside analogues (tenofovir or entecavir).

It is known that HBeAg, the determination of which is mandatory in patients with CHB according to the recommendations of AASLD (2016), plays a significant role in modulating the immune response, reducing the efficacy of the T-cell line [13]. However, it should be noted that after the introduction of compulsory vaccination of children against hepatitis B worldwide, the proportion of HBeAg negative and the proportion of HBeAg-positive significantly increases in the structure of patients with CHB. This is due to an increase in the number of older age groups in patients with CHB who previously had an infection with HBeAg/anti-HBe seroconversion during the course of the disease [13]. It is believed that with steady increased activity of ALT in blood in patients with CHB virus seroconversion occurs on average in 8–12 % of patients per year [14]. It should be noted that according to our research, HBeAg-negative patients with CHB disease without liver cirrhosis, which accounted for 79.3 % (169 of 213), were significantly superior. In modern literature, there are other explanations for HBeAg/anti-HBe seroconversion in the course of a natural course of the disease. Some studies have shown that the HBV genotype may have a certain effect on the rate of HBeAg/anti-HBe seroconversion, in particular, when infection with the genotype B HBV, seroconversion occurs more rapidly than with infection with the genotype C HBV [15]. Taking into account the different frequency of registration of individual genotypes of HBV in the world and different efficacy of CHB, American researchers suggested identifying the HBV genotype for differentiated use of etiotropic agents [16], but these data were not included in any international recommendation. In addition, there are mutant HBV strains that have lost the ability to express HBeAg due to mutation of the pre-core/core site, but retained high replicative activity. Often, these mutations are associated with genotypes C and D HBV, which are more commonly recorded in Asia and Southern Europe, which also explains the more frequent registrations of HBeAg-negative HCV in patients from these regions. The effect of this mutation on the natural course of HBV infection has not yet been fully understood, but there are reports of more aggressive course of the disease in these patients [13,17]. In most cases, HBeAg-negative CHB is characterized by levels of HBV-DNA >2000 IU/ml, preserving necrosis-inflammatory changes in the liver and instability of the course [18].

The determination of the quantitative HBV-DNA content in the blood is a key criterion for addressing the issue of AVT in patients with CHB without liver cirrhosis in EASL (2012)

[7] recommendations, which do not imply the mandatory determination of HBeAg status in addressing this issue. According to these guidelines, AVT should be prescribed to patients with a viral load >2000 IU/ml, signs of severe necrotic-inflammatory activity of the pathological process in the liver and/or elevated ALT above the upper limit of normal. At the same time, if patients with CHB without clinical and laboratory signs of liver cirrhosis have a combination of such factors as the level of viral load >20000 IU/ml and increased activity of ALT more than twice the upper limit of norm, AVT should be prescribed without biopsy results liver. The EASL Recommendations (2012) also allow the physician to choose an antiviral agent between the pegylated interferon and the nucleoside analogue (tenofovir or entecavir). According to these recommendations, the continued reduction of HBV-DNA in the blood to the smallest <2000 IU/ml, ideally even <60 IU/ml, is a satisfactory end-result, since it is clearly associated with improved prognosis [7].

The international recommendations of NICE (2013) on monitoring CHB without cirrhosis of the liver provide for the mandatory determination of certain combinations of factors when addressing the issue of the appointment of AVT, namely: the age of patients >30 years, in which the viral load reaches >2000 IU/ml in combination with increased activity of ALT. At the same time, if the age of patients <30 years and the viral load >2000 IU/ml is combined with the increased level of activity of ALT, it is necessary to take into account the degree of severity of necrotic-inflammatory changes and the stage of liver fibrosis [11]. However, if the level of HBV-DNA >2000 IU/ml in the blood is combined with pronounced inflammatory and fibrotic changes in the liver, AVT should be prescribed without considering the age of the patients and the level of ALT activity. In these recommendations, there is another indication for the appointment of AVT in patients with CHB without cirrhosis of the liver, namely, in the presence of a viral load >20000 IU/ml, in conjunction with an increase in the activity of ALT in the blood, the age of the patients and the results of liver biopsy do not matter.

Unlike other International Protocols, NICE recommendations (2013) clearly define antiviral drugs for the first and the second lines. For the treatment of patients with chronic hepatitis without liver cirrhosis, the first line drug should be pegylated interferon- $\alpha 2a$ with a fixed duration of treatment for 48 weeks. The anti-viral agents of the second line are nucleoside analogues based on tenofovir or entecavir.

In 2015, WHO new recommendations were published on monitoring and treatment of patients with CHB, which are most adapted for countries with limited resources [10]. According to these recommendations, for patients with CHB in the absence of clinical manifestations of liver cirrhosis, older than 30 years of age, having stable ALT activity and viral load levels above >20000 IU/ml, AVT should be prescribed. WHO recommendations (2015) have another provision for the appointment of AVT in patients without liver cirrhosis, especially if the definition of HBV-DNA is inaccessible, the appointment of AVT is possible for all patients with elevated ALT activity. According to the WHO protocol (2015), only nucleoside analogues with high resistance barrier (tenofovir or entecavir) are recommended for antiviral therapy, which effectively inhibit the replication of HBV-DNA but are not capable of causing elimination of

the pathogen as it is not possible to affect the covalently closed circular DNA in a nucleus that is a matrix in the transcription of viral RNA, in connection with which treatment is long and potentially life-long.

Unlike other International Recommendations, the WHO protocol (2015) does not even consider the possibility of treating CHB patients with pegylated interferons, but the final part of this document focuses on certain benefits of such treatment, namely the fixed duration of treatment and the likely higher rate of HBsAg. The pegylated interferons were excluded from the consideration in these guidelines, since their use is less feasible under the conditions of limited resources (higher cost of treatment and laboratory control).

Conclusions

1. In the monitoring of patients with CHB without liver cirrhosis, only 8.0 % (23 of 286) require prior appointment of antiviral therapy in combination of laboratory features (age up to 30 years, HBV-DNA > 20000 IU/ml, steady-increased activity of ALT) according to the existing clinical protocol in Ukraine established on the basis of the recommendations of NICE 2013 and WHO 2015. The course of CHB in these patients is characterized by more frequent astheno-vegetative syndrome manifestation, a higher severity of the cytolytic syndrome and the most frequent circulation of HBeAg in the blood.

2. Among 38.1 % (109 of 286) patients with CHB without cirrhosis of the liver with a low viral load < 2000 IU/ml, for which the purpose of AVT is not recommended, every third has cytolytic syndrome (34.3 %), one of ten has HBeAg-positive (10.5 %), and one of four has liver fibrosis F 2–3 degrees (27.3 %), which requires further improvement of monitoring of these patients.

3. Monitoring CHB patients without liver cirrhosis in solving the issue of the appointment of antiviral treatment in the world remains a rather complicated issue and does not have unambiguous decision-making approaches, confirming the existence of several International Clinical Recommendations (AASLD 2016, EASL 2012, NICE 2013, WHO 2015).

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

Information about authors:

Riabokon O. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Khelemendyk A. B., MD, Assistant Professor of the Department of Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Riabokon Yu. Yu., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Children Infectious Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Рябоконт О. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Хелемєндик А. Б., асистент каф. інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Рябоконт Ю. Ю., д-р мед. наук, доцент каф. дитячих інфекційних хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

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

Хелемєндик А. Б., асистент каф. інфекційних болезней, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

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

Надійшла до редакції: 09.07.2018

Після доопрацювання: 26.07.2018

Прийнято до друку: 20.08.2018

References

- [1] Zhang, Y., Zhang, H., Elizabeth, A., & Liu, X. (2013). Epidemiology of Hepatitis B and Associated Liver Diseases in China. *Chinese Medical Sciences Journal*, 27(4), 243–248. doi: 10.1016/s1001-9294(13)60009-7.
- [2] Chen, C., Yang, H. I., Su, J., Jen, C. L., You, S. L., Lu, S. N., et al. (2006). Risk of Hepatocellular Carcinoma Across a Biological Gradient of Serum Hepatitis B Virus DNA Level. *JAMA*, 295(1), 65. doi: 10.1001/jama.295.1.65.
- [3] Varbobitis, I., & Papatheodoridis, G. (2016). The assessment of hepatocellular carcinoma risk in patients with chronic hepatitis B under antiviral therapy. *Clinical And Molecular Hepatology*, 22(3), 319–326. doi: 10.3350/cmh.2016.0045.
- [4] Iloeje, U., Yang, H., Su, J., Jen, C., You, S., & Chen, C. (2006). Predicting Cirrhosis Risk Based on the Level of Circulating Hepatitis B Viral Load. *Gastroenterology*, 130(3), 678–686. doi: 10.1053/j.gastro.2005.11.016.
- [5] Cornberg, M., Protzer, U., Petersen, J., Wedemeyer, H., Berg, T., Jilg, W., et al. (2011). Prophylaxis, diagnosis and therapy of hepatitis B virus infection – the German guideline. *Zeitschrift Für Gastroenterologie*, 49(07), 871–930. doi: 10.1055/s-0031-1273462.
- [6] Schiff, E., Lee, S., Chao, Y., Kew Yoon, S., Bessone, F., Wu, S., et al. (2011). Long-Term Treatment With Entecavir Induces Reversal of Advanced Fibrosis or Cirrhosis in Patients With Chronic Hepatitis B. *Clinical Gastroenterology And Hepatology*, 9(3), 274–276.e1. doi: 10.1016/j.cgh.2010.11.040.
- [7] European Association For The Study Of The Liver (2012) EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology*, 57(1), 167–185. doi: 10.1016/j.jhep.2012.02.010.
- [8] Golubovska, O. (2017). Ukraina na puti e'liminacii virusnykh gepatitov v Evrope: dostizheniya i perspektivy [Ukraine on the path of elimination of viral hepatitis in Europe: achievements and prospects]. *Klinicheskaya infektologiya i parazitologiya*, 6(3), 270–275. [In Russian].
- [9] Terrault, N., Bzowej, N., Chang, K., Hwang, J., Jonas, M., & Murad, M. (2016). AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology*, 63(1), 261–283. doi: 10.1002/hep.28156.
- [10] (2015). Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection. Retrieved from <http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-b-guidelines/en/>.
- [11] (2013). Hepatitis B (chronic): diagnosis and management | Guidance and guidelines | NICE. Retrieved from <http://www.nice.org.uk/guidance/cg165>.
- [12] Kravchenko, V. V., Holubovska, O. A., Lishchysyna, O. M., Andreichyn, M. A., Aleksichuk, L. V., Batsiura, H. V., et al. (2016) Unifikovanyi klinichniy protokol pervynnoi, vtorynnoi (spetsializovanoi), tretynnoi (vysokspetsializovanoi) medychnoi dopomohy «Virusnyi hepatyt v u doroslykh» [Unified clinical protocol of primary, secondary (specialized), tertiary (highly specialized) medical care "Viral hepatitis B in adults"]. [In Ukrainian].
- [13] Lobzin, Yu. V., Zhdanov, K. V., Gusev, D. A., & Kozlov, K. V. (2012). *Virusnye gepatity [Organization of health care for military personnel with chronic viral hepatitis in Russian Armed Forces]*. Saint Petersburg: Foliant. [In Russian].
- [14] McMahon, B., Holck, P., Bulkow, L., & Snowball, M. (2001). Serologic and Clinical Outcomes of 1536 Alaska Natives Chronically Infected with Hepatitis B Virus. *Annals Of Internal Medicine*, 135(9), 759. doi: 10.7326/0003-4819-135-9-200111060-00006.
- [15] Schaefer, S. (2007). Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes. *World Journal of Gastroenterology*, 13(1), 14. doi: 10.3748/wjg.v13.i1.14.
- [16] Keeffe, E., Dieterich, D., Han, S., Jacobson, I., Martin, P., Schiff, E., & Tobias, H. (2008). A Treatment Algorithm for the Management of Chronic Hepatitis B Virus Infection in the United States: 2008 Update. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 6(12), 1315–1341. doi: 10.1016/j.cgh.2008.08.021.
- [17] Kao, J. (2003). Hepatitis B Virus Genotypes and Hepatocellular Carcinoma in Taiwan. *Intervirology*, 46(6), 400–407. doi: 10.1159/000074999.
- [18] Hadziyannis, S. (2001). Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology*, 34(4), 617–624. doi: 10.1053/jhep.2001.27834.

Особливості транскрипційної активності генів *CDH1*, *CTNNB1* та експресії кодованих ними молекул Е-кадгерину, β-катеніну на I, II, III, IV стадіях розвитку колоректальної аденокарциноми

М. А. Шишкін, В. О. Туманський

Запорізький державний медичний університет, Україна

Мета роботи – аналіз рівнів експресії мРНК генів *CDH1*, *CTNNB1* і кодованих ними молекул Е-кадгерину, β-катеніну та їхніх зв'язків із рівнем транскрипційної активності гена *KRAS* на I, II, III, IV стадіях (pTNM) розвитку колоректальної аденокарциноми (КРА).

Матеріали та методи. Виконали паралельне імуногістохімічне та молекулярно-генетичне, патогістологічне дослідження операційного матеріалу КРА 40 пацієнтів (4 групи спостереження – I, II, III, IV стадії за градацією pTNM, 10 спостережень у кожній групі), а також секційного матеріалу 10 фрагментів стінки дистальних відділів товстої кишки звичайної гістологічної будови (група контролю).

Результати. КРА порівняно з незміненою слизовою оболонкою дистальних відділів товстої кишки характеризується зниженою транскрипційною активністю гена *CDH1*. Є тенденція до зниження рівня експресії мРНК гена *CDH1* у групах спостереження – від I до IV стадії розвитку пухлини. КРА характеризується низьким рівнем експресії Е-кадгерину, що також прогресивно знижується в групах спостереження. КРА порівняно з незміненою слизовою оболонкою дистальних відділів товстої кишки характеризується підвищеною транскрипційною активністю гена *CTNNB1* і високим рівнем експресії β-катеніну. Статистично значущу різницю за рівнями експресії мРНК гена *CTNNB1*, β-катеніну у групах спостереження не виявили. Наявні прямі кореляційні зв'язки між рівнями експресії досліджуваних генів і кодованих ними молекул, зворотні кореляції між рівнями експресії мРНК генів *KRAS* і *CDH1*, мРНК гена *KRAS* та експресії Е-кадгерину, а також прямий зв'язок між рівнями експресії мРНК гена *KRAS* та експресії β-катеніну.

Висновки. КРА характеризується зниженим рівнем транскрипційної активності гена *CDH1*, який корелює з низьким рівнем експресії Е-кадгерину, а також підвищеним рівнем транскрипційної активності гена *CTNNB1*, що корелює з високим рівнем експресії β-катеніну. При прогресії КРА від I до IV стадії знижується транскрипційна активність гена *CDH1* та експресія кодованого ним Е-кадгерину. Для КРА характерні зворотні кореляції між рівнями експресії мРНК генів *KRAS* і *CDH1*, мРНК гена *KRAS* та експресії Е-кадгерину, а також прямий зв'язок між рівнями експресії мРНК гена *KRAS* та експресії β-катеніну.

Ключові слова:
колоректальний рак, *CDH1*, *CTNNB1*, Е-кадгерин, β-катенін.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 221–228

DOI:
10.14739/2310-1237.2018.2.141432

E-mail:
shishkin.stomat@gmail.com

Особенности транскрипционной активности генов *CDH1*, *CTNNB1* и экспрессии кодируемых ими молекул Е-кадгерина, β-катенина на I, II, III, IV стадиях развития колоректальной аденокарциномы

М. А. Шишкин, В. А. Туманский

Цель работы – анализ уровней экспрессии мРНК генов *CDH1*, *CTNNB1* и кодируемых ими молекул Е-кадгерина, β-катенина, а также их связей с уровнем транскрипционной активности гена *KRAS* на I, II, III, IV стадиях (pTNM) развития колоректальной аденокарциномы (КРА).

Материалы и методы. Проведено параллельное иммуногистохимическое и молекулярно-генетическое, патогистологическое исследование операционного материала КРА 40 пациентов (4 группы наблюдений – I, II, III, IV стадии по градации pTNM, по 10 наблюдений в каждой группе), а также секционного материала 10 фрагментов стенки дистальных отделов толстого кишечника обычной гистологической структуры (група контроля).

Результаты. КРА в сравнении с неизменной слизистой оболочкой дистальных отделов толстого кишечника характеризуется сниженной транскрипционной активностью гена *CDH1*. Имеет место тенденция к снижению уровня экспрессии мРНК гена *CDH1* в группах наблюдения – от I к IV стадии развития опухоли. КРА характеризуется низким уровнем экспрессии Е-кадгерина, что также прогрессивно снижается в группах наблюдения. Кроме того, КРА в сравнении с неизменной слизистой оболочкой дистальных отделов толстого кишечника характеризуется повышенной транскрипционной активностью гена *CTNNB1* и высоким уровнем экспрессии β-катенина. Статистически значимая разница между уровнями экспрессии мРНК гена *CTNNB1*, β-катенина в группах наблюдения не установлена. Отмечены прямые корреляционные связи между уровнями экспрессии исследованных генов и кодируемых ими молекул, обратные корреляции между уровнями экспрессии мРНК генов *KRAS* и *CDH1*, мРНК гена *KRAS* и экспрессии Е-кадгерина, а также прямая связь между уровнями экспрессии мРНК гена *KRAS* и экспрессии β-катенина.

Выводы. КРА характеризуется сниженным уровнем транскрипционной активности гена *CDH1*, который коррелирует с низким уровнем экспрессии Е-кадгерина, а также повышенным уровнем транскрипционной активности гена *CTNNB1*, который коррелирует с высоким уровнем экспрессии β-катенина. При прогрессии КРА от I к IV стадии снижается транскрипционная активность гена *CDH1* и экспрессия кодируемого им Е-кадгерина. Для КРА характерны обратные корреляции между уровнями экспрессии мРНК генов *KRAS* и *CDH1*, мРНК гена *KRAS* и экспрессии Е-кадгерина, а также прямая связь между уровнями экспрессии мРНК гена *KRAS* и экспрессии β-катенина.

Ключевые слова:
колоректальный рак, *CDH1*, *CTNNB1*, Е-кадгерин, β-катенин.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 221–228

Key words:

colorectal cancer,
CTNNB1 human
protein,
CDH1 human
protein,
beta catenin,
E-cadherin.

Pathologia

2018; 15 (2), 221–228

Features of *CDH1*, *CTNNB1* genes transcriptional activity and expression levels of E-cadherin, β -catenin proteins coded by these genes on the I, II, III, IV stages of colorectal adenocarcinoma development

M. A. Shyshkin, V. O. Tumanskyi

Aim – analysis of *CDH1* and *CTNNB1* genes mRNA expression levels and expression levels of E-cadherin, β -catenin proteins coded by these genes, and also their correlations with *KRAS* gene transcriptional activity level on the I, II, III, IV stages (pTNM) of colorectal adenocarcinoma (CRA) development.

Materials and methods. Parallel immunohistochemical and molecular-genetic, pathohistological studies of operational material of CRA from 40 patients (4 study groups – I, II, III, IV stages according to pTNM classification – 10 cases in each group) with diagnosis of colorectal adenocarcinoma, and sectional material of 10 fragments of distal colonic wall with normal histological structure were conducted.

Results. In comparison with unchanged mucosa of distal colon CRA is characterized by the decreased *CDH1* gene transcriptional activity. There is the tendency to reducing of *CDH1* gene mRNA expression in the study groups – from the I to the IV stages of the tumor development. CRA is characterized by the low E-cadherin expression level, which also has the tendency to reducing in the study groups. Moreover, in comparison with unchanged mucosa of distal colon CRA is characterized by the increased *CTNNB1* gene transcriptional activity and the high β -catenin expression level. There aren't statistically significant differences between the *CTNNB1* gene mRNA, β -catenin expression levels in the study groups. There are direct correlations between the expression levels of the studied genes and the molecules, coded by these genes, and also reverse correlations between the *KRAS* and *CDH1* genes mRNA expression levels, the *KRAS* gene mRNA expression level and the E-cadherin expression level, direct correlation between the *KRAS* gene mRNA expression level and the β -catenin expression level.

Conclusions. CRA is characterized by the decreased *CDH1* gene transcriptional activity that correlates with the low E-cadherin expression level, and by the increased *CTNNB1* gene transcriptional activity that correlates with the high β -catenin expression level. The *CDH1* gene transcriptional activity and the expression level of E-cadherin, which is coded by this gene, decrease during the CRA progression from the I to the IV stages. CRA is characterized by reverse correlations between the *KRAS* and *CDH1* genes mRNA expression levels, the *KRAS* gene mRNA expression level and the E-cadherin expression level, direct correlation between the *KRAS* gene mRNA expression level and the β -catenin expression level.

Життєдіяльність соматичної клітини можлива лише за умов функціонування регуляторних механізмів, що контролюють процеси росту, диференціювання, міжклітинних взаємодій, програмованої загибелі тощо. За сучасними уявленнями, колоректальна аденокарцинома (КРА) є наслідком кумуляції численних мутацій та епігенетичних аномалій, що дають змогу клітинам уникати регуляторних впливів. Вочевидь, саме акумуляція молекулярно-генетичних порушень у клоні клітини призводить до трансформації умовно «нормальних» епітеліоцитів у ракові клітини [1].

Е-кадгерин кодується геном *CDH1*, є кальцій-залежним трансмембранним глікопротеїном, що локалізується на базолатеральних поверхнях епітеліоцитів і забезпечує формування та функціонування адгезивних міжклітинних контактів. Молекула Е-кадгерину складається з цитоплазматичного, трансмембранного і екстрацелюлярного доменів. Цитоплазматичний домен взаємодіє з молекулами катенінів, зокрема з β -катеніном, формуючи зв'язки з цитоскелетом. Трансмембранний домен забезпечує передачу сигналів ззовні, а екстрацелюлярний безпосередньо забезпечує адгезивні зв'язки, а також зв'язування молекул кальцію, що потрібне для просторової організації молекули Е-кадгерину [2]. Відомо, що дисрегуляція *CDH1* і його білкового продукту є однією з ключових ланок канцерогенезу, формує основу для епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП) [3]. У низці експериментальних робіт показано, як зниження експресії *CDH1* асоціюється з активацією міграції пухлинних клітин КРА та реалізацією їхніх інвазивних властивостей [4,5].

β -катенін кодується геном *CTNNB1*, є представником сімейства катенінів і має дві основні функції:

підтримання міжклітинної адгезії та регуляція транскрипції Wnt-таргетних генів. Входячи до складу кадгерин-катенінового комплексу, β -катенін забезпечує зв'язок між Е-кадгеріном та α -катеніном, який безпосередньо контактує з актиновим цитоскелетом. Відомо, що аномалії структури та функції кадгерин-катенінового комплексу є основою порушення адгезивних властивостей епітеліоцитів. Функціонуючи як фактор транскрипції (за умови ON-state Wnt/ β -катенінового сигнального шляху), β -катенін накопичується у клітинних ядрах і активує транскрипцію Wnt-таргетних генів, що відповідають за регуляцію проліферації, апоптозу й виживаності епітеліоцитів, а також їхніх адгезивних властивостей і рухливості [6,7]. Аномалії експресії *CTNNB1* та пов'язані з ними порушення функціонування сигнальних каскадів за умов канцерогенезу стали темою численних досліджень. Однак відомості фахової літератури щодо особливостей експресії гена *CTNNB1* та кодованого ним β -катеніну в КРА суттєво варіюють, а питання щодо точних механізмів взаємодії залучених сигнальних молекул залишаються невирішеними [7–9].

KRAS є ще одним геном, порушення функції якого з високою ймовірністю залучається до кишкового канцерогенезу. За даними фахової літератури, молекулярно-генетичні аномалії *KRAS* трапляються в 30–68 % КРА [10]. Добре відома роль *KRAS*-залежної сигналізації в регуляції клітинної проліферації, росту, виживаності, реалізації інвазивних і метастатичних властивостей трансформованих клітин, що здійснюється за допомогою MAPK- і PI3K/AKT-сигнальних каскадів [11]. За даними E. Lemieux et al. (2015), є зв'язок між патологічною активністю *KRAS* і функціонуванням

Wnt/ β -катенінового сигнального шляху в КРА [12]. Але дослідження з уточнення зв'язків між експресією ключових компонентів кадгерин-катенінового комплексу й активністю *KRAS* поки не здійснили.

Мета роботи

Аналіз рівнів експресії мРНК генів *CDH1*, *CTNNB1* та кодованих ними молекул Е-кадгерину, β -катеніну та їхніх зв'язків із рівнем транскрипційної активності гена *KRAS* на I, II, III, IV стадіях (pTNM) розвитку колоректальної аденокарциноми.

Матеріали і методи дослідження

Виконали паралельне імуногістохімічне (ІГХ) і молекулярно-генетичне (МГ) дослідження операційного матеріалу КРА 40 пацієнтів. Базуючись на результатах попереднього патоморфологічного дослідження операційного матеріалу та враховуючи чинну класифікацію pTNM [13], виділили 4 групи спостереження, кожна з них налічує 10 випадків: I стадія ($T_{1-2}N_0M_0$), II стадія ($T_{3-4}N_0M_0$), III стадія ($T_{1-4}N_{1-3}M_0$), IV стадія ($T_{1-4}N_{1-3}M_1$). Як групу контролю використали секційний матеріал – 10 фрагментів стінки товстої кишки (дистальні відділи) звичайної гістологічної будови.

Операційний і секційний матеріал фіксували в 10 % забуференому формаліні та заливали в парафін. Особливості гістологічної будови досліджуваних зразків вивчали в парафінових зрізах, що забарвлені гематоксиліном та еозином. ІГХ-дослідження виконали за стандартною методикою, що передбачається виробниками антитіл. Використано моноклональні антитіла проти Е-кадгерину (Clone NCH-38, DAKO, США), β -катеніну (Clone β -Catenin-1, DAKO, США), а також систему візуалізації EnVisionFLEX с діамінобензидином (DAKO, США). Рівні ІГХ-експресії Е-кадгерину та β -катеніну клітинами КРА оцінювали методом фотоцифрової морфометрії [14] з використанням комп'ютерної програми ImageJ [15], вимірювали умовними одиницями оптичної щільності (УООЩ) та градували на 4 рівні: 0–20 УООЩ – негативна ІГХ реакція, 21–50 УООЩ – низький рівень експресії, 51–100 УООЩ – помірний рівень експресії, 101 УООЩ і більше – високий рівень експресії.

Паралельне МГ-дослідження здійснили в тих самих 40 зразках КРА, що сформували групи спостереження, і в 10 зразках групи контролю, фіксованих у формаліні та залитих у парафін. Для отримання тотальної РНК виконали попередню депарафінізацію тканини у ксилолі та регідратацію в низхідних концентраціях етанолу (100 %, 96 %, 70 %). Підготовлені зразки гомогенізували за допомогою ступки і товкачи-

ка, поміщали в пробірки «Ахуген» (США), проводили додаткову депарафінізацію, повторну регідратацію. Тотальну РНК із тканини виділили з використанням набору «Trizol RNA Prep 100» («Ізоген Lab., LTD», РФ).

Для зворотної транскрипції та отримання кДНК використали набір ОТ-1 («Синтол», РФ). Реакційна суміш загальним обсягом 25 мкл містила 1 мкл Random-6 праймера, 2 мкл тотальної РНК, 8,5 мкл деіонізованої H_2O , очищеної від нуклеаз, 12,5 мкл реакційної суміші та 1 мкл ревертази MMLV-RT. Зворотну транскрипцію проводили при 45 °C упродовж 45 хвилин із наступним нагріванням для інактивації MMLV-RT протягом 5 хв при 92 °C.

Для визначення рівня експресії досліджуваних генів використовували ампліфікатор CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США) та набір реактивів для проведення ПЛР-РЧ за наявності SYBR Green R-402 («Синтол», РФ). Фінальна реакційна суміш для ампліфікації включала барвник SYBR Green, ДНК-полімеразу SynTaq з антитілами, що пригнічували активність ферменту, по 0,2 мкл прямого та зворотного специфічних праймерів, dNTP – дезоксинуклеозидтрифосфати, 1,45 мкл матриці (кДНК). Реакційну суміш доводили до загального обсягу 25 мкл додаванням деіонізованої H_2O . Специфічні пари праймерів (5'-3') для аналізу досліджуваних і референтного генів дібрані за допомогою програмного забезпечення PrimerBlast та виготовлені фірмою «Thermo Scientific», США (табл. 1).

Ампліфікація складалася з 45–50 циклів і виконана за таких умов: денатурація – 95 °C, 15 секунд, віджиг – 59–61 °C, 30–60 секунд, елонгація – 72 °C, 30 секунд. Як референс-ген використали ген Actin, beta (Actb). Відносну нормалізовану кількість кДНК таргетних генів визначили за методом $\Delta\Delta Ct$. Статистичний аналіз результатів ПЛР виконали за допомогою програмного забезпечення CFX Manager™ («Bio-Rad», США). В експеримент включено негативні контролю: без додавання кДНК матриці в реакцію ПЛР, без додавання мРНК матриці в синтезі кДНК, без додавання ферменту в синтезі кДНК. Усі реакції ампліфікації виконали на індивідуальних зразках у трьох повторях.

Дані статистично опрацьовані за допомогою персонального комп'ютера з використанням програми Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., ліцензія № JPZ804I382130ARCN10-J). Розраховували медіану (Me), нижній і верхній квартилі (Q_1 ; Q_3); порівняння виконали з використанням непараметричного критерію Краскела–Уоліса; зв'язки між досліджуваними параметрами вивчили з використанням коефіцієнта рангової кореляції Спірмена. Результати вважали статистично значущими на рівні 95 % ($p < 0,05$).

Таблиця 1. Специфічні пари праймерів, що були використані для аналізу досліджуваних і референтного генів

Ген	Праймер	Tm, °C	Product length (bp)	Exon junction
1	F = CCTGTTCCCTGAGGGTATT R = CCATTGTCCACGCTGGATTT	58.4 58.82	66	220/221
E-cadherin, (CDH1)	F = CAGTACAACGACCCACCCA R = ACCCACTCTAAGGCCATCT	59.89 59.96	63	2060/2061
Actin, beta (Actb)	F = CCTTTGCCGATCCGCCG R = GATATCATCATCCATGGTGAGCTGG	61.30 61.15	59	78/79

Результати

У результаті МГ-дослідження встановили: КРА порівняно з незміненою слизовою оболонкою дистальної товстої кишки характеризується зниженою транскрипційною активністю гена *CDH1*: значення відносної нормалізованої експресії мРНК гена становить 0,35 (0,09; 0,70). Є тенденція до зниження транскрипційної активності гена *CDH1* у групах спостереження від I до IV стадії КРА за градацією pTNM: відносна нормалізована експресія мРНК гена для I стадії становить 0,88 (0,42; 1,14), для II стадії – 0,48 (0,23; 1,13), для III стадії – 0,15 (0,09; 0,36), для IV стадії – 0,08 (0,04; 0,41) (Краскел–Уоліс, $p < 0,05$, рис. 1).

Результати МГ-дослідження узгоджуються з результатами паралельно здійсненого ІГХ-дослідження експресії Е-кадгерину в тих самих зразках (табл. 2). Встановлено, що раковим клітинам КРА властивий низький рівень мембранно-цитоплазматичної експресії Е-кадгерину: експресія ІГХ маркера становить 43,74 (31,42; 85,60) УООЩ (рис. 2).

Виявлено тенденцію до зниження рівня експресії Е-кадгерину за умов прогресування пухлини: експресія маркера на I стадії КРА становить 88,09 (60,22; 112,34) УООЩ, на II стадії – 55,70 (41,15; 98,07) УООЩ, на III стадії – 32,58 (30,21; 44,58) УООЩ, на IV стадії – 24,82 (23,02; 40,81) УООЩ (Краскел–Уоліс, $p < 0,05$; рис. 3).

За результатами МГ-дослідження встановлено: КРА порівняно з незміненою слизовою оболонкою дистальної товстої кишки характеризується в понад двічі підвищеною транскрипційною активністю гена *CTNNB1*: відносна нормалізована експресія мРНК гена становить 2,63 (1,55; 5,09). Порівняльний аналіз рівнів транскрипційної активності гена *CTNNB1* на різних стадіях розвитку КРА вказує на відсутність статистично значущої різниці: відносна нормалізована експресія мРНК гена для I стадії становить 2,88 (2,38; 5,38), для II – 3,83 (2,59; 5,99), для III – 2,02 (1,38; 6,95), для IV – 2,27 (1,23; 2,93) (Краскел–Уоліс, $p < 0,05$, рис. 4).

Результати МГ-дослідження узгоджуються з результатами паралельно виконаного ІГХ-дослідження експресії β -катеніну (табл. 2). Встановили, що ракові клітини КРА характеризуються високим рівнем мембранно-цитоплазматичної експресії β -катеніну: експресія маркера становить 117,35 (111,69; 120,32) УООЩ (рис. 5).

Порівняльний аналіз рівнів ІГХ експресії β -катеніну на різних стадіях розвитку КРА вказує на відсутність статистично значущої різниці: експресія маркера на I стадії становить 116,73 (112,28; 120,06), на II – 120,23 (116,06; 135,16), на III – 115,85 (110,09; 120,23), на IV – 115,59 (111,11; 120,37) (Краскел–Уоліс, $p < 0,05$; рис. 6).

Кореляційний аналіз виявив низку статистично значущих зв'язків (табл. 3). Так, визначили прямий сильний зв'язок між рівнями транскрипційної активності досліджуваних генів та експресії кодованих ними молекул: між рівнем відносної нормалізованої експресії мРНК гена *CDH1* і рівнем експресії Е-кадгерину в КРА ($r = 0,90$, $p < 0,05$), між рівнем відносної нормалізованої експресії мРНК гена *CTNNB1* і рівнем експресії β -катеніну в КРА ($r = 0,74$, $p < 0,05$).

У цьому дослідженні виявили зворотний середньої сили зв'язок між рівнями відносної нормалізованої

експресії мРНК генів *KRAS* і *CDH1* ($r = -0,41$, $p < 0,05$), відносної нормалізованої експресії мРНК гена *KRAS* та ІГХ експресії Е-кадгерину ($r = -0,47$, $p < 0,05$), а також прямий середньої сили зв'язок між рівнями відносної нормалізованої експресії мРНК гена *KRAS* та ІГХ експресії β -катеніну ($r = 0,41$, $p < 0,05$).

Обговорення

Згідно з отриманими даними, тенденція до пригнічення транскрипційної активності гена *CDH1* реалізується під час кишкового канцерогенезу та прогресує від I до IV стадії розвитку КРА. Зниження експресії *CDH1* і, відповідно, кодованого ним Е-кадгерину формує основу порушення адгезивних міжклітинних зв'язків, у результаті чого ракові клітини отримують можливість відокремлюватись одна від одної. Разом з іншими ланками ЕМП здатність до відокремлення є важливим фактором реалізації інвазивних властивостей ракових клітин [3].

За даними фахової літератури, втрата експресії Е-кадгерину за умов кишкового канцерогенезу може бути зумовлена мутаціями, епігенетичними аномаліями, а також активністю ендоцитозу та протеолізу, що зростає [3]. Серед найбільш поширених причин зниження експресії Е-кадгерину у КРА – пригнічення експресії *CDH1* специфічними факторами транскрипції (Snail, Slug тощо), які активуються на початку ЕМП [16], а також посттрансляційна модифікація молекул Е-кадгерину (O-mannosylation тощо) [17]. За даними S. A. Kim et al. (2016), зниження експресії *CDH1* у КРА асоціюється з інвазивною стадією розвитку пухлини, а також з її лімфогенним метастазуванням; дослідники виключили асоціацію зниження експресії цього гена з віддаленим метастазуванням КРА [18]. За даними J. Bruun et al. (2014), зниження мембранно-цитоплазматичної експресії Е-кадгерину у КРА асоціюється зі зниженням 5-річної виживаності пацієнтів (дані аналізу виживаності 903 хворих) [19].

Також виявлено підвищену транскрипційну активність гена *CTNNB1* і підвищений рівень експресії кодованого ним β -катеніну в КРА. Найбільш поширеним варіантом молекулярно-генетичних аномалій, що забезпечують підвищення рівня експресії β -катеніну пухлинними клітинами КРА, є мутації гена *APC*. Це точкові мутації, що призводять до аномалій функціонування так званого «комплексу деструкції». Білок APC входить до складу цього комплексу та за нормальних умов конкурує з молекулами Е-кадгерину за зв'язування з молекулами β -катеніну, а також забезпечує фосфорилювання останніх разом з Axin і GSK3 β . Типовим наслідком мутацій *APC* є надмірне накопичення β -катеніну в цитоплазмі з наступною активацією Wnt/ β -катенінового сигнального каскаду [9]. Такий варіант підвищення експресії β -катеніну не асоційований зі зростанням транскрипційної активності гена *CTNNB1* [7], що встановлено в нашому дослідженні.

У фаховій літературі знайдено суперечливі дані щодо особливостей експресії гена *CTNNB1*, кодованого ним β -катеніну, а також функціонування канонічного Wnt-сигнального шляху за умов прогресії КРА. За даними P. J. Morin et al. (2016), головною

Таблиця 2. Рівні відносної нормалізованої експресії мРНК генів *CDH1*, *CTNNB1*, а також імуногістохімічної експресії кодованих ними молекул Е-кадгерину і β -катеніну

Ген / кодований білок	Відносна нормалізована експресія мРНК гена	Експресія відповідного ІГХ маркера
<i>CDH1</i> / Е-кадгерин	0,35 (0,09; 0,70)	43,74 (31,42; 85,60) УООЩ
<i>CTNNB1</i> / β -катенін	2,63 (1,55; 5,09)	117,35 (111,69; 120,32) УООЩ

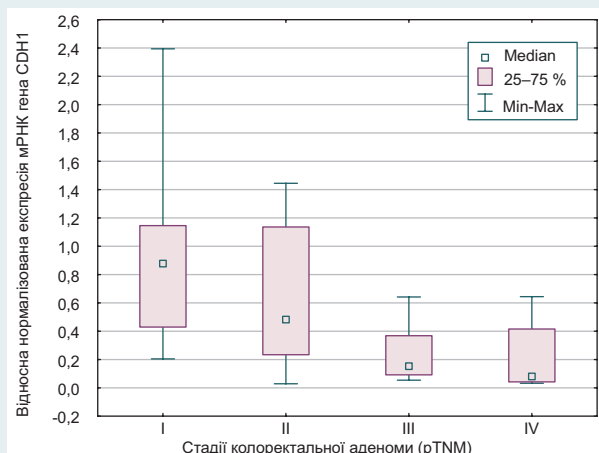


Рис. 1. Відносна нормалізована експресія мРНК гена *CDH1* у колоректальній аденокарциномі на різних стадіях її розвитку.

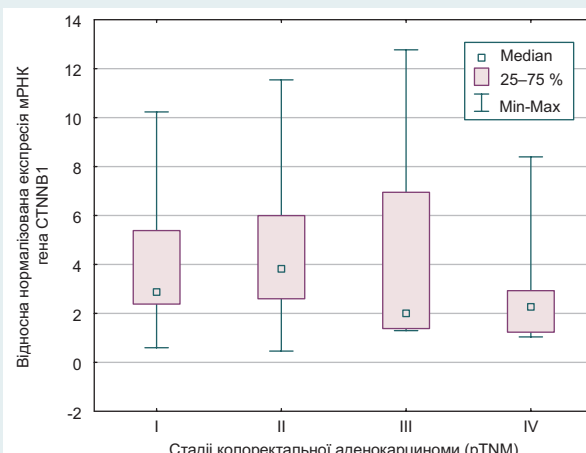


Рис. 4. Відносна нормалізована експресія мРНК гена *CTNNB1* у колоректальній аденокарциномі на різних стадіях її розвитку.

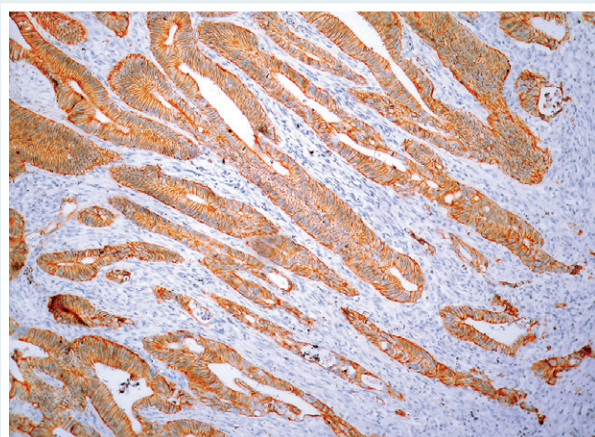


Рис. 2. Мембранно-цитоплазматична експресія Е-кадгерину в колоректальній аденокарциномі. Мо *a-Hu E-cadherin*, Clone *NCH-38* (DAKO, USA). 36. $\times 400$.

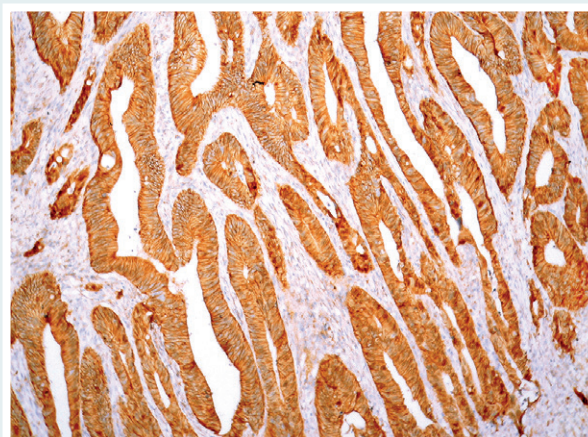


Рис. 5. Мембранно-цитоплазматична експресія β -катеніну в колоректальній аденокарциномі. Мо *a-Hu β -catenin*, Clone *β -Catenin-1* (DAKO, USA). 36. $\times 400$.

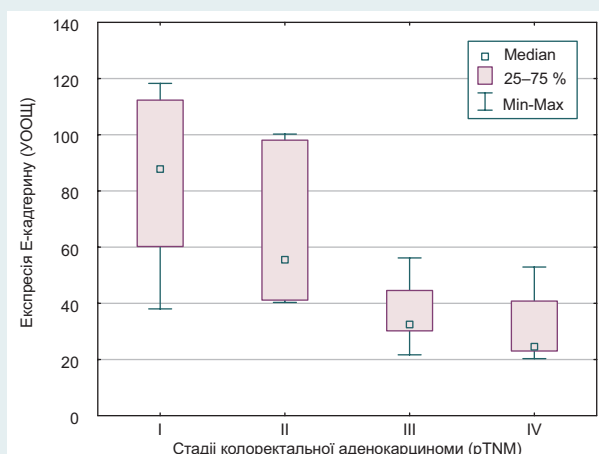


Рис. 3. Експресія Е-кадгерину в колоректальній аденокарциномі на різних стадіях її розвитку.

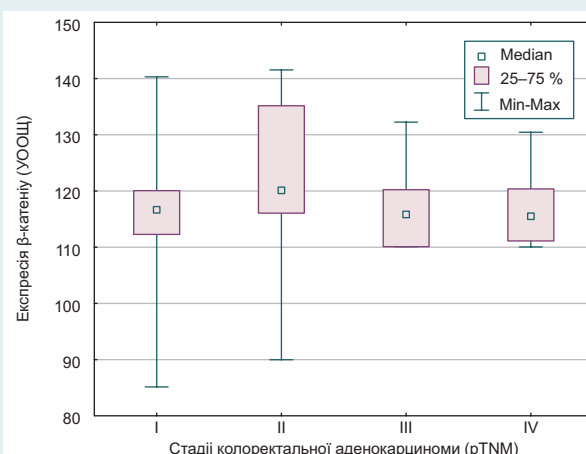


Рис. 6. Експресія β -катеніну в колоректальній аденокарциномі на різних стадіях її розвитку.

Таблиця 3. Кореляційні зв'язки між рівнями відносної нормалізованої експресії мРНК генів *CDH1*, *CTNNB1*, *KRAS* та імуногістохімічної експресії Е-кадгерину та β -катеніну

	<i>CDH1</i>	Е-кадгерин	<i>CTNNB1</i>	β -катенін	<i>KRAS</i>
<i>CDH1</i>	1,00	0,90*	-0,00	-0,26	-0,41*
Е-кадгерин	0,90*	1,00	0,01	-0,21	-0,47*
<i>CTNNB1</i>	-0,00	0,01	1,00	0,74*	0,20
β -катенін	-0,26	-0,21	0,74*	1,00	0,41*
<i>KRAS</i>	-0,41*	-0,47*	0,20	0,41*	1,00

*: статистично вірогідний кореляційний зв'язок ($p < 0,05$).

причиною підвищення експресії гена *CTNNB1* є його активуючі мутації. Вчені довели, що мутації генів *CTNNB1* і *APC* є взаємовиключними для КРА. Показано, що мутації гена *APC* зазвичай призводять до порушення нормальної схеми роботи Wnt/ β -катенінового каскаду, а мутації *CTNNB1* не асоціюються з порушеннями функцій цього каскаду, при цьому в обох випадках спостерігають накопичення β -катеніну в цитоплазмі, а іноді й у клітинному ядрі [7]. За даними G. M. Bourroul et al. (2016), рівень експресії β -катеніну раковими клітинами КРА прямо корелює зі зниженням показників виживаності хворих [8]. N. Youshida et al. (2015) дослідили випадки КРА, асоційовані зі зниженням експресії гена *CTNNB1* і кодованого ним β -катеніну. У цій роботі показано: випадки КРА, які характеризуються одночасним зниженням рівнів експресії гена *CTNNB1*, β -катеніну та Е-кадгерину, відрізняються значущо гіршим прогнозом виживаності. Дослідники пояснили цей факт можливістю залучення інших сигнальних шляхів (крім канонічного Wnt-сигнального каскаду) до реалізації злочасного потенціалу КРА [9].

Дані, що одержали за допомогою кореляційного аналізу, узгоджуються з усталеними уявленнями щодо процесу біосинтезу білків і з високою ймовірністю включають можливість молекулярно-генетичних аномалій на етапах транскрипції та трансляції Е-кадгерину та β -катеніну у КРА. Результати дослідження E. Lemieux et al. (2015) [12] стали приводом для вивчення зв'язків між транскрипційною активністю гена *KRAS*, а також експресією мРНК генів *CDH1*, *CTNNB1* і кодованих ними молекул Е-кадгерину та β -катеніну. В попередній роботі [20] вивчили особливості транскрипційної активності гена *KRAS* у пухлинних клітинах КРА: випадки підвищення рівня відносної нормалізованої експресії мРНК гена становлять 87,5 % від загальної кількості спостережень, зазначений показник дорівнює 1,66 (1,19; 2,91). Є тенденція до зростання транскрипційної активності гена *KRAS* у групах спостереження – від I до IV стадії КРА за градацією pTNM. Виявлений зв'язок між рівнями транскрипційної активності генів *KRAS* і *CDH1*, а також рівнем ІГХ-експресії Е-кадгерину обґрунтовується в сучасній фаховій літературі. Відомо, що Е-кадгерин залучається до механізмів міжклітинних взаємодій, оскільки його екстрацелюлярний домен здатен до зв'язування з рецепторами епідермального фактора росту (EGFR). Зв'язуючись з EGFR, Е-кадгерин перешкоджає приєднанню лігандів до рецепторів, що за умов нормального функціонування передають сигнали на внутрішньоклітинний білок RAS (кодований геном *KRAS*) [21]. Це може пояснити виявлений нами

зворотний зв'язок, адже зниження експресії Е-кадгерину асоціюється зі збільшенням кількості «вільних» рецепторів EGFR, що потребують відповідної (більшої) кількості молекул RAS, яка забезпечується відповідним (підвищеним) рівнем транскрипційної активності гена *KRAS*. Відомо, що активація гена *KRAS* асоціюється з активацією низки факторів транскрипції, серед них є Snail – відомий своєю здатністю до пригнічення транскрипції гена *CDH1* шляхом гіперметилування його промоторного регіону [16]. Цей механізм пояснює зворотний зв'язок між рівнями транскрипційної активності генів *KRAS* і *CDH1*.

Зв'язок між рівнями транскрипційної активності гена *KRAS* та ІГХ експресії β -катеніну обґрунтовано в роботі E. Lemieux et al. (2015) [12]. За даними дослідників, механізм цієї асоціації полягає в тому, що патологічна активація гена *KRAS*, яка реалізується за умов кишкового канцерогенезу та зумовлюється низкою соматичних мутацій, призводить до MEK-залежного фосфорилування Dvl-молекул (ці молекули забезпечують передачу сигналів з Fz-рецепторів до основного протеїну «комплексу деструкції» Axin, забезпечуючи активацію Wnt/ β -катенінового сигнального шляху). Наслідком фосфорилування Dvl-молекул є блок сигналів із Fz-рецепторів, що унеможливає активацію канонічного Wnt-каскаду. Отже, навіть за умов стимуляції клітин Wnt-лігандами, надмірне накопичення β -катеніну не відбувається, оскільки «комплекс деструкції» функціонує й забезпечує деградацію молекул β -катеніну [12]. Наведений механізм пояснює результати проведеного нами дослідження: підвищений рівень транскрипційної активності гена *CTNNB1* (зумовлений мутаціями, базуючись на даних фахової літератури) забезпечує високий рівень експресії β -катеніну; спостерігається мембранно-цитоплазматична експресія β -катеніну за відсутності імунозабарвлених ядер, тобто рівень експресії маркера не сягає критичних значень, котрі відповідають транслокації молекул β -катеніну в ядра клітин, що вказує на збереження функції «комплексу деструкції». Отже, провідна роль у прогресії КРА належить зниженню експресії *CDH1* і кодованого ним Е-кадгерину, наслідком яких є втрата адгезивних міжклітинних зв'язків, асоційована та опосередкована аномальною активністю *KRAS*, а Wnt/ β -катеніновий сигнальний шлях, вочевидь, не залучається до реалізації механізмів прогресії КРА від I до IV стадії.

Висновки

1. Колоректальна аденокарцинома характеризується зниженим рівнем транскрипційної активності гена *CDH1* [0,35 (0,09; 0,70)], що корелює ($r = 0,90$) із низьким рівнем експресії Е-кадгерину [43,74 (31,42; 85,60) УООЩ], а також підвищеним рівнем транскрипційної активності гена *CTNNB1* [2,63 (1,55; 5,09)], що корелює ($r = 0,74$) з високим рівнем експресії β -катеніну [117,35 (111,69; 120,32) УООЩ].

2. При прогресії колоректальної аденокарциноми від I до IV стадії за градацією pTNM у пухлинних клітинах зростає транскрипційна активність гена *CDH1* та експресія кодованого ним Е-кадгерину ($p < 0,05$).

3. Для колоректальної аденокарциноми характерні зворотні зв'язки між рівнями експресії мРНК генів *KRAS* і *CDH1* ($r = -0,41$), мРНК гена *KRAS* та експресії Е-кадгерину ($r = -0,47$), а також прямий зв'язок між рівнями експресії мРНК гена *KRAS* та експресії β -катеніну ($r = 0,41$).

Подяка

Автори висловлюють вдячність проф. О. М. Камишному та співробітникам ПЛР-лабораторії навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету, за участю яких виконано молекулярно-генетичні дослідження.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Запорізького державного медичного університету «Раннє молекулярно-генетичне та імуногістохімічне прогнозування схильності до прогресування раку легень та органів травлення» № держреєстрації 0117U002580 (2017–2019).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

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

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

Сведения об авторах:

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

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

Information about authors:

Shyshkin M. A., MD, PhD, Associate Professor, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Tumanskyi V. O., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Honorary Scientist and Engineering Worker of Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 19.07.2018

Після доопрацювання / Revised: 06.08.2018

Прийнято до друку / Accepted: 16.08.2018

Список літератури

- [1] Church J. Molecular genetics of colorectal cancer / J. Church // *Seminars in Colon and Rectal Surgery*. – 2016. – Vol. 27. – №4. – P. 172–175.
- [2] E-cadherin: A potential biomarker of colorectal cancer prognosis / N. Christou, A. Perraud, S. Blondy, et al. // *Oncology Letters*. – 2017. – Vol. 13(6). – P. 4571–4576.
- [3] E-cadherin: Its dysregulation in carcinogenesis and clinical implications / S.H.M. Wong, C.M. Fang, L.H. Chuah, et al. // *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. – 2018. – Vol. 121. – P. 11–22.
- [4] Loss of E-cadherin promotes the growth, invasion and drug resistance of colorectal cancer cells and is associated with liver metastasis / X. Chen, Y. Wang, H. Xia, et al. // *Molecular Biology Reports*. – 2012. – Vol. 39(6). – P. 6707–6714.

- [5] Prospero homeobox 1 promotes epithelial-mesenchymal transition in colon cancer cells by inhibiting E-cadherin via miR-9 / M.H. Lu, C.C. Huang, M.R. Pan, et al. // *Clinical Cancer Research*. – 2012. – Vol. 18(23). – P. 6416–6425.
- [6] 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.
- [7] β -Catenin Mutations: Insights into the APC Pathway and the Power of Genetics / P.J. Morin, K.W. Kinzler, A.B. Sparks // *Cancer Research*. – 2016. – Vol. 76(19). – P. 5587–5589.
- [8] The destruction complex of beta-catenin in colorectal carcinoma and colonic adenoma / G.M. Bourroul, H.J. Fragoso, J.W. Gomes, et al. // *Einstein (San Paulo)*. – 2016. – Vol. 14(2). – P. 135–42.
- [9] Analysis of Wnt and β -catenin Expression in Advanced Colorectal Cancer / N. Yoshida, T. Kinugasa, K. Ohshima, et al. // *Anticancer Research*. – 2015. – Vol. 35(8). – P. 4403–10.
- [10] Oncogenic Kras drives invasion and maintains metastases in colorectal cancer / A.T. Boutin, W.T. Liao, M. Wang, et al. // *Genes & Development*. – 2017. – Vol. 31(4). – P. 370–382.
- [11] Exploring cancer proliferative signaling pathways / ed. by J.P. Manzi. – Boston : ThermoFisher SCIENTIFIC, 2015. – 75 p.
- [12] Oncogenic KRAS signalling promotes the Wnt/ β -catenin pathway through LRP6 in colorectal cancer / E. Lemieux, S. Cagnol, K. Beaudry, et al. // *Oncogene*. – 2015. – Vol. 34(38). – P. 4914–4927.
- [13] Sobin L.H. International Union Against Cancer (UICC): TNM Classification of Malignant Tumours / L.H. Sobin, M.K. Gospodarowicz, C. Wittekind. – N. Y. : Wiley-Blackwell, 2009. – 50 p.
- [14] Патент України на корисну модель № 99314 Україна, МПК (2015) G01N 21/00, G06K 9/00. Спосіб фотоцифрової морфометрії імуногістохімічних препаратів / В.О. Туманський, А.В. Євсєєв, І.С. Коваленко, М.Д. Зубко; заявник та патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – №2014 14 103; заявл. 29.12.2014; опубл. 25.05.11 // *Бюлетень*. – №10.
- [15] Rasband W.S. National Institutes of Health [Электронный ресурс] / W.S. Rasband, J. Image. – Bethesda, Maryland. – Режим доступу: USA – <http://imagej.nih.gov/ij/>, 1997-2016.
- [16] Downregulated E-cadherin expression indicates worse prognosis in Asian patients with colorectal cancer: evidence from meta-analysis / X. He, Z. Chen, M. Jia, X. Zhao // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8(7). – e70858.
- [17] Buda A. E-cadherin and the cytoskeletal network in colorectal cancer development and metastasis / A. Buda, M. Pignatelli // *Cell Communication & Adhesion*. – 2011. – Vol. 18(6). – P. 133–143.
- [18] Loss of CDH1 (E-cadherin) expression is associated with infiltrative tumour growth and lymph node metastasis / S.A. Kim, K. Inamura, M. Yamauchi, et al. // *British Journal of Cancer*. – 2016. – Vol. 114(2). – P. 199–206.
- [19] Prognostic Significance of β -Catenin, E-Cadherin, and SOX9 in Colorectal Cancer: Results from a Large Population-Representative Series / J. Bruun, M. Kolberg, J.M. Nesland, et al. // *Frontiers in Oncology*. – 2014. – Vol. 4. – P. 118.
- [20] Шишкін М.А. Молекулярно-імуногістохімічна характеристика проліферації та апоптозу опухолевих кліток колоректальної аденокарциноми / М.А. Шишкін // *Патологія*. – 2018. – Т. 15. – №1(42). – С. 49–56.
- [21] Expression of E-cadherin and KRAS mutation may serve as biomarkers of cetuximab-based therapy in metastatic colorectal cancer / K. Nakamoto, H. Nagahara, K. Maeda, et al. // *Oncology Letters*. – 2013. – Vol. 5(4). – P. 1295–1300.

References

- [1] Church, J. (2016) Molecular genetics of colorectal cancer. *Seminars in Colon and Rectal Surgery*, 27(4), 172–175.
- [2] Christou, N., Perraud, A., Blondy, S., Jauberteau, M. -O., Battu, S., & Mathonnet, M. (2017) E-cadherin: A potential biomarker of colorectal cancer prognosis. *Oncology Letters*, 13(6), 4571–4576. doi: 10.3892/ol.2017.6063.
- [3] Wong, S. H. M., Fang, C. M., Chuah, L. H., Leong, C. O., ? Ngai, S. C. (2018) E-cadherin: Its dysregulation in carcinogenesis and clinical implications. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 121, 11–22. doi: 10.1016/j.critrevonc.2017.11.010.
- [4] Chen, X., Wang, Y., Xia, H., Wang, Q., Jiang, X., Lin, Z., et al. (2012) Loss of E-cadherin promotes the growth, invasion and drug resistance of colorectal cancer cells and is associated with liver metastasis. *Molecular Biology Reports*, 39(6), 6707–6714. doi: 10.1007/s11033-012-1494-2.
- [5] Lu, M. H., Huang, C. C., Pan, M. R., Chen, H. H., & Hung, W. C. (2012) Prospero homeobox 1 promotes epithelial-mesenchymal transition in colon cancer cells by inhibiting E-cadherin via miR-9. *Clinical Cancer Research*, 18(23), 6416–6425. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0832.

- [6] Isaeva, A. V., Zima, A. P., Shabalova, I. P., Ryazantseva, N. V., Vasil'eva, O. A., Kasoayn, K. T., et al. (2015) β -Catenin: struktura, funkci i rol' v opukholevoj transformacii e'pitelial'nykh kletok [S-catenin: structure, function and role in malignant transformation of epithelial cells]. *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk*, 70(4), 475–483. [in Russian]. doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1415.
- [7] Morin, P. J., Kinzler, K. W., & Sparks, A. B. (2016) β -Catenin Mutations: Insights into the APC Pathway and the Power of Genetics. *Cancer Research*, 76(19), 5587–5589. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2387.
- [8] Bourroul, G. M., Fragoso, H. J., Gomes, J. W., Bourroul, V. S., Ohshima, C. T., Gomes, T. S., et al. (2016) The destruction complex of beta-catenin in colorectal carcinoma and colonic adenoma. *Einstein (San Paulo)*, 14(2), 135–42. doi: 10.1590/S1679-45082016AO3678.
- [9] Yoshida, N., Kinugasa, T., Ohshima, K., Yuge, K., Ohchi, T., Fujino, S., et al. (2015) Analysis of Wnt and β -catenin Expression in Advanced Colorectal Cancer. *Anticancer Research*, 35(8), 4403–10.
- [10] Boutin, A. T., Liao, W. T., Wang, M., Hwang S. S., Karpinets, T. V., Cheung, H., et al. (2017) Oncogenic Kras drives invasion and maintains metastases in colorectal cancer. *Genes & Development*, 31(4), 370–382. doi: 10.1101/gad.293449.116.
- [11] Manzi, J. P. (Ed.) (2015). *Exploring cancer proliferative signaling pathways*. Boston: ThermoFisher SCIENTIFIC.
- [12] Lemieux, E., Cagnol, S., Beaudry, K., Carrier, J., & Rivard, N. (2015) Oncogenic KRAS signalling promotes the Wnt/ β -catenin pathway through LRP6 in colorectal cancer. *Oncogene*, 34(38), 4914–4927. doi: 10.1038/onc.2014.416.
- [13] Sobin, L. H., Gospodarowicz, M. K., & Wittekind, C. (2009) *International Union Against Cancer (UICC): TNM Classification of Malignant Tumours*. New York: Wiley-Blackwell.
- [14] 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 micro-preparations]. *Biuletyn*, 10. [in Ukrainian].
- [15] Rasband, W. S. (1997–2016) Image. J. Bethesda, Maryland. Retrived from: <http://imagej.nih.gov/ij/>.
- [16] He, X., Chen, Z., Jia, M., & Zhao, X. (2013) Downregulated E-cadherin expression indicates worse prognosis in Asian patients with colorectal cancer: evidence from meta-analysis. *PLoS One*, 8(7), e70858. doi: 10.1371/journal.pone.0070858.
- [17] Buda, A., & Pignatelli, M. (2011) E-cadherin and the cytoskeletal network in colorectal cancer development and metastasis. *Cell Communication & Adhesion*, 18(6), 133–143. doi: 10.3109/15419061.2011.636465.
- [18] Kim, S. A., Inamura, K., Yamauchi, M., Nishihara, R., Mima, K., Sukawa, Y., et al. (2016) Loss of CDH1 (E-cadherin) expression is associated with infiltrative tumour growth and lymph node metastasis. *British Journal of Cancer*, 114(2), 199–206. doi: 10.1038/bjc.2015.347.
- [19] Bruun, J., Kolberg, M., Nesland, J. M., Svindland, A., Nesbakken, A., Lothe, R. A. (2014) Prognostic Significance of β -Catenin, E-Cadherin, and SOX9 in Colorectal Cancer: Results from a Large Population-Representative Series. *Frontiers in Oncology*, 4, 118–120. doi: 10.3389/fonc.2014.00118.
- [20] Shyshkin, M. A. (2018) Molekulyarno-immunogistokhimicheskaya kharakteristika proliferacii i apoptoza opukholevykh kletok kolorektalnoj adenokarcinomy [Molecular-immunohistochemical characteristics of proliferation and apoptosis of tumor cells in colorectal adenocarcinoma]. *Pathologia*, 15(1), 49–56. [in Russian]. doi: 10.14739/2310-1237.2018.1.129447.
- [21] Nakamoto, K., Nagahara, H., Maeda, K., Noda, E., Inoue, T., Yashiro, M., et al. (2013) Expression of E-cadherin and KRAS mutation may serve as biomarkers of cetuximab-based therapy in metastatic colorectal cancer. *Oncology Letters*, 5(4), 1295–1300. doi: 10.3892/ol.2013.1187.

Efficacy of regional analgesia techniques in abdominal surgery patients with obesity

S. I. Vorotyntsev¹, M. B. Hrynovska², M. M. Sofilkanych¹, O. V. Zakharchuk¹

¹Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine, ²Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine

The use of regional anesthetic techniques in abdominal surgery is an essential component of the multimodal approach to perioperative analgesia, yet data on their use in obese patients remains limited.

The aim of this study is to determine the effectiveness of the epidural analgesia (EA) and the transversus abdominis plane block (TAP-block) in laparoscopic obese patients, as well as to evaluate the possibility of using the rectus sheath block (RSB) as a "rescue" anesthetic technique after laparotomy in obese patients.

Materials and methods. The data on the 102 obese patients operated on esophageal hiatal diaphragmatic hernia, colon tumor, postoperative ventral hernia, morbid obesity and cholelithiasis were analyzed. In laparoscopic surgery 20 patients received EA (EA group), 21 patients – TAP-block (TAP group), 21 patients – opioids and non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) without any regional anesthesia techniques (group TIVA₁). In laparotomic surgery 16 patients received RSB (RSB group) and 24 patients – only opioids and NSAIDs (TIVA₂ group). After the surgery the following was estimated: the time of extubation, the total dose of opioids, the level of pain according to the 10-point numeric range score (NRS), the incidence of dyspnea using the monitor Utas 300 (Ukraine), the incidence of postoperative nausea and vomiting (PONV), the time of active patient mobilization, and the level of satisfaction with analgesic regimen. For the RSB group, the complexity of the RSB and the mean time to achieve adequate analgesia (pain intensity ≤ 3 points per NRS) were determined additionally. The statistical analysis was performed using the Statistica for Windows version 6.0 software.

Results. In the EA group, the intraoperative dose of fentanyl was twice lower, and patients were extubated two times faster than in the TAP, TIVA₁, RSB, TIVA₂ groups ($P < 0.05$). At the same time, none of the patients in the EA group required the restoration of neuromuscular conduction with neostigmine ($P < 0.05$). After the surgery, the pain level was 2–3 times higher in the TIVA₁, RSB, and TIVA₂ groups than in the EA and TAP groups ($P < 0.05$). "Rescue" analgesia in the RSB group was performed from the first attempt in all the patients in 5–10 minutes and provided an adequate effect in 3 (2–4) min. The complexity level of RSB was defined as "easy" in 12 (75 %) patients, as "average" in 4 (25 %) patients ($P < 0.05$). The incidence of dyspnea and opioid doses after surgery in the EA, TAP and RSB groups of patients were 2 times lower, and the incidence of PONV was 3 to 4 times lower than in the TIVA₁ and TIVA₂ patients' groups ($P < 0.05$). In the EA and TAP groups, patients became mobile after 8–13 hours after surgery, in the group TIVA₁ – after 16–22 hours, in the group RSB – after 18–36 hours, in the group TIVA₂ – after 48–96 hours ($P < 0.05$). 100 % of the respondents from the EA, TAP and RSB groups were satisfied with the analgesic regimen at the "excellent – good" level. In the TIVA₁ and TIVA₂ groups, 20–25 % of respondents identified analgesic comfort as "good", 60–65 % of respondents – as "satisfactorily", about 15 % of respondents – as "unsatisfactorily" ($P < 0.05$).

Conclusions. In laparoscopic surgery the use of EA or TAP-block in obese patients significantly reduces the level of post-operative pain, the need for opioids, the incidence of dyspnea and PONV, which leads to the possibility of patients' mobilization within 8–13 hours after surgery. After laparotomic surgery in obese patients RSB effectively "rescues" from pain and prevents excessive use of opioids, which reduces the number of adverse reactions and increases satisfaction with the quality of analgesia.

Key words:

obesity, surgical procedures, analgesia and anesthesia.

Pathologia

2018; 15 (2), 229–235

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.2.141426

E-mail:

vorotyntsev_s@ukr.net

Ефективність регіонарних технік аналгезії в абдомінальній хірургії в пацієнтів з ожирінням

С. І. Воротинцев, М. Б. Гриньовська, М. М. Софілканіч, О. В. Захарчук

Використання регіонарних технік аналгезії в абдомінальній хірургії є важливим компонентом мультиmodalного підходу до періопераційного знеболення, але дані щодо їх застосування в пацієнтів з ожирінням залишаються обмеженими.

Мета роботи – визначити ефективність епідуральної аналгезії (EA) та блоку площини поперечного м'яза живота (TAP-блоку) під час лапароскопічних операцій у пацієнтів з ожирінням, а також оцінити можливість використання блоку піхви прямого м'яза живота (RSB) як «рятівного» знеболення після лапаротомних операцій у пацієнтів з ожирінням.

Матеріали та методи. Проаналізували дані 102 пацієнтів з ожирінням, які оперовані з приводу грижі стравохідного отвору діафрагми, пухлини товстого кишечника, післяопераційної вентральної грижі, морбідного ожиріння та холедохолітіазу. Для періопераційної аналгезії лапароскопічних операцій у 20 пацієнтів використовували EA (група EA), у 21 пацієнта – TAP-блок (група TAP), у 21 пацієнта – опіоїди та нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) без будь-яких регіонарних технік знеболення (група TIVA₁). Під час лапаротомії у 16 пацієнтів застосовували RSB (група RSB), у 24 пацієнтів – тільки опіоїди та НПЗЗ (група TIVA₂). Після операції оцінювали час екстубації трахеї, загальну дозу наркотиків, рівень болю за 10-бальною цифровою рейтинговою шкалою (NRS), інцидентність диспное за допомогою монітора Utas 300 (Україна), випадки післяопераційної нудоти та блювоти (PONV), час активної мобілізації пацієнтів та рівень задоволеності анагетичним режимом. Для групи RSB додатково визначали складність виконання RSB і середній час досягнення адекватної аналгезії (інтенсивність болю ≤ 3 балів за NRS). Статистичний аналіз виконали за допомогою програми Statistica for Windows version 6.0.

Ключові слова:

ожиріння, абдомінальна хірургія, анестезія та знеболення.

Патологія. – 2018. –

Т. 15, № 2(43). – С. 229–235

Результати. У групі ЕА інтраопераційна доза фентанілу була вдвічі меншою, а пацієнти були екстубовані вдвічі швидше, ніж в групах ТАР, ТВА₁, RSB, ТВА₂ ($p < 0,05$). Жоден пацієнт із групи ЕА не потребував відновлення нервово-м'язової провідності за допомогою неостигміну ($p < 0,05$). Після операції рівень болю був у 2–3 рази вищим у групах ТВА₁, RSB, ТВА₂, ніж у групах ЕА і ТАР ($p < 0,05$). «Рятівне» знеболення у групі RSB виконали з першої спроби в усіх пацієнтів за 5–10 хв, отримали адекватний ефект через 3 (2–4) хв. Рівень складності RSB визначений як «легко» у 12 (75 %) пацієнтів, як «середньо» у 4 (25 %) пацієнтів ($p < 0,05$). Інцидентність диспное та доза опіоїдів після операції в пацієнтів із груп ЕА, ТАР і RSB була вдвічі меншою, а інцидентність PONV в 3–4 рази меншою, ніж у пацієнтів із груп ТВА₁ і ТВА₂ ($p < 0,05$). У групах ЕА і ТАР пацієнти стали мобільними через 8–13 годин, у групі ТВА₁ – через 16–22 години, в групі RSB – через 18–36 годин, у групі ТВА₂ – через 48–96 годин після операції ($p < 0,05$). З груп ЕА, ТАР і RSB 100 % респондентів були задоволені анагетичним режимом на рівні «відмінно – добре». У групах ТВА₁ і ТВА₂ 20–25% респондентів визначили рівень анагетичного комфорту як «добре», 60–65 % – як «задовільно», майже 15 % – як «незадовільно» ($p < 0,05$).

Висновки. У лапароскопічній хірургії в пацієнтів з ожирінням використання ЕА або ТАР-блоку вірогідно знижує рівень післяопераційного болю, необхідність застосування опіоїдів, інцидентність диспное та PONV, що призводить до можливості мобілізації пацієнтів уже через 8–13 годин після операції. Після лапаротомної хірургії в пацієнтів з ожирінням RSB ефективно «рятує» від болю та запобігає надмірному призначенню опіоїдів, що зменшує кількість побічних реакцій та підвищує задоволеність пацієнтів якістю анагезії.

Ключевые слова:
ожирение,
абдоминальная
хирургия,
анестезия
и обезболивание.

Патологія. – 2018. –
Т. 15, № 2(43). –
С. 229–235

Эффективность регионарных техник анагезии в абдоминальной хирургии у пациентов с ожирением

С. И. Воротынцев, М. Б. Гриновская, М. М. Софилканич, А. В. Захарчук

Использование регионарных техник анагезии в абдоминальной хирургии – важный компонент мультимодального подхода к периоперационному обезболиванию, но данные по их применению у пациентов с ожирением остаются ограниченными.

Цель работы – определить эффективность эпидуральной анагезии (ЭА) и блока плоскости поперечной мышцы живота (ТАР-блока) при лапароскопических операциях у пациентов с ожирением, а также оценить возможность использования блока влагалища прямой мышцы живота (RSB) в качестве «спасательного» обезболивания после лапаротомных операций у пациентов с ожирением.

Материалы и методы. Проанализированы данные 102 пациентов с ожирением, оперированных по поводу грыжи пищеводного отверстия диафрагмы, опухоли толстого кишечника, послеоперационной вентральной грыжи, морбидного ожирения и холедохолитиаза. Для периоперационной анагезии лапароскопических операций у 20 пациентов использовали ЭА (группа ЭА), у 21 пациента – ТАР-блок (группа ТАР), у 21 пациента – опіоиды и нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) без каких-либо регионарных техник анагезии (группа ТВА₁). При лапаротомии у 16 пациентов применяли RSB (группа RSB), у 24 пациентов – только опіоиды и НПВС (группа ТВА₂). После операции оценивали время экстубации трахеи, общую дозу наркотиков, уровень боли по 10-балльной цифровой рейтинговой шкале (NRS), инцидентность одышки с помощью монитора Utas 300 (Украина), случаи послеоперационной тошноты и рвоты (PONV), время активной мобилизации пациентов и уровень удовлетворенности анагетическим режимом. Для группы RSB дополнительно определяли сложность выполнения RSB и среднее время достижения адекватной анагезии (интенсивность боли ≤ 3 баллов по NRS). Статистический анализ выполнили с помощью программы Statistica for Windows version 6.0.

Результаты. В группе ЭА интраоперационная доза фентанила была вдвое меньше, а пациенты были экстубированы вдвое быстрее, чем в группах ТАР, ТВА₁, RSB, ТВА₂ ($p < 0,05$). Ни один пациент из группы ЭА не нуждался в восстановлении нейромышечной проводимости с помощью неостигмина ($p < 0,05$). После операции уровень боли был в 2–3 раза выше в группах ТВА₁, RSB, ТВА₂, чем в группах ЭА и ТАР ($p < 0,05$). «Спасательное» обезболивание в группе RSB выполнили с первой попытки у всех пациентов за 5–10 мин, получили адекватный эффект через 3 (2–4) мин. Уровень сложности RSB определен как «легко» у 12 (75 %) пациентов, как «средне» у 4 (25 %) пациентов ($p < 0,05$). Инцидентность одышки и доза опіоидов после операции у пациентов из групп ЭА, ТАР и RSB была в 2 раза меньше, а инцидентность PONV в 3–4 раза меньше, чем у пациентов из групп ТВА₁ и ТВА₂ ($p < 0,05$). В группах ЭА и ТАР пациенты стали мобильными через 8–13 часов, в группе ТВА₁ – через 16–22 часа, в группе RSB – через 18–36 часов, в группе ТВА₂ – через 48–96 часов после операции ($p < 0,05$). В группах ЭА, ТАР и RSB 100 % респондентов были довольны анагетическим режимом на уровне «отлично – хорошо». В группах ТВА₁ и ТВА₂ 20–25 % респондентов определили уровень анагетического комфорта как «хорошо», 60–65 % – как «удовлетворительно», около 15 % – как «неудовлетворительно» ($p < 0,05$).

Выводы. В лапароскопической хирургии у пациентов с ожирением использование ЭА или ТАР-блока достоверно снижает уровень послеоперационной боли, необходимость применения опіоидов, инцидентность диспноэ и PONV, что приводит к возможности мобилизации пациентов уже через 8–13 часов после операции. После лапаротомной хирургии у пациентов с ожирением RSB эффективно «спасает» от боли и предотвращает чрезмерное назначение опіоидов, что уменьшает количество их побочных реакций и повышает удовлетворенность пациентов качеством анагезии.

Background

Laparoscopy is the best surgical technique for colorectal and bariatric surgery, cholecystectomy, appendectomy, antireflux and ventral hernia operations [1]. It is incorporated into the enhanced recovery protocol (ERAS) for

intestinal and bariatric surgery [2,3]. It has been proven that compared with open resection of the bowel, laparoscopy leads to rapid recovery of its function, reduction of intraoperative blood loss, decrease in postoperative pain intensity and the need for opіoids, reduction of overall morbidity and length of hospital stay, improved short-term

quality of life [4]. In the bariatric surgery, the laparoscopy significantly reduces the length of hospital stay, reduces blood loss and the level of postoperative pain, leads to an earlier recovery [1,5].

Although laparoscopy is a less invasive technique, modern approach to perioperative analgesia should be based on the multimodal principle, when drugs with different mechanisms of action are used along with opioids, resulting in additional and/or synergistic effect on analgesia [6]. These drugs include α 2-agonists, NMDA-receptor antagonists, gabapentinides, dexamethasone, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), acetaminophen, and others. Combined use of various analgesics can reduce the total dose of opioids and speed up the recovery time after surgery. In patients with obesity such principle which underlies opioid-free anesthesia (OFA), when, according to Jan P. Mulier, one jointly uses: a) drugs that directly (clonidine, dexmedetomidin, β -blockers) or indirectly (nicardipine, lidocaine, $MgSO_4$, inhaled anesthetics) block the sympathetic nervous system; b) non-opioid analgesics (small doses of ketamine, dexmedetomidine, lidocaine, diclofenac, paracetamol), which are administered intraoperatively to obtain a peak of their activity after awakening; c) neuroaxial anesthesia techniques and regional blockades [7].

The use of regional analgesia in abdominal surgery has long been proposed by experts from the PROSPECT group but in case of laparoscopy, infiltration of tissues and peripheral nerve blockades are more beneficial than neuroaxial blockades [8]. At present blockade of transverse abdominal muscle plane (TAP-block) is a good alternative to epidural analgesia (EA), and some authors even suggest it's a "gold standard" for postoperative analgesia in abdominal surgery [9]. But in case of transition to conversion due to the complexity or inability to perform laparoscopy in obese patients, TAP-block is not always the best option due to technical difficulties with ultrasound (US) visualisation of lateral abdominal wall and risk of anesthetic overdose through introduction of large volumes of solution. A simpler, safer and more effective method is the bilateral double blockage of the rectus muscle sheath (RSB), which is increasingly used for intra- [10] and postoperative analgesia of laparotomic wounds [11], but not for obese patients.

Obviously adequate analgesia after midline laparotomy is ensured by opioids, especially effective in addressing the visceral component of pain. However, their side effects such as gastrointestinal dysfunction, ileus and constipation, are major issues that may delay recovery after surgery [12]. In addition, the administration of opioids may contribute to hypoventilation and hypoxemia in the postoperative period in obese patients [7]. Therefore, based on the principles of OFA, we believe that the additional use of regional techniques such as EA, TAP-block and RSB in abdominal surgery patients with obesity has advantages over "standard" analgesia by opioids and NSAIDs.

Aim

To determine the effectiveness of EA and TAP-block in different laparoscopic operations in patient with obesity and

to evaluate the possibility of using double bilateral RSB as "rescue" analgesia after laparotomy in obese patients.

Materials and methods

After approval of the committee on bioethics in Zaporizhzhya State Medical University and obtaining written informed consent, patients with a body mass index (BMI) over 30 kg/m², functional class ASA I to III and aged over 18 years have been consistently included in the study. To determine the effectiveness of EA and TAP-block, study groups included patients scheduled for laparoscopic surgery with the following exclusion criteria: the transition from laparoscopy to laparotomy, reoperations in the immediate postoperative period or withdrawal of patient at any stage of the study. To determine the effectiveness of RSB, study groups included laparotomy patients with no use of regional anesthesia techniques during surgery, with the following exclusion criteria: presence of peripheral neuropathy, severe heart disease, contraindications to regional anesthesia and known allergic reactions to local anesthetics. All the patients had a total intravenous anesthesia (TIVA) on the basis of propofol, fentanyl and atracurium without the use of local infiltration of the surgical site. Dosage was determined by clinical signs of the depth of anesthesia and myoplegia. As a component of multimodal analgesia intraoperatively ketamine was applied 0.15 mg/kg of ideal body weight (IBW) per hour (intravenous bolus) and clonidine for a total dose of 100 mcg in all patients.

Allocation of study groups was performed with the use of sealed envelopes before the start of anesthesia. In the EA group the epidural administration of a local anesthetic was used for the perioperative analgesia according to the procedure described earlier [13]. In the TAP group, after the end of the surgery until the extubation, a classic percutaneous bilateral blockade of the transverse abdominal muscle plane was performed with the control of ultrasound [14]. In the RSB and TVA groups, no regional anesthesia techniques were involved during surgery, only "standard" analgesia with the use of opioids. After regaining consciousness, all patients were extubated in the operating room and transferred to postoperative ward where the level of pain was assessed according to a numeric rating scale (NRS) from 0 (no pain) to 10 (maximum pain) and incidence of dyspnea was monitored in the first two hours after surgery, according to the saturation and capnometry values measured with the monitor UM-300 (UTAS, Ukraine). There have been also documented cases of postoperative nausea and vomiting (PONV). Standard analgesia included NSAIDs (diclofenac 150 mg/day) and, if necessary (NRS > 3 points), anesthesiologist-controlled analgesia (ACA) with the use of trimeperidine. In the RSB group, with a NRS value of more than 3 points, as a "rescue" analgesia, a bilateral double blockage of the rectus abdominal muscle sheath was used. The RSB was performed with the help of an ultrasound scanner Logiq e (GE, USA) and a linear (8–12 MHz) or convective (4.5–6.5 MHz) probes, depending on the quality of the visualization of the required anatomical structures. Applying the technique of "4 quadrants" when bilateral double single injections of anesthetic performed at the border between

$\frac{1}{4}$ and $\frac{3}{4}$ of the distance to the upper and lower ends of the wound. After transverse positioning of the probe on the anterior abdominal wall in the above areas, it was displaced laterally to obtain a good visualization of the rectus muscle of the abdomen and the lateral part of its sheath. With the help of in-plane technique, the tip of the spinal needle G22 had to be inserted into the space between the hypoechoic rectus muscle and its hyperechoic posterior sheath. After a negative aspiration test, 1 ml of 1 % solution of lidocaine and 0.25 % bupivacaine solution was injected to confirm the correct position of the needle tip. A further injection of 9 ml in the correct plane created a visible pool of anesthetic solution that separated the rectus muscle from its sheath. Thus, the total volume of anesthetic solution was 40 ml for all the patients, which corresponded to a safe dosage of both lidocaine (400 mg) and bupivacaine (100 mg).

The endpoints of the study were: the time of the tracheal extubation after the surgery, the total intraoperative dose of fentanyl, the total dose of trimeperidine in the first 24 hours after the surgery, the mobilization time (ability to move independently). In the RSB group the complexity of the procedure was further determined, according to indicators such as the time for its implementation, the number of attempts and complications that were measured and recorded on the basis of a subjective ranking on a four-point scale (1 – easy, 2 – medium, 3 – difficult, 4 – very difficult). The average time to achieve an adequate block was fixed when the patient noted a decrease in pain intensity to ≤ 3 points for the NRS and could breathe freely and deeply. Before discharge from the hospital, in patients of all the groups the degree of general comfort from the received analgesic regimen was evaluated according to the following numerical scale: 4 (excellent) – without pain; 3 (good) – slight pain without the need for additional analgesics; 2 (satisfactory) – a pain that required additional analgesics; 1 (bad) – pain that did not diminish after prescription of additional analgesics.

The statistical analysis was performed using the Statistica for Windows version 6.0 software (StatSoft Inc., USA, series number AXXR712D833214FAN5). Quantitative variables are presented as mean $\pm$ standard deviation with normal data distribution, median and quartile – when allocating data were different from normal distribution. For comparison, Student's t-test and Mann-Whitney U-test were used. Categorical variables were calculated as frequencies and compared with the criterion χ^2 or Fisher's exact test. Differences with a value of $P < 0.05$ were considered statistically significant.

Results

In total 102 patients with different pathology of the gastrointestinal tract (GIT) and the anterior abdominal wall have been studied. 62 laparoscopy patients were allocated in the EA ($n = 20$), TAP ($n = 21$) and TIVA₁ ($n = 21$) groups. 40 laparotomy patients were allocated in RSB ($n = 16$) and TIVA₂ ($n = 24$) groups. According to demographic indicators, functional status for ASA and BMI groups did not have statistically significant differences (Table 1).

As can be seen from Table 1, the majority of patients in the "laparoscopic" part of the study were operated on a

hernia of the esophageal hiatus of diaphragm (52–61%) and colon tumors (19–24%). The minimum number of these was made up of patients undergoing a sleeve resection of the stomach (10 %) or transabdominal hernioplasty (10–14 %). On the contrary, in the "laparotomy" part of the study, significantly more patients were operated on anterior abdominal hernia (50–56 %) and choledocholithiasis (29 %), significantly fewer patients had fundoplication (19 %), and open Sleeve-resection was not performed at all ($P < 0.05$). In the RSB group, there were no patients after open cholelithiasis, but it included 3 patients after laparotomy fundoplication. We considered it possible for them to be included for comparison, since these operations used the same surgical access – upper middle line laparotomy.

The average duration of surgery was almost 1.5 times longer in patients with laparotomy ($P < 0.05$). However, only in the EA group, the dosage of fentanyl and atracurium was on average twice less than in other groups ($P < 0.05$), clearly confirming the opioid-sparing and "relaxing" effect of the epidural component of analgesia, regardless of the technique of surgical intervention. Probably, this contributed to an earlier tracheal extubation of patients in the EA group compared to patients from the TAP, TIVA₁, RSB and TIVA₂ groups ($P < 0.05$). It should also be noted that in the EA group, no patient needed restoration of neuromuscular conduction with neostigmine, but in other groups it was administered to all the patients ($P < 0.05$).

The evaluation of postoperative pain showed that its level 1 hour after surgery was higher in the groups where the regional techniques of analgesia (TIVA₁, RSB, TIVA₂) were not used ($P < 0.05$), requiring the use of "rescue" pain treatment in 2/3 patients of these groups (Table 2). However, if trimeperidine was administered in the TIVA₁ and TIVA₂ groups, the bilateral RSB was performed in the RSB group: in the 14 (87.5%) patients a linear probe was used, since the depth of the rectus muscle sheath was not more than 5 cm; in 2 (12.5 %) patients with BMI > 45 kg/m², a convective probe was used, since the distance between the skin and the target was more than 6 cm. All blockades were performed on the first attempt, their total duration was 5–10 minutes (1.5–2.0 minutes per one injection), the complexity of the performance was assessed as "easy" in 12 (75 %) patients, "moderate" – in 4 (25 %) patients ($P < 0.05$). The average time to achieve adequate analgesia was 3 (2–4) min after the completion of the blockade. In 1 (6 %) patient, the RSB was inadequate and trimeperidine was additionally administered. No RSB complications were detected.

Due to the use of regional analgesia techniques, patients in the EA, TAP and RSB groups had a 2-fold lower incidence of dyspnea in the first 2 hours after surgery than patients in the TIVA₁ and TIVA₂ groups ($P < 0.05$). For the same reason, the overall consumption of trimeperidine was twice less in the EA, TAP and RSB groups than in the TIVA₁ and TIVA₂ groups ($P < 0.05$), suggesting probably three to four times less the incidence of PONV in these groups, in compared with groups where regional analgesia was not used ($P < 0.05$). The abovementioned resulted in the fact that laparoscopy patients from groups EA and TAP began to move independently in the ward after 8–13 hours after

Table 1. Patient Characteristics

Value	Surgery and analgesia technique				
	Laparoscopy			Laparotomy	
	EA (n = 20)	TAP (n = 21)	TBA ₁ (n = 21)	RSB (n = 16)	TBA ₂ (n = 24)
Age, years	52.6 ± 10.3	54.2 ± 11.7	53.3 ± 10.6	55.1 ± 10.7	53.8 ± 12.2
Sex, male/female, n	6/14	6/15	5/16	6/10	9/15
ASA I/II/III, n	5/13/2	4/15/2	5/15/1	2/8/8	3/11/10
BMI, kg/m ²	36.1 ± 5.2	34.4 ± 4.5	35.6 ± 5.3	35.2 ± 5.5	36.7 ± 6.1
Kind of surgery:					
Fundoplication, n (%)	12 (60)	11 (52)	13 (61)	3 (19) *	-*
Hemicolectomy, n (%)	4 (20)	5 (24)	4 (19)	4 (25)	5 (20.8)
Sleeve-resection, n (%)	2 (10)	2 (10)	2 (10)	-	-
Choledochotomy, n (%)	-	-	-	-	7 (29.2)*
Hernioplasty, n (%)	2 (10)	3 (14)	2 (10)	9 (56) *	12 (50) *
Surgery duration, min.	115 (98–133)	124 (110–137)	110 (93–128)	156 (116–172) *	155 (125–168) *
I/op medication:					
Fentanyl, mg	0.6 (0.5–0.8) [#]	1.2 (1.0–1.4)	1.2 (1.0–1.3)	1.3 (1.0–1.4)	1.4 (1.1–1.5)
Atracurium, mg	55 (40–60) [#]	100 (80–110)	90 (70–110)	130 (110–150)	140 (120–150)
Neostigmine, mg	- [#]	0.8 (0.5–1.0)	0.9 (0.5–1.0)	0.8 (0.7–1.1)	1.0 (0.6–1.2)
Time of extubation, min.	15 (10–17) [#]	30 (20–45)	25 (20–35)	30 (25–35)	35 (20–45)

ASA: American Society of Anesthesiologists; BMI: body mass index; Sleeve-resection: stomach resection; i/op: intraoperative; *: P < 0.05 laparotomy vs laparoscopy; [#]: P < 0.05 EA group vs other groups.

Table 2. Postoperative analgesia quality values

Value	EA (n = 20)	TAP (n = 21)	TBA ₁ (n = 21)	RSB (n = 16)	TBA ₂ (n = 24)
NRS, scores	1 (0–1)	2 (0–3)	3 (2–5) [#]	5 (4–7)*	5 (4–6)*
«Rescue» analgesia 60 min, n (%)	–	–	15 (71) [#]	12 (75)*	17 (71)*
Dyspnea, n/2 hours	4 (2–7)	6 (4–7)	10 (5–12) [#]	5 (3–7)	11 (6–13) [#]
Nausea, n (%)	2 (10)	3 (14)	7 (33) [#]	3 (18.7)	12 (50) [#]
Vomiting, n (%)	1 (5)	1 (5)	3 (7) [#]	0 (0)	4 (9) [#]
Trimeperidine, mg/24 hours	20 (0–20)	20 (0–40)	40 (20–60) [#]	30 (20–40)	60 (40–80) [#]
Mobilisation, hours	10 (8–12)	11 (10–13)	18 (16–22) [#]	24 (18–36)	72 (48–96) [#]

*: P < 0.05 laparotomy vs laparoscopy; [#]: P < 0.05 TBA₁ and TBA₂ groups vs EA, TAP, RSB groups.

surgery, whereas patients from the group TIVA₁ – only on the next day (P < 0.05). Laparotomy patients from the RSB group have been activated since the end of the 1st day after surgery, while patients from the TIVA₂ group – only 72 hours after the operation (P < 0.05).

Analysis of the patients' assessment of the quality of analgesia showed that it was significantly higher in the EA, TAP and RSB groups, where 100 % of the respondents reported satisfaction at the "excellent-good" level. In the TIVA₁ and TIVA₂ groups, only 20–25 % of respondents identified comfort levels as "good", 60–65 % of respondents – as "satisfactorily", and about 15 % of respondents – were dissatisfied with postoperative analgesia (P < 0.05).

Discussion

The pain after laparoscopic surgery has two components: visceral and somatic. The visceral component is associated with surgical intervention, tissue damage and stretching of the nerve endings. Pneumoperitoneum leads to stretching of the peritoneum and diaphragmatic muscle fibers, which irritates the phrenic nerve. Since this nerve shares the general path with nerves that innervate the shoulder, its irritation can lead to shoulder pain. The somatic component of the pain is associated with the apertures made in the abdominal wall for the entry

of the trocar. Kim S. B. et al. [15] proved that somatic pain after laparoscopic cholecystectomy predominates over visceral pain. Therefore, the multimodal approach with the use of various regional analgesia techniques in laparoscopic surgery can contribute to the improvement of the quality of perioperative analgesia, thus preventing the development of side effects associated with the use of opioids. This is of paramount importance in obese patients because they are particularly susceptible to sedative and respiratory-depressive effects of opioids.

In bariatric surgery, epidural analgesia and infiltration of the port areas by local anesthetic show a reduction in postoperative pain compared with an exclusive intravenous patient-controlled analgesia [16]. In case of Sleeve-resection Sinha et al. [17], Wassef et al. [18] use the TAP-block as part of a multimodal analgesic technique, proving its qualitative analgesic efficacy with reduced airway complications and PONV cases. In our study, patients in the EA group received both reduction in the dose of fentanyl intraoperatively and reduction in the total dosage of trimeperidine after the surgery, which limited the incidence of such side effects of opioids as dyspnea and PONV. The TAP group also noted the positive effect of this technique on the quality of postoperative analgesia. Thus, more effective analgesia allowed to accelerate the time of mobilization of patients with EA or TAP block up to 8–13 hours after surgery, whereas in patients without

regional analgesia techniques this index was 18 (16–22) hours ($P < 0.05$). In our opinion, the only deterrent factor in the use of EA and TAP-block in laparoscopic surgery in obese patients is the difficulty in performing these techniques due to the absence of clear anatomical landmarks. But this issue is well resolved with the help of ultrasonic navigation, which allows you to perform manipulation with 100 % success.

The blockage of the rectus muscle sheath (RSB) is used to provide somatic analgesia in middle line segments in laparoscopic and laparotomic surgery. With hernioplasty of umbilical hernia, RSB shows an effective analgesia in both children [19] and in selected adult patients [20]. But the greatest potential benefit of RSB may be the guaranteed anesthetizing of the anterior abdominal wall after “large” laparotomic surgery. Thus, two recent retrospective studies show that in patients undergoing colorectal surgery, bilateral double RSB may be as effective as EA but with less side effects [21,22].

Based on the potential benefits of RSB for treating somatic pain from laparotomy, we examined the feasibility of using it as a method of “rescue” analgesia in patients with obesity after open abdominal surgery. It turned out that the RSB was relatively easy to perform with ultrasound and to achieve effective analgesia in a few minutes in most (94 %) patients when administering a mixture of lidocaine and bupivacaine. Even the once-executed RSB allowed us to halve the daily intake of trimeperine and to accelerate significantly the mobilization of laparotomy patients with obesity. These RSB benefits are very useful for ERAS programs and, therefore, are increasingly attracting researchers [23].

An audit of patient satisfaction with the analgesia mode confirmed our opinion on the feasibility of mandatory use of regional analgesia techniques in laparotomic and laparoscopic surgery in obese patients, since it provided objective information about their effectiveness, simplicity and safety. In addition, we believe that RSB is a promising method of analgesia for widespread use in such patients with an unplanned transition to conversion, unless neuraxial analgesia is used.

Conclusions

In laparoscopic surgery the use of EA or TAP-block significantly reduces the level of postoperative pain, the need for opioids, the incidence of dyspnea and PONV, which leads to the possibility of patients' mobilization within 8–13 hours after surgery. After laparotomy in obese patients RSB effectively “rescues” from pain and prevents excessive use of opioids, reduces the number of their adverse reactions and increases the satisfaction of patients with the quality of anesthesia.

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

Information about authors:

Vorotyntsev S. I., MD, PhD, Associate Professor, Department of Surgery and Anesthesiology of Postgraduate Education Faculty, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Hrynovska M. B., MD, Assistant Professor, Department of Anesthesiology and Intensive Care, Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine.

Sofilkanych M. M., MD, PhD, Assistant Professor, Department of Faculty Surgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Zakharchuk O. V., MD, PhD, Assistant Professor, Department of Faculty Surgery, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Воротинцев С. І., канд. мед. наук, доцент каф. хірургії та анестезіології факультету післядипломної освіти, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Гриньовська М. Б., асистент кафедри анестезіології та інтенсивної терапії, Івано-Франківський національний медичний університет, Україна.

Софілканіч М. М., канд. мед. наук, асистент каф. факультетської хірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Захарчук О. В., канд. мед. наук, асистент каф. факультетської хірургії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Воротынцев С. И., канд. мед. наук, доцент каф. хирургии и анестезиологии факультета последипломного образования, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Гриневская М. Б., ассистент каф. анестезиологии и интенсивной терапии, Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина.

Софилканич М. М., канд. мед. наук, ассистент каф. факультетской хирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Захарчук О. В., канд. мед. наук, ассистент каф. факультетской хирургии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Надійшла до редакції / Received: 03.07.2018

Після доопрацювання / Revised: 11.08.2018

Прийнято до друку / Accepted: 20.08.2018

References

- [1] Nguyen, N. T., Nguyen, B., Shih, A., & Smith, B. (2013) Use of laparoscopy in general surgical operations at academic centers. *Surgery for Obesity and Related Diseases*, 9(1), 15–20. doi: 10.1016/j.soard.2012.07.002.
- [2] Carmichael, J. C., Keller, D. S., Baldini, G., Bordeianou, L., Weiss, E., Lee, L., et al. (2017) Clinical Practice Guidelines for Enhanced Recovery After Colon and Rectal Surgery From the American Society of Colon and Rectal Surgeons and Society of American Gastrointestinal and Endoscopic Surgeons. *Dis Colon Rectum*, 60(8), 761–784. doi: 10.1097/DCR.0000000000000883.
- [3] Thorell, A., McCormick, A. D., Awad, S., Reynolds, N., Roulin, D., Demartines, N., et al. (2016) Guidelines for Perioperative Care in Bariatric Surgery: Enhanced Recovery After Surgery (ERAS) Society Recommendations. *World J Surg*, 40(9), 2065–83. doi: 10.1007/s00268-016-3492-3.
- [4] Yamamoto, S., Inomata, M., Katayama, H., Mizusawa, J., Etoh, T., Konishi, F., et al. (2014) Short-term surgical outcomes from a randomized controlled trial to evaluate laparoscopic and open D3 dissection for stage II/III colon cancer. *Ann Surg*, 260(1), 23–30. doi: 10.1097/SLA.0000000000000499.
- [5] Reoch, J., Mottillo, S., Shimony, A., Filion, K. B., Christou, N. V., Joseph, L., et al. (2011) Safety of Laparoscopic vs Open Bariatric Surgery. A Systematic Review and Meta-analysis. *Arch Surg*, 146(11), 1314–22. doi: 10.1001/archsurg.2011.270.
- [6] Helander, E. M., Menard, B. L., Harmon, C. M., Homra, B. K., Al-lain, A. V., Bordelon, G. J., et al. (2017) Multimodal Analgesia, Current Concepts, and Acute Pain Considerations. *Curr Pain Headache Rep.*, 21(1), 3. doi: 10.1007/s11916-017-0607-y.
- [7] Mulier, J. P. (2016) Perioperative opioids aggravate obstructive breathing in sleep apnea syndrome: mechanisms and alternative anaesthesia strategies. *Curr Opin Anaesthesiol.*, 29(1), 129–33. doi: 10.1097/ACO.0000000000000281.
- [8] <http://www.postoppain.org>

- [9] Fiorini, F., Sessa, F., Congedo, E., & Cosmo, G. D. (2016) Transversus Abdominis Plane Block: A New Gold Standard for Abdominal Surgery? *J Anesth Crit Care Open Access*, 4(3), 00145. doi: 10.15406/jaccoa.2016.04.00145.
- [10] Quek, K. H. Y., & Phua, D. S. K. (2014) Bilateral rectus sheath block as the single anaesthetic technique for an open infraumbilical hernia repair. *Singapore Med J*, 55(3), e39–e41. doi: 10.11622/smedj.2014042.
- [11] Yassin, H. M., Elmoneim, A. T. A., & Moutaz, H. E. (2017) The Analgesic Efficiency of Ultrasound-Guided Rectus Sheath Analgesia Compared with Low Thoracic Epidural Analgesia After Elective Abdominal Surgery with a Midline Incision: A Prospective Randomized Controlled Trial. *Anesth Pain Med*, 7(3), e14244. doi: 10.5812/aapm.14244.
- [12] Beard, T. L., Leslie, J. B., & Nemeth, J. (2011) The opioid component of delayed gastrointestinal recovery after bowel resection. *J Gastrointest Surg*, 15(7), 1259–68. doi: 10.1007/s11605-011-1500-3.
- [13] Vorotyntsev, S., Grytchenko, S., & Grynovska, M. Multimodal Anesthesia/Analgesia Model In Obese Patients Undergoing Open Abdominal Surgery. *GSL Journal of Anesthesiology*. Retrieved from <http://gslpublishers.org/journals/current-issue.php?title=gsl-journal-of-anesthesiology-open-access#journals/article.php?title=>.
- [14] Vorotyntsev, S. I., Sofylkanich, M. M., & Zakharchuk, O. V. (2017) The plane blockade of transversal abdominal muscle after laparoscopic resection of large bowel in patients, suffering obesity. *Klinicheskaia khirurgiia*, 6, 21–24.
- [15] Kim, S. B., Lee, I. O., Kong, M. H., Lee, M. K., Kim, N. S., Choi, Y. S., & Lim, S. H. (2001) Pain after laparoscopic cholecystectomy: comparison between somatic pain and visceral pain. *Korean J Anesthesiol*, 41, 66–70. doi: 10.4097/kjae.2001.41.1.66.
- [16] Ruiz-Tovar, J., Muñoz, J. L., Gonzalez, J., Zubiaga, L., García, A., Jimenez, M., Ferrigni, C., & Durán, M. (2017) Postoperative pain after laparoscopic sleeve gastrectomy: comparison of three analgesic schemes (isolated intravenous analgesia, epidural analgesia associated with intravenous analgesia and port-sites infiltration with bupivacaine associated with intravenous analgesia). *Surg Endosc*, 31(1), 231–236. doi: 10.1007/s00464-016-4961-3.
- [17] Sinha, A., Jayaraman, L., & Punhani, D. (2013) Efficacy of ultrasound-guided transversus abdominis plane block after laparoscopic bariatric surgery: a double blind, randomized, controlled study. *Obes Surg*, 23(4), 548–553. doi: 10.1007/s11695-012-0819-5.
- [18] Wassef, M., Lee, D. Y., Levine, J. L., Ross, R. E., Guend, H., Vandepitte, C., et al. (2013) Feasibility and analgesic efficacy of the transversus abdominis plane block after single-port laparoscopy in patients having bariatric surgery. *J Pain Res*, 6, 837–841. doi: 10.2147/JPR.S50561.
- [19] Willschke, H., Bosenberg, A., Marhofer, P., Johnston, S., Kettner, S. C., Wanzel, O., & Kapral, S. (2006) Ultrasonography-guided rectus sheath block in paediatric anaesthesia – a new approach to an old technique. *Br J Anaesth*, 97(2), 244–9. doi: 10.1093/bja/ael143.
- [20] Quek, K. H. Y., & Phua, D. S. K. (2014) Bilateral rectus sheath block as the single anaesthetic technique for an open infraumbilical hernia repair. *Singapore Med J*, 55(3), e39–e41. doi: 10.11622/smedj.2014042.
- [21] Godden, A. R., Marshall, M. J., Grice, A. S., & Daniels, I. R. (2013) Ultrasonography guided rectus sheath catheters versus epidural analgesia for open colorectal cancer surgery in a single centre. *Ann R Coll Surg Engl*, 95(8), 591–4. doi: 10.1308/003588413X13629960049270.
- [22] Tudor, E., Yang, W., Brown, R., & Mackey, P. M. (2015) Rectus sheath catheters provide equivalent analgesia to epidurals following laparotomy for colorectal surgery. *Ann R Coll Surg Engl*, 97(7), 530–3. doi: 10.1308/rcsann.2015.0018.
- [23] Wilkinson, K. M., Krige, A., Brearley, S. G., Lane, S., Scott, M., Gordon, A. C., & Carlson, G. L. (2014) Thoracic Epidural analgesia versus Rectus Sheath Catheters for open midline incisions in major abdominal surgery within an enhanced recovery programme (TER-SC): study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*, 15, 400. doi: 10.1186/1745-6215-15-400.

Особенности топографии единой почки после удаления контралатеральной

В. І. Пивторак, В. М. Монастирський

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна

Ключові слова:

єдина нирка, нефректомія, соматотипи, топографія нирки, магнітно-резонансна томографія.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 236–241

DOI:

10.14739/2310-1237.2018.2.141369

E-mail:

pivtorakv@gmail.com

Залишаються невивченими зміни топографічної анатомії нирки після радикальних нефректомії контралатеральної нирки.

Мета роботи – на основі магнітно-резонансної томографії визначити характеристики кутів єдиної нирки (після нефректомії контралатеральної) у фронтальній, сагітальній і горизонтальній площинах у пацієнтів різних соматотипів.

Матеріали та методи. Виконали комплексне обстеження 189 хворих першого та другого зрілого віку, серед них 124 пацієнтів з єдиною ниркою та різним строком післяопераційного періоду після видалення нирки і 65 хворих із двома нирками, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів. Дослідження здійснили на магнітно-резонансному томографі Philips Intera-1,5T.

Результати. Виконані дослідження кутів нахилу єдиної нирки, що залишилися після нефректомії контралатеральної, у фронтальній, сагітальній і горизонтальній площинах за допомогою магнітно-резонансної томографії показали певні закономірності залежно від соматотипів. Встановили, що найменший кут нахилу створюється в лівій єдиній нирці жінок ектоморфного соматотипу у фронтальній площині ($19,6^\circ \pm 2,1^\circ$), найбільший – у лівій єдиній нирці чоловіків мезоморфного соматотипу в горизонтальній площині ($61,4^\circ \pm 4,5^\circ$). Кути нахилу єдиної нирки у представників усіх соматотипів у горизонтальній площині були статистично значущо більшими порівняно з аналогічними параметрами осіб із двома нирками, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів. У сагітальній площині кути нахилу лівої та правої єдиної нирки у представників усіх соматотипів статистично значущо відрізнялися, а у фронтальній площині вони відрізнялися ($p < 0,05$) тільки у хворих мезоморфного соматотипу.

Висновки. У хворих через 2–5 років після видалення контралатеральної нирки виявляють статистично значущо менші кути нахилу правої єдиної нирки у фронтальній площині порівняно параметрами осіб із двома нирками, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів. Кути нахилу правої та лівої єдиних нирок хворих усіх соматотипів у горизонтальній площині статистично значущо більші порівняно параметрами осіб із двома нирками, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів. Кути нахилу лівої єдиної нирки хворих усіх соматотипів у сагітальній площині статистично значущо менші, ніж параметри правої єдиної нирки.

Ключевые слова:

единственная почка, нефрэктомия, соматотипы, топография почки, магнитно-резонансная томография.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 236–241

Особенности топографии единственной почки после удаления контралатеральной

В. И. Пивторак, В. Н. Монастырский

Остаются неизученными изменения топографической анатомии почки после радикальных нефрэктомий контралатеральной почки.

Цель работы – на основе магнитно-резонансной томографии определить характеристики углов единственной почки (после нефрэктомии контралатеральной) во фронтальной, сагитальной и горизонтальной плоскостях у пациентов различных соматотипов.

Материалы и методы. Выполнено комплексное обследование 189 больных первого и второго зрелого возраста, среди них 124 пациентов с единственной почкой и разным сроком послеоперационного периода после удаления почки и 65 больных с двумя почками, которые не имели заболеваний почек и мочевых путей. Исследования провели на магнитно-резонансном томографе Philips Intera-1,5T.

Результаты. Проведенные исследования углов наклона единственной почки, оставшейся после нефрэктомии контралатеральной, во фронтальной, сагитальной и горизонтальной плоскостях с помощью магнитно-резонансной томографии обнаруживают определенные закономерности в зависимости от соматотипа. Установлено, что наименьший угол наклона создается в левой единственной почке женщин эктоморфного соматотипа во фронтальной плоскости ($19,6^\circ \pm 2,1^\circ$), наибольший – в левой единственной почке мужчин мезоморфного соматотипа в горизонтальной плоскости ($61,4^\circ \pm 4,5^\circ$). Углы наклона единственной почки у представителей всех соматотипов в горизонтальной плоскости были статистически значимо больше по сравнению с аналогичными параметрами у лиц с двумя почками, которые не имели заболеваний почек и мочевых путей. В сагитальной плоскости углы наклона левой и правой единственной почки у представителей всех соматотипов статистически значимо отличались, а во фронтальной плоскости они отличались ($p < 0,05$) только у больных мезоморфного соматотипа.

Выводы. У больных через 2–5 лет после удаления контралатеральной почки отмечены статистически значимо меньшие углы наклона правой единственной почки во фронтальной плоскости по сравнению параметрами у лиц с двумя почками, которые не имели заболеваний почек и мочевых путей. Углы наклона правой и левой единственных почек больных всех соматотипов в горизонтальной плоскости статистически значимо больше, по сравнению с параметрами лиц с двумя почками, которые не имели заболеваний почек и мочевых путей. Углы наклона левой единственной почки больных всех соматотипов в сагитальной плоскости статистически значимо меньше, чем параметры правой единственной почки.

Features of the topography of a single kidney after removal of contralateral one

V. I. Pivtorak, V. M. Monastyrskyi

Changes in the topographic anatomy of the kidney after radical nephrectomies of the contralateral kidney remain unexplored for today.

Aim of the study was to determine the characteristics of the angles of a single kidney after contralateral nephrectomy in the frontal, sagittal and horizontal planes in patients of different somatotypes, on the basis of magnetic resonance tomography.

Materials and methods. A comprehensive examination of 189 patients of the first and second adulthood was performed, there were 124 patients with a single kidney and different postoperative period after kidney removal and 65 patients with two kidneys who had no kidney and urinary tract diseases among them. The studies were carried out using the magnetic resonance tomograph Philips Intera-1.5T.

Results. The performed studies of the angles of the slope of the only kidney remaining after contralateral nephrectomy in the frontal, sagittal and horizontal planes with the help of magnetic resonance imaging show certain regularities depending on the somatotype. It was revealed that the smallest angle of inclination is created in the left single kidney of the women of the ectomorphic somatotype in the frontal plane ($19.6 \pm 2.1^\circ$), and the largest one – in the left single kidney of the men of the mesomorphic somatotype in the horizontal plane ($61.4^\circ \pm 4.5^\circ$). The angles of the slope of the single kidney in representatives of all the somatotypes in the horizontal plane were statistically significantly larger as compared to similar parameters in persons with two kidneys who had no diseases of the kidneys and urinary tract. In the sagittal plane, the angles of inclination of the left and right single kidney in members of all somatotypes were statistically significant, whereas in the frontal plane they differed ($P < 0.05$) only in patients with mesomorphic somatotype.

Conclusion. In patients after 2–5 years after the removal of the contralateral kidney significantly less angles of inclination of the right single kidney in the frontal plane are observed as compared to parameters in patients with two kidneys, who had diseases of the kidneys and urinary tract. Angles of the inclination of the right and left single kidneys of patients with all the somatotypes in the horizontal plane are statistically significantly larger in comparison with those in patients with two kidneys who did not have kidney and urinary tract diseases. The angles of inclination of the left single kidney of patients with all the somatotypes in the sagittal plane are statistically significantly less than the parameters of the right single kidney.

Key words:

single kidney, nephrectomy, somatotypes, kidney, medical topography, magnetic resonance imaging.

Pathologia

2018; 15 (2), 236–241

Питання компенсації структури та функції при втраті однієї нирки становлять інтерес для клінічної практики. Хворі з єдиною ниркою після нефректомії перебувають у групі ризику, оскільки зростає небезпека розвитку хронічної хвороби нирок [1], виникнення нирковокам'яної хвороби [2]. Це може бути пов'язано з компенсаторною гіпертрофією, структурними та фізіологічними змінами, що спричиняє утворення каменів [3]. Збільшення маси часто призводить до нефроптозу. Яке положення матиме нирка при цьому – важливо знати для оцінювання механізмів розвитку ускладнень. Детальне дослідження анатомії нирки необхідне для оптимізації передопераційного планування та вибору певної оперативної техніки [4].

Удосконалення ультразвукового дослідження, комп'ютерна та магнітно-резонансна томографія дають можливість морфологам вірогідно оцінювати індивідуальну мінливість нирки та інших органів заочеревинного простору в нормі та після оперативних втручань [5]. Але, за даними фахової літератури, де висвітлюється прижиттєва топографічна анатомія нирок, розглядають тільки візуалізацію нирок при пухлинах, запаленнях, кістах та інших патологічних процесах [6]. Трапляються окремі публікації, що висвітлюють топографічну анатомію нирок у нормі [7], а також розміри та рухливість нирки [8]. Підвищена рухливість і нефроптоз виявлені ультразвуковим методом у пацієнтів віком 14–17 років з єдиною ниркою [9].

Застосування комп'ютерної томографії для вивчення заочеревинного простору після нефректомії показало, що при видаленні лівої нирки найбільше змінює своє положення хвіст підшлункової залози, а після видалення правої – печінковий вигин обоюдої кишки [10]. Встановили, що після нефректомії

основним вектором зміщення органів є дорсальний і медіальний напрям, а також переміщення деяких органів краніально [11]. Визначили також просторове положення нирок у заочеревинному просторі в нормі. Нирки утворюють кути у трьох площинах: фронтальній, горизонтальній, сагітальній, при цьому вісь нирки спрямована вниз назовні та вперед [12]. Невивченими залишаються зміни топографічної анатомії нирки після радикальних нефректомій контралатеральної нирки.

Здійснили моделювання можливих переміщень єдиної нирки (ЄН) людини при її гіпертрофії [13], що відбувається після видалення контралатеральної. Доведено, що при збільшенні маси нирки за умови, що ширина, довжина та товщина нирки збільшується пропорційно, рух нирки відбувається внаслідок її повороту у площині матеріальної симетрії за годинниковою стрілкою. Як показали попередні дослідження, розміри нирки, що залишилися, значно відрізняються в людей різних соматотипів [14] і статі, але не залежать від віку [15].

Мета роботи

На основі магнітно-резонансної томографії визначити характеристики кутів ЄН (після нефректомії контралатеральної) у фронтальній, сагітальній і горизонтальній площинах у пацієнтів різних соматотипів.

Матеріали і методи дослідження

Виконали комплексне обстеження 189 хворих першого та другого зрілого віку на базі Хмельницької обласної та міської лікарень, медичного центру «Ультрадiагностика». Пацієнти дали добровільну письмову інформо-

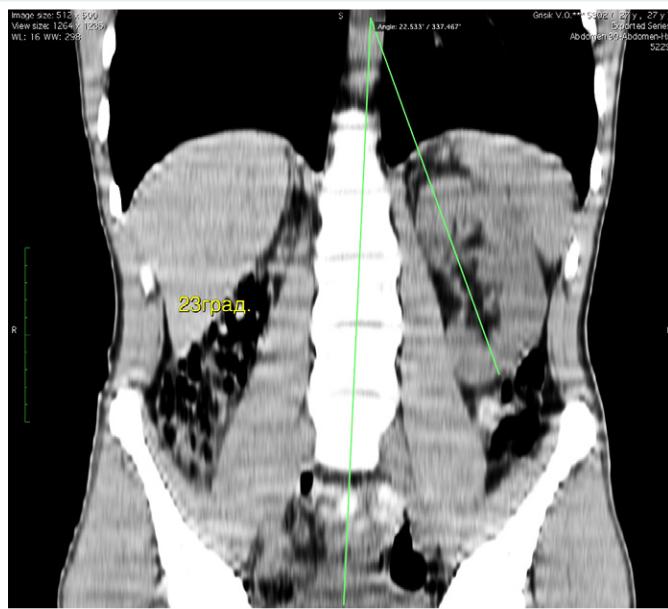


Рис. 1. Параметри лівої ЄН пацієнта Г. (37 років) у фронтальній проекції нирки: кут у фронтальній площині (23°).



Рис. 2. Параметри лівої ЄН пацієнта Г. (37 років) у сагітальній проекції нирки: кут у сагітальній площині (12°).

вану згоду на планування клінічного обстеження та лікування. Серед хворих 83 (43,9 %) чоловіки та 106 (56,1 %) жінок віком від 21 до 60 років, середній вік – $43,5 \pm 4,7$ року. Хворих поділили на основну групу та групу порівняння. В основну групу ввійшли 124 хворих з ЄН із різним строком післяопераційного періоду після видалення нирки; у групу порівняння – 65 пацієнтів із двома нирками, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів або інших хронічних захворювань, що могли б викликати ускладнення з боку органів

сечової системи.

Аналіз обстежених з ЄН за віковою характеристикою показав, що пацієнти з двома нирками за віковими параметрами були репрезентативні хворим основної групи.

Усі хворі основної групи з ЄН були після видалення нирки: у 68 осіб видалена ліва нирка, у 56 – права. У пацієнтів причинами нефректомії були злоякісні новоутворення нирки, нирковокам'яна хвороба, піонефроз, гідронефроз, туберкульоз нирки, травми нирки, зморщена нирка, абсцес нирки та навколониркової клітковини, інші хвороби.

Основну групу формували суцільним методом, відібравши усіх хворих з ЄН, які отримували амбулаторне чи стаціонарне лікування. Вибірку групи порівняння сформували рандомізовано, відбираючи випадково хворих без ураження сечової системи, яким виконували комп'ютерно-томографічне дослідження поперекової ділянки. Групи були схожі за основними параметрами, що порівнювали.

Серед обстежених з ЄН у здійсненому дослідженні найбільше було хворих із післяопераційним періодом від 2 до 5 років (124 особи). Це пояснюється тим, що порушень функції нирки в цей період найбільше. Визначили переважання кількості жінок у всіх термінах післяопераційного періоду.

У хворих з ЄН діагностували такі захворювання: хронічний пієлонефрит, нирковокам'яна хвороба, кісти нирки, доброякісна пухлина, злоякісна пухлина, зморщена нирка. Найчастіше (49,1 %) нирковокам'яна хвороба супроводжувалася пієлонефритом.

На час формування груп дослідження у хворих з ЄН виявили супутні захворювання: остеохондроз, серцево-судинні хвороби, геморой, хронічний холецистит, дискінезії жовчного міхура та жовчних шляхів.

У хворих групи порівняння діагностували неалкогольну жирову хворобу печінки, хронічний панкреатит, пухлини шлунка, хвороби серцево-судинної системи.

Безпосередньо перед дослідженням усім пацієнтам вимірювали артеріальний тиск, пульс, уточнювали: чи приймали напередодні дослідження лікарські препарати, що впливають на нирковий кровообіг (спазмолітики, гіпотензивні, седативні тощо).

Для визначення соматотипу застосовували математичну схему за Хіт–Картер [16].

Дослідження виконали на магнітно-резонансному томографі Philips Intera-1,5T (стандартний протокол магнітного резонансу включав сканування в сагітальній, фронтальній та аксіальній проекціях з отриманням T1-зважених зображень). У T2-зваженому зображенні контури нирки та ниркового синуса були недостатньо чіткими.

Для характеристики просторового положення нирок у фронтальній, сагітальній і горизонтальній площинах вимірювали кути нахилу. У фронтальній площині вимірювали кут між серединною лінією, що проведена через середину хребців, і віссю нирки, яка проведена через полюси (рис. 1).

У сагітальній площині вимірювали кут між віссю нирки, яка проведена через полюси, та вертикальною лінією. Це дало змогу виконати кількісне оцінювання ротації патологічно рухомої ЄН у цій площині (рис. 2).

Для оцінювання кута ротації у горизонтальній площині на аксіальному зрізі проводили вісь нирки від зовнішнього краю та через середину воріт нирки, відповідно визначали кут між віссю та лінією, що проведена через середину тіл хребців (рис. 3).

Статистичний аналіз отриманих результатів виконали за допомогою програми Statistica 5.5 фірми StatSoft (ліцензійний № AXXR910A374605FA) із застосуванням параметричних і непараметричних методів оцінювання результатів. Для кожної досліджуваної величини визначали показники середнього арифметичного (M) і стандартної помилки репрезентативності середнього арифметичного (m). Нормальність розподілу перевіряли з використанням тесту Колмогорова–Смірнова. У випадку асиметричного розподілу застосовували непараметричний ранговий U -критерій Манна–Уїтні. Статистичну значущість різниці між порівнюваними величинами вважали вірогідною при $p < 0,05$.

Результати

Аналіз результатів вимірювань кутів нахилу ЄН у фронтальній, сагітальній і горизонтальній площинах у людей різних соматотипів після нефректомії в післяопераційному періоді тривалістю 2–5 років показав, що найменшим був кут у фронтальній площині, що утворювала вісь лівої нирки, проведена через полюси, та серединна лінія, проведена через середину хребців. Найменшу величину цього кута спостерігали в жінок екоморфного соматотипу порівняно з результатами вимірювань як у хворих з ЄН мезоморфного й ендоморфного соматотипів, так і пацієнтів із наявними двома нирками без захворювань нирок і сечових шляхів (табл. 1). Статистично значущу різницю за показниками правої та лівої ЄН у фронтальній площині хворих екоморфного соматотипу не визначили.

У сагітальній площині у хворих з ЄН екоморфного соматотипу кут нахилу нирки був меншим, ніж у хворих з ЄН мезоморфного й ендоморфного соматотипів та у пацієнтів, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів. Виявили статистично значущу різницю за показниками правої та лівої ЄН.

У горизонтальній площині у хворих з ЄН екоморфного соматотипу кут нахилу нирки був статистично значущо більшим, ніж у пацієнтів з двома нирками, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів. Проте статистично значущу різницю між показниками правої та лівої ЄН не спостерігали.

У хворих з ЄН мезоморфного соматотипу констатовано менші кути нахилу ($p > 0,05$) у фронтальній і сагітальній площинах порівняно з пацієнтами з двома нирками, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів. Встановили статистично значущу різницю між показниками кутів нахилу правої та лівої ЄН як у чоловіків, так і в жінок. У горизонтальній площині визначили більші кути нахилу в 1,3–1,4 раза ($p < 0,05$) порівняно з показниками пацієнтів з двома нирками, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів (табл. 2).

У хворих ендоморфного соматотипу кути нахилу ЄН після нефректомії також були меншими у фронтальній і сагітальній площинах порівняно з пацієнтами

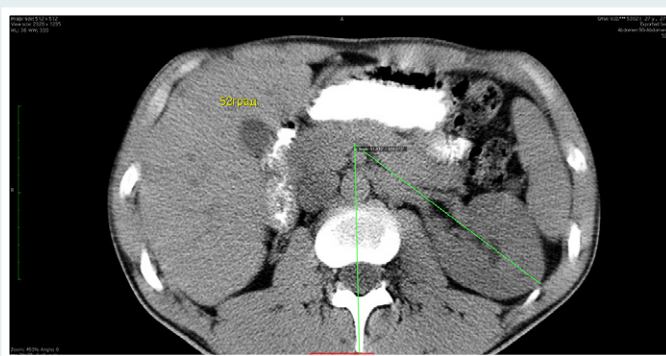


Рис. 3. Параметри лівої ЄН пацієнта Г. (37 років) у горизонтальній проекції нирки: кут у горизонтальній площині (52°).

з двома нирками, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів. У сагітальній площині кути нахилу лівої ЄН у чоловіків і жінок статистично значущо відрізнялися від параметрів правої ЄН. У горизонтальній площині визначили більші кути нахилу в 1,2–1,3 раза ($p < 0,05$) порівняно з показниками пацієнтів з двома нирками, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів (табл. 3).

Обговорення

Виконані дослідження кутів нахилу ЄН, що залишилися після нефректомії контралатеральної, у фронтальній, сагітальній і горизонтальній площинах за допомогою магнітно-резонансної томографії показали певні закономірності залежно від соматотипів. Виявили, що найменший кут нахилу створюється в лівій ЄН жінок екоморфного соматотипу у фронтальній площині ($19,6^\circ \pm 2,1^\circ$), найбільший – у лівій ЄН чоловіків мезоморфного соматотипу в горизонтальній площині ($61,4^\circ \pm 4,5^\circ$). Кути нахилу ЄН у представників усіх соматотипів у горизонтальній площині були статистично значущо більшими порівняно з параметрами осіб із двома нирками, що не мали захворювань нирок і сечових шляхів. У сагітальній площині кути нахилу лівої та правої ЄН у представників усіх соматотипів статистично значущо відрізнялися, а у фронтальній площині вони відрізнялися ($p < 0,05$) тільки у хворих мезоморфного соматотипу. Не визначили статистично значущу різницю кутів нахилу залежно від статі та віку.

Кількісний аналіз положення ЄН у трьох координатних площинах дає можливість прогнозувати виникнення хвороб нирки [17]. Виконали дослідження, які підтвердили взаємозв'язок гемодинамічних порушень при нефроптозі з поділом хворих за ступенем опущення нирки. Результати кореляційного, кластерного та дискримінантного аналізу показали: більш тісний взаємозв'язок виявляється між гемодинамічними порушеннями та ступенем ротації нирки [18]. Дослідники вважають, що ротація нирки є більш суттєвим фактором, що впливає на стан хворого, ніж її опущення [19].

Топографічне положення нирки в заочеревинному просторі впливає не тільки на виникнення патологічних процесів у нирці, але й на хірургічну стратегію під час лікування нирковокам'яної хвороби.

Таблиця 1. Параметри топографії єдиної нирки після нефректомії хворих екоморфного соматотипу за даними МРТ ($M \pm m$)

Кут нахилу нирки (°)	Права нирка (°)		Ліва нирка (°)	
	Чол. (n = 18)	Жін. (n = 24)	Чол. (n = 8)	Жін. (n = 11)
У фронтальній площині	23,4 ± 2,2*	23,4 ± 2,2*	21,5 ± 2,1	19,6 ± 2,1
У сагітальній площині	26,9 ± 2,0#	26,9 ± 2,9#	22,7 ± 2,1#	21,3 ± 2,1#
У горизонтальній площині	55,6 ± 4,8*	56,6 ± 4,5*	52,8 ± 4,3*	54,1 ± 4,5*

*: статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) за критерієм Манна–Уїтні між відповідними показниками порівняно з показниками хворих екоморфного соматотипу, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів; #: статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) за критерієм Манна–Уїтні між відповідними показниками порівняно з показниками кута нахилу протилежної нирки хворих з ЄН екоморфного соматотипу.

Таблиця 2. Параметри топографії єдиної нирки після нефректомії хворих мезоморфного соматотипу за даними МРТ ($M \pm m$)

Кут нахилу нирки (°)	Права нирка		Ліва нирка	
	Чол. (n = 10)	Жін. (n = 7)	Чол. (n = 11)	Жін. (n = 9)
У фронтальній площині	28,9 ± 3,2#	27,0 ± 2,0#	22,6 ± 2,8#	22,7 ± 2,1#
У сагітальній площині	28,3 ± 3,3#	28,1 ± 3,3#	21,7 ± 3,0#	20,9 ± 3,0#
У горизонтальній площині	55,7 ± 4,4*	53,9 ± 4,4*	61,4 ± 4,5*	58,9 ± 4,6*

*: статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) за критерієм Манна–Уїтні між відповідними показниками порівняно з показниками хворих мезоморфного соматотипу, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів; #: статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) за критерієм Манна–Уїтні між відповідними показниками порівняно з показниками кута нахилу протилежної нирки хворих з ЄН мезоморфного соматотипу.

Таблиця 3. Параметри топографії єдиної нирки після нефректомії хворих ендоморфного соматотипу за даними МРТ ($M \pm m$)

Кут нахилу нирки (°)	Права нирка		Ліва нирка	
	Чол. (n = 4)	Жін. (n = 5)	Чол. (n = 5)	Жін. (n = 12)
У фронтальній площині	25,1 ± 4,9*	27,1 ± 4,1	22,3 ± 2,3	22,1 ± 2,2
У сагітальній площині	29,9 ± 4,8#	29,0 ± 4,5#	20,6 ± 2,3#	21,3 ± 2,2#
У горизонтальній площині	54,6 ± 4,3*	55,3 ± 4,4*	54,5 ± 4,5*	54,3 ± 4,3*

*: статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) за критерієм Манна–Уїтні між відповідними показниками порівняно з показниками хворих ендоморфного соматотипу, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів; #: статистично значущі відмінності ($p < 0,05$) за критерієм Манна–Уїтні між відповідними показниками порівняно з показниками кута нахилу протилежної нирки хворих з ЄН ендоморфного соматотипу.

Висновки

1. У хворих через 2–5 років після видалення контралатеральної нирки спостерігають статистично значущо менші кути нахилу правої ЄН у фронтальній площині порівняно параметрами осіб із двома нирками, які не мали захворювань нирок і сечових шляхів.

2. Кути нахилу правої та лівої ЄН хворих усіх соматотипів у горизонтальній площині статистично значущо більші порівняно параметрами осіб із двома нирками, що не мали захворювань нирок і сечових шляхів.

3. Кути нахилу лівої ЄН хворих усіх соматотипів у сагітальній площині статистично значущо менші, ніж параметри правої ЄН.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні кореляційної залежності між зміною положення нирки та виникненням сечокам'яної хвороби ЄН.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Півторак В. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. клінічної анатомії та оперативної хірургії, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.
Монастирський В. М., канд. мед. наук, доцент каф. хірургії факультету післядипломної освіти, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Сведения об авторах:

Пивторак В. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. клинической анатомии и оперативной хирургии, Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Украина.

Монастирський В. Н., канд. мед. наук, доцент каф. хірургії факультета послєдипломного образования, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, Україна.

Information about authors:

Pivtorak V. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Clinical Anatomy and Operative Surgery, National M. I. Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.
Monastyrskiy V. M., MD, PhD, Associate Professor of the Surgery Department of Faculty of Postgraduate Education, National M. I. Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 15.05.2018

Після доопрацювання / Revised: 01.06.2018

Прийнято до друку / Accepted: 08.06.2018

Список літератури

- [1] Solitary kidney: Management and outcome / A. Godron-Dubrasquet, C. Didailler, J. Harambat, B. Llanas // Arch Pediatr. – 2017. – Vol. 24. – №11. – P. 1158–1163.
- [2] Kupajski M. Modern management of stone disease in patients with a solitary kidney / M. Kupajski, M. Tkocz, D. Ziaja // Wideochir. Inne Tech. Maloinwazyjne. – 2012. – Vol. 7. – №1. – P. 1–7.
- [3] Cleper R. Solitary kidney – is it too little? / R. Cleper // Harefuah. – 2018. – Vol. 157. – №1. – P. 58–62.
- [4] A Literature Review of Renal Surgical Anatomy and Surgical Strategies for Partial Nephrectomy / T. Klatte, V. Ficarra, C. Gratzke, et al. // Eur. Urol. – 2015. – Vol. 68. – №6. – P. 980–992.
- [5] Imaging the kidney using magnetic resonance techniques: structure to function / H. Mahmoud, C. Buchanan, S.T. Francis, N.M. Selby // Curr Opin Nephrol Hypertens. – 2016. – Vol. 25. – №6. – P. 487–493.
- [6] Long-term follow-up of blood pressure and glomerular filtration rate in patients with a solitary functioning kidney: a comparison between Wilms tumor survivors and nephrectomy for other reasons / A.M. Mavinkurve-Groothuis, F. van de Kracht, R. Westland, et al. // Pediatr. Nephrol. – 2016. – Vol. 31. – №1. – P. 435–441.

- [7] Мёллер Т.Б. Норма при КТ- и МРТ- исследованиях / Т.Б. Мёллер, Э. Райф. – М.: МЕДпресс-информ, 2008. – С. 44–76.
- [8] Ультразвуковое исследование почек в норме и патологии / А.А. Опарин, Ю.Г. Федченко, И.П. Кореньковский, А.Е. Новохатня // Східноєвропейський журнал внутрішньої та сімейної медицини. – 2016. – №1. – С. 57–67.
- [9] Возрастные особенности анатомии и показателей доплерограммы единственной почки (по данным ультразвукового исследования) / Н.И. Аверьянова, Е.Г. Мироненкова, А.В. Ланских, И.В. Еремеева // Пермский медицинский журнал. – 2006. – Т. 23. – №6. – С. 32–41.
- [10] Моница Ю.В. Особенности компьютерно-томографической анатомии забрюшинного пространства после нефрэктомии / Ю.В. Моница, С.В. Чemezov // Креативная хирургия и онкология. – 2014. – №3. – С. 52–54.
- [11] Компьютерно-томографическая анатомия забрюшинного пространства в норме и после нефрэктомии / С.Н. Лященко, С.В. Чemezov, Д.Н. Лященко, Ю.В. Сафронова // Морфология. – 2017. – Т. 152. – №5. – С. 74–79.
- [12] Лященко С.Н. Клиническая анатомия и особенности топографии фасций забрюшинного пространства и почек / С.Н. Лященко // Наука молодых. – 2014. – №3. – С. 30–38.
- [13] Monastirskiy V.M. Modeling of possible movements of a single human kidney / V.M. Monastirskiy, V.I. Pivtorak, V.A. Fedotov // Deutscher Wissenschaftsherold. – 2017. – №5. – P. 31–33.
- [14] Монастирський В.М. Зміни макроморфометричних параметрів нирки після нефректомії контралатеральної у хворих різних соматотипів / В.М. Монастирський // Вісник проблем біології і медицини. – 2018. – Вип. 1. – Т. 2(143). – С. 311–316.
- [15] Determinants and Functional Significance of Renal Parenchymal Volume in Adults / S. Johnson, R. Rishi, A. et al. // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. – 2011. – Vol. 6. – №1. – P. 70–76.
- [16] Carter J.L. Somatotyping – development and applications / J.L. Carter, B.H. Heath. – Cambridge University Press. – 1990. – 504 p.
- [17] Татевосян А.С. Патогенетические аспекты осложненного течения патологической подвижности почки / А.С. Татевосян, А.Г. Тонян, А.А. Халафян // Урология. – 2013. – №2. – С. 24–27.
- [18] Функциональные лучевые методы исследований в диагностике патологической подвижности почки / А.Г. Тонян, А.С. Татевосян, А.А. Халафян и др. // Исследования и практика в медицине. – 2015. – Т. 2. – №3. – С. 43–50.
- [19] Статистический анализ критериев оценки патологически подвижной почки / А.С. Татевосян, А.Г. Тонян, А.А. Халафян, М.В. Шарпан // Экологический вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества. – 2005. – №1. – С. 85–91.
- [10] Monina, Yu. V., & Chemezov, S. V. (2014) Osobennosti kompyuterno-tomograficheskoy anatomii zabryushinnogo prostranstva posle nefrektomii [Features of computer-tomographic anatomy of retroperitoneal space after nephrectomies]. *Kreativnaya khirurgiya i onkologiya*, 3, 52–54. [in Russian].
- [11] Lyashchenko, S. N., Chemezov, S. V., Lyashchenko, D. N., & Safronova, Yu. V. (2017) Komp'yuterno-tomograficheskaya anatomiya zabryushinnogo prostranstva v norme i posle nefrektomii [Computed tomography anatomy of the retroperitoneal space in the norm and after nephrectomy]. *Morfologiya*, 152(5), 74–79. [in Russian].
- [12] Lyashchenko, S. N. (2014) Klinicheskaya anatomiya i osobennosti topografii fascij zabryushinnogo prostranstva i pochk [Clinical anatomy and topography of the retroperitoneal fascia and kidney]. *Nauka molodykh*, 3, 30–38. [in Russian].
- [13] Monastirskiy, V. M., Pivtorak, V. I., & Fedotov, V. A. (2017) Modeling of possible movements of a single human kidney. *Deutscher Wissenschaftsherold*, 5, 31–33. doi: 10.19221/201759.
- [14] Monastyrsky, V. M. (2018) Zminy makromorфометричnykh parametriv nyrky pislia nefrektomii kontralateralnoi u khvorykh riznykh somatotypiv [Changes of macromorфомetric parameters of the kidney after contralateral nephrectomy in patients with different somatotypes]. *Visnyk problem biologii i medytsyny*, 1, 2(143), 311–316. [in Ukrainian]. doi: 10.29254/2077-4214-2018-1-2-143-311-316.
- [15] Johnson, S., Rishi, R., Andone, A., Khawandi, W., Al-Said, J., Glet-su-Mille, N., et al. (2011) Determinants and Functional Significance of Renal Parenchymal Volume in Adults. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol*, 6(1), 70–76. doi: 10.2215/CJN.00030110.
- [16] Carter, J. L., & Heath, B. H. (1990) Somatotyping – development and applications.
- [17] Tatevosyan, A. S., Tonym, A. G., & Khalafyan, A. A. (2013) Patogeneticheskie aspekty oslozhnennogo techeniya patologicheskoy podvizhnosti pochki [Pathogenetical aspects of complicated abnormal renal mobility]. *Urologiya*, 2, 24–27. [in Russian].
- [18] Tonym, A. G., Tatevosyan, A. S., Khalapyan, A. A., Medvedev, V. L. I., & Pomortsev, A. V. (2015) Funktsional'nye lucheveye metody issledovaniy v diagnostike patologicheskoy podvizhnosti pochki [Functional beam research methods in the diagnosis of abnormal mobility of kidney]. *Issledovaniya i praktika v medicine*, 2(3), 43–50. doi: 10.17709/2409-2231-2015-2-3-43-50. [in Russian].
- [19] Tatevosyan, A. S., Tonym, A. G., Khalapyan, A. A., & Sharpan, M. V. (2005) Statisticheskij analiz kriteriev ocenki patologicheskoi podvizhnosti pochki [Statistical analysis of evaluation criteria for pathologically motile kidney]. *E'kologicheskij vestnik nauchnykh centrrov Chernomorskogo e'konomicheskogo sotrudnichestva*, 1, 85–91. [in Russian].

References

- [1] Godron-Dubrasquet, A., Didailler, C., Harambat, J., & Llanas, B. (2017) Solitary kidney: Management and outcome. *Arch Pediatr*, 24(11), 1158–1163. doi: 10.1016/j.arcped.2017.08.016.
- [2] Kupajski, M., Tkocz, M., & Ziaja, D. (2012) Modern management of stone disease in patients with a solitary kidney. *Wideochir. Inne Tech. Maloinwazyjne*, 7(1), 1–7. doi: 10.5114/wiitm.2011.25641.
- [3] Cleper, R. (2018) Solitary kidney – is it too little? *Harefuah*, 157(1), 58–62.
- [4] Klatte, T., Ficarra, V., Gratzke, C., Kaouk, J., Kutikov, A., Macchi, V., et al. (2015) A Literature Review of Renal Surgical Anatomy and Surgical Strategies for Partial Nephrectomy. *Eur Urol*, 68(6), 980–992. doi: 10.1016/j.eururo.2015.04.010.
- [5] Mahmoud, H., Buchanan, C., Francis, S. T., & Selby, N. M. (2016) Imaging the kidney using magnetic resonance techniques: structure to function. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 25(6), 487–493. doi: 10.1097/MNH.0000000000000266.
- [6] Mavinkurve-Groothuis, A. M., van de Kracht, F., Westland, R., van Wijk, J. A., Loonen, J. J., & Schreuder, M. F. (2016) Long-term follow-up of blood pressure and glomerular filtration rate in patients with a solitary functioning kidney: a comparison between Wilms tumor survivors and nephrectomy for other reasons. *Pediatr. Nephrol*, 31(1), 435–441. doi: 10.1007/s00467-015-3215-2.
- [7] Myoller, T. B., & Rayf, E'. (2008) *Norma pri KT- i MRT-issledovaniyakh [The norm for CT and MRI studies]*. Moscow: MEDpress-inform. [in Russian].
- [8] Oparin, A. A., Fedchenko, Y. G., Korenovskiy, I. P., & Novohatny, A. E. (2016) Ul'trazvukovoe issledovanie pochk v norme i patologii [Kidney sonography in normal and pathologic processes]. *Skhidnoievropeiskiy zhurnal vnutrishnoi ta simeinoi medytsyny*, 1, 57–67. [in Russian].
- [9] Averyanova, N. I., Mironenkova, E. G., Lansikh, A. V., & Eremeeva, I. V. (2006) Vozrastnye osobennosti anatomii i pokazatelej dopplerogrammy edinvennoy pochki (po dannym ul'trazvukovogo issledovaniya) [Age peculiar features of anatomy and dopplerogram indices of single kidney by ultrasound investigation data]. *Permskij medicinskij zhurnal*, 23(6), 32–41. [in Russian].

Проведення в Україні кодифікації медичного законодавства: до питання постановки проблеми

Р. О. Стефанчук¹, А. О. Янчук², М. М. Стефанчук³, М. О. Стефанчук⁴

¹Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна, ²Міністерство охорони здоров'я України, м. Київ,

³ДВНЗ «Київський національний економічний університет імені Вадима Гетьмана», Україна ⁴Національний університет імені Тараса Шевченка, м. Київ, Україна

Ключові слова:
систематизація,
медичне
законодавство,
охорона здоров'я.

Патологія. – 2018. –
Т. 15, № 2(43). –
С. 242–247

DOI:
10.14739/2310-1237.
2018.2.141429

Мета роботи – вивчити та запропонувати комплексний підхід до формування правової політики в галузі охорони здоров'я.

Національне медичне законодавство не має системного характеру. Застарілі, дублювальні й суперечливі нормативно-правові акти різної юридичної сили, надмірна кількість підзаконних міністерських і відомчих актів зумовлюють необхідність здійснення систематизації медичного законодавства, створення стрункої, логічної та всередині не суперечливої системи. Необхідно об'єднати зусилля та знання юристів та медиків для створення належної життєздатної нормативно-правової бази й підвищення ефективності, якості законотворчого процесу.

Під час розроблення власної нормативно-правової бази потрібно врахувати міжнародно-правові стандарти в галузі охорони здоров'я, досвід закордонних країн із медичного законодавства, а також національні особливості, традиції та реалії.

Особливою, найбільш досконалою та вищою формою систематизації законодавства є кодифікація, тобто впорядкування законодавчого матеріалу, яке спрямоване на перероблення шляхом виключення повторів, суперечностей, заповнення прогалин, перетворення характеру та спрямованості матеріалу. Саме цим максимально забезпечується внутрішня узгодженість, цілісність, системність і повнота правового регулювання сучасних суспільних відносин.

Нагальним завданням є створення Медичного кодексу України, який відповідав би загальним стандартам у сфері прав людини та відповідним міжнародно-правовим актам, чільне місце з них належить директивам та іншим актам Всесвітньої організації охорони здоров'я.

Ключевые слова:
систематизация,
медицинское за-
конодательство,
здравоохранение.

Патология. – 2018. –
Т. 15, № 2(43). –
С. 242–247

Проведение в Украине кодификации медицинского законодательства: к вопросу постановки проблемы

Р. А. Стефанчук, А. О. Янчук, М. Н. Стефанчук, Н. А. Стефанчук

Цель работы – изучить и предложить комплексный подход к формированию правовой политики в сфере здравоохранения.

Национальное медицинское законодательство не носит системный характер. Устаревшие, дублирующие и противоречивые нормативно-правовые акты различной юридической силы, чрезмерное количество подзаконных министерских и ведомственных актов требуют проведения систематизации медицинского законодательства, создания стройной, логичной и внутренне не противоречивой системы. Необходимо объединить усилия и знания юристов и медиков для создания надлежащей жизнеспособной нормативно-правовой базы и повышения эффективности и качества законотворческого процесса.

При разработке собственной нормативно-правовой базы необходимо учитывать международно-правовые стандарты в сфере здравоохранения, опыт зарубежных стран по медицинскому законодательству, а также национальные особенности, традиции и реалии.

Особой, наиболее совершенной и высшей формой проведения систематизации законодательства является кодификация, то есть такое упорядочение законодательного материала, которое направлено на переработку путем исключения повторов, противоречий, восполнение пробелов, преобразование характера и направленности материала, чем в максимальной степени обеспечивается внутренняя согласованность, целостность, системность и полнота правового регулирования существующих общественных отношений.

Неотложной задачей является создание Медицинского кодекса Украины, который бы отвечал общим стандартам в области прав человека и соответствующим международно-правовым актам, главное место из которых занимают директивы и другие акты Всемирной организации здравоохранения.

Key words:
filing, medical
legislation,
health care.

Pathologia
2018; 15 (2), 242–247

The codification of medical legislation in Ukraine: the question of the formulation of the problem

R. O. Stefanchuk, A. O. Yanchuk, M. M. Stefanchuk, M. O. Stefanchuk

The purpose of the research is to study and propose an integrated approach to the formation of legal health policy.

National medical law is not systemic. Obsolete, duplicate and contradictory legal acts of varying legal force, excessive number of subordinate ministerial and departmental acts require the systematization of medical legislation, the creation of a coherent,

logical and intra-contradictory system. It is necessary to combine the efforts and knowledge of lawyers and doctors to create an appropriate viable regulatory framework and improve the efficiency and quality of the law-making process.

When developing its own legal and regulatory framework, it is necessary to take into account the international legal standards in the field of health protection, the experience of foreign countries in medical legislation, as well as national peculiarities, traditions and realities.

Codification is a special and the most perfect and highest form of systematization of legislation. That is a streamlining of the legislative material, which is aimed at processing by eliminating repetitions, contradictions, filling gaps, transforming the nature and direction of the material, to the maximum extent provided by internal coherence, integrity, consistency and completeness of legal regulation of existing social relations.

An urgent task is the creation of the Medical Code of Ukraine, which would meet the general standards of human rights and relevant international legal acts, which is dominated by directives and other acts of the World Health Organization.

Реформування такої визначальної галузі суспільного життя, як охорона здоров'я повинне мати чітку, сплановану та ефективну стратегію та тактику. Її основними етапами повинні стати як створення загальнометодологічної бази (визначення мети, пріоритетів такого реформування, принципів, механізму формування та форм реалізації, особливостей здійснення в умовах агресії з боку Російської Федерації тощо), так і формування переліку основних заходів, котрі спрямовані на підвищення ефективності на національному й регіональному рівнях. Пріоритетом у цьому процесі має стати реформування національного медичного законодавства.

Мета роботи

Вивчити та запропонувати комплексний підхід до формування правової політики в галузі охорони здоров'я.

Конституція України є головним джерелом і стоїть в авангарді нормативно-правових актів, що регулюють суспільні відносини в галузі охорони здоров'я, зокрема щодо надання медичної допомоги. Конституційні норми створюють правову основу статусу людини у сфері охорони здоров'я. Ця основа включає не тільки закріплення відповідного права, але і засобів його забезпечення, які держава має у своєму розпорядженні і котрі закладені в політичній та економічній системах, а також її соціальній основі.

Стаття 49 Конституції України присвячена охороні здоров'я та медичній допомозі, в якій закріплено право кожного на охорону здоров'я, медичну допомогу та медичне страхування. Ця норма відбиває вимоги всесвітніх і регіональних міжнародно-правових стандартів у галузі охорони здоров'я. Проблеми, які має вирішити країна на сучасному етапі, – це ефективність функціонування інституту прав людини та громадянина, можливість реалізувати ті права, які гарантовані передовсім Основним законом.

Конституція України 1996 року на основі демократичних принципів розвитку ринкових відносин закріпила в численних статтях права людини в галузі охорони здоров'я, джерела фінансування, компетенцію різних органів державної влади та місцевого самоврядування. Конституційні основи знаходять конкретне втілення в різних сферах суспільного життя, розвиваються під регулятивним впливом всієї правової системи суспільства. Засоби забезпечення права людини на охорону здоров'я закріплюються в Конституції України, отримують у відповідних конституційних нормах узагальнене

політико-правове вираження. Це своєрідний «двигун», що призводить до руху весь механізм практичної реалізації права на охорону здоров'я.

Конституційні норми, які проголошують людині її життя і здоров'я, честь і гідність, недоторканність і безпеку найвищою соціальною цінністю, права та свободи є невідчужуваними й непорушними, зокрема у сфері охорони здоров'я, отримують предметно-юридичне втілення в усій національній системі права.

Переважає більшість законодавчих актів спрямована на деталізацію та спеціальне регулювання відносин, що складаються в медичній галузі. До таких спеціальних законодавчих актів належать Закони України «Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення», «Про психіатричну допомогу», «Про донорство крові та її компонентів», «Про трансплантацію органів та інших анатомічних матеріалів людині», «Про заходи протидії незаконному обігу наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів та зловживанню ними», «Про наркотичні засоби, психотропні речовини і прекурсори», «Про лікарські засоби», «Про безпечність та якість харчових продуктів», «Про протидію поширенню хвороб, що зумовлені вірусом імунодефіциту людини (ВІЛ), та правовий і соціальний захист людей, які живуть із ВІЛ», «Про боротьбу із захворюванням на туберкульоз», «Про захист населення від інфекційних хвороб», «Про заходи щодо попередження та зменшення вживання тютюнових виробів і їх шкідливого впливу на здоров'я населення», «Про охорону дитинства», «Про курорти», «Про імплантацію електрокардіостимуляторів» і низка інших. Варто відзначити, що до кожного з них вже внесено ряд змін і доповнень, незважаючи на відносно нетривалий період чинності.

Аналізуючи кількісний та якісний стан наявних законів у галузі медицини, доходимо до висновку, що всі вони не розв'язують питання комплексного підходу до врегулювання відповідних суспільних відносин. На жаль, у країні не відбувся кількісний перехід законодавчих актів до їхнього якісного та ефективного впливу на стабільність правової забезпеченості та охорони здоров'я громадян. Додатково питання ускладнене низкою підзаконних актів. Аналізуючи сучасний стан національного медичного законодавства, дійшли до висновку, що воно, попри надзвичайну розгалуженість, не має системного характеру. Наявність застарілих, взаємодублювальних і частково суперечливих нормативно-правових актів різної юридичної сили, надмірної кількості підзаконних міністерських і відом-

чих актів, які не завжди відрізняються високою якістю нормопроектної роботи та подекуди не враховують тенденцій сучасного законодавства, – усе це зумовлює необхідність здійснення систематизації медичного законодавства та створення стрункої, логічної та всередині не суперечливої системи.

Під поняттям систематизації законодавства традиційно розуміють упорядкування чинних законів, усіх нормативних актів, приведення юридичних норм в упорядковану та узгоджену систему [1]. Як наведено у фаховій літературі, метою систематизації є:

1) наступний розвиток відповідного галузевого законодавства, оскільки аналіз та опрацювання чинних нормативно-правових актів, групування правових приписів за відповідною схемою, створення внутрішньо єдиної системи актів є необхідною передумовою ефективності правотворчої діяльності, а також сприяє ліквідації прогалин, застаріlostей і суперечностей у чинному законодавстві;

2) ефективна фільтрація накопичених масивів нормативних актів, ревізія чинної правової системи;

3) можливість належної орієнтації в законодавстві та оперативного віднаходження та правильного тлумачення усіх необхідних норм;

4) створення передумов цілеспрямованого та ефективного правового просвітництва та виховання, наукових досліджень і навчання студентів [2].

Саме на досягнення цієї мети повинен орієнтуватися процес систематизації медичного законодавства.

На шляху створення якісної нормативно-правової бази в галузі охорони здоров'я, на нашу думку, трапляється чимало перешкод і труднощів, серед них виділяємо:

- недостатньо виражена державна політика в галузі охорони здоров'я, зокрема її законодавчого забезпечення;

- відсутність науково обґрунтованої стратегії законотворчої діяльності у сфері охорони здоров'я;

- низька законотворча активність суб'єктів законодавчої ініціативи;

- складність проходження законопроектів про охорону здоров'я у Верховній Раді України;

- незначна кількість фахівців, які мають необхідний обсяг знань як у галузі юриспруденції, так і в медицині;

- неконсолідованість діяльності представників правової та медичної науки;

- недостатнє врахування міжнародно-правових стандартів у сфері охорони здоров'я та неефективне використання позитивного зарубіжного досвіду в регулюванні охорони здоров'я;

- нечіткість правової бази в галузі охорони здоров'я, законодавчі колізії та проблеми, що виникають на практиці, коли норми різних актів, які регламентують охорону здоров'я, суперечать одна одній;

- надмірна розпорошеність норм з охорони здоров'я по всьому українському законодавству [3].

Особливу увагу варто приділити питанню об'єднання зусиль і знань юристів і медиків для створення належної життєздатної нормативно-правової бази та підвищення ефективності та якості законотворчого процесу. Для цього, вважаємо, доцільно створити робочу групу, до якої повинні ввійти юристи, медики та

фахівці інших сфер (психологи, філософи, соціологи тощо). Основним завданням групи має бути якісна робота з законопроектами в галузі охорони здоров'я. Таку робочу групу доречно створити при Комітеті Верховної Ради України з питань охорони здоров'я, яка повинна бути забезпечена державним фінансуванням, підтримкою наукових установ, кафедр провідних навчальних закладів для отримання консультацій та експертних висновків і проводити обговорення законопроектів у медичних та юридичних колах як серед учених, так і практиків.

Міжнародно-правові стандарти у сфері охорони здоров'я, досвід зарубіжних країн з медичного законодавства повинні враховуватися вітчизняним законодавцем під час розробки власної нормативно-правової бази. Обов'язково в законотворчій діяльності потрібно враховувати національні особливості, традиції та реалії, не можна сліпо займатися «копіюванням» законодавства, яке не завжди може адаптуватися в наших умовах. Поряд з тим вивчення міжнародно-правових стандартів і закордонного досвіду в цій галузі дасть можливість виділити перспективні напрями для оновлення українського законодавства й реформування охорони здоров'я загалом.

Одним із пріоритетних напрямів удосконалення законодавства про охорону здоров'я в Україні є систематизація чинної нормативно-правової бази. Правові акти, що регламентують охорону здоров'я громадян, інколи ухвалюють не системно, подекуди відсутня єдність у підходах до законодавчого забезпечення права на охорону здоров'я. Такі обставини зумовлюють необхідність комплексного підходу до вдосконалення законодавчої бази охорони здоров'я. Створення належної нормативної бази в галузі охорони здоров'я, передусім законів, – справа творча й нелегка, що потребує знань у галузі охорони здоров'я та медицини, досвіду у сфері законодавчої техніки, відповідального ставлення до справи й усвідомлення відповідальності, яка лягає на плечі розробників медичного законопроекту. Тільки закон, який створений за таких умов, зможе бути дієвим, життєздатним і посяде чільне місце в системі нормативних актів, що регулюють охорону здоров'я, а також матиме можливість скоординувати та спрямувати всі інші акти на забезпечення життя і здоров'я людей.

У загальній теорії права виокремлюють чотири основні форми систематизації: 1) організація та облік нормативно-правових актів; 2) інкорпорація; 3) консолідація; 4) кодифікація [4]. Не зупиняючись на характеристиці кожної з форм систематизації, слід наголосити, що переважна більшість із них уже успішно втілена в сучасній правовій системі України, зокрема щодо медичного законодавства. Так, майже в кожному юридичному відділі чи іншому структурному підрозділі закладів охорони здоров'я, який відповідає за юридичне обслуговування, здійснюється облік нормативно-правових актів, які ухвалюють як на законодавчому рівні, так і на рівні видання підзаконних нормативно-правових актів, переважне місце серед них належить наказам Міністерства охорони здоров'я України. Щодо підготовки та видання різних збірників і зібрань нормативно-правових актів у галузі медичної

діяльності (інкорпорація), то вони також мали місце з різним рівнем повноти та якості, при чому як на офіційному [5], так і на неофіційному (доктринальному) рівнях [6,7]. Окремо питання щодо систематизації медичного законодавства шляхом консолідації також порушували, однак воно стосувалося переважно ухвалення вузько спеціалізованих законодавчих актів на базі попередніх підзаконних нормативно-правових актів, наприклад шляхом консолідації був створений і ухвалений Закон України «Про психіатричну допомогу».

Особливою, найбільш досконалою та вищою формою здійснення систематизації законодавства є, звичайно, кодифікація, тобто таке впорядкування законодавчого матеріалу, яке спрямоване на перероблення шляхом виключення повторів, суперечностей, заповнення прогалин, перетворення характеру та спрямованості матеріалу. Це забезпечує внутрішню узгодженість, цілісність, системність і повноту правового регулювання сучасних суспільних відносин [8]. Ознакою кодифікації є створення нового зведеного законодавчого акта стабільного змісту, який замінює раніше чинні нормативні акти з конкретного питання [9]. Сучасне медичне законодавство знає також кодифікаційний підхід щодо систематизації своїх норм, який знайшов місце у згаданих Основах [10,11]. Враховуючи суттєву зміну суспільних відносин, що відбулася з часу ухвалення цього кодифікованого нормативно-правового акта, а також великий масив медичного законодавства, котрий ухвалений після введення Основ і потребує внутрішнього узгодження змісту своїх норм, ми переконані: нині актуальним є питання щодо створення єдиного кодифікованого законодавчого акта, яким би здійснювалось єдине та одноманітне регулювання суспільних відносин у медичній галузі. Таку функцію міг би виконати Медичний кодекс України.

Слід наголосити, що ідея створення Медичного кодексу України не є новою для правової думки України та вже викладалась у багатьох наукових працях [12,13]. Ми спробуємо не тільки обґрунтувати доцільність цієї ідеї, але й запропонувати власну структуру такого нормативно-правового акта, яка б найкраще охоплювала усі наявні відносини в галузі медичної діяльності.

Актуальність і важливість створення кодифікованого акта пояснюється багатьма обставинами, основними є:

- 1) необхідність комплексного реформування вітчизняної системи охорони здоров'я, зокрема її законодавчого забезпечення як фундаменту для всіх перетворень;
- 2) відсутність науково обґрунтованої концепції законотворчої діяльності в цій галузі;
- 3) прагнення забезпечити підвищення рівня правової освіти медичних і фармацевтичних працівників;
- 4) сприяння та допомога юристам під час розгляду, вирішення так званих «медичних» справ;
- 5) неузгодженість у деяких випадках окремих законів у сфері охорони здоров'я з галузевим законодавством;
- 6) необхідність чіткої регламентації правового статусу медиків і пацієнтів;

7) необхідність правового регулювання різних систем охорони здоров'я (державної, муніципальної, приватної).

На нашу думку, робота зі створення Медичного кодексу України є надзвичайно відповідальною, потребує залучення багатьох фахівців і буде доволі тривалою. Зазвичай процес кодифікації чинного законодавства відбувається кілька років. Багато розвинених країн (Австрія, США, Франція, Італія, Іспанія тощо) у національному законодавстві про охорону здоров'я мають так звані медичні, або лікарські кодекси, норми яких регулюють відносини між медиками та пацієнтами, а також їхніми родичами, професійні стосунки медиків між собою, з адміністрацією закладів охорони здоров'я та державних органів.

У Медичному кодексі необхідно реалізувати вимоги міжнародних стандартів із прав людини, охорони здоров'я, зокрема надання медичної допомоги, оскільки саме він надалі стане міцною опорою медичного права України – галузі права, що починає стрімко розвиватися і в нашій країні.

На нашу думку, Медичний кодекс повинен включати норми, які врегулювали б суспільні відносини в галузі надання медичної допомоги, а всі інші відносини у сфері охорони здоров'я повинні регламентуватися в інших нормативно-правових актах. Кодекс має бути спрямований на детальне і всебічне регулювання цих суспільних відносин, і необхідно виключити або скоротити до мінімуму можливість наявності тих напрямів медичної діяльності, які не знайшли регулювання в цьому акті. Не виключаємо також ситуації, коли виникне необхідність врегулювати деякі аспекти надання медичної допомоги в окремих законах, оскільки кодекс повинен містити норми, що регулюють найбільш важливі та суттєві питання організації, провадження такої допомоги.

Щодо структури Медичного кодексу України варто відзначити, що відповідно до законодавчої техніки, що притаманна країнам германської гілки континентальної системи права, кодифіковані акти повинні мати дихотомічний поділ на загальну й особливу частину. У загальній частині повинні міститися норми, які відбивають загальний характер («дух») усього законодавчого акта й повинні застосовуватися до всіх правовідносин, що регулюються цим кодексом. Особливу частину повинні утворювати норми, які регулюють та охороняють спеціальні правовідносини в цій галузі.

З огляду на це, можемо запропонувати таку структуру проекту Медичного кодексу України:

ЗАГАЛЬНА ЧАСТИНА

Розділ 1. Загальні положення.

Розділ 2. Права людини та громадянина в галузі охорони здоров'я.

Розділ 3. Правові засади біоетики, біобезпеки та медичної деонтології.

Розділ 4. Правові засади системи (моделі організації) охорони здоров'я.

Розділ 5. Державне регулювання (управління) в галузі охорони здоров'я.

Розділ 6. Фінансування системи охорони здоров'я.

Розділ 7. Медична допомога та медичні послуги. Стандартизація медичної діяльності.

Розділ 8. Права медичного працівника.

Розділ 9. Контроль і нагляд у галузі охорони здоров'я.

Розділ 10. Міжнародне співробітництво в галузі охорони здоров'я.

ОСОБЛИВА ЧАСТИНА

Розділ 11. Правове регулювання медичної допомоги при здійсненні права людини на життя.

Розділ 12. Правове регулювання реалізації репродуктивних прав і використання допоміжних репродуктивних технологій.

Розділ 13. Правове регулювання профілактики та лікування інфекційних і венеричних хвороб.

Розділ 14. Правове регулювання трансплантації органів та інших анатомічних матеріалів людини.

Розділ 15. Правове регулювання донорства крові та її компонентів.

Розділ 16. Правове регулювання психіатричної допомоги.

Розділ 17. Правове регулювання фармацевтичної діяльності. Забезпечення лікарськими засобами та засобами медичного призначення окремих категорій населення.

Розділ 18. Правове регулювання проведення медико-біологічних експериментів.

Розділ 19. Правове регулювання народної та нетрадиційної медицини.

Розділ 20. Правове регулювання паліативної та hospice допомоги.

Розділ 21. Правове регулювання надання медичної допомоги окремим фізично та соціально уразливим верствам населення.

Розділ 22. Правове регулювання пластичної, реконструктивної допомоги (косметологія, спортивна медицина тощо).

Розділ 23. Правове регулювання санітарного та епідемічного благополуччя.

Розділ 24. Правове регулювання санаторно-курортної діяльності.

Розділ 25. Правове регулювання медичних експертиз.

Розділ 26. Правова класифікація дефектів надання медичної допомоги. Медична помилка. Ятрогенні патології.

Розділ 27. Соціальний захист медичних працівників.

Розділ 28. Самоврядування в галузі охорони здоров'я.

Розділ 29. Відповідальність за порушення законодавства в галузі охорони здоров'я.

Розділ 30. Прикінцеві положення.

Безперечно, це не кінцева структура проекту. Вважаємо, що він міг би слугувати предметом для наступних дискусій щодо проекту Медичного кодексу України. Визначивши структурні особливості цього законодавчого акта, вже можна говорити про конкретне наповнення його відповідним змістом. Однак дуже важливо, щоб норми, які наповнюють цю структуру, були не тільки здобутком плідної співпраці юристів і медиків, але і відповідали загальним стандартам у галузі прав людини та міжнародно-правовим актам, чільне місце з яких належить директивам та іншим актам Всесвітньої організації охорони здоров'я.

Висновки

Нині охорона здоров'я повинна стати реальним пріоритетом національної політики та, як наслідок, сформувані відповідну правову політику в галузі охорони здоров'я. Тільки в результаті такого комплексного підходу можна говорити про створення єдиного, комплексного та всеосяжного підходу щодо розвитку медичного законодавства в майбутньому.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Стефанчук Р. О., д-р юрид. наук, професор, член-кореспондент Національної академії правових наук України, професор каф. цивільно-правових дисциплін, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна.

Research ID: M-2450-2018. ORCID: 0000-0001-6385-0131

Янчук А. О., д-р юрид. наук, професор, державний секретар, Міністерство охорони здоров'я України, м. Київ.

Стефанчук М. М., д-р юрид. наук, професор каф. правового регулювання економіки, ДВНЗ «Київський національний економічний університет імені Вадима Гетьмана», Україна.

Research ID: M-7224-2018. ORCID: 0000-0002-6239-9091

Стефанчук М. О., канд. юрид. наук, доцент, старший науковий співробітник, Національний університет імені Тараса Шевченка, м. Київ, Україна.

Research ID: Q-1540-2016. ORCID: 0000-0002-2983-2770.

Сведения об авторах:

Стефанчук Р. А., д-р юрид. наук, член-корреспондент Национальной академии правовых наук, профессор каф. гражданско-правовых дисциплин, Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Украина.

Янчук А. А., д-р юрид. наук, профессор, Государственный секретарь, Министерство здравоохранения Украины, г. Киев.

Стефанчук М. Н., д-р юрид. наук, профессор каф. правового регулирования экономики, ГВУЗ «Киевский национальный экономический университет имени Вадима Гетьмана», Украина.

Стефанчук Н. А., канд. юрид. наук, доцент, старший научный сотрудник, Национальный университет имени Тараса Шевченко, г. Киев, Украина.

Information about authors:

Stefanchuk R. O., PhD, Doctor of Law, Professor, V. N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine.

Yanchuk A. O., PhD, Doctor of Law, Professor, State Secretary of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv.

Stefanchuk M. M., PhD, Doctor of Law, Professor, State Higher Educational Establishment "Kyiv National Economic University named after Vadym Hetman", Ukraine.

Stefanchuk M. O., PhD, Faculty of Law, Taras Shevchenko National University, Kyiv, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 09.07.2018

Після доопрацювання / Revised: 17.07.2018

Прийнято до друку / Accepted: 26.07.2018

Список літератури

- [1] Алексеев С.С. Право: азбука – теория – философия: Опыт комплексного исследования / С.С. Алексеев. – М.: Статут, 1999. – С. 96.
- [2] Систематизация законодательства в Российской Федерации / под ред. А.С. Пиголкина. – СПб.: Юридический центр Пресс, 2003. – С. 30–31.
- [3] Тихомиров А.В. Медицинское право: практическое пособие / А.В. Тихомиров. – М.: Статут, 1998. – С. 10.
- [4] Поляков А.В. Общая теория права: Феноменолого-коммуникативный аспект / А.В. Поляков. – СПб.: Юридический центр Пресс, 2003. – С. 661–662.

- [5] Збірник нормативно-директивних документів з охорони здоров'я // Нормативно-правові документи з питань надання психіатричної допомоги / Міністерство охорони здоров'я України. – К., 2002.
- [6] Медичне право України : збірник нормативно-правових актів / упоряд. і наук. ред. Н.Б. Болотіна. – К. : Ін Юре, 2001.
- [7] Законодавство України про охорону здоров'я / відп. ред. В.Ф. Москаленко // Бюлетень законодавства і юридичної практики України. – 2000. – №7.
- [8] Керимов Д.А. Методология права (предмет, функции, проблемы философии права) / Д.А. Керимов. – М. : Аванта +, 2001. – С. 275.
- [9] Систематизация законодательства в Российской Федерации / под ред. А.С. Пиголкина. – СПб. : Юридический центр Пресс, 2003. – С. 44–45.
- [10] Проблемы общей теории права и государства / под ред. В.С. Нерсесянца. – М. : Издательская группа Норма-Инфра-М, 1999. – С. 361.
- [11] Красицька Л.В. Цивільно-правове регулювання особистих немайнових прав громадян / Л.В. Красицька. – Донецьк, 2002. – С. 74.
- [12] Корсаков С.А. Медицинский кодекс как первый шаг к медицинскому праву [Электронный ресурс] / С.А. Корсаков // Медицинский вестник. – 1999. – №8(123). – 15 с. – Режим доступа: <http://med-pravo.ru/Articles/MedLawQuest/MedCode.htm>.
- [13] Люблинець О.В. Медичний кодекс як основа в реформуванні охорони здоров'я України [Електронний ресурс] / О.В. Люблинець, І.Я. Сенюта // Український медичний часопис. – 2006. – №3(53). – Режим доступу: https://www.umj.com.ua/wp/wp-content/uploads/archive/53/pdf/246_ukr.pdf?upload=.

References

- [1] Alekseev, S. S. (1999) *Pravo: azbuka – teoriya – filosofiya: Opyt kompleksnogo issledovaniya* [Law: Experience of integrated research]. Moscow: Statut. [in Russian].
- [2] Pigolkin, A. S. (Ed) (2003) *Sistematizatsiya zakonodatel'stva v Rossijskioj Federacii* [The systematization of legislation in the Russian Federation]. Saint Petersburg: Yuridicheskij centr Press. [in Russian].
- [3] Tikhomirov, A. V. *Medicinskoe pravo* [Medical Law]. Moscow: Statut. [in Russian].
- [4] Polyakov, A. V. (2003) *Obshhaya teoriya prava: Fenomenologiko-kommunikativnyj aspekt* [The General Theory of Law: A Phenomenological-Communicative Aspect]. Saint Petersburg: Yuridicheskij centr Press. [in Russian].
- [5] Ministerstvo okhorony zdorovia Ukrayiny (2002) *Zbirnyk normatyvno-dyrektyvnykh dokumentiv z okhorony zdorovia* [Collection of normative-directive documents on health care]. *Normatyvno-pravovi dokumenty z pytan nadannia psykhiatrychnoi dopomohy*. Kyiv. [in Ukrainian].
- [6] Bolotina, N. B. (Ed) (2001) *Medychne pravo Ukrayiny: zbirnyk normatyvno-pravovykh aktiv* [Medical law of Ukraine: Collection of normative legal acts]. Kyiv: In Yure. [in Ukrainian].
- [7] Moskalenko, V. F. (Ed) (2000) *Zakonodavstvo Ukrainy pro okhoronu zdorovia* [Health Care Legislation of Ukraine]. *Biuleten zakonodavstva i yurydychnoi praktyky Ukrainy*, 7. [in Ukrainian].
- [8] Kerimov, D. A. (2001) *Metodologiya prava (predmet, funkci, problemy filosofii prava)* [Methodology of law (subject, functions, problems of the philosophy of law)]. Moscow: Avanta +. [in Russian].
- [9] Pigolkin, A. S. (Ed) (2003) *Sistematizatsiya zakonodatel'stva v Rossijskioj Federacii* [The systematization of legislation in the Russian Federation]. Saint Petersburg: Yuridicheskij centr Press. [in Russian].
- [10] Nersesyanc, V. S. (Ed) (1999) *Problemy obshhej teorii prava i gosudarstva* [Problems of the general theory of law and state]. Moscow: Izdatel'skaya gruppa Norma-Infra-M. [in Russian].
- [11] Krasitska, L. V. (2002) *Tsyvilno-pravove rehulivannia osobystykh nemainovykh prav hromadian* [Civil regulation of personal non-property rights of citizens]. Donetsk. [in Ukrainian].
- [12] Korsakov, S. A. (1999) *Medicinskij kodeks kak pervyj shag k medicinskomu pravu* [Medical code as the first step towards medical law]. *Medicinskij vestnik*, 8(123), 15. Retrieved from <http://med-pravo.ru/Articles/MedLawQuest/MedCode.htm>. [in Russian].
- [13] Lyubins, O. V., & Seniuta, I. Y. (2006) *Medychnyi kodeks yak osnova v reformuvanni okhorony zdorovia Ukrainy* [The Medical Code as the Basis of Health Protection Reform in Ukraine]. *Ukrainskyi medychnyi chasopys*, 3(53) Retrieved from https://www.umj.com.ua/wp/wp-content/uploads/archive/53/pdf/246_ukr.pdf?upload= [in Ukrainian].

Застосування аутологічної плазми, що збагачена тромбоцитами, для оптимізації репаративної регенерації кісткової тканини при остеопенії

Д. В. Івченко¹, В. В. Мірошніков²

¹Запорізький державний медичний університет, Україна, ²КУ «Міська клінічна лікарня екстреної та швидкої медичної допомоги м. Запоріжжя», Україна

Ключові слова:

збагачена тромбоцитами плазма, кісткова регенерація, остеогенез, кісткове ремоделювання, мінеральний обмін, остеопороз.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 248–258

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.2.141333

E-mail: globalmedms@gmail.com

Мета роботи – аналіз наукової літератури щодо ефективності застосування збагаченої тромбоцитарної плазми для оптимізації лікування компресійних переломів тіл грудних і поперекових хребців на тлі постменопаузального і сенильного остеопорозу.

Усі способи застосування збагаченої тромбоцитами плазми, які описані в фаховій літературі, можна розділити на кілька основних груп. Так, вона може бути змішана з кістковим матеріалом, нанесена на осередок ушкодження перед застосуванням кісткового матеріалу, нанесена поверх кісткового матеріалу, використана як біологічна мембрана.

Збагачена тромбоцитами плазма містить фібрилярний і клітинний компоненти та здатна діяти як носій клітин, важливих для регенерації м'яких і кісткових тканин. Вона може посилювати прикріплення остеобластів людини до мембран і, як наслідок, індукувати остеогенез. Багато авторів є прихильниками стимулювального впливу плазми, що збагачена тромбоцитами, на репаративний остеогенез.

Висновки. На основі відомостей фахової літератури показано високий потенціал терапії збагаченою тромбоцитами плазмою для регенерації кісткової тканини. Досі не виконали належних клінічних досліджень щодо ефективності терапії збагаченою тромбоцитами плазмою, які відповідали б усім сучасним критеріям. Терапія збагаченою тромбоцитами плазмою є перспективною галуззю в медицині та потребує наступних досліджень як новий ефективний і безпечний метод у лікарській практиці.

Ключевые слова:

обогащенная тромбоцитами плазма, костная регенерация, остеогенез, костное ремоделирование, минеральный обмен, остеопороз.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 248–258

Применение аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами, для оптимизации репаративной регенерации костной ткани при остеопении

Д. В. Ивченко, В. В. Мирошников

Цель работы – анализ научной литературы об эффективности применения обогащенной тромбоцитами плазмы для оптимизации лечения компрессионных переломов тел позвонков грудной и поясничной локализации на фоне постменопаузального и сенильного остеопороза.

Все способы применения обогащенной тромбоцитами плазмы, которые описаны в специализированной литературе, можно разделить на несколько основных групп. В частности, она может быть смешана с костным материалом, нанесена на очаг повреждения перед применением костного материала, нанесена поверх костного материала, использована в качестве биологической мембраны.

Обогащенная тромбоцитами плазма содержит фибриллярный и клеточный компоненты и способна действовать как носитель клеток, важных для регенерации мягких и костных тканей. Она может усиливать прикрепление остеобластов человека к мембранам и, как следствие, индуцировать остеогенез. Многие авторы являются сторонниками стимулирующего воздействия плазмы, обогащенной тромбоцитами, на репаративный остеогенез.

Выводы. На основании данных научной литературы показан высокий потенциал терапии плазмой, обогащенной тромбоцитами, для регенерации костной ткани. Не проведены надлежащие клинические исследования по эффективности обогащенной тромбоцитами плазмой терапии, которые отвечали бы всем современным критериям. Терапия обогащенной тромбоцитами плазмой – перспективная отрасль в медицине, заслуживает дальнейших исследований в плане нового эффективного и безопасного метода во врачебной практике.

Key words:

platelet-rich plasma, bone regeneration, osteogenesis, bone remodeling, mineral metabolism, osteoporosis.

Pathologia 2018; 15 (2), 248–258

Autologous platelet-rich plasma application for the optimization of bone tissue reparative regeneration in osteopenia

D. V. Ivchenko, V. V. Miroshnikov

Objective: analysis of scientific literature on the effectiveness of using Platelet-Rich Plasma to optimize the treatment of compression fractures of vertebral bodies of thoracic and lumbar localization against the background of postmenopausal and senile osteoporosis.

All the methods of using Platelet-Rich Plasma, described in the literature, can be divided into several main groups. Platelet-Rich Plasma can be mixed with bone material; is applied to the lesion site before application of bone material; is applied over the bone material; used as a biological membrane.

Platelet-Rich Plasma contain fibrillar and cellular components and is able to act as a carrier of cells which are important for the regeneration of soft and bony tissues. It can strengthen the attachment of human osteoblasts to membranes and, as a consequence, induce osteogenesis. Many authors are the supporters of the stimulating effect of Platelet-Rich Plasma on reparative osteogenesis.

After injection of Platelet-Rich Plasma in the case of complicated fracture the following was observed: odema in the damaged tissues is less pronounced, there are less signs of acute and chronic inflammation, the phase of alteration is changing more quickly by regenerative-reparative processes. The natural clot contains fibrin, fibronectin and vitronectin, they are also called adhesion molecules necessary for cell migration, osteoconduction, epithelialization and osseointegration. Biological properties of Platelet-Rich Plasma are due not only to the presence of growth factors (TGF- β and PDGF), but without them it immediately induces the formation of a fibrin clot, followed by stimulation of cell adhesion and collagen synthesis.

Conclusion. Based on the published literature, a high potential of plasma therapy by Platelet-Rich Plasma for bone tissue regeneration is demonstrated. No adequate clinical studies on the effectiveness of Platelet-Rich Plasma therapy that would meet all modern criteria have yet been conducted. Therapy of Platelet-Rich Plasma is a promising branch in medicine and deserves further research in terms of new effective and safe method of application in medical practice.

В останні роки неухильно збільшується травматизм у всіх країнах світу. Збільшується кількість високоенергетичних переломів і, відповідно, кількість ускладнених переломів. За останні 20 років спостерігається значне збільшення частоти уповільненого зростання переломів, а отже формування несправжніх суглобів. За даними різних авторів, порушення репаративного остеогенезу нині визначають у 10–20 % випадків [1]. За даними дослідження, виконаного в 2008–2009 рр. «Інститутом патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка АМН України» та «Інститутом травматології та ортопедії АМН України», уповільнену консолидацію виявили у 32,7 % [2]. Уповільнена консолидація, незрощені переломи, а також псевдоартрози – це різні види клінічного прояву дисрегенерації кісткової тканини. Дисрегенерація є результатом порушення і перекручення кінетики запально-репаративної реакції [3]. На думку інших авторів, порушення змін фаз проліферації і диференціювання на фоні впливу різноманітних факторів викликає порушення регенераторного процесу. Результатом є гіпер- або гіпорегенерація [4].

Для консолидації перелому і відновлення функції пошкодженої кінцівки слід створити оптимальні умови загоєння кісткової рани: збереження кровообігу або якомога раннє його відновлення, точне зіставлення і надійна фіксація кісткових уламків, активне ведення післяопераційного періоду, дотримання правил асептики. Останнім часом активно розробляють медикаментозні способи стимуляції репаративного остеогенезу. Нині визначено ряд біологічно активних речовин – факторів росту, які мають високий потенціал до стимуляції остеогенних і хондрогенних клітин [5].

Актуальність проблеми хірургічного лікування наслідків остеопорозу у вигляді патологічних переломів хребта зумовлена, в першу чергу, надзвичайною поширеністю цього захворювання у осіб старшої вікової групи. За статистикою ВООЗ, остеопороз поряд з інфарктом міокарда, онкологічними захворюваннями і раптовою смертю, є провідною причиною захворюваності та смертності дорослого населення [6].

Найчастішим ускладненням при остеопорозі є компресійні переломи хребців. За даними міжнародного дослідження EPOS, в Європі у осіб старше 50 років серед усіх переломів кісток на тлі остеопорозу переломи хребців становлять 48 % у чоловіків і 39 % у жінок [7]. Тільки останнім часом, з появою нових малоінвазивних методів – вертебро- і кіфопластики –

став широко використовуватися хірургічний спосіб лікування остеопоротичних переломів хребців.

Однак застосування пункційних малоінвазивних методів не завжди дає можливість вирішити всі завдання хірургічного лікування. Залишаються проблеми відновлення біомеханічної осі хребетного стовпа при вираженому руйнуванні передньої опорної колони, надійної фіксації хребта через високий ризик міграції імплантованих конструкцій на фоні зниженої мінеральної щільності кісткової тканини [8].

Транспедікулярний остеосинтез дає змогу здійснити повноцінну корекцію деформації та фіксацію пошкодженого відділу хребта. Для підвищення стабільності металофіксації при остеосинтезі хребта у хворих на остеопороз найпоширенішим варіантом залишається застосування протяжної фіксації хребта мультиопорними конструкціями. Встановлення додаткових елементів для стабілізації призводить до збільшення тривалості й травматичності хірургічного втручання, що обмежує використання цього методу у пацієнтів похилого та старечого віку з великою кількістю супутніх соматичних захворювань [9].

Іншим варіантом підвищення надійності металофіксації в умовах остеопорозу є додаткове введення у фіксовані конструкцією хребці кісткового цементу, що дає можливість зменшити протяжність фіксації хребта і запобігти міграції гвинтів із хребців. Однак наявна інформація не підтверджує переваги використання пластики фіксованих хребців кістковим цементом порівняно з іншими способами лікування [10].

Дані фахової літератури свідчать, що кожен із хірургічних методів лікування остеопоротичних переломів хребта має свої недоліки за відсутності чіткого алгоритму хірургічного лікування переломів хребців у пацієнтів із системним остеопорозом.

В останні роки все ширше використовуються фактори росту для стимуляції та модулювання процесів репарації різних пошкоджених і травмованих тканин. Як засіб такого типу розглядають збагачену тромбоцитами плазму (ЗТП). Для її виготовлення цільну аутокров центрифугують для отримання концентрації тромбоцитів, що перевищує концентрацію в цільній крові. Відомо, що альфа-гранули тромбоцитів містять цілий ряд медіаторів – факторів росту: інсуліноподібний фактор росту-1 (ІФР-1), основний фактор росту фібробластів (ОФРФ), тромбоцитарний фактор росту (ТФР), епідермальний фактор росту (ЕФР), судинний

ендотеліальний фактор росту (СЕФ) і трансформуючий фактор росту-бета (ТФР-β), які відіграють найважливішу роль в ослабленні запальної реакції та елімінації некротизованих клітин [11].

Уже доведено високу ефективність біологічних препаратів на основі збагаченої тромбоцитами плазми в лікуванні спортивних травм, при операціях, зокрема і на суглобах, а також в стоматології та косметології. Повідомляють про позитивний досвід застосування ЗТП у ревматології при хронічних тендинітах колінного, ліктьового і гомілковостопного суглобів. В останні роки ЗТП все ширше використовують при виконанні вертебротомії, в лікуванні псевдоартрозу, артриту, синовіту, ураженнях менісків і суглобового хряща. Однак ефективність ЗТП при компресійних переломах тіл хребців грудної та поперекової локалізації на тлі постменопаузального і сенільного остеопорозу майже не описано. Ряд досліджень є пілотними, для них характерний малий обсяг вибірки, в інших відсутні контрольні групи. В доступній науковій літературі відсутня стандартизація протоколів досліджень і критеріїв оцінювання результатів лікування. Отже, не можливо оцінити доказову базу для клінічного застосування ЗТП і концентрованих препаратів аутологічної крові для лікування більшості ортопедичних захворювань, зокрема при компресійних переломах тіл хребців грудної та поперекової локалізації на тлі постменопаузального і сенільного остеопорозу [12].

Мета роботи

Аналіз наукової літератури щодо ефективності застосування ЗТП для оптимізації лікування компресійних переломів тіл хребців грудної та поперекової локалізації на тлі постменопаузального і сенільного остеопорозу.

Для оцінювання процесів репаративного остеогенезу важливе значення мають дослідження специфічних маркерів кісткових метаболічних процесів. Основним структурним компонентом позаклітинного простору кісткової тканини є колагенові волокна. Серед методів оцінювання стану кісткової тканини, зокрема інтенсивності процесів біосинтезу та розпаду колагену, метод визначення фракцій оксипроліну в сечі посідає одне з пріоритетних місць.

В основі відновлення цілісності кісткової тканини лежать 3 послідовних стереотипних процеси: запалення, проліферація і склероз. Ці процеси спрямовані на підтримку тканинного гомеостазу. Пусковим моментом репаративної регенерації є реактивне запалення, яке може виникати відразу після травми і тривати до 5 діб. У фазу запалення з пошкоджених кровоносних судин у тканину виливається кров, утворюючи гематому. Пошкоджені клітини, а також тканини в ділянці перелому некротизуються. Девіталізовані фрагменти тканини, ацидоз, низький парціальний тиск кисню, медіатори запалення є хемоатрактантами для формених елементів крові та стовбурових кісткових клітин. Регенерація кісткової тканини починається вже з моменту утворення кров'яного згустку, в якому активну участь беруть тромбоцити. Саме в гематомі стартують процеси проліферації та диференціації остеогенних

клітин-попередників кісткової тканини. Основним активатором репаративних процесів у пошкоджених тканинах, в тому числі кістковій, є тромбоцити [13]. Цей формений елемент не містить ядра, є похідним мегакаріоцитів, але заповнений великою кількістю гранул.

Остеогенні клітини – клітини, що підтримують популяцію, кількісно диференціюються в остеобласти, локалізуються в трубчастих кістках, у внутрішньому шарі окістя, в ендості; виявляються серед клітин строми кісткового мозку. Деякі автори стверджують, що остеобластичні елементи розташовуються в зовнішньому шарі окістя. Існує думка про пухку волокнисту сполучну тканину окістя, ендосту, каналів остеонів, що є продовженням тканинних елементів строми кісткового мозку. В експериментах із мишами мутантних ліній, що мають дефект стромальних елементів і стовбурових кровотворних клітин, щодо регуляції фенотипу остеогенних клітин, оцінювання диференціювання механоцитів кісткового мозку, а також зв'язку кількості клітин кісткового мозку з активністю регенерації кісткової тканини [14] також перевірялися положення цього погляду.

Результати дали можливість сформулювати положення про те, що кістковомозкові стромальні клітини гістогенетично відмінні від кровотворних елементів. Завдяки цьому стромальними елементами кісткового мозку вважають клітини, що не мають походження від стовбурової кровотворної клітини (ретикулярні, ендотеліоцити та інші клітини стінки синусоїдних капілярів, ліпоцити та остеогенні клітини), а ретикулоцити й остеогенні клітини розглядають як стромальні механоцити [15,16].

Ангіогенез є обов'язковою умовою здійснення регенераційного остеогенезу, який залежить від умов васкуляризації. Залежність інтенсивності загоєння кісткової рани прямо пропорційна об'єму кровопостачання, що показано в дослідженнях перебігу переломів, відновлення кістки після її резекції, розвитку реконструктивно-запальних процесів, приживлення хрящових або кісткових трансплантатів, пересаженного окістя. Накопичені дані, що показують істотну роль периваскулярних клітин як камбіальних елементів, котрі активно беруть участь у загоєнні кісткового перелому, під час дистракційного остеосинтезу або при регенерації кісткової тканини після вогнепального ушкодження [17].

Останнім часом інтенсивно розвивається концепція, згідно з якою в організмі клітини-попередники наявні у 2 видах: індуцибельні до кісткоутворення клітини і детерміновані, тобто здатні до самопідтримання й утворення кісткових клітин. Останні дослідження показали, що диференціація мезенхімальних стромальних (стовбурових) клітин за остеобластичним типом здійснюється під контролем факторів транскрипції, клітинних і матричних взаємодій, системних (транскрипційні фактори Sox9, BMP2, Cbfa 1, Wnt) і місцевих факторів [18]. До місцевих факторів належать достатня трофіка в ділянці перелому, зокрема переміщення іонів Ca²⁺, які транспортуються, в тому числі, за допомогою Wnt/Ca²⁺-сигнального шляху [19].

Незважаючи на існування наведених концепцій, залишається актуальним припущення, що в регене-

рації кісткової тканини, крім гетерогенних клітинних джерел різної локалізації та походження, які мають різні потенціали до диференціювання й остеогенні можливості, беруть участь елементи кров'яного згустку – фіброцити, тромбоцити, гістіоцити, жирові клітини, перицити, остеокласти, клітини мієлоїдного ряду, ендотеліоцити [20].

Численні дослідження, які демонструють участь різних клітинних популяцій у регенерації кісткової тканини на клітинному рівні, не містять відомостей про регуляторну роль молекул, що забезпечують залучення цих популяцій у процес регенерації, а також даних про участь кальцієвого обміну в регуляції цих реакцій.

У тромбоцитах містяться три основних види гранул: α -гранули, щільні гранули та лізосомальні гранули. Фактори росту містяться в α -гранулах і вивільняються з них після активації тромбоцитів. В α -гранулах містяться щонайменше 60 біологічно активних речовин, які включаються в механізми тканинної регенерації, стимулюють хемотаксис клітин, клітинну проліферацію і диференціювання, ангіогенез, імуномодуляцію та ремодуляцію [21]. Серед цих активних субстанцій для репаративної регенерації найбільш важливими є ростові фактори. Описано більше 30 факторів росту, які містяться в гранулах тромбоцитів. Активація тромбоцитів відбувається так: при пошкодженні ендотелію або при взаємозв'язку з клітинами-агоністами тромбоцит змінює свою форму, і відбувається його дегрануляція з вивільненням вмісту гранул, включаючи фібриноген і серотонін, які дають можливість тромбоцитам вступати між собою в реакцію агрегації. Фактор Віллебранта, який знаходиться у гранулах тромбоцитів, формує між тромбоцитами мостоподібні глікопротеїнові комплекси, що також призводить до агрегації та активації тромбоцитів [20–22].

Відомості, наведені в літературі з лікування переломів кісток із використанням плазми та фібрину, що збагачений тромбоцитами, неоднозначні, а іноді й спірні. На підставі вивчення в експерименті на кроликах регенерації дефектів кістки критичного розміру в умовах використання як матриць трансплантатів з аутокістки в поєднанні з фібрином, збагаченим тромбоцитами, встановлено: в ділянці травматичного ушкодження розташовувалася зріла пластинчаста кісткова тканина, спаяна з кістковими трансплантатами у вигляді стружки, які були з ознаками активної перебудови. Морфометричний аналіз регенерації кістки у тварин без заповнення дефекту або заповнення тільки кістковим аутоотрансплантатом свідчить про стимуляцію репаративного остеогенезу при сполученні автокістки та фібрину, що збагачений тромбоцитами [22].

Першими, хто почав застосовувати фібрин і похідні з нього препарати для прискорення загоєння кісткових ран, – стоматологи. Одним із таких препаратів був фібриновий клей, який активно застосовувався для прикріплення тканин під час різних пластик [23]. Однією з модифікацій фібринового клею є збагачена тромбоцитами плазма. Оскільки готується вона з аутологічної крові, то містить у великій кількості цитокіни, які регулюють перебіг процесу запалення, залучаючи в осередок нейтрофіли і моноцити/макрофаги, підсилюючи їх адгезію і не викликаючи імунологічних реакцій.

Введені цитокіни забезпечують гуморально-клітинну кооперацію крові та кісткової тканини, стримують розвиток запальної реакції, беруть участь у кістковій перебудові, диференціюванні клітин-попередників імунної системи, в клітинній активації та проліферації, а також забезпечують експресію розчинних молекул адгезії. Цей різновид фібринового клею викликає міграцію та розподіл усіх мезенхімальних клітин, в тому числі хондроцитів і стовбурових клітин, а також стимулює синтез колагену і матриксу сполучної тканини [12,23].

При виконанні ін'єкцій плазмою, що збагачена тромбоцитами, в разі неускладненого перебігу перелому менше виражена набряклість у пошкоджених тканинах, менше проявляються ознаки гострого і хронічного запалення, фаза альтерації швидше змінюється регенераторно-репаративними процесами. У ряді робіт показана доцільність застосування препаратів фібрину для прискорення регенерації тканин у клініці та експерименті [15,16,19,21]. Використання збагаченої тромбоцитами плазми для прискорення репарації кістки і м'яких тканин нині стало одним із напрямів у реконструктивно-відновлювальній хірургії. Ця біотехнологія привертає все більшу увагу клініцистів, а розуміння механізмів її лікувальної дії – теоретиків. Відомо [20], що при руйнуванні мембран клітинних елементів виділяються фактори росту, і основні з них містяться в багатій тромбоцитами плазмі. Це тромбоцитарний фактор росту (PDGF-aa, PDGF-bb, PDGF-ab), трансформуючий фактор росту (TGF- β 1, TGF- β 2), фактор росту ендотелію судин (VEGF) і фактор росту епітелію (EGF). Ці природні фактори росту перебувають у плазмі в біологічно зумовлених співвідношеннях, що відрізняє збагачену тромбоцитами плазму від рекомбінантних факторів росту [19,24].

Існує два різновиди тромбоцитарного концентрату: збагачена тромбоцитами плазма (ЗТП) і збагачений тромбоцитами фібриновий гель (ЗТФГ). ЗТП отримують шляхом центрифугування крові, яку інтраопераційно отримали в пацієнта з вени. Після отримання центрифугують 40–60 мл крові. Існує кілька методів отримання ЗТП залежно від використаної техніки [14]. Використовуючи американську центрифугу фірми Harvest Smart PReP, спочатку з вени за допомогою 60-мілілітрового шприца, що містить 5 мл цитрату, беруть 45–55 мл крові, яка переноситься в одне з відділень двосекційної чашки. Чашку центрифугують при швидкості 3650 об/хв, при цьому відбувається відділення еритроцитів від плазми з іншими елементами. Обороти автоматично знижуються до 60 за хвилину, і плазму переливають в друге відділення чашки, після чого центрифугування триває на швидкості 3000 об/хв. Після закінчення центрифугування відокремлену від бідної тромбоцитами плазми тромбоцитарну масу набирають у шприц і, нейтралізувавши цитрат хлоридом кальцію, активують тромбоцити бичачим тромбіном [13]. При використанні німецької центрифуги «Heraeus Labofuge 300» застосовують так званий «курсанівський» метод, який дає можливість використовувати лабораторну центрифугу. З літрової вени кров набирають спеціальним 9-мілілітровим шприцем, що містить цитрат, і в ньому центрифугують протягом 10 хвилин при 4000 об/хв для відділення еритроцитарної

фракції. Потім плазму набирають в інший шприц без цитрату та інших компонентів, обробляють в центрифугі протягом 15 хвилин, обертаючи 3600 об/хв. Після відділення бідної тромбоцитами плазми отримують кінцевий продукт у кількості приблизно 0,3 мл. Застосовувати ЗТП рекомендується в поєднанні з препаратом «Cerasorb» – штучно синтезованим бета-трикальційфосфатом. Для цього «Cerasorb» попередньо змішують з кров'ю, яка взята з рани, а потім до суміші додають ЗТП.

Методику отримання ЗТФГ пропонує французька фірма «Montblan» у вигляді системи для отримання багаті тромбоцитами плазми, яка включає компактну лабораторну центрифугу фірми і стандартну систему забору крові у вакуумні пластикові пробірки. Об'єм кожної пробірки – 9 мл, всередині міститься активатор згортання сироватки. Одночасно можна обробляти в центрифугі до 8 таких пробірок. Кров набирають з ліктьової вени спеціальним катетером у вакуумну пробірку і центрифугують протягом 12 хвилин при 2600 об/хв. Кінцевим продуктом є тромбоцитарно-фібриновий гель. Перевагами методу є однократна обробка крові в центрифугі, невелика мінімальна кількість крові та досить проста схема отримання ЗТФГ. Існує також Тауаронсак для отримання тромбоцитів із високим вмістом фібрину. Кров відбирають у сухі стерильні спеціально для цього розроблені пробірки, які не містять будь-яких хімічних речовин, і піддають одному центрифугуванню на швидкості від 100 до 6000 об/хв. У пробірках при цьому утворюються 3 фракції. У нижній частині осідають червоні кров'яні тільця, а у верхній частині – плазма з низьким вмістом тромбоцитів. Між цими двома фракціями знаходиться згусток із високим вмістом тромбоцитів і фібрину, який витягується прямим пінцетом. Потім його поміщають на стерильну поверхню. У плазмі міститься 2–3 млн тромбоцитів із підвищеним вмістом фібронектину, фібрину та усі лейкоцити [13].

Здійснили досить велику кількість досліджень на тваринах із застосуванням ЗТП. В одному з експериментів Lucarelli et al. показана залежність остеогенних властивостей тромбоцитарної маси від кількості в ній тромбоцитів: порівнювали остеогенну активність 1 % і 10 % розчинів тромбоцитарної маси щодо стовбурових клітин. На 6 день експерименту після введення тромбоцитарних концентратів відзначили істотне підвищення темпу проліферації стовбурових клітин у середовищах із 10 % розчином тромбоцитарної маси. Зроблений висновок про можливість комплексного застосування тромбоцитарної маси і стовбурових клітин [25].

Romip виконав змішування клітин кісткового мозку та ЗТП, визначив збільшення проліферації клітин кісткового мозку приблизно на 31 % з 15 дня експерименту [26]. Тао Н. у кроликів експериментально отримав некроз голівки стегнової кістки і виконав лікування некрозу з використанням трикальційфосфату (ТКФ) і ЗТП в одній групі та чистого ТКФ в іншій. Контроль здійснив через 4, 8 і 12 тижнів. У групі з лікуванням ТКФ і ЗТП відзначено істотне прискорення остеогенезу порівняно з групою ТКФ [27]. Zhang et al. порівняв стимуляцію остеогенезу при заміщенні

дефекту керамічним гідроксиапатитом із додаванням ЗТП і без неї. В результаті виявлено швидке утворення кісткової тканини при використанні ЗТП [28]. Є дані про клінічні дослідження із застосуванням ЗТП у травматології та ортопедії. Lowery et al. застосували аутогенну кісткову тканину і ЗТП при фіксації хребетного стовпа і отримали хороші результати [29]. Автори не спостерігали псевдоартрози, і зрощення настало у всіх випадках.

Dallari et al. порівняли зрощення переломів в 3 групах хворих. В 1 групі використовували кісткову стружку, у 2 групі хворих застосовували ліофілізовану кісткову стружку та ЗТП, в 3 – ліофілізовану кісткову стружку, ЗТП і стовбурові клітини кісткового мозку. Контрольне дослідження через 1 рік показало значно кращу остеоінтеграцію у 2 і в 3 групах [30]. Kitoh et al. [31] використовували ЗТП і стовбурові клітини кісткового мозку при дистракції кісткового регенерату в пацієнтів. Вони спостерігали формування кісткового мозку між 34 і 47 днями в усіх пацієнтів при темпі дистракції 1,5 мм на день. Прискорене утворення кісткової мозолі спостерігали після одноразового введення ЗТП і стовбурових клітин.

Є дані про позитивний досвід застосування ЗТП у лікуванні хронічних ран. Відзначено успішне використання ЗТП на інфікованих ранах і достовірне зниження активності інфекційного агента. Така антимікробна активність пов'язана з високим вмістом у тромбоцитарному концентраті лімфоцитів і лейкоцитів. У зарубіжній фаховій літературі дуже мало даних щодо використання ЗТП для лікування порушень зрощення переломів. Декілька досліджень свідчать, що черезшкірне введення ЗТП в місце уповільненої консолидації значно покращує результати лікування, проте деякі автори при використанні ЗТП отримали зрощення переломів тільки в 50 % випадків. Інші автори проводили лікування уповільненої консолидації переломів ЗТП разом з аутогенним кістковим трансплантатом, і зрощення було досягнуто в усіх випадках. Пластика аутогенною кістковою тканиною має переваги через відсутність імунної відповіді на трансплантат. Є відомості про комплексне використання стовбурових клітин і ЗТП. Суміш клітин і тромбоцитарного концентрату вводили ін'єкційним шляхом у місце перелому, що не зростається. Heringou et al. [32] вводили в апластичний псевдосуглоб концентрат кісткового мозку та ЗТП і отримали зрощення у всіх випадках, де кістковомозковий концентрат був багатий стовбуровими клітинами (>1500). Автори спостерігали окостеніння сполучної тканини між кістковими фрагментами, але не змогли пояснити механізм, що лежить в основі зміни волокнистої тканини на кісткову.

У природному густку містяться фібрин, фібронектин і вітронектин, їх ще називають адгезивними молекулами, необхідними для міграції клітин, остеокондукції, епітелізації та остеоінтеграції. T. Kawase і співавт. [33] експериментально довели, що біологічні властивості плазми, збагаченої тромбоцитами, зумовлені не тільки наявністю в ній факторів росту (TGF- β і PDGF), вона і без них негайно індукуює утворення фібринового густку з наступною стимуляцією клітинної адгезії та синтезу колагену [16,25].

К. Aketla і співавт. [34] повідомили, що аутоплазма, збагачена тромбоцитами, може бути використана як джерело анаболічних факторів росту для стимуляції хондроцитів у хрящових тканиноінженерних конструкціях у зв'язку з посиленням синтезу протеогліканів і колагену. Необхідно зазначити, що плазма, збагачена тромбоцитами, не має остеоіндуктивних властивостей, оскільки не може ініціювати утворення нової кістки без наявності кісткових клітин. Індукувати утворення кістки *de novo* здатні тільки кісткові морфогенетичні білки, бо тільки вони мають такий ефект. Плазма, яка збагачена тромбоцитами, стимулює ангиогенез і мітоз клітин, що беруть участь у процесі регенерації, а також є аутогенним джерелом факторів росту. Фактори росту і диференціації є класом біологічних медіаторів, які відіграють важливу роль у стимуляції та регулюванні загоєння ран, а також прискорюють ключові клітинні процеси, включаючи мітогенез, хемотаксис, диференціацію та метаболізм. При цьому поліпшується регенерація тканин і стимулювання гісто- і ангиогенезу, немає реакції рецепторних структур і кісткової тканини на температурні подразники, скорочуються терміни лікування (за рахунок ліквідації першої фази процесу регенерації – лізису згустку і запалення), поліпшується самопочуття пацієнта в післяопераційному періоді, відсутня набряклість м'яких тканин після операції [34,35].

Усі способи застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, які описані в фаховій літературі, можна розділити на кілька основних груп: вона може бути змішана з кістковим матеріалом; нанесена на осередок ушкодження перед застосуванням кісткового матеріалу; нанесена поверх кісткового матеріалу; використана як біологічна мембрана.

Плазма, збагачена тромбоцитами, повинна бути коагульована безпосередньо перед використанням. Згортання крові супроводжується активацією тромбоцитів, які при цьому вивільняють фактори росту. Протягом перших 10 хв тромбоцити виділяють близько 70 % факторів росту, повне вивільнення відбувається протягом 1 години. Після цього тромбоцити продовжують синтезувати додаткову кількість факторів росту приблизно протягом 8 днів, після чого гинуть.

Збагачена тромбоцитами плазма містить фібрилярний і клітинний компоненти та здатна діяти як носій клітин, які важливі для регенерації м'яких і кісткових тканин. Вона може посилювати прикріплення остеобластів людини до мембран і, як наслідок, індукувати остеогенез. Багато авторів є прихильниками стимулювального впливу плазми, що збагачена тромбоцитами, на репаративний остеогенез. В. Л. Брехов [35] вважає, що застосування багатої тромбоцитами аутоплазми оптимізує процеси репаративного остео- і хондрогенезу, покращуючи результати хірургічного лікування хворих із дефектами кісткової та хрящової (суглобової) тканин, зменшує кількість реостеосинтезів у 7 разів і призводить до скорочення термінів непрацездатності на 15 %.

Незважаючи на це, ряд авторів не схильні розглядати плазму, збагачену тромбоцитами, як стимулятор остеогенезу, оскільки не виявили відмінностей за темпами репаративної регенерації в групах порівняння і при додаванні збагаченої тромбоцитами плазми [36].

Є група авторів, які вважають, що статистично значуща активізація остеогенезу відбувається тільки в ранні терміни, тобто на початкових стадіях регенерації кістки. Через 3 місяці (12 тижнів) жодних відмінностей протягом регенераторного процесу не спостерігають [37].

Виходячи зі специфіки наших досліджень, вважаємо, що варто вказати на факт появи останнім часом все більшої кількості повідомлень щодо антимікробної активності багатої тромбоцитами плазми. D. J. Moojen і співавт. [38] вивчали активність тромбоцитарно-лейкоцитарного гелю при інфекціях, які викликані *Staphylococcus aureus*, і визначили потенційну можливість його застосування, але кореляції між цією активністю і активністю мієлопероксидази не виявили. Т. М. Bielecki і співавт. [39] аналізували антибактеріальний ефект *in vitro* збагаченої тромбоцитами плазми, взятої у 20 добровольців. У результаті виявили пригнічення росту *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli* та одночасне індукування росту *Ps. aeruginosa*, що свідчить про різну стійкість мікроорганізмів до плазми, що збагачена тромбоцитами. Автори вважають, що комбінація індуктивних і антимікробних властивостей багатої тромбоцитами плазми може покращувати результати лікування хворих з інфікованими переломами і несправжніми суглобами. В. Г. Самодай і співавт. [40] під час лікування псевдоартрозів та інфікованих дефектів кісткової тканини застосовували багату тромбоцитами аутоплазму, яка була додатково насичена антибіотиками. У деяких випадках для створення «фокуса регенерації» вони використовували губчасту аутокістку. Автори встановили пряму стимулювальну й антимікробну дію цього комплексу на регенераторну здатність кісткової тканини. В середньому вдалося прискорити зрощення кісткових уламків на 18 % порівняно з традиційними методами лікування.

Група авторів [41] на 92 білих щурах-самцях аутобредного розведення вивчали вплив певних факторів на процес загоєння перелому малої гомілкової кістки, а також обмін іонів Ca^{2+} , фосфору і активність лужної фосфатази в плазмі крові. Процес загоєння перелому був однаковий за тимчасовими показниками у щурів II і III груп, яким у місце перелому вводили плазму, збагачену тромбоцитами, виконували фонофорез із фіксованою дозою отрути. За характером процесу утворення кісткової мозолі вони відрізнялися. Так, в I і III групах процес відбувався за остеогенним типом, а в II групі – за хондрогенним. При застосуванні плазми, яка збагачена тромбоцитами, активується лужна фосфатаза плазми і знижується вміст фосфору і кальцію. Під впливом фонофорезу відбувається активація надходження Ca^{2+} в ділянку перелому, але, на відміну від II групи, цей процес мав перемінний характер. Автори припустили, що збагачена плазма і фонофорез з Апі-зартроном сприяє активнішому надходженню кальцію в ділянку перелому й активації процесів репарації в популяції остеоцитів.

Дослідники [42] через 60 діб компресії з моделюваним дегенеративнодистрофічним ураженням хребта без корекції у щурів у гістологічних препаратах спостерігали помітну асиметрію структур хребців і міжхребцевих дисків, виражені патологічні зміни в

них. Результати порівняльного морфометричного дослідження товщини міжхребцевих дисків на боці дистензії та компресії свідчать, що показники товщини фіброзного кільця на боці дистензії, величина вогнищ некрозу фіброзного кільця на стороні компресії, ступінь зміщення драглистого ядра у бік дистензії значно збільшувалися. Товщина фіброзного кільця на боці компресії була меншою, ніж у інтактних тварин, а величина вогнищ некрозу фіброзного кільця на боці дистензії – значно меншою за цей показник на боці компресії. Кількість некротизованих клітин у драглистому ядрі майже не змінювалася. Максимальні дегенеративно-дистрофічні ознаки фіброзного кільця виявили на боці компресії. Колагенові пластини фіброзного кільця були сплюснені та розшаровані. У центральних ділянках сплюснення спостерігали виражену дезорганізацію і механічне руйнування колагенових пластин із безліччю поліморфних щілин. У цих ділянках виявили поширені вогнища фібрoneкрозу колагенових пластин, які доходили до місць прикріплення їх до епіфіза.

У тварин після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою були вірогідно менша кількість вогнищ хондрoneкрозу, менший ступінь розволокнення колагенових волокон, зменшена виразність асиметрії тканин між сторонами компресії та дистензії, більша товщина фіброзного кільця на боці компресії порівняно з групою тварин без корекції. Під сумнівом визначено зменшення кількості некротизованих клітин у драглистому ядрі, зміну висоти епіфізів тіл хребців. Незмінними залишилась асиметрія розташування драглистого ядра міжхребцевого диска. Результати дають підставу вважати, що збагачена тромбоцитами плазма, яка містить велику кількість факторів росту та стовбурові клітини [43], відіграє роль активатора власних клітин-попередників хондрогенезу та остеогенезу, а судинна сітка, що утворюється навколо ураженої ділянки хребта, зменшує ступінь ішемічного ураження, стимулює процеси регенерації, сприяє відтворенню структурно-функціональної здатності хребта.

Використання збагаченої тромбоцитами плазми в лікуванні остеоартрозу колінного суглоба характеризується більш вираженою клінічною ефективністю у пацієнтів із I і II стадією, при триразовому внутрішньосуглобовому введенні з інтервалом в 1 тиждень порівняно із застосуванням гіалуронової кислоти, що проявляється зниженням частоти виявлення набряку (в 8,4 раза), гіпертермії (в 6,2 раза), гіперемії (в 4,7 раза) через 12 місяців від початку лікування. Найбільш виражена клінічна ефективність застосування збагаченої тромбоцитами плазми у пацієнтів із остеоартрозом колінних суглобів спостерігається за відсутності вираженого синовіту [44].

Ізольоване застосування ЗТП у лікуванні остеоартрозу колінного суглоба характеризується більшою ефективністю у віддаленому періоді порівняно з використанням тільки гіалуронової кислоти, а також порівняно з комбінованим використанням збагаченої тромбоцитами плазми і гіалуронової кислоти. Застосування збагаченої тромбоцитами плазми сприяє зниженню больових відчуттів в колінному суглобі і підвищенню функціональних можливостей хворих на остеоартроз: частка пацієнтів із проявами болю

при ходьбі знижується в 2,3–2,5 раза, болями при фізичному навантаженні – в 1,2–2,2 раза, а частка пацієнтів без обмеження рухів збільшується в 1,6–2,1 раза порівняно з групами хворих, під час лікування яких використовували гіалуронову кислоту.

Застосування збагаченої тромбоцитами плазми характеризується такою динамікою МРТ-ознак остеоартрозу колінного суглоба: зменшенням частоти виявлення синовіту в 1,1–1,5 раза і зниженням вираженості деструкції суглобового хряща – зменшенням частки хворих із деструкцією 3 стадії в 1,4 раза. Виявлені ознаки свідчать про зниження активності запалення в тканинах суглоба при застосуванні цього методу [45].

Внутрішньосуглобове застосування аутологічної збагаченої тромбоцитами плазми характеризується хорошою переносимістю і не супроводжується небажаними явищами. Застосування локальної ін'єкційної терапії аутологічною збагаченою тромбоцитами плазмою у вигляді двотижневого курсу з трьох внутрішньосуглобових ін'єкцій призводить до кращих результатів у пацієнтів з I рентгенологічної стадією порівняно з пацієнтами з II–III рентгенологічними стадіями [46].

Інша група вчених вивчала ефективність застосування збагаченої тромбоцитами плазми для оптимізації репараційного остеогенезу при переломах нижньої щелепи з ускладненим клінічним перебігом [47]. В основній групі (20 осіб) проводили лікування із додатковим введенням збагаченої тромбоцитами плазми в лінію перелому, а в контрольній групі (20 пацієнтів) – лікування тільки традиційними методами. Результати біохімічних досліджень метаболізму колагену вказували на ранній термін переходу від стадії резорбції до стадії біосинтезу колагену в основній групі, тоді як у контролі такий рівень біохімічних показників визначали на 3–4 доби пізніше. Отже, автори на підставі клінічно-рентгенологічних і біохімічних досліджень встановили, що введення в лінію перелому збагаченої тромбоцитами плазми прискорює репарацію кістки, запобігає виникненню пізніх посттравматичних ускладнень, покращує результати лікування, пришвидшує терміни реабілітації хворих, скорочує термін непрацездатності на 3–4 дні.

Автори [48] вивчали клініко-рентгенологічні та морфомеханічні особливості регенерату в пацієнтів із незрощеними діафізарними переломами, обґрунтовуючи вибір способу лікування та методик стимуляції регенерації кістки. Наведено досвід лікування 73 хворих із діафізарними переломами кінцівок, що не зрослися. Серед них виділені клінічні групи на підставі оцінювання ступеня деформованості регенерату. Автори диференціювали показання до застосування закритого компресійного остеосинтезу, а також різних видів пластичних матеріалів (дрібних губчастих аутотрансплантатів самостійно та в поєднанні зі збагаченою тромбоцитами плазмою, аутофібриновим гелем й іншими препаратами, що містять фібрин). Для з'єднання кісткових відламків застосовували авторські апарати зовнішньої фіксації, які функціонально навантажували кінцівку. Позитивні результати отримали в 95 % випадків. Утворення кісткового регенерату відбувалося при використанні аутопластики

губчастою кісткою в чистому вигляді та в поєднанні з плазмою, збагаченою тромбоцитами, й аутофібрином, а також препаратів фібрину. Дослідники не виділяють відмінностей за ефектом від застосування того чи іншого остеопластичного матеріалу, оскільки всі вони відіграли позитивну роль в умовах, які були створені повторною операційною травмою і правильним функціональним навантаженням сегмента. Ймовірно, і аутоспонгіоза, і фібрин відіграють роль активного формоутворювального наповнювача, що містить фактори росту фіброblastів, судин. Вплив тиску з фізіологічно правильним вектором на активний кістково-фібриновий матрикс призводить до формування цілісного кісткового регенерату.

Автори [49] описали сучасний досвід діагностики та лікування пацієнтів із несправжніми суглобами човноподібної кістки кисті. Встановили, що лікування за допомогою стабільної фіксації та введення плазми, збагаченої тромбоцитами, скорочує термін зрощення перелому та сприяє ранній реабілітації. В основній групі пацієнтів, в лікуванні яких використовували плазму, збагачену тромбоцитами, рентгенологічно видиме зрощення несправжніх суглобів через 8 тижнів настало у 3 осіб (60 %). У 1 пацієнта (20 %) зрощення настало через 12, у 1 (20 %) – через 16 тижнів після операції. У контрольній групі зрощення на 8 тижні виявили у 2 пацієнтів (40 %), у 2 (40 %) – на 16 тижні. Післяопераційний перебіг у 1 пацієнтки (20 %) ускладнився відсутністю зрощення через 16 тижнів і наявністю порожнини резорбції кісткової тканини. У цієї пацієнтки кісткова аутопластика застосована не була у зв'язку з незадовільним станом уламків. Контроль за зрощенням здійснювали за допомогою рентгенографії, однак чутливість цього методу відносно низька. Наявність організованих кісткових балок між фрагментами можна розпізнати в більш ранні терміни під час комп'ютерної томографії, що дає можливість раніше почати реабілітацію.

Кількість незадовільних результатів лікування несправжніх суглобів як із застосуванням вільної, або васкуляризованої кісткової пластики, так і без неї вказує на виснаження остеоіндуктивних і репаративних запасів кісткової тканини. На думку дослідників, одним із факторів лікування повинна бути стимуляція цих процесів, чому сприяє ряд активних речовин, котрі містяться в багатій тромбоцитами плазмі: тромбоцитарний фактор росту (PDGFFaa, PDGFFbb, PDGFFab), трансформуючий фактор росту (TGFFb1, TGFFb2), фактор росту ендотелію судин (VEGF) і фактор росту епітелію (EGF), інтерлейкін 8 (IL8), інсуліноподібний фактор росту. Вони мають високий ступінь афінності та відносно тривалий час первинного впливу на рецептори індукованих остеогенних клітин-попередників, стимулюють ангіогенез, мітоз, ріст клітин, зв'язують частки кісткового матеріалу. При виражених порушеннях кровопостачання кісткового фрагмента компенсація може бути досягнута тільки внесенням кісткової тканини із кровопостачанням – васкуляризованою кістковою фрагмента одночасно зі стимуляцією репаративної регенерації різними методами.

За даними [50], лікування переломів нижньої щелепи в підборідному відділі має ряд особливос-

тей та пов'язане з тривалішими строками загоєння. Авторі обстежили і здійснили лікування 68 хворих із переломами підборідного відділу нижньої щелепи, з яких 46 пацієнтів (контрольна група) пролікували із застосуванням консервативного методу (мануальна репозиція фрагментів перелому та фіксація фрагментів індивідуальними двощелепними шинами Тігерштедта із зачіпними петлями). Прикус відновлювали гумовими тягами. Проводили екстракцію з лінії перелому, призначали антибактеріальні та нестероїдні протизапальні препарати. 22 хворим (основна група) виконували операцію остеосинтезу з введенням суміші остеокондуктивного матеріалу «Bio-oss» та аутоплазми, збагаченої тромбоцитами, між фрагментами перелому. Для фіксації прикусу до операції на зубні ряди закріплювали індивідуальні двощелепні шини Тігерштедта із зачіпними петлями та гумовими тягами. Проводили екстракцію зуба з лінії перелому. Медикаментозне лікування включало антибактеріальні та нестероїдні протизапальні препарати, додатково призначали препарати «Остеовіт» та «Симбітер» (НПА «Одеська біотехнологія»). Препарат «Остеовіт» є дієтичною добавкою, що містить необхідні компоненти для побудови кістки та стимулятори утворення і відновлення кісткової тканини. Капсули містять соєвий екстракт, цитрат кальцію, сульфат цинку та вітамін D₃. Соевий екстракт включає амінокислоти, макро- та мікроелементи, вітаміни групи В та ізофлавоїни. Останні є активними антиоксидантами, можуть перешкоджати накопиченню пестицидів в організмі, а також є стимуляторами кісткоутворення. Вітамін D₃ необхідний для засвоєння кальцію, активує перенос кальцію з кишечника та бере участь у побудові й оновленні кісткової тканини. Цинк відіграє важливу роль у підтриманні активності ферментів, що беруть участь у процесах утворення та оновлення кісткової тканини, також за наявності цинку підсилюється остеопротекторна дія ізофлавоїнів сої та вітаміну D₃. «Остеовіт» призначали по 1 капсулі двічі на день під час прийому їжі. При застосуванні тільки консервативного методу лікування 26 % хворих демонстрували ускладнення у вигляді сповільненого загоєння перелому, 15,2 % – у вигляді нагноєння кісткової рани та травматичного остеомієліту. Під час використання хірургічного методу лікування такі ускладнення не спостерігали.

Група авторів [51] представила результати комплексного лікування хронічного остеомієліту довгих трубчастих кісток із використанням збагаченої тромбоцитами плазми та струменевої санації. Експеримент виконали на 105 безпородних щурах. Під час лікування експериментального хронічного остеомієліту найбільший ефект отримали від комбінованого використання струменевої санації та збагаченої тромбоцитами плазми, що полягає в скороченні термінів купірування запального процесу, стимуляції регенераторних процесів.

Завдяки досягненням клінічної фармакології, реабілітації та нейрохірургії в останні роки значно збільшилася тривалість та якість життя травмованих хворих. Однак, незважаючи на величезний науковий прогрес, досягнутий у цій галузі, існує багато питань щодо ви- вчення тактики ведення пацієнтів із травмою хребта

та можливостей відновлення функції пошкодженого спинного мозку, які залишаються невирішеними. Тому однією з найактуальніших проблем у травматології є травматичні переломи, а терапевтичні підходи при лікуванні ЗТП є перспективною галуззю в сучасній практичній травматології.

Висновки

1. На основі сучасної фахової літератури продемонстровано високий потенціал і доказову базу терапії із використанням збагаченої тромбоцитами плазми для регенерації кісткової тканини як нової методики оптимізації та прискорення загоювання тканинних уражень та кісткової регенерації.

2. Досі не здійснено належні клінічні дослідження щодо ефективності терапії ЗТП, які відповідали б усім сучасним критеріям, особливо в умовах зменшення мінералізації, згідно з доступними джерелами фахової літератури.

3. Терапія ЗТП є перспективною галуззю в медицині та заслуговує наступних спостережень і досліджень як новий ефективний і безпечний метод застосування в лікарській практиці.

4. Застосування плазми, збагаченої тромбоцитами, для стимуляції остеοіндуктивних процесів дає можливість вірогідно покращити результати лікування при компресійних переломах органів хребців грудної та поперекової локалізації на фоні остеопорозу.

Перспективи подальших досліджень полягають у клінічному оцінюванні можливостей використання збагаченої тромбоцитами плазми для оптимізації репаративного остеогенезу на тлі остеопенії.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Івченко Д. В., д-р мед. наук, професор каф. травматології і ортопедії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Мірошников В. В., лікар ортопед-травматолог, відділення травматології з ліжками політравми, КУ «Міська клінічна лікарня екстреної та швидкої медичної допомоги м. Запоріжжя», Україна.

Сведения об авторах:

Ивченко Д. В., д-р мед. наук, профессор каф. травматологии и ортопедии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Мирошников В. В., врач ортопед-травматолог, отделение травматологии с койками политравмы, КУ «Городская клиническая больница экстренной и скорой медицинской помощи г. Запорожья», Украина.

Information about authors:

Ivchenko D. V., MD, PhD, DSc, Department of Traumatology and Orthopedics, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine. Mirosnikov V. V., MD, Orthopedist-traumatologist, Department of Traumatology with Polytrauma Beds, City Clinical Hospital of Emergency and Medical Care, Zaporizhzhia, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 16.11.2017

Після доопрацювання / Revised: 27.11.2017

Прийнято до друку / Accepted: 11.12.2017

Список літератури

- [1] Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации / Н.А. Корж, Н.В. Дедух // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – №1. – С. 77–84.
- [2] Климовицкий В.Г. Частота замедленной консолидации переломов у пострадавших разных возрастных групп и влияние на нее остеотропной терапии / В.Г. Климовицкий, В.Ю. Черныш // Травма. – 2011. – Т. 12. – №3. – С. 93–97.
- [3] Штейнле А.В. Посттравматическая регенерация костной ткани (часть 2) / А.В. Штейнле // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – Т. 25. – №1. – С. 114–118.
- [4] Сочетанное использование остеопластики и обогащенной тромбоцитами плазмы в травматологии и ортопедии (обзор литературы) / И.Л. Кирилова, Н.Г. Фомичев, В.Т. Подорожная, Ю.В. Эйтиейн // Травматология и ортопедия России. – 2008. – №3(49). – С. 64–67.
- [5] Bone generation in the reconstruction of a critical size calvarial defect in an experimental model / Y.C. Por, C.R. Barceló, K.E. Salyer et al. // Ann. Acad. Med. Singapore. – 2008. – Vol. 36. – №11. – P. 911–919.
- [6] Основні показники інвалідності та діяльності медико-соціальних експертних комісій України за 2011 рік : аналітико-інформаційний довідник / В.В. Маруніч, А.В. Іпатів, Ю.І. Коробкін та ін. ; за ред. Р.В. Богатирьової. – Дніпропетровськ : Пороги, 2012. – 150 с.
- [7] Влияние культивированных аутогенных клеток студенистого ядра на структуру межпозвонковых дисков хвостовых сегментов при моделировании остеохондроза у крыс / В.В. Григоровский, М.В. Хижняк, И.Г. Васильева и др. // Украинский нейрохирургический журнал. – 2013. – №2. – С. 28–34.
- [8] Особенности остеосинтеза переломов шейки бедренной кости в молодом возрасте / В.Г. Климовицкий, М.А. Канзюба, А.И. Канзюба, С.С. Хачатрян // Літопис травматології та ортопедії. – 2013. – № 3–4. – С. 58–60.
- [9] Do autologous growth factors enhance transforaminal lumbar interbody fusion? / H.T. Hee, M.E. Majd, R.T. Holt, et al. // Eur Spine J. – 2003. – Vol. 12. – Issue 4. – P. 400–407.
- [10] Берченко Г.Н. Применение биокомпозитного наноструктурного препарата коллапан и обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в инжиниринге костной ткани / Г.Н. Берченко, Г.А. Кесян, Д.С. Микелашвили // Травма. – 2010. – Т. 11. – №1. – С. 7–14.
- [11] The efficacy of platelet-rich plasma in grafted maxillary bone. A randomised clinical trial / M. Badr, P. Coulthard, R. Alissa, R. Oliver // European Journal of Oral Implantology. – 2010. – Vol. 3. – №3. – P. 233–244.
- [12] Platelet-rich plasma promotes healing of osteoporotic fractures / L. Chen, X. Yang, G. Huang, et al. // Orthopedics. – 2013. – Vol. 36. – №6. – P. 687–694.
- [13] Зубенко А.Г. Оптимізація перебігу репаративного остеогенезу при переломах великогомілкової кістки (експериментально-клінічне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня к.мед.н. / А.Г. Зубенко. – К., 2011. – 19 с.
- [14] Павленко К.В. Влияние эндогенных и экзогенных стимуляторов роста на механизмы репаративной регенерации костной ткани : дис. на соискание ученой степени к.мед.н. / К.В. Павленко. – Одесса, 2016. – 123 с.
- [15] Dose-dependent effects of platelet gel releasate on activities of human osteoblasts / J. Uggeri, S. Belletti, S. Guizzardi, et al. // J. Periodontol. – 2007. – Vol. 78. – №10. – P. 1985–1991.
- [16] Attachment of periodontal fibroblasts to barrier membranes coated with platelet-rich plasma / T. Chang, Q. Liu, V. Marino, P.M. Bartold // Aust. Dent. J. – 2007. – Vol. 52. – №3. – P. 227–233.
- [17] Role of platelet-rich plasma in acceleration of bone fracture healing / R. Simman, A. Hoffmann, R.J. Bohinc, et al. // Ann Plast Surg. – 2008. – Vol. 61. – №3. – P. 337–344.
- [18] Stanton T. High-concentrate PRP Promotes Healing in Long-Bone Nonunions / T. Stanton [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.aaos.org/News/The_Daily_Edition_of_AAOS_Now/2012/.
- [19] The use of autologous blood-derived growth factors in bone regeneration / R. Civinini, A. Macera, L. Nistri, B. Redl // Innocenti Clin. Cases Miner. Bone Metab. – 2011. – Vol. 8. – №1. – P. 25–31.
- [20] Zhao Y. Research progress of platelet-rich plasma in promoting bone regeneration and repairing / Y. Zhao, W. Zhai // Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wei Ke Za Zhi. – 2010. – Vol. 24. – №8. – P. 1004–1008.
- [21] Platelet-rich plasma injection for chronic Achilles tendinopathy: a randomized controlled trial / R.J. de Vos, A. Weir, H.T. van Schie, et al. // JAMA. – 2010. – Vol. 303. – №2. – P. 144–149.
- [22] Регенерація кістки при використанні аутогенної костної тканини та фибрина, збагаченого тромбоцитами / О.А. Бурьянов, Т.Н. Омельченко, Ю.А. Ярмолюк, М.В. Вакулич // Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – Вип. 1(135). – С. 96–99.
- [23] Schwartz-Arad D. The use of platelet rich plasma (PRP) and platelet rich fibrin (PRF) extracts in dental implantology and oral surgery / D. Schwartz-Arad, L. Levin, M. Aba // Refuat Hapeh Vehashinayim. – 2007. – Vol. 24. – №1. – P. 51–55, 84.
- [24] Topical use of platelet-rich plasma to influence bone volume in maxillary augmentation: a prospective randomized trial / H. Schaaf, P. Streckbein, S. Lendeckel, et al. // Vox Sang. – 2008. – Vol. 94. – №1. – P. 64–69.

- [25] When size matters: differences in demineralized bone matrix particles affect collagen structure, mesenchymal stem cell behavior, and osteogenic potential / B. Dozza, I.G. Lesci, S. Duchi, et al. // *Biomed Mater Res A*. – 2017. – Vol. 105(4). – P. 1019–1033.
- [26] Dose-dependent role of the cohesin complex in normal and malignant hematopoiesis / A.D. Viny, C.J. Ott, B. Spitzer, et al. // *J Exp Med*. – 2015. – Vol. 212(11). – P. 1819–32.
- [27] Experimental observation of human bone marrow mesenchymal stem cell transplantation into rabbit intervertebral discs / H. Tao, Y. Lin, G. Zhang, et al. // *Biomed Rep*. – 2016. – Vol. 5(3). – P. 357–360.
- [28] Porous composite scaffold incorporating osteogenic phytomolecule icariin for promoting skeletal regeneration in challenging osteonecrotic bone in rabbits / Y. Lai, H. Cao, X. Wang, et al. // *Biomaterials*. – 2018. – Vol. 153. – P. 1–13.
- [29] Lowery J.W. Bone Morphogenetic Protein-Based Therapeutic Approaches / J.W. Lowery, V. Rosen // *Cold Spring Harb Perspect Biol*. – 2017. – Apr. 7. – pii: a022327.
- [30] Cell-based Assay System for Predicting Bone Regeneration in Patient Affected by Aseptic Nonunion and Treated with Platelet Rich Fibrin / F. Perut, D. Dallari, N. Rani, et al. // *Curr Pharm Biotechnol*. – 2016. – Vol. 17(12). – P. 1079–1088.
- [31] Activated FGFR3 promotes bone formation via accelerating endochondral ossification in mouse model of distraction osteogenesis / Y. Osawa, M. Matsushita, S. Hasegawa, et al. // *Bone*. – 2017. – Vol. 105. – P. 42–49.
- [32] Enhanced human bone marrow mesenchymal stromal cell adhesion on scaffolds promotes cell survival and bone formation / M. Mebarki, L. Coquelin, P. Layrolle, et al. // *Acta Biomater*. – 2017. – Vol. 59. – P. 94–107.
- [33] In vitro evidence that the biological effects of platelet-rich plasma on periodontal ligament cells is not mediated solely by constituent transforming-growth factor-beta or platelet-derived growth factor / T. Kawase, K. Okuda, Y. Saito, et al. // *J. Periodontol*. – 2005. – Vol. 76. – №5. – P. 760–767.
- [34] Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis / K. Akeda, H.S. An, M. Okuma, et al. // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2006. – Vol. 14. – №12. – P. 1272–1280.
- [35] Брехов В.Л. Хирургическое лечение больных с дефектами костной и хрящевой тканей с применением богатой тромбоцитами аутоплазмы: автореф. дис. на соискание ученой степени к.мед.н.: спец. 14.00.27 «Хирургия» / В.Л. Брехов. – Курск, 2007. – 21 с.
- [36] Use of platelet gel with connective tissue grafts for root coverage: a randomized-controlled trial / H.G. Keceli, D. Sengun, A. Berberoğlu, et al. // *J. Clin. Periodontol*. – 2008. – Vol. 35. – Issue 3. – P. 255–262.
- [37] Radiographic and histomorphometric analysis of bone healing using autogenous graft associated with platelet-rich plasma obtained by 2 different methods / M. Hatakeyama, M.E. Beletti, D. Zanetta-Barbosa, et al. // *Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol., Oral Radiol. Endod*. – 2008. – Vol. 105. – №1. – P. e13–e18.
- [38] Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against *Staphylococcus aureus* / D.J. Moojen, P.A. Everts, R.M. Schure, et al. // *J. Orthop. Res*. – 2007. – Vol. 26. – Issue 3. – P. 404–410.
- [39] Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances (in vitro study) / T.M. Bielecki, T.S. Gazdzik, J. Arendt, et al. // *J. Bone Jt Surgery*. – 2007. – Vol. 89. – №3. – P. 417–420.
- [40] Самодай В.Г. Использование богатой тромбоцитами аутоплазмы в лечении псевдоартрозов и инфицированных дефектов костной ткани / В.Г. Самодай // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: материалы III Всероссийского симпозиума с международным участием (Москва, 25–26 апреля 2007 г.). – М., 2007. – С. 148–150.
- [41] Structural and functional features of reparative osteogenesis under the influence of natural healing factors / K.V. Pavlenko, B.A. Nasibullin, Ye.B. Uvarova, A.I. Gozhenko // *Journal of Education, Health and Sport*. – 2015. – Vol. 5(3). – P. 279–288.
- [42] Холодкова О.Л. Порівняльна характеристика патологічних змін у міжхребцевих дисках хвостових сегментів щурів за умов моделювання постійної асиметричної компресії-дистензії та після корекції збагаченою тромбоцитами плазмою / О.Л. Холодкова, О.В. Цюруп, І.Ю. Бад'їн // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2015. – №4. – С. 66–68.
- [43] Холодкова О.Л. Можливості використання збагаченої тромбоцитами плазми при експериментальній терапії токсичного ураження печінки / О.Л. Холодкова, Д.М. Горчаг // Український морфологічний альманах. – 2013. – Т. 11. – №3. – С. 63–65.
- [44] Клиническая эффективность применения обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении остеоартроза коленного сустава / Г.Д. Лазишвили, К.А. Егиазарян, А.А. Ахпашев и др. // Клиническая практика. – 2016. – №3. – С. 54–60.
- [45] Биотехнологии в лечении локальных хрящевых и костно-хрящевых дефектов мышелков бедренной кости / Г.Д. Лазишвили, В.В. Кузин, Д.И. Гордиенко и др. // Кафедра травматологии и ортопедии. – 2016. – №1(17). – С. 40–44.
- [46] Хирургическая коррекция локальных дефектов гиалинового хряща коленного сустава, прошлое и настоящее / Г.Д. Лазишвили, В.В. Кузин, Д.И. Гордиенко и др. // Хирургическая практика. – 2016. – №1. – С. 46–52.
- [47] Трифаненко С.І. Ефективність застосування збагаченої тромбоцитами плазми для оптимізації репараційного остеогенезу при переломах нижньої щелепи з ускладненим клінічним перебігом / С.І. Трифаненко, М.П. Продан, Н.Б. Кузяк // Буковинський медичний вісник. – 2012. – Т. 16. – №4(64). – С. 162–164.
- [48] Лечение несращения отломков кости после диафизарного перелома / А.К. Попсуйшапка, А.В. Литвишко, В.В. Григорьев, Н.А. Ашукина // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2014. – №1. – С. 34–41.
- [49] Результаты лечения ложных суставов ладьевидной кости кисти с применением плазмы обогащенной тромбоцитами / А.В. Борзых, И.А. Соловьев, А.И. Погорилык, и др. // Літопис травматології та ортопедії. – 2013. – №3–4(27–28). – С. 9–11.
- [50] Кулицька О.В. Особливості лікування переломів підбірідного відділу нижньої щелепи / О.В. Кулицька // Вісник наукових досліджень. – 2015. – №4. – С. 68–70.
- [51] Глухов А.А. Клинико-лабораторная оценка использования обогащенной тромбоцитами плазмы и струйной санации в лечении хронического экспериментального остеомиелита / А.А. Глухов, Е.В. Микиulich, Н.Т. Алексеева // Вестник новых медицинских технологий. – 2013. – Т. 20. – №2. – С. 108–112.

References

- [1] Korzh, N. A., & Dedukh, N. V. (2006) *Reparativnaya regeneraciya kosti: sovremennyy vzglyad na problemu. Stadii regeneracii* [Orthopedics, traumatology and prosthetics]. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye*, 1, 77–84. [in Russian].
- [2] Klimovickij, V. G., & Chernysh, V. Yu. (2011) *Chastota zamedlennoy konsolidacii perelomov u postradavshikh raznykh vozrastnykh grupp i vliyaniye na neyo osteotropnoy terapii* [The frequency of delayed consolidation of fractures in affected individuals of different age groups and the impact of osteotropic therapy on it]. *Travma*, 12(3), 93–97. [in Russian].
- [3] Shteinle, A. V. (2010) *Posttravmaticheskaya regeneraciya kostnoj tkani (chast' 2)* [Posttraumatic regeneration of bone tissue (part 2)]. *Sibirskij medicinskij zhurnal*, 25(1), 114–118. [in Russian].
- [4] Kirilova, I. L., Fomichev, N. G., Podorozhnaya, V. T., & E'teijn, Yu. V. (2008) *Sochetannoe ispol'zovanie osteoplastiki i obogashchennoy trombocitami plazmy v travmatologii i ortopedii (obzor literatury)* [Combined use of osteoplasty and platelet-enriched plasma in traumatology and orthopedics (literature review)]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii*, 3(49), 64–67. [in Russian].
- [5] Por, Y. C., Barceló, C. R., Salyer, K. E., Genecov, D. G., Troxel, K., Gendler, E., et al (2008) Bone generation in the reconstruction of a critical size calvarial defect in an experimental model. *Ann. Acad. Med. Singapore*, 36(11), 911–919.
- [6] Marunych, V. V., Ipatov, A. V., Korobkin, Yu. I., et al. (2012) *Osnovni pokaznyky invalidnosti ta diialnosti medyko-sotsialnykh ekspertnykh komisii Ukrainy za 2011 rik* [Main indicators of disability and activity of medical and social expert commissions of Ukraine for 2011] R.V. Bogatyreva (Ed). Dnipropetrovsk: Porohy. [in Ukrainian].
- [7] Grigorovsky, V. V., Khyzhnyak, M. V., Vasilyeva, I. G., Shuba, I. N., & Gafiyuchuk, Yu. G. (2013) *Vliyaniye kul'tivirovannykh autogennykh kletok studenistogo yadra na strukturu mezhpozvonkovykh diskov khvostovykh segmentov pri modelirovanii osteokhondroza u krys* [The influence of cultivated autogenous nucleus pulposus cells on structure of intervertebral discs of caudal spine at osteochondrosis model in rats]. *Ukrainskyi neirokhirurhichnyi zhurnal*, 2, 28–34. [in Russian].
- [8] Klimovitsky, V. G., Kanziuba, M. A., Kanziuba, A. I., & Khachatryan, S. S. (2013) *Osobennosti osteosinteza perelomov shejki bedrennoj kosti v molodom vozraste* [Features of Osteosynthesis of Femoral Neck Fracture in young Adults]. *Litopys travmatologii ta ortopedii*, 3–4, 58–60. [in Russian].
- [9] Hee, H. T., Majd, M. E., Holt, R. T., & Myers, L. (2003) Do autologous growth factors enhance transforaminal lumbar interbody fusion? *Eur Spine J.*, 12(4), 400–407. doi: 10.1007/s00586-003-0548-5.
- [10] Berchenko, G. N., Kesyana, G. A., & Mikelaishvili, D. S. (2010) *Primeneniye biokompozitnogo nanostrukturного preparata kollapan u obogashchennoy trombocitami autoplazmy v inzhiniringe kostnoj tkani* [Application of biocomposite nanostructural preparation collapse and autoplasmic enriched trombocytes in bone engineering]. *Travma*, 11(1), 7–14. [in Russian].
- [11] Badr, M., Coulthard, P., Alissa, R., & Oliver, R. (2010) The efficacy of plateletrich plasma in grafted maxil lae. A randomised clinical trial. *European Journal Oral Implantology*, 3(3), 233–244.
- [12] Chen, L., Yang, X., Huang, G., Song, D., Ye, X. S., Xu, H., & Li, W. (2013) Platelet-rich plasma promotes healing of osteoporotic fractures. *Orthopedics*, 36(6), 687–694. doi: 10.3928/01477447-20130523-10.
- [13] Zubenko, A. H. (2011) *Optymizatsiia perebihu reparativnoho osteohe-nezu pry perelomakh velykohomil'kovoï kistky (eksperymentalno-klinichne doslidzhennia)* (Avtoref. dis...kand. med. nauk). [Optimization of the course of reparative osteogenesis in fractures of the tibia (experimental and clinical study)]. (Extended abstract of candidate's thesis). Kyiv [in Ukrainian].
- [14] Pavlenko, K. V. (2016) *Vliyaniye e'ndogenynykh i e'kzogenynykh stimulyatorov rosta na mekhanizmy reparativnoy regeneracii kostnoj tkani* (Dis...

- kand. med. nauk). [Influence of endogenous and exogenous growth stimulants on mechanisms of reparative regeneration of bone tissue. Dr. med. sci. diss.]. Odessa. [in Russian].
- [15] Uggeri, J., Belletti, S., Guizzardi, S., Poli, T., Cantarelli, S., Scandroglio, R., & Gatti, R. (2007) Dose-dependent effects of platelet gel releasate on activities of human osteoblasts. *J. Periodontol.*, 78(10), 1985–1991. doi: 10.1902/jop.2007.070116.
 - [16] Chang, T., Liu, Q., Marino, V., & Bartold, P. M. (2007) Attachment of periodontal fibroblasts to barrier membranes coated with platelet-rich plasma. *Aust. Dent. J.*, 52(3), 227–233.
 - [17] Simman, R., Hoffmann, A., Bohinc, R. J., Peterson, W. C., & Russ, A. J. (2008) Role of platelet-rich plasma in acceleration of bone fracture healing. *Ann Plast Surg.*, 61(3), 337–344. doi: 10.1097/SAP.0b013e318157a185.
 - [18] Stanton, T. (2012) High-concentrate PRP Promotes Healing in Long-Bone Nonunions Retrieved from http://www.aaos.org/News/The_Daily_Edition_of_AAOS_Now/2012/.
 - [19] Civinini, R., Macera, A., Nistri, L., Redl, B., Innocenti, M. (2011) The use of autologous blood-derived growth factors in bone regeneration. *Innocenti Clin. Cases Miner. Bone Metab.*, 8(1), 25–31.
 - [20] Zhao, Y., & Zhai, W. (2010) Research progress of platelet-rich plasma in promoting bone regeneration and repairing. *Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 24(8), 1004–1008.
 - [21] de Vos, R. J., Weir, A., van Schie, H. T., Bierma-Zeinstra, S. M., Verhaar, J. A., Weinans, H., & Tol, J. L. (2010) Platelet-rich plasma injection for chronic Achilles tendinopathy: a randomized controlled trial. *JAMA*, 303(2), 144–149. doi: 10.1001/jama.2009.1986.
 - [22] Buryanov, O. A., Omelchenko, T. N., Yarmoliuk, Y. A., & Vakulich, M. V. (2017) Regeneraciya kosti pri ispol'zovanii autogennoj kostnoj tkani i fibrina, obogashchennogo trombocitami [Bone regeneration using autogenous bone and platelet-rich fibrin]. *Visnyk problem biologii i medytyny*, 1(135), 96–99. [in Russian].
 - [23] Schwartz-Arad, D., Levin, L., & Aba, M. (2007) The use of platelet rich plasma (PRP) and platelet rich fibrin (PRF) extracts in dental implantology and oral surgery. *Refuat Hapeh Vehashinayim*, 24(1), 51–55, 84.
 - [24] Schaaf, H., Streckbein, P., Lendeckel, S., Heidinger, K., Görtz, B., Bein, G., et al. (2008) Topical use of platelet-rich plasma to influence bone volume in maxillary augmentation: a prospective randomized trial. *Vox Sang*, 94(1), 64–69. doi: 10.1111/j.1423-0410.2007.00997.x.
 - [25] Dozza, B., Lesci, I. G., Duchi, S., Della Bella, E., Martini, L., Salamanna, F., et al. (2017) When size matters: differences in demineralized bone matrix particles affect collagen structure, mesenchymal stem cell behavior, and osteogenic potential. *Biomed Mater Res A*, 105(4), 1019–1033. doi: 10.1002/jbm.a.35975.
 - [26] Viny, A. D., Ott, C. J., Spitzer, B., Rivas, M., Meydan, C., Papalexi, E., et al. (2015) Dose-dependent role of the cohesin complex in normal and malignant hematopoiesis. *RL J Exp Med.*, 212(11), 1819–32. doi: 10.1084/jem.20151317.
 - [27] Tao, H., Lin, Y., Zhang, G., Gu, R., & Chen, B. (2016) Experimental observation of human bone marrow mesenchymal stem cell transplantation into rabbit intervertebral discs. *B.Biomed Rep.*, 5(3), 357–360. doi: 10.3892/bbr.2016.731.
 - [28] Lai, Y., Cao, H., Wang, X., Chen, S., Zhang, M., Wang, N., et al. (2018) Porous composite scaffold incorporating osteogenic phytochemical icaritin for promoting skeletal regeneration in challenging osteonecrotic bone in rabbits. *Biomaterials*, 153, 1–13. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.025.
 - [29] Lowery, J. W., & Rosen, V. (2017) Bone Morphogenetic Protein-Based Therapeutic Approaches. *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, pii: a022327. doi: 10.1101/cshperspect.a022327.
 - [30] Perut, F., Dallari, D., Rani, N., Baldini, N., & Granchi, D. (2016) Cell-based Assay System for Predicting Bone Regeneration in Patient Affected by Aseptic Nonunion and Treated with Platelet Rich Fibrin. *Curr Pharm Biotechnol.*, 17(12), 1079–1088.
 - [31] Osawa, Y., Matsushita, M., Hasegawa, S., Esaki, R., Fujio, M., Ohkawara, B., et al. (2017) Activated FGFR3 promotes bone formation via accelerating endochondral ossification in mouse model of distraction osteogenesis. *Bone*, 105, 42–49. doi: 10.1016/j.bone.2017.05.016.
 - [32] Mebarki, M., Coquelin, L., Layrolle, P., Battaglia, S., Tossou, M., Hemigou, P., et al. (2017) Enhanced human bone marrow mesenchymal stromal cell adhesion on scaffolds promotes cell survival and bone formation. *Acta Biomater.*, 59, 94–107. doi: 10.1016/j.actbio.2017.06.018.
 - [33] Kawase, T., Okuda, K., Saito, Y., & Yoshie, H. (2005) In vitro evidence that the biological effects of platelet-rich plasma on periodontal ligament cells is not mediated solely by constituent transforming-growth factor-beta or platelet-derived growth factor. *J. Periodontol.*, 76(5), 760–767. doi: 10.1902/jop.2005.76.5.760.
 - [34] Akeda, K., An, H. S., Okuma, M., Attawia, M., Miyamoto, K., Thonar, E. J., et al. (2006) Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis. *Osteoarthritis Cartilage.*, 14(12), 1272–1280. doi: 10.1016/j.joca.2006.05.008.
 - [35] Brekhov, V. L. (2007) *Khirurgicheskoe lechenie bol'nykh s defektami kostnoj i khryashchevoj tkani s primeneniem bogatoj trombocitami autoplazmy* (Avtoref. dis...kand. med. nauk). [Surgical treatment of patients with defects of bone and cartilaginous tissues using a platelet-rich autoplasm]. (Extended abstract of candidate's thesis). Kursk. [in Russian].
 - [36] Keceli, H. G., Sengun, D., Berberoğlu, A., & Karabulut, E. (2008) Use of platelet gel with connective tissue grafts for root coverage: a randomized-controlled trial. *J. Clin. Periodontol.*, 35(3), 255–262. doi: 10.1111/j.1600-051X.2007.01181.x.
 - [37] Hatakeyama, M., Beletti, M. E., Zanetta-Barbosa, D., & Dechichi, P. (2008) Radiographic and histomorphometric analysis of bone healing using autogenous graft associated with platelet-rich plasma obtained by 2 different methods. *Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol., Oral Radiol. Endod.*, 105(1), e13–e18. doi: 10.1016/j.tripleo.2007.07.033.
 - [38] Moojen, D. J., Everts, P. A., Schure, R. M., Overdevest, E. P., van Zundert, A., Knappe, J. T., et al. (2007) Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against *Staphylococcus aureus*. *J. Orthop. Res.*, 26(3), 404–410. doi: 10.1002/jor.20519.
 - [39] Bielecki, T. M., Gazdzik, T. S., Arendt, J., Szczepanski, T., Król, W., & Wielkoszynski, T. (2007) Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances (in vitro study). *J. Bone Jt Surgery.*, 89(3), 417–420. doi: 10.1302/0301-620X.89B3.18491.
 - [40] Samodaj, V. G. (2007) Ispol'zovanie bogatoj trombocitami autoplazmy v lechenii psevdootrozoj i inficirovannykh defektov kostnoj tkani [Use of platelet-rich autoplasm in the treatment of pseudoarthrosis and infected bone tissue defects]. *Aktual'nye voprosy tkanevoj i kletочноj transplantologii* Proceedings of the III All-Russian Symposium with international participation. (P. 148–150). Moscow. [in Russian].
 - [41] Pavlenko, K. V., Nasibullin, B. A., Uvarova, Ye. B., & Gozhenko, A. I. (2015) Structural and functional features of reparative osteogenesis under the influence of natural healing factors. *Journal of Education, Health and Sport.*, 5(3), 279–288. doi: 10.5281/zenodo. 16453.
 - [42] Kholodkova, O. L., Tsyurupa, O. V., & Badyin, I. Yu. (2015) Porivnialna kharakterystyka patolohichnykh zmin u mizhkhrebtsevykh dyskakh khvostovykh sehmientiv shchuriv za umov modelluvannya postoinoi asymetrychnoi kompresii-dystenzii ta pislia korektsii zbahachenoiu trombotsytami plazmoiu [Comparative characteristics of the pathological changes in the intervertebral discs at the condition of constant asymmetric compression-distension modeling and after the platelet-rich plasma correction]. *Zdobutky klinichnoi i eksperymentalnoi medytyny*, 4, 66–68. [in Ukrainian].
 - [43] Kholodkova, O. L., & Horchah, D. M. (2013) Mozhlyvosti vykorystannia zbahachenoi trombotsytami plazmy pry eksperymentalni terapii toksychnoho urazhennia pechinky [The possibilities of platelet-rich plasma usage in experimental treatment of toxic affection of the liver]. *Ukrainskyi morfologichnyi almanakh*, 11(3), 63–65. [in Ukrainian].
 - [44] Lazishvili, G. D., Egiazaryan, K. A., Akhpashev, A. A., Danilov, M. A., Strakhov, M. A., & Gaev, T. G. (2016) Klinicheskaya e'fektivnost' primeneniya obogashchennoy trombocitami plazmy v lechenii osteoartroza kolennogo sustava [Study of the platelet-rich plasma clinical efficacy in the treatment of knee osteoarthritis]. *Klinicheskaya praktika*, 3, 54–60. [in Russian].
 - [45] Lazishvili, G. D., Kuzin, V. V., Gordienko, D. I., Strakhov, M. A., Doshlova, D. V., Shpak, M. A., et al. (2016) Biotechnologii v lechenii lokal'nykh khryashchevykh i kostno-khryashchevykh defektov myshechelnogo bedrennoy kosti [Biotechnologies in treatment of focal cartilage and bone defects of the knee]. *Kafedra travmatologii i ortopedii*, 1(17), 40–44. [in Russian].
 - [46] Lazishvili, G. D., Kuzin, V. V., Gordienko, D. I., Strakhov, M. A., Doshlova, D. V., Danilov, M. A., et al. (2016) Khirurgicheskaya korekciya lokal'nykh defektov gialinovogo khryashcha kolennogo sustava, prosheho i nastoyashchee [Surgical correction of local chondral and osteochondral defects of the knee. Past and present]. *Khirurgicheskaya praktika*, 1, 46–52. [in Russian].
 - [47] Tryfanenko, S. I., Prodan, M. P., & Kuzniak, N. B. (2012) Efektyvnist zastosuvannya zbahachenoi trombotsytami plazmy dlia optymizatsii reparatsiinoho osteohenezu pry perelomakh nyzhnoy shchelepy z uskladnenym klinichnym perebihom [Efficacy of using thrombocyte concentrated plasma administration for optimization of reparative osteogenesis in case of mandibular fractures with a complicated clinical course]. *Bukovynskyi medychnyi visnyk*, 16, 4(64), 162–164. [in Ukrainian].
 - [48] Popsushapka, A. K., Litvishko, A. V., Grigoryev, V. V., Ashukina, N. A. (2014) Lecheniye nesraschcheniya otlovmkov kosti posle diafizarnogo pereloma [Treatment of bone fragments nonunion after diaphyseal fracture]. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye*, 1, 34–41. [in Russian].
 - [49] Borzykh, A. V., Soloviyov, I. A., Pogorilyak, A. I., Kravchenko, A. V., & Kovalchuk, D. U. (2013) Rezul'taty lecheniya lozhnykh sustavov lad' evidnoy kosti kisti s primeneniem plazmy obogashchennoy trombocitami [Regional Clinical Traumatology hospital, Donetsk, Ukraine Treatment Results of Nonunion of Scaphoid Bone with Platelet Rich Plasma]. *Litopys travmatolohii ta ortopedii*, 3–4(27–28), 9–11. [in Russian].
 - [50] Kulytska, O. V. (2015) Osoblyvosti likuvannya perelomiv pidbrihdnoho viddilu nyzhnoi shchelepy [Features of treatment of fractures of the chest section of the mandible]. *Visnyk naukovykh doslidzhen*, 4, 68–70. doi: 10.11603/1681-276X.2015.4.5648. [in Ukrainian].
 - [51] Glukhov, A. A., Mikulich, E. V., & Alexeeva, N. T. (2013) Kliniko-laboratornaya ocenka ispol'zovaniya obogashchennoy trombocitami plazmy i strujnoy sanatsii v lechenii khronicheskogo eksperymental'nogo osteomyelita [Clinical and laboratory evaluation of the use of platelet-rich plasma and jet sanitation in treatment of chronic experimental osteomyelitis]. *Vestnik novykh medicinskikh tekhnologij*, 20(2), 108–112. [in Russian].

Загальний артеріальний стовбур: патоморфологічні зміни неоперованої вади серця в дорослому віці

В. І. Григорійчук^{1,2}, Ю. І. Кузик^{1,3}, О. І. Бойко^{1,3}

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна, ²КЗ ЛОР «Львівське обласне бюро судово-медичної експертизи», Україна, ³КЗ ЛОР «Львівське обласне патологоанатомічне бюро», Україна

Природжені вади серця в дорослому віці становлять достатню частку серед серцевої патології. Загальний артеріальний стовбур (ЗАС) – це одна із природжених серцевих вад, яку описують у дорослого населення. Без хірургічного втручання хворі, які виживають, швидко стають неоперабельними внаслідок розвитку ранньої застійної серцевої недостатності та легеневої гіпертензії.

Мета роботи – аналіз аутопсійного випадку неоперованої природженої вади серця в дорослому віці.

Матеріали та методи. Використовуючи стандартні та елективні гістологічні методики, виконали патоморфологічний аналіз випадку смерті 33-річного чоловіка з неоперованою складною природженою вагою серця – ЗАС, дефектом міжшлуночкової перетинки, синдромом Ейзенменгера.

Результати. Під час судово-медичного дослідження тіла померлого 33-річного чоловіка виявили природжену ваду серця у вигляді ЗАС і дефекту міжшлуночкової перетинки. Від ЗАС відгалужуються коронарні, легеневі та магістральні артерії великого кола кровообігу. Вада серця ускладнилася розвитком кардіомегалії (маса серця 1500 г) із гіпертрофією міокарда обох шлуночків і призвела до декомпенсації серцевої діяльності. Під час патогістологічного дослідження клапана ЗАС визначили вогнища фібриноїдного некрозу, міксоматозу, поодинокі скупчення лімфоцитів, вогнищевий фіброз. У міокарді правого та лівого шлуночків спостерігали гіпертрофію, вогнищеві контрактири та фрагментації кардіоміоцитів, виражений між'язовий набряк, склероз стінок дрібних інтрамуральних артерій із перифокальними ділянками вакуольної дистрофії кардіоміоцитів, великовогнищевий стромогенний кардіосклероз, інфільтрацію інтерстицію поодинокими лімфоцитами, дилатацію просвітів лімфатичних судин. У легеневій тканині виявили дифузний гемосидероз, множинні інтраальвеолярні геморагії, склероз стінок дрібних легеневих артерій із формуванням дво- та тристовбурових просвітів, склероз міжальвеолярних перетинки. Морфологічні зміни в міокарді та легенях підтверджують застійну серцеву недостатність і легеневу гіпертензію.

Висновки. Описано унікальний випадок тривалого виживання хворого із ЗАС без хірургічного втручання. Комплекс патоморфологічних змін цього випадку свідчить про серцево-судинне ремоделювання, що лежить в основі гемодинамічної еволюції складної природженої вади серця та дало змогу чоловікові прожити до 33 років без хірургічного втручання.

Ключові слова:

загальний артеріальний стовбур, природжені серцеві вади, дефект міжшлуночкової перетинки.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 259–264

DOI:
10.14739/2310-1237.
2018.2.141338

E-mail:
juliakuzyk21@gmail.com

Общий артериальный ствол: патоморфологические изменения неоперированного порока сердца во взрослом возрасте

В. И. Григорийчук, Ю. И. Кузык, О. И. Бойко

Врожденные пороки сердца во взрослом возрасте составляют достаточную долю среди сердечной патологии. Общий артериальный ствол (ОАС) – это один из врожденных сердечных пороков, который описывают у взрослого населения. Без хирургического вмешательства выжившие больные быстро становятся неоперабельными вследствие развития ранней застойной сердечной недостаточности и легочной гипертензии.

Цель работы – анализ аутопсийного случая неоперированного врожденного порока сердца во взрослом возрасте.

Материалы и методы. С использованием стандартных и элективных гистологических методик проведен патоморфологический анализ случая смерти 33-летнего мужчины с неоперированным сложным врожденным пороком сердца – ОАС, дефектом межжелудочковой перегородки, синдромом Эйзенменгера.

Результаты. При судебно-медицинском исследовании тела умершего 33-летнего мужчины обнаружен врожденный порок сердца в виде ОАС и дефекта межжелудочковой перегородки. От ОАС ответвляются коронарные, легочные и магистральные артерии большого круга кровообращения. Порок сердца осложнился развитием кардиомегалии (масса сердца 1500 г) с гипертрофией миокарда обоих желудочков и привел к декомпенсации сердечной деятельности. При патогистологическом исследовании клапана ОАС определяются очаги фибриноидного некроза, миксоматоза, единичные скопления лимфоцитов, очаговый фиброз. В миокарде правого и левого желудочков отмечена гипертрофия, очаговые контрактири и фрагментации кардиомиоцитов, выраженный межмышечный отек, склероз стенок мелких интрамуральных артерий с перифокальными участками вакуольной дистрофии кардиомиоцитов, крупноочаговый стромогенный кардиосклероз, инфильтрация интерстиция единичными лимфоцитами, дилатация просветов лимфатических сосудов. В легочной ткани установлен диффузный гемосидероз, множественные интраальвеолярные геморагии, склероз стенок мелких легочных артерий с формированием двух- и трехстволовых просветов, склероз межальвеолярных перегородок. Морфологические изменения в миокарде и легких подтверждают застойную сердечную недостаточность и легочную гипертензию.

Выводы. Описан уникальный случай длительного выживания больного с ОАС без хирургического вмешательства. Комплекс патоморфологических изменений описанного случая свидетельствует о сердечно-сосудистом ремоделировании, которое лежит в основе гемодинамической эволюции сложного врожденного порока сердца и позволило мужчине прожить до 33 лет без хирургического вмешательства.

Ключевые слова:

общий артериальный ствол, врожденные сердечные пороки, дефект межжелудочковой перегородки.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 2(43). – С. 259–264

Key words:
persistent truncus
arteriosus,
congenital
heart defects,
ventricular heart
septal defects.

Pathologia
2018; 15 (2), 259–264

Common arterial trunk: pathomorphological changes of unoperated cardiac defect in adulthood

V. I. Hryhoriichuk, Yu. I. Kuzyk, O. I. Boiko

Congenital heart defects in adulthood constitute the sufficient proportion of cardiac pathology. The common arterial trunk (CAT) is one of the congenital cardiac defects that is described in the adult population. Without surgical intervention, patients who survived become inoperable quickly due to the development of early congestive heart insufficiency and pulmonary hypertension.

The purpose of the research is to analyze the autopsy case of unoperated congenital cardiac defects in adulthood.

Materials and methods. The pathomorphological analysis of the case of death of a 33-year-old male with untreated complex congenital heart defect – CAT, ventricular septal defect, Eisenmenger's syndrome was made using standard and elective histological techniques.

Results. In the forensic examination of the body of the deceased 33-year-old male, congenital heart defect was diagnosed as CAT and ventricular septal defect. Coronary, pulmonary and major arteries of a large circle of blood circulate from the CAT. Congenital heart defect has been complicated by the development of cardiomegaly (heart weight 1500 g) with myocardial hypertrophy of both ventricles and led to decompensation of cardiac activity. During the pathohistological examination of the valve of the CAT we determined the foci of fibrinoid necrosis, myxomatosis, single accumulation of lymphocytes, focal fibrosis. In the myocardium of the right and left ventricles we observed hypertrophy, focal contraction and fragmentation of cardiomyocytes, expressed intramural edema, sclerosis of the walls of the small intramural arteries with perifocal areas of vacuolar degeneration of cardiomyocytes, stromal cardiosclerosis, isolated interstitial infiltration of lymphocytes, dilatation of lymphatic vessels. In the pulmonary tissue diffuse hemosiderosis, multiple intravalveolar hemorrhages, sclerosis of the small pulmonary arteries with the formation of two- and three-sided lumen, sclerosis of interalveolar membranes were detected. Morphological changes in the myocardium and lungs confirm prolonged congestive heart failure and pulmonary hypertension.

Conclusions. We describe a unique case of long-term survival of a patient with CAT without surgical intervention. The complex of pathomorphological changes of the described case testifies to cardiovascular remodeling, which is the base of hemodynamic evolution of complex congenital heart disease and allowed the man to live up to 33 years without surgical intervention.

З патологією серцево-судинної системи різного генезу та ступеня тяжкості живуть майже 60 % українців. Щорічно в Україні 5000 дітей (приблизно 1 %) народжуються з вадами серця [1]. Майже 75 000 дорослих мають природжену ваду серця [2]. Нині, досягаючи дорослого віку, пацієнти з природженими вадами серця змінюють структуру серцево-судинних захворювань і формують усе більшу частку серед дорослого населення [5,7]. Тому виникає необхідність в оптимізації якості життя, соціалізації таких пацієнтів, взаємодії педіатрів, кардіологів і кардіохірургів у визначенні адекватної тактики лікування [2].

Загальний артеріальний стовбур (ЗАС) – складна природжена вада серця з несприятливим перебігом, раннім розвитком серцевої недостатності та легеневої гіпертензії. ЗАС у 16,6 % випадків поєднується з синдромом мікрodelеції 22q11 хромосоми. Поширеність вади становить від 0,034 до 0,560 випадку на 1000 дітей, які народилися живими. Частка ЗАС серед усіх природжених вад серця становить від 1,4 % до 2,8 %. Щороку в Україні народжується від 38 до 56 дітей із ЗАС [2]. Тяжка гіпоксія внаслідок серцевої недостатності, легеневої гіпертензії є причиною вкрай несприятливого природного перебігу вади – протягом першого року життя помирають 80 % дітей [10]. Без хірургічного втручання хворі, які виживають, швидко стають неоперабельними внаслідок розвитку ранньої застійної серцевої недостатності та легеневої гіпертензії. Незважаючи на це, описують окремі випадки виживання хворих із ЗАС до дорослого віку.

Мета роботи

Аналіз аутопійного випадку неоперованої природженої вади серця в дорослому віці.

Матеріали і методи дослідження

Виконали патоморфологічний аналіз випадку смерті 33-річного чоловіка з неоперованою складною природженою вагою серця – ЗАС, дефектом міжшлункової перетинки, синдромом Ейзенменгера. Патогістологічні зміни тканини серця, аорти та периферичних артерій вивчили з використанням стандартних та елективних гістологічних методик (забарвлення гематоксилін-еозином, пікрофусцином за Ван Гізеном, резорцин-фусцином за Хартон).

Результати та їх обговорення

Виконали судово-медичне дослідження тіла померлого 33-річного чоловіка в КЗ ЛОР «Львівське обласне бюро судово-медичної експертизи» (висновок № 642/2013). Чоловік помер удома до приїзду бригади швидкої допомоги. З даних медичної картки амбулаторного хворого відомо, що в чоловіка в ранньому дитячому віці діагностували складну природжену ваду серця – ЗАС, з приводу чого лікувався стаціонарно й амбулаторно. Від кардіохірургічного втручання хворий категорично відмовлявся. Відомо, що за місяць до смерті перебував на стаціонарному лікуванні. При надходженні мав скарги на задишку у спокої та під час незначних фізичних навантажень, відчуття перебоїв у роботі серця, напади серцебиття, загальну слабкість. Об'єктивно: шкірні покриви бліді, сині, чисті. Серцеві тони ритмічні, акцент другого тону над аортою, на легеневій артерії вислуховується систоло-діастолічний шум, ЧСС 80 уд/хв, АТ 130/80 мм рт. ст. Під час ультразвукового обстеження серця спостерігали природжену ваду серця: ЗАС, легенева артерія відгалужується від аорти, визначається стеноз і недостатність

спільного артеріального клапана, висока легенева гіпертензія (4 ступінь), різко виражена гіпертрофія обох шлуночків, знижена скоротлива здатність лівого шлуночка, ФВ = 25 %. Клінічний діагноз: природжена вада серця. ЗАС, дефект міжшлуночкової перетинки, синдром Ейзенменгера. Легенева гіпертензія 4 ступеня. СН ІІБ ст.

Під час судово-медичного дослідження визначили: серце кулястої форми, значно збільшене в розмірах – 20,0 × 17,0 × 16,0 см, маса – 1500 г (норма – 8,5 × 10,0 × 3,5 см, маса = 270–320 г) (рис. 1).

Праві та ліві камери серця дилатовані, містять рідку кров і темно-червоні згортки крові. Пристінковий ендокард прозорий, гладкий. Клапани серця сформовані правильно, клапанний ендокард – із поодинокими горбистими потовщеннями, утвореними крихкими блідо-жовтими масами. Периметр мітрального клапана – 11,0 см (норма – 10,0 см), тристулкового клапана – 12,0 см (норма – 11,5 см). Товщина стінки лівого шлуночка – 2,3 см; правого – 2,2 см (норма – 1,2 см та 0,3 см відповідно). Міокард червоно-коричневий, з множинними стрічкоподібними прошарками щільної блідо-сірої тканини, ділянками нерівномірного кровонаповнення, щільний. Овальне вікно облітероване. Визначили великий підклапанний дефект у мембранозній частині міжшлуночкової перетинки, діаметр – 3,5 см. Встановили, що над дефектом від основи серця відходить єдина артерія – ЗАС, від якої відгалужуються коронарні, легеневі та магістральні артерії великого кола кровообігу (рис. 2).

Інтима ЗАС із множинними жовтими плямами та смугами; клапан – периметром 5,0 см, представлений трьома півмісяцевими заслінками. На відстані 2,5 см і 3,0 см від рівня синотубулярного з'єднання з відповідних боків відходять окремо ліва та права легеневі артерії. Від дуги ЗАС відгалужуються плечоголовний стовбур, ліва загальна сонна та ліва підключична артерії. Верхня та нижня порожнисті вени впадають у праве передсердя; чотири легеневі вени – в ліве передсердя; стан інтими судин – гладка, блискача. Коронарні артерії – просвіти вільні, стінки потовщені до 0,1 см шляхом фіброзно-ліпідних бляшок. Легені – щільні, темно-вишневого забарвлення, при розрізі з поверхні стікає темна кров.

При патогістологічному дослідженні клапана ЗАС визначили вогнища фібриноїдного некрозу, міксоматозу, поодинокі скупчення лімфоцитів, вогнищевий фіброз. У міокарді правого та лівого шлуночків спостерігали гіпертрофію, вогнищеві контрактири та фрагментації кардіоміоцитів, виражений між'язовий набряк, склероз стінок дрібних інтрамуральних артерій із перифокальними ділянками вакуольної дистрофії кардіоміоцитів, великовогнищевий стромогенний кардіосклероз, інфільтрацію інтерстицію поодинокими лімфоцитами, дилатацію просвітів лімфатичних судин (рис. 3).

Епікард – дрібновогнищевий фіброз, інфільтрація поодинокими лімфоцитами та фібробластами. Ліва коронарна артерія – сегментарна гіперплазія інтими внаслідок скупчення гладком'язових клітин, помірний фіброз медії. Аорта (надклапанна частина дуги) – інтима із сегментарною гіперплазією внаслідок скупчення

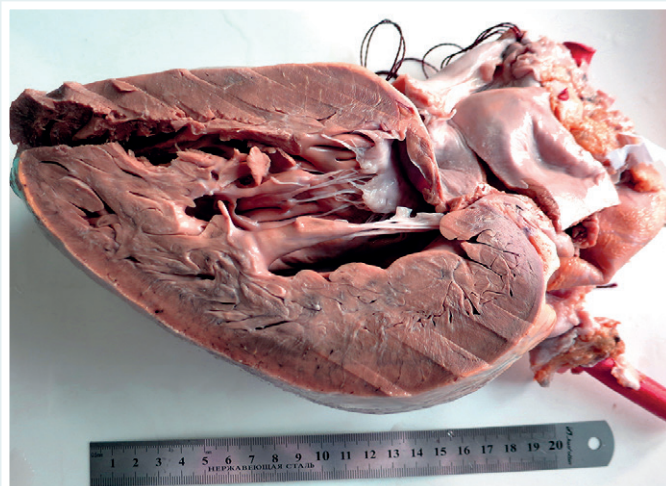


Рис. 1. Загальний артеріальний стовбур: кардіомегалія (1500 г), гіпертрофія стінки правого та лівого шлуночків. Макропрепарат. Чоловік, 33 роки, КЗ ЛОР «Львівське обласне бюро судово-медичної експертизи», висновок № 642/2013.

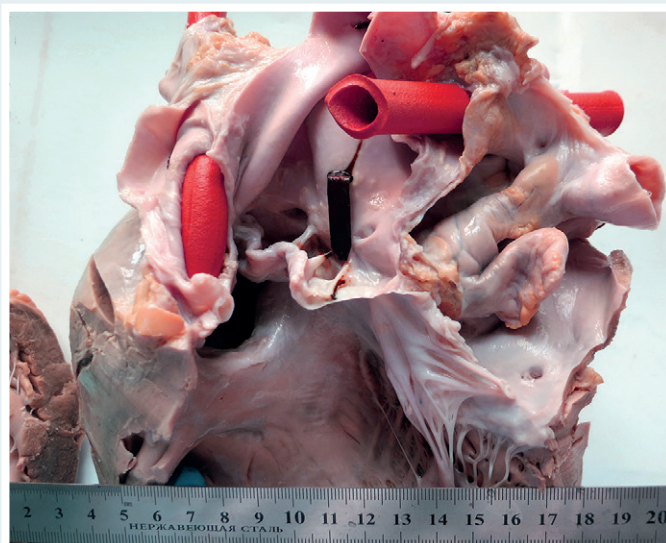


Рис. 2. Загальний артеріальний стовбур, від якого відгалужуються коронарні, легеневі артерії, відкрите овальне вікно; великий дефект міжшлуночкової перетинки. Чоловік, 33 роки, КЗ ЛОР «Львівське обласне бюро судово-медичної експертизи», висновок № 642/2013.

гладком'язових клітин, у медії спостерігали помірний фіброз, дистрофічні зміни еластичних волокон, адвентиція з ознаками склерозу vasa vasorum. В легеневій тканині виявили дифузний гемосидероз, множинні інтраальвеолярні геморагії, інтраальвеолярний набряк, склероз стінок легневих артерій дрібного калібру з формуванням дво- та тристовбурових просвітів, склероз міжальвеолярних перетинок (рис. 4).

Отже, причиною смерті 33-річного чоловіка стала природжена вада серця у вигляді ЗАС і дефекту міжшлуночкової перетинки, що ускладнилася кардіомегалією із гіпертрофією міокарда обох шлуночків та призвела до декомпенсації серцевої діяльності. В міокарді та легенях виявили морфологічні зміни, що підтверджують застійну серцеву недостатність і

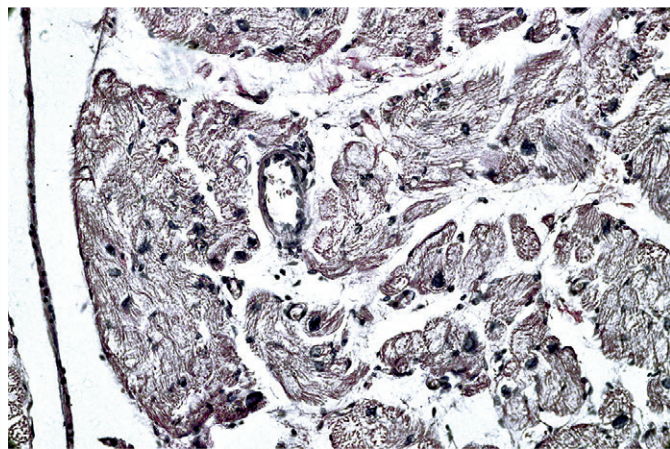


Рис. 3. Міокард із гіпертрофією кардіоміоцитів, вогнищевими контрактурами та фрагментацією, склерозом стінки дрібних інтрамуральних артерій із перифокальними ділянками вакуольної дистрофії кардіоміоцитів і міжм'язовим набряком. Забарвлення резорцин-фуксином за Хартон. Зб. $\times 100$. Чоловік, 33 роки, КЗ ЛОР «Львівське обласне бюро судово-медичної експертизи», висновок № 642/2013.

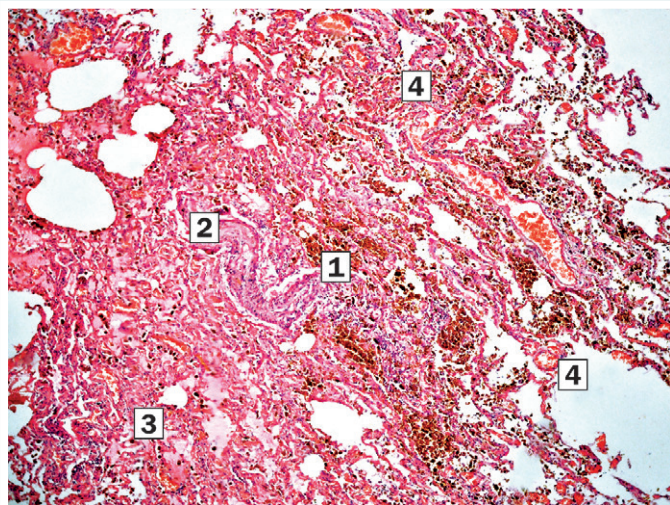


Рис. 4. Легені: вогнищевий гемосидероз (1), інтраальвеолярний набряк (2), склероз міжальвеолярних перетинок (3), артеріосклероз (4). Забарвлення гематоксилином та еозином. Зб. $\times 40$. Чоловік, 33 роки, КЗ ЛОР «Львівське обласне бюро судово-медичної експертизи», висновок № 642/2013.

легеневу гіпертензію. Це вогнищеві контрактири та фрагментації кардіоміоцитів, виражений міжм'язовий набряк, склероз стінок дрібних інтрамуральних артерій з перифокальними ділянками вакуольної дистрофії кардіоміоцитів, великовогнищевий стромогенний кардіосклероз, інфільтрація інтерстицію поодинокими лімфоцитами, дилатація просвітів лімфатичних судин. У легенях – дифузний гемосидероз, інтраальвеолярний набряк, артеріосклероз. Варто відзначити, що супутню патологію в чоловіка не виявили.

У розвинутих країнах світу серед осіб із ЗАС до 16–18 років доживають 85–96 % прооперованих [3,7]. У дослідженому випадку пацієнту не виконували жодних інтервенційних втручань, незважаючи на це, загальна тривалість життя становила 33 роки, що обґрунтовує його унікальність. Це, на нашу думку, пов'язано із

гемодинамічною еволюцією складної вродженої вади серця. Гемодинамічні особливості вади визначаються станом кровообігу в малому колі [9]. За умов підвищеного легеневого кровотоку з низьким опором у судинах легень, тиск у легневих артеріях дорівнює системному, що є причиною високої легеневої гіпертензії. Частіше виникає в дітей раннього віку, супроводжується серцевою недостатністю, резистентною до терапії. Ціаноз може не спостерігатися, оскільки велика кількість крові оксигенується в легенях і змішується у шлуночках через великий дефект міжшлуночкової перетинки. Якщо легневий кровообіг нормальний або дещо збільшений, опір у судинах легень збільшений, скид крові незначно виражений, серцева недостатність відсутня, ціаноз не визначається. Знижений легневий кровообіг внаслідок стенозу легеневої артерії супроводжується постійним ціанозом у зв'язку з порушенням оксигенації крові [2,8].

При ЗАС від основи серця відходить одна велика артеріальна судина, яка забезпечує системний, коронарний і легневий кровообіг. Розрізняють п'ять типів ЗАС за R. W. Collett і J. E. Edwards (1949) [4]. Тип I – єдиний стовбур легеневої артерії та висхідна аорта відходять від загального стовбура, права й ліва легеневі артерії – від короткого легеневого стовбура. Тип II – ліва й права легеневі артерії розташовані поруч і відходять від задньої або дорсальної стінки трункуса. Тип III – обидві легеневі артерії відходять незалежно одна від іншої на різних рівнях трункуса. Тип IV – відсутність легневих артерій, внаслідок чого кровопостачання легень здійснюється через бронхіальні артерії, що відходять від низхідної аорти. Тип V – аорто-легенева фенестрація. Однак пізніше доведено, що тип IV належить до іншої патології – атрезії легеневої артерії.

Крім виділення трьох основних типів (A1–A3), що визначаються варіантом відходження легневих артерій, R. Van Praagh (1965) [10] звернув увагу також на наявність дефекту міжшлуночкової перетинки (тип A) або його відсутність (тип B), а також виділив тип A4, коли є гіпоплазія або перервана дуга аорти [6].

У наведеному випадку встановлено, що від основи серця відходить єдина артерія (ЗАС), від якої відгалужуються коронарні, легеневі та магістральні артерії великого кола кровообігу – тип A2.

Дефект міжшлуночкової перетинки вважають мальформацією, що пов'язана з ЗАС. Напрямок шунта залежить від співвідношення судинної стійкості між системною та легеневою циркуляцією. Шунт лівого шлуночка зазвичай наявний на ранніх стадіях життя, а це призводить до застійної серцевої недостатності в немовлят із ЗАС. Через деякий час збільшення тиску в системі легеневого кровообігу проявляється судинним ремоделюванням у вигляді інтимального фіброеластозу, що призводить до розвитку важкої легеневої гіпертензії зі зміною напрямку шунта (синдром Ейзенменгера) [6]. Анатомічні порушення, що наявні при комплексі Ейзенменгера, спричиняють важкі розлади гемодинаміки. Великий дефект міжшлуночкової перетинки або її повна відсутність, а також зміщення аорти вправо зумовлюють виникнення веноартеріального шунта й потрапляння в аорту змішаної, малооксигенованої крові, що надходить з обох шлуночків. Комплекс

Ейзенменгера супроводжується підвищенням тиском у легеневій артерії, котре може дорівнювати або навіть перевищувати тиск в аорті, що призводить до спазму прекапілярів і розвитку легеневої гіпертензії. Згодом стінки легеневих судин значно товщають, викликаючи порушення дифузії кисню з альвеол. У випадках ЗАС синдром Ейзенменгера – основна причина виживання хворих у дорослому віці без хірургічної корекції.

Висновки

Навели унікальний випадок тривалого виживання хворого з ЗАС без хірургічного втручання. Комплекс патоморфологічних змін цього випадку свідчить про серцево-судинне ремоделювання, яке проявляється структурно-геометричними змінами серцевого м'яза у вигляді ексцентричної гіпертрофії та дилатації порожнини серця. Процеси ремоделювання пов'язані зі зростанням інтерстиційного компонента міокарда, тобто з розвитком склеротичної перебудови тканини міокарда та епікарда, інтрамуральних коронарних артерій серця. Це своєрідний морфологічний маркер серцевої недостатності, що прогресує. Описано механізм гемодинамічної еволюції складної природженої вади серця із тривалим періодом виживання.

Перспективи подальших досліджень полягають у з'ясуванні процесів серцево-судинного ремоделювання при складних природжених і набутих вадах серця у випадках без хірургічної корекції.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Григорійчук В. І., канд. мед. наук, в. о. доцента каф. патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, зав. відділу судово-медичної експертизи трупів КЗ ЛОР «Львівське обласне бюро судово-медичної експертизи», Україна.

Кузик Ю. І., д-р мед. наук, в. о. професора каф. патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, лікар-патологоанатом КЗ ЛОР «Львівське обласне патологоанатомічне бюро», Україна.

Бойко О. І., асистент каф. патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, лікар-патологоанатом дитячий КЗ ЛОР «Львівське обласне патологоанатомічне бюро», Україна.

Сведения об авторах:

Григорийчук В. И., канд. мед. наук, и. о. доцента каф. патологической анатомии и судебной медицины Львовского национального медицинского университета имени Данила Галицкого, заведующий отделом судебно-медицинской экспертизы трупов КУ ЛОС «Львовское областное бюро судебно-медицинской экспертизы», Украина.

Кузык Ю. И., д-р мед. наук, и. о. профессора каф. патологической анатомии и судебной медицины Львовского национального медицинского университета имени Данила Галицкого, врач-патологоанатом КУ ЛОС «Львовское областное патологоанатомическое бюро», Украина.

Бойко О. И., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины Львовского национального медицинского университета имени Данила Галицкого, врач-патологоанатом детский КУ ЛОС «Львовское областное патологоанатомическое бюро», Украина.

Information about authors:

Hryhoriichuk V. I., MD, PhD, acting Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine of Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Head of the Department of Forensic Examination of Corpses of the CI "Lviv Regional Office of Forensic Medical Examination", Ukraine.

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

Boiko O. I., Assistant Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine of Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Pathologist of the CI "Lviv Regional Pathology Bureau", Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 23.02.2018

Після доопрацювання / Revised: 15.03.2018

Прийнято до друку / Accepted: 26.03.2018

Список літератури

- [1] Іванов Я.Ю. Загальний артеріальний стовбур: клініка, діагностика та лікування / Я.Ю. Іванов, Н.М. Руденко // Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. – 2013. – №3(9). – С. 89–91.
- [2] Лебідь І.Г. Поширеність природжених вад серця і магістральних судин у дорослих / І.Г. Лебідь // Кардіохірургія та інтервенційна кардіологія. – 2017. – №1. – С. 6–12.
- [3] Общий артериальный ствол: современные подходы к диагностике и лечению / В.Н. Матюшов, Ю.С. Синельников, С.Н. Прохоров и др. // Сибирский медицинский журнал. – 2013. – Т. 28. – №2. – С. 14–19.
- [4] Collette R. Persistent truncus arteriosus; a classification according to anatomic types / R. Collette, J. Edwards // Surg Clin North Am. – 1949. – Vol. 4. – P. 1245–1270.
- [5] Heart Disease and Stroke Statistics – 2017 Update: A Report From the American Heart Association / E. Benjamin, M. Blaha, S. Chiuve et al. // Circulation. – 2017. – Vol. 135. – P. 146–603.
- [6] Frank D. Pulmonary Arterial Hypertension Associated with Congenital Heart Disease and Eisenmenger Syndrome: Current Practice in Pediatrics / D. Frank, B. Hanna // Minerva Pediatr. – 2015. – Vol. 67. – P. 169–185.
- [7] Naidu P. Mortality in adults with congenital heart disease / P. Naidu, L. Grigg, D. Zenter // Int J Cardiol. – 2017. – Vol. 245. – P. 125–130.
- [8] Persistent Common Arterial Trunk in an Adult Presenting in the Emergency Room as Severely Decompensated Heart Failure / Z. Szöke, A. Suciu, G. Jeszenszky, P. György // Journal of Cardiovascular Emergencies. – 2017. – Vol. 3. – Issue 3. – P. 138–143.
- [9] Kim H.S. Persistent truncus arteriosus with aortic dominance in female adult patient / H.S. Kim, Y.H. Kim // J Cardiovasc Ultrasound. – 2015. – Vol. 23. – P. 32–35.
- [10] Van Praagh R. The anatomy of common aorticopulmonary trunk (truncus arteriosus communis) and its embryologic implications: a study of 57 necropsy cases / R. Van Praagh, S. Van Praagh // Am J Cardiol. – 1965. – Vol. 16. – P. 406–425.

References

- [1] Ivanov, Y. Yu., & Rudenko, N. N. (2013). Zahalnyi arterialnyi stovbur: klinika, diahnostyka ta likuvannia [Common arterial trunk: clinical, findings, diagnostics and treatment]. *Neonatalohiia, khirurgiia ta perynatalna medytsyna*, 3(9), 89–91. [in Ukrainian].
- [2] Lebid, I. G. (2017). Poshyrenist pryrodzhenykh vad sertsia i mahistralnykh sudyn u doroslykh [Prevalence of congenital defects of heart and large vessels in adults]. *Kardiokhirurhiia ta interventsiina kardiolohiia*, 1, 6–12. [in Ukrainian].
- [3] Matushov, V. N., Sinelnikov, Yu. S., Prochorov, S. N., Omelchenko, A. Yu., Stenin, V. G., Chashin, O. V., & Lukyanov, A. A. (2013). Obshchii arterial'nyi stvol: sovremennye podkhody k diagnostike i lecheniyu [Truncus arteriosus: current approaches to diagnosis and treatment]. *Sibirskii medicinskii zhurnal*, 28(2), 14–19. [in Russian].
- [4] Collette, R., & Edwards, J. (1949). Persistent truncus arteriosus: a classification according to anatomic types. *Surg Clin North Am.*, 29(4), 1245–1270. doi: 10.1016/S0039-6109(16)32803-1.
- [5] Benjamin, E., Blaha, M., Chiuve, S., Cushman M., Das S. R., Deo R., et al. (2017). Heart Disease and Stroke Statistics – 2017 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*, 135(10), e146–e603. doi: 10.1161/CIR.0000000000000485.
- [6] Frank, D. B., & Hanna, B. D. (2015). Pulmonary Arterial Hypertension Associated with Congenital Heart Disease and Eisenmenger Syndrome: Current Practice in Pediatrics. *Minerva Pediatr.*, 67(2), 169–185.

- [7] Naidu, P., Grigg, L., & Zenter, D. (2017). Mortality in adults with congenital heart disease. *Int J Cardiol.*, 245, 125–130. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.05.132.
- [8] Szöke, Z., Suci, A., Jeszenszky, G., & György, P. (2017). Persistent Common Arterial Trunk in an Adult Presenting in the Emergency Room as Severely Decompensated Heart Failure. *Journal of Cardiovascular Emergencies*, 3(3), 138–143. doi: 10.1515/jce-2017-0018.
- [9] Kim, H. S., & Kim, Y. H. (2015). Persistent truncus arteriosus with aortic dominance in female adult patient. *J Cardiovasc Ultrasound.*, 23(1), 32–35. doi: 10.4250/jcu.2015.23.1.32.
- [10] Van Praagh, R., & Van Praagh, S. (1965). The anatomy of common aorticopulmonary trunk (truncus arteriosus communis) and its embryologic implications: a study of 57 necropsy cases. *Am J Cardiol.*, 16(3), 406–425. doi: 10.1016/0002-9149(65)90732-0.