

Запорожский медицинский журнал



Том 21, № 4(115), июль – август 2019 г.

Редакционная коллегия

Главный редактор – проф. Ю.М. Колесник
Зам. гл. редактора – проф. В.А. Визир
Ответственный секретарь – проф. В.В. Сыволап

проф. А.В. Абрамов (Запорожье)
проф. М.Н. Алёхин (Москва, Россия)
академик НАМН Украины, проф. М.А. Андрейчин (Тернополь)
проф. И.Ф. Беленичев (Запорожье)
проф. И.Н. Бондаренко (Днепро)
проф. Маргус Виигимаа (Таллин, Эстония)
проф. М.Л. Головаха (Запорожье)
проф. М.Н. Долженко (Киев)
проф. Н.Г. Завгородняя (Запорожье)
академик НАМН Украины, проф. В.Н. Запорожан (Одесса)
проф. Луциуш Запрукто (Познань, Польша)
проф. Марек Зентек (Вроцлав, Польша)
проф. А.Г. Каплаушенко (Запорожье)
проф. В.Н. Клименко (Запорожье)
академик НАМН Украины, проф. В.Н. Коваленко (Киев)
проф. С.И. Коваленко (Запорожье)
проф. С.Н. Коваль (Харьков)
проф. А.А. Козёлкин (Запорожье)
проф. Н.А. Корж (Харьков)
чл.-кор. НАН, академик НАМН Украины О.В. Коркушко (Киев)
проф. Г.А. Леженко (Запорожье)
чл.-кор. НАМН Украины, проф. В.Н. Лисовой (Харьков)
проф. И.А. Мазур (Запорожье)
проф. Кшиштоф Наркевич (Гданьск, Польша)
проф. С.Н. Недельская (Запорожье)
чл.-кор. НАМН Украины, проф. В.З. Нетяженко (Киев)
академик НАМН, чл.-кор. НАН Украины, проф. А.С. Никоненко
проф. Петер Нильссон (Мальмё, Швеция)
проф. Дженнаро Пагано (Неаполь, Италия)
проф. А.И. Панасенко (Запорожье)
чл.-кор. НАМН Украины, проф. Т.А. Перцева (Днепро)
проф. Ю.М. Степанов (Днепро)
проф. В.Д. Сыволап (Запорожье)
проф. В.А. Туманский (Запорожье)
проф. Генриетта Фаркаш (Будапешт, Венгрия)
академик НАМН Украины, проф. Ю.И. Фещенко (Киев)
проф. Свапандип Сингх Чимни (Амритсар, Индия)
проф. Яцек Шепетовски (Вроцлав, Польша)

Editorial Board

Editor-in-Chief – Yu.M. Kolesnyk
Deputy Editor-in-Chief – V.A. Vizir
Executive secretary – V.V. Syvolap

A.V. Abramov (Zaporizhzhia, Ukraine)
M.N. Alekhin (Moscow, Russia)
M.A. Andreichyn (Ternopil, Ukraine)
I.F. Bielenichev (Zaporizhzhia, Ukraine)
I.M. Bondarenko (Dnipro, Ukraine)
Swapandeep Singh Chimni (Amritsar, India)
M.N. Dolzhenko (Kyiv, Ukraine)
Henriette Farkas (Budapest, Hungary)
Yu.I. Feshchenko (Kyiv, Ukraine)
M.L. Holovakha (Zaporizhzhia, Ukraine)
A.H. Kaplaushenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
V.M. Klymenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
O.V. Korkushko (Kyiv, Ukraine)
N.A. Korzh (Kharkiv, Ukraine)
S.M. Koval (Kharkiv, Ukraine)
S.I. Kovalenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
V.M. Kovalenko (Kyiv, Ukraine)
O.A. Kozolkin (Zaporizhzhia, Ukraine)
H.A. Lezhenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
V.M. Lisovyi (Kharkiv, Ukraine)
I.A. Mazur (Zaporizhzhia, Ukraine)
Krzysztof Narkiewicz (Gdansk, Poland)
S.M. Nedelska (Zaporizhzhia, Ukraine)
V.Z. Netazhenko (Kyiv, Ukraine)
Peter M. Nilsson (Malmö, Sweden)
O.S. Nykonenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
Gennaro Pagano (Naple, Italy)
O.I. Panasenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
T.O. Pertseva (Dnipro, Ukraine)
Yu.M. Stepanov (Dnipro, Ukraine)
V.D. Syvolap (Zaporizhzhia, Ukraine)
Jacek Szepietowski (Wroclaw, Poland)
V.O. Tumanskyi (Zaporizhzhia, Ukraine)
Margus Viigimaa (Tallinn, Estonia)
V.M. Zaporozhan (Odesa, Ukraine)
Lucjusz Zaprutko (Poznan, Poland)
N.H. Zavorodnia (Zaporizhzhia, Ukraine)
Marek Ziętek (Wroclaw, Poland)

Научно-практический журнал
Запорожского государственного
медицинского университета

Издаётся с сентября 1999 года.
Периодичность выхода –
1 раз в два месяца.
Свидетельство о регистрации
КВ №20603-10403ПР
от 27.02.2014 г.
Подписной индекс – 90253.

Аттестован как научное
профессиональное издание
Украины, в котором могут
публиковаться результаты
диссертационных работ
на соискание учёных степеней
доктора и кандидата наук
в области медицинских
(приказ Министерства
образования и науки Украины
№ 1081 от 29.09.2014 г.)
и фармацевтических наук
(приказ Министерства
образования и науки Украины
№ 1279 от 06.11.2014 г.)

Журнал включён в
WEB OF SCIENCE™
и другие международные
научометрические базы данных.
Статьи рецензируются
по процедуре Double-blind.

Лицензия Creative Commons



Рекомендован к печати
Учёным советом ЗГМУ,
протокол № 11 от 26.06.2019 г.
Подписан в печать
12.07.2019 г.

Редакция:
Начальник редакционно-
издательского отдела
В. Н. Миклашевский
Литературный редактор
О. С. Савеленко
Технический редактор
Ю. В. Полупан

Адрес редакции и издателя:
Украина, 69035, г. Запорожье,
пр. Маяковского, 26, ЗГМУ,
e-mail: med.jur@zsmu.zp.ua
http://zmj.zsmu.edu.ua

Отпечатан
в типографии ООО «Х-ПРЕСС».
69068, г. Запорожье,
ул. Круговая, д. 165/18,
тел. (061) 220-42-29.
Свидетельство о госрегистрации
АОО №198468 от 01.07.1999 г.
Формат 60x84/8.
Бумага мелованная,
бескислотная. Усл. печат. л. 6.
Тираж 200 экз. Зак. № 7/19.

Zaporozhye Medical Journal

Volume 21 No. 4 July – August 2019

Scientific Medical Journal. Established in September 1999
Zaporizhzhia State Medical University

Submit papers are peer-reviewed

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

© Запорожский медицинский журнал, 2019

Оригинальные исследования

Коваленко Е. Л., Мелеховец О. К., Орловский В. Ф., Мелеховец Ю. В.

Коррекция функциональной способности миокарда при артериальной гипертензии в коморбидности с гиперурикемией и пойкилоцитозом

Візір В. А., Насоненко О. В., Садо́мов А. С.

Динаміка у процесі лікування концентрації тестостерону та пролактину, показників артеріального тиску й кардіоваскулярного ремоделювання в чоловіків із гіпертонічною хворобою та андрогенним дефіцитом

Пивовар С. М., Рудик Ю. С., Лозик Т. В., Гальчінська В. Ю., Ченчик Т. О.

Особенности визначення синдрому «низького трийодтироніну» при серцевій недостатності та його вплив на перебіг захворювання

Хухліна О. С., Ляхович О. Д., Каньовська Л. В., Каушанська О. В., Шупер В. О.

Особенности метаболизма соединительной ткани, уровень адипокинов и цитокератин-18 у больных с неалкогольной стеатогепатитом, что объединено с остеоартрозом и ожирением

Романчук О. П., Величко В. І., Бажора Я. І.

Реактивность кардиореспираторной системы в пациентов с бронхиальной астмой по данным тестов с управляемым дыханием

Березенко В. С., Михайлюк Х. З., Россоха З. І., Кир'яченко С. П.

Зв'язок поліморфних варіантів (Apal, TagI, BsmI) гена рецептора VDR із рівнем вітаміну D і фіброзом печінки в дітей з аутоімунним гепатитом

Ільченко С. І., Фіалковська А. О., Жукова Л. О.

Затяжні бактеріальні бронхіти – нова нозологічна група або старі проблеми диференційної діагностики хронічного кашлю в дітей?

Шумна Т. Є., Левчук Т. О., Камишний О. М.

Аналіз поліморфізму гена COL1A1_1 (rs1107946) як фактора ризику народження дітей з малою масою тіла

Абатуров О. Є., Вакуленко Л. І., Кунак О. В.

Ендотеліальна дисфункція в дітей із пієлонефритом

Маркін Л. Б., Шатилевич К. Л., Семенина Г. Б.

Профілактика невиношування вагітності після індукції овуляції в жінок з ендокринним непліддям в анамнезі

Горбань Н. Е., Задорожная Т. Д., Вовк И. Б., Кондратиук В. К., Киличевич С. Н.

Иммуногистохимические особенности экспрессии циклооксигеназы-2 при гиперплазии эндометрия без атипии

Original research

420 Kovalenko Ye. L., Melekhovets O. K., Orlovskiy V. F., Melekhovets Yu. V.

Correction of functional capacity of myocardium in arterial hypertension associated with hyperuricemia and poikilocytosis comorbidities

428 Vizir V. A., Nasonenko O. V., Sadomov A. S.

Dynamics of testosterone and prolactin levels, blood pressure and parameters of cardiovascular remodeling in hypertensive men with androgen deficiency in the course of treatment

437 Pyvovar S. M., Rudyk Yu. S., Lozyk T. V., Halchinska V. Yu., Chenchik T. O.

The features of "low T₃" syndrome definition in a heart failure and its effect on a course of the disease

444 Khukhlina O. S., Liakhovych O. D., Kaniovska L. V., Kaushanska O. V., Shuper V. O.

Features of the connective tissue metabolism, the content of adipokines and cytokeratin-18 in patients with non-alcoholic steatohepatitis combined with osteoarthritis and obesity

449 Romanchuk O. P., Velychko V. I., Bazhora Ya. I.

Reactivity of cardiorespiratory system in bronchial asthma patients according to the tests with respiratory maneuvers performance

458 Berezenko V. S., Mykhailiuk Kh. Z., Rossokha Z. I., Kyriachenko S. P.

Correlation of polymorphous variants (Apal, TagI, BsmI) of the VDR receptor gene with the vitamin D level and liver fibrosis in children with autoimmune hepatitis

466 Ichenko S. I., Fialkovska A. O., Zhukova L. O.

Is protracted bacterial bronchitis a new nosological group or an old problem of differential diagnosis of chronic cough in children?

471 Shumna T. Ye., Levchuk T. O., Kamiyshnyi O. M.

Analysis of COL1A1_1 gene (rs1107946) polymorphism as a risk factor for low birth weight

478 Abaturov O. Ye., Vakulenko L. I., Kunak O. V.

Endothelial dysfunction in children with pyelonephritis

484 Markin L. B., Shatylovych K. L., Semenyna H. B.

Prevention of miscarriage following ovulation induction in women with endocrine infertility in anamnesis

491 Horban N. Ye., Zadorozhna T. D., Vovk I. B., Kondratiuk V. K., Kilikeych S. M.

Immunohistochemical features of cyclooxygenase-2 expression in endometrial hyperplasia without atypia

Оригинальные исследования

Рязанов Д. Ю., Мамунчак О. В.

Динаміка показників ендотеліальної дисфункції до та після операції у хворих на варикозну хворобу нижніх кінцівок

Книш О. В., Ісаєнко О. Ю., Бабич Є. М., Попов М. М.

Проліферація та біоплівкоутворення стафілококів *in vitro* під впливом безклітинних екстрактів пробіотичного походження

Волошин Ю. О., Карпачова Н. І., Замула А. Ю.

Забезпечення права ув'язнених на належну медичну допомогу

Фундаментальные исследования

Сампіїв А. М., Давітавян Н. А., Нікіфорова О. Б., Якуба Ю. Ф.

Кількісне визначення 0,05 % розчину хлоргексидину методом капілярного електрофорезу

Обзоры

Кас'ян В. В., Черкун О. Ю., Ситнік Д. А., Шейко В. Д.

Хірургічна тактика при гострому панкреатиті, що ускладнений асцит-перитонітом

Кожухов С. Н., Пархоменко А. Н.

Возможности фармакологической защиты миокарда при синдроме ишемии-реперфузии в эксперименте и клинической практике

Ащеулова Т. В., Демиденко Г. В., Герасимчук Н. М., Резуненко Ю. К., Кочубей О. А., Амбросова Т. М.

Діастолічна дисфункція: від відкриття до останніх оновлень

Кузьменко Т. С.

Аналіз сучасного стану проблеми післяопераційних легеневих ускладнень в абдомінальній хірургії

Носивец Д. С.

Экспериментальные модели патологии хрящевой ткани

Клинический случай

Разнатовська О. М., Шальміна М. О., Федорець А. В., Шальмін О. С., Потапенко М. С.

Особливості перебігу мультирезистентного туберкульозу на тлі ідіопатичного легеневого фіброзу (клінічний випадок)

Original research

499 Riazanov D. Yu., Mamunchak O. V.

Dynamics of endothelial dysfunction indices before and after operation in patients with varicose disease of the lower extremities

504 Knysh O. V., Isaenko O. Yu., Babych Ye. M., Popov M. M.

Staphylococcal proliferation and biofilm formation *in vitro* under the influence of cell-free extracts of probiotic origin

511 Voloshyn Yu. O., Karpachova N. I., Zamula A. Yu.

Ensuring the right of prisoners to appropriate medical care

Basic Research

517 Sampiiev A. M., Davitavian N. A., Nikiforova Ye. B., Yakuba Yu. F.

Quantitative determination of 0.05 % chlorhexidine solution by capillary electrophoresis

Review

522 Kasian V. V., Cherkun O. Yu., Sytnik D. A., Sheiko V. D.

Surgical tactics with acute pancreatitis complicated ascites-peritonitis

528 Kozhukhov S. M., Parkhomenko O. M.

Pharmacological approaches to the prevention of myocardial ischemia-reperfusion injury in experimental study and clinical practice

538 Ashcheulova T. V., Demydenko H. V., Herasymchuk N. M., Rezunenko Yu. K., Kochubiei O. A., Ambrosova T. M.

Diastolic dysfunction: from the discovery to the latest updates

546 Kuzmenko T. S.

Analysis of the current state of the postoperative pulmonary complications issue in abdominal surgery

554 Nosivets D. S.

Experimental models of cartilage tissue pathology

Case report

561 Raznatovska O. M., Shalmina M. O., Fedorets A. V., Shalmin O. S., Potapenko M. S.

Peculiarities of multidrug-resistant tuberculosis on the background of idiopathic pulmonary fibrosis (a clinical case report)

Коррекция функциональной способности миокарда при артериальной гипертензии в коморбидности с гиперурикемией и пойкилоцитозом

Е. Л. Коваленко*^{A-D}, О. К. Мелеховец^{A,C,D}, В. Ф. Орловский^{C,F}, Ю. В. Мелеховец^{B,E}

Сумский государственный университет, Украина

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

Ключевые слова:

артериальная гипертензия, гиперурикемия, пойкилоцитоз, функция левого желудочка, лазерная терапия.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 420–427

DOI:
10.14739/2310-1210.2019.4.173151

*E-mail:
LS709@ukr.net

Цель работы – изучить влияние гиперурикемии (ГУ) на функциональную способность миокарда и морфологию эритроцитов у пациентов с артериальной гипертензией (АГ), оценить возможности их коррекции низкоинтенсивной лазерной терапией (НИЛТ).

Материалы и методы. 82 пациента с АГ были разделены на 2 группы в зависимости от уровня мочевой кислоты (МК): группа АГ – 40 пациентов с АГ и нормальным уровнем МК; группа ГУ + АГ – 42 пациента с АГ в сочетании с ГУ. Выполняли растровую электронную микроскопию, суточное мониторирование АД, эхокардиографию. С лечебной целью проведен курс НИЛТ.

Результаты. В группе АГ + ГУ наличие ГУ обусловило значительное увеличение степени пойкилоцитоза – до 24,4 % пациентов по сравнению с 17,7 % больных группы АГ. Между уровнем МК, пойкилоцитозом и индексом Теи установлена умеренная прямая корреляционная связь. После проведения НИЛТ в группе АГ установлено снижение пойкилоцитоза на 15,1 %, в группе АГ + ГУ – на 29,9 %. В группе ГУ + АГ уменьшение МК составило 18,7 %, в группе АГ – 3,9 %. Достоверная однонаправленная динамика показателей МК ($\Delta\%$ -18,7) и пойкилоцитоза ($\Delta\%$ -29,9) в группе ГУ + АГ доказывает роль МК в развитии пойкилоцитоза. После окончания лечения произошло снижение среднего САД в обеих группах на 8,2–9,0 % и достигнуто снижение индекса Теи на 29,3 % в ГУ + АГ группе и на 9,5 % в группе АГ.

Выводы. Применение НИЛТ позволяет достоверно снизить уровень МК, степень пойкилоцитоза, АД и, соответственно, улучшить функциональную способность миокарда левого желудочка у пациентов с АГ в коморбидности с гиперурикемией и пойкилоцитозом.

Корекція функціональної здатності міокарда при артеріальній гіпертензії в коморбідності з гіперурикемією та пойкилоцитозом

Є. Л. Коваленко, О. К. Мелеховець, В. Ф. Орловський, Ю. В. Мелеховець

Ключові слова:

артеріальна гіпертензія, гіперурикемія, пойкилоцитоз, функція лівого шлуночка серця, лазерна терапія.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 420–427

Мета роботи – вивчити вплив гіперурикемії (ГУ) на функціональну здатність міокарда та морфологію еритроцитів у пацієнтів з артеріальною гіпертензією (АГ), оцінити можливості їхньої корекції за допомогою низькоінтенсивної лазерної терапії (НИЛТ).

Матеріали та методи. 82 пацієнти з АГ поділені на 2 групи залежно від рівня сечової кислоти (СК): група АГ – 40 пацієнтів з АГ і нормальним рівнем СК; група ГУ + АГ – 42 пацієнти з АГ у поєднанні з ГУ. Виконували растрову електронну микроскопію, добовий моніторинг АД, ехокардіографію. З лікувальною метою проведено курс НИЛТ.

Результати. У групі АГ + ГУ наявність ГУ зумовила суттєве збільшення ступеня пойкилоцитозу – до 24,4 % пацієнтів порівняно з 17,7 % хворих групи АГ. Між рівнем СК, пойкилоцитозом та індексом Теї встановили помірний прямий кореляційний зв'язок. Після курсу НИЛТ у групі АГ відбулося зниження пойкилоцитозу на 15,1 %, у групі АГ + ГУ – на 29,9 %. У групі ГУ + АГ зменшення СК становило 18,7 %, у групі АГ – 3,9 %. Вірогідна односпрямована динаміка показників СК ($\Delta\%$ -18,7) та пойкилоцитозу ($\Delta\%$ -29,9) у групі ГУ + АГ доводить роль СК в розвитку пойкилоцитозу. Після закінчення лікування відбулося зниження середньоденного САД в обох групах на 8,2–9,0 %, досягнуто зниження індексу Теї на 29,3 % у групі ГУ + АГ і на 9,5 % у групі АГ.

Висновки. Застосування НИЛТ дає змогу вірогідно знизити рівень СК, ступінь пойкилоцитозу, АД і, відповідно, поліпшити функціональну здатність міокарда лівого шлуночка у пацієнтів з АГ у коморбідності з гіперурикемією та пойкилоцитозом.

Key words:

arterial hypertension, hyperuricemia, abnormal erythrocytes, left ventricular function, laser therapy.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (4), 420–427

Correction of functional capacity of myocardium in arterial hypertension associated with hyperuricemia and poikilocytosis comorbidities

Ye. L. Kovalenko, O. K. Melekhovets, V. F. Orlovskiy, Yu. V. Melekhovets

Aim. To study the influence of hyperuricemia (HU) on the functional capacity of the myocardium and erythrocytes morphology in patients with arterial hypertension (AH) and to estimate the possibility of their correction using low-level laser therapy (LLLT).

Materials and methods. A total of 82 patients with AH were divided into two groups depending on the level of uric acid (UA): group AH – 40 patients with AH and normal UA level; group HU + AH – 42 patients with AH in combination with HU. Scanning electron microscopy, 24-hour blood pressure monitoring and echocardiography were performed. LLLT course was performed for the therapeutic purpose.

Results. A significantly increased degree of poikilocytosis up to 24.4 % of patients in the AH + HU group was caused by HU compared with 17.7 % of patients in the AH group. A moderate direct correlation was established between the level of UA, poi-

kilocytosis and Tei index. After LLLT, poikilocytosis was reduced by 15.1 % in the AH group and by 29.9 % in the AH + HU group. The decrease in UA was 18.7 % in the group AH + HU and 3.9 % in the AH group. The significant unidirectional dynamics of UA indices ($\Delta\%$ -18.7) and poikilocytosis ($\Delta\%$ -29.9) in the group AH + HU has proved the role of UA in the development of poikilocytosis. After the treatment, the mean daily SBP was 8.2–9.0 % decreased in both groups, and Tei index was decreased by 29.3 % in the AH + HU group and by 9.5 % in the AH group.

Conclusions. The use of LILT can significantly reduce the level of UA, degree of poikilocytosis, BP, and thus improve the functional capacity of the left ventricular myocardium in AH patients with hyperuricemia and poikilocytosis comorbidities.

В современной клинической медицине артериальную гипертензию (АГ) рассматривают как модифицируемый фактор риска острых сосудистых катастроф (инфаркт миокарда, ишемический и геморрагический инфаркт головного мозга, диссекция аорты, гангрена нижних конечностей) [1]. Сочетание АГ с метаболическим синдромом приводит к ускорению прогрессирования сосудистых осложнений [2]. Несоблюдение комплаенса при коморбидных состояниях ухудшает прогноз [3] и обуславливает необходимость развития новых методик, воздействующих одновременно на разные патогенетические звенья. Один из компонентов метаболического синдрома – гиперурикемия (ГУ) – признана весомым фактором риска, влияющим на реологические свойства, изменяющие жесткость сосудистой стенки, морфологию эритроцитов и их способность к сладжированию. Изменения морфологии эритроцитов приводит к повышению вязкости цельной крови приводит к увеличению периферического сосудистого сопротивления, что вызывает увеличение постнагрузки на миокард левого желудочка (ЛЖ) [4]. Исследования по влиянию уровня мочевой кислоты (МК) сыворотки крови на морфологию эритроцита показывают существование связи между уровнем МК и шириной распределения эритроцитов (ШРЭ) у больных с артериальной гипертензией (АГ) [5]. Масштабное исследование на практически здоровых людях не показало взаимосвязь между уровнем МК и ШРЭ, что свидетельствует о существовании дополнительных патогенетических механизмов АГ [6]. При изучении влияния гиперурикемии на функциональную способность миокарда левого желудочка в авторитетном исследовании «Framingham Offspring» оценены эхографические показатели для установления систолической дисфункции миокарда у больных подагрой. В результате доля обследованных с систолической дисфункцией среди пациентов с гиперурикемией составила 12,7 % против 3,5 % больных в контрольной группе [7]. Малоизученным остается вопрос о влиянии гиперурикемии на диастолическую и комплексную систолодиастолическую функцию миокарда. Возможности низкоинтенсивной лазерной терапией (НИЛТ) относительно коррекции функциональной способности миокарда объясняют высвобождением дополнительного количества оксида азота из тканевых депо [8], и хотя имеются данные о влиянии НИЛТ на реологию эритроцита [9], клинические исследования, которые комплексно изучали проблему взаимосвязи морфологии эритроцита и функциональной способности миокарда под действием лазерного излучения, не проводили.

Цель работы

Изучить влияние гиперурикемии на морфологию эритроцитов и функциональную способность миокарда

у пациентов с артериальной гипертензией, оценить возможности их коррекции низкоинтенсивной лазерной терапией.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 82 человека с АГ (I стадия, 1–2 степень), которые были распределены на две группы в зависимости от уровня мочевой кислоты (МК): первую группу (АГ) составили 40 человек с эссенциальной артериальной гипертензией и нормальным уровнем МК; вторую (ГУ + АГ) – 42 пациента с наличием АГ в сочетании с гиперурикемией. Диагноз АГ установлен на основании уровней систолического артериального давления (АД) выше 139 мм рт. ст. и диастолического артериального давления выше 89 мм рт. ст., полученных при проведении 2 измерений АД на обеих руках в стандартных условиях. При установлении разницы АД на руках для дальнейших измерений использовали руку с более высоким АД [10]. Критериями гиперурикемии считали повышение уровня МК более 400 мкмоль/л без учета гендерных особенностей. Критерии исключения: вторичный характер АГ, наличие костно-суставной патологии, хронического заболевания почек и нарушения углеводного обмена (табл. 1).

Группы сопоставимы по возрасту и полу. Средний возраст пациентов в первой группе составил 44 ± 8 , во второй – 46 ± 9 лет.

Стандартное эхокардиографическое исследование проводили на ультразвуковом аппарате SonoScape S6Pro с секторным датчиком 2P1 с рабочей частотой 2,5–5,0 МГц в двухмерном режиме сканирования с определением динамических показателей в режиме цветного доплеровского картирования. Скоростные параметры кровотока измеряли в режиме импульсно-волновой доплерографии. Систолидиастолическую функцию левого желудочка оценивали с использованием неинвазивной эхокардиографической пробы с определением индекса Теи, который позволяет оценить как систолическую, так и диастолическую функцию миокарда левого желудочка с учетом периодов изоволюметрического сокращения и изоволюметрической релаксации миокарда ЛЖ. Вычисление индекса Теи [11] выполняли по формуле: $T-t/t=0,42-0,29/0,29=0,58$, где t – время изгнания крови в аорту, T – суммарное время изоволюметрического сокращения левого желудочка, время изгнания крови в аорту и время изоволюметрического расслабления (рис. 1).

Амбулаторное суточное мониторирование артериального давления (СМАД) проводили аппаратом суточного мониторирования АД АВМР-50 HEACO. Референтные показатели среднесуточного систолического артериального давления (САД) – ≤ 135 мм рт. ст., диастолического артериального (ДАД) – ≤ 85 мм рт. ст. [12].

Таблица 1. Общая характеристика исследуемых групп

Показатель, единицы измерения	Исследуемые группы		p-уровень
	Первая группа (АГ) n = 40	Вторая группа (ГУ+АГ) n = 42	
Возраст	47 [29; 52]	49 [31; 55]	$p_{1-2} > 0,05$
Пол, мужчины, n (%)	19 (47,5 %)	21 (50,0%)	$p_{1-2} > 0,05$
Среднее дневное САД, мм рт. ст.	149 [118; 142]	154 [132; 192]	$p_{1-2} < 0,05$
Среднее дневное ДАД, мм рт. ст.	94 [72; 89]	98 [75; 107]	$p_{1-2} < 0,05$
Мочевая кислота, мкмоль/л	356 [275; 370]	498 [480; 658]	$p_{1-2} < 0,05$
Гликозилированный гемоглобин, %	5,7 [4,6; 5,9]	5,8 [4,4; 5,7]	$p_{1-2} > 0,05$
СКФ, мл/мин	109 [89; 122]	104 [88; 120]	$p_{1-2} > 0,05$
ИМТ, кг/м ²	23,8 [22,4; 23,9]	23,1 [19,9; 24,0]	$p_{1-2} > 0,05$

САД: систолическое артериальное давление; ДАД: диастолическое артериальное давление; СКФ: скорость клубочковой фильтрации; ИМТ: индекс массы тела.

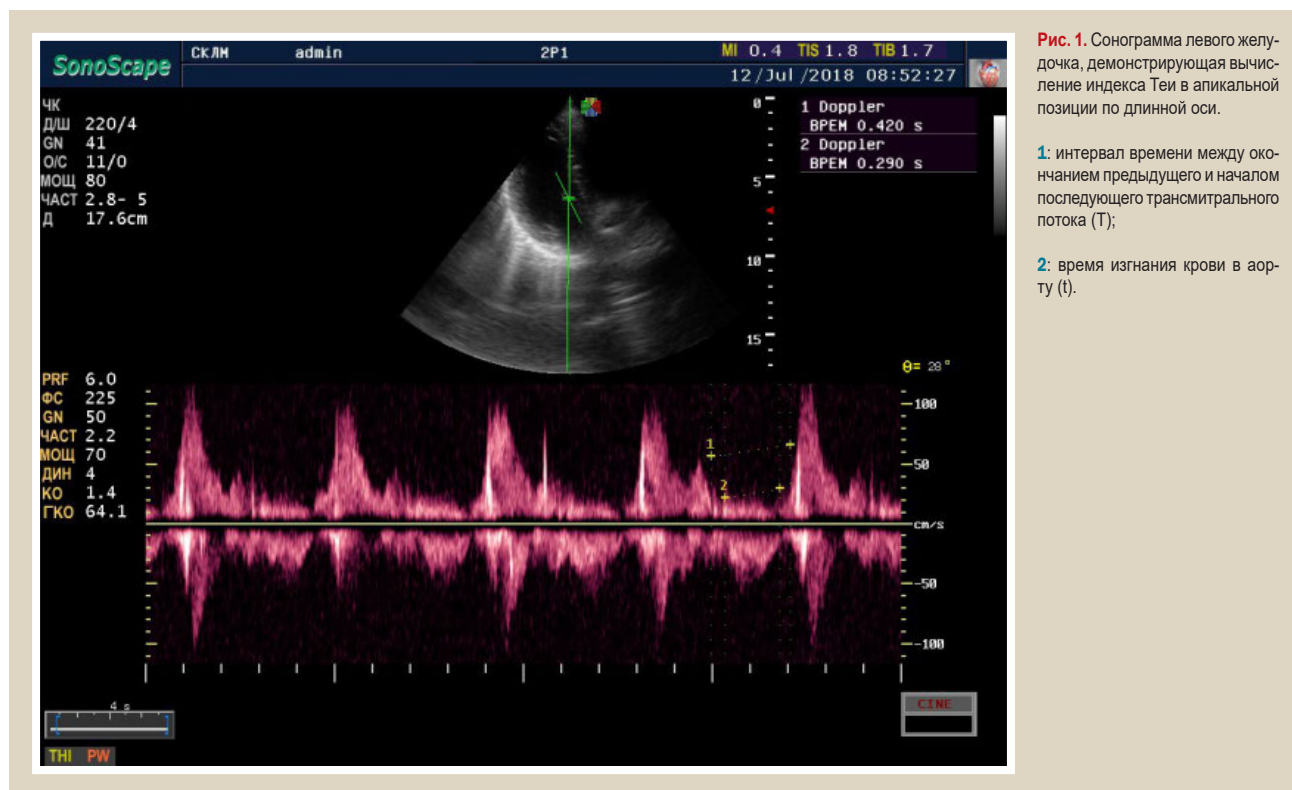


Рис. 1. Сонограмма левого желудочка, демонстрирующая вычисление индекса Теи в апикальной позиции по длинной оси.

- 1: интервал времени между окончанием предыдущего и началом последующего трансмитрального потока (Т);
- 2: время изгнания крови в аорту (t).

Морфологию эритроцитов исследовали с цитологической оценкой мазка по методу Романовского–Гимзы с модификацией Майн–Грюнвальда и с использованием растровой электронной микроскопии. Сканирующую электронную микроскопию проводили на растровом электронном микроскопе РЭИ-106и «SELMi» с камерой низкого вакуума. Образцы крови у пациентов собирали натощак. В цельную кровь в объеме 2 мл добавляли 2 капли гепарина натрия. На следующем этапе подготовки образца проводили центрифугирование: 2000 оборотов/мин в течение 5 минут. Верхнюю фракцию центрифугата сливали, оставляя 1 мл объема, который фиксировали альдегидным фиксатором на фосфатном буфере с экспозицией 60 минут. После повторного центрифугирования (2000 об/мин, 5 минут) проводили замену фиксатора с повторным центрифугированием с аналогичными параметрами. Следующий этап подготовки – отмывка эритроцитов от фиксатора с добавлением фосфатного буферного раствора. Полученную суспензию проводили через серию спиртов возрастающей концентрации

с центрифугированием после каждого этапа. После обработки в 100 % этиловом спирте осуществляли конечное суспензирование и напыление графитом с последующей растровой электронной микроскопией. В соответствии с современными данными, пойкилоцитозом считают состояние, при котором эритроциты с измененной формой превышают 5 % от общего количества эритроцитарного пула [13], что отличается от ранее существовавшего определения пойкилоцитоза с количеством измененных эритроцитов более 15 % [14].

Уровень МК определяли на биохимическом анализаторе Cobas 6000. Roche Diagnostics (Швейцария). Уровень гликозилированного гемоглобина – с помощью ионообменной температура независимой хроматографии-спектрометрии на полуавтоматическом биохимическом анализаторе HUMALYZER 3000 (расходные реактивы BioSystems). Расчет скорости клубочковой фильтрации для оценки функциональной способности почек проводили по формуле СКД-EPI. Индекс массы тела (I) рассчитывали по формуле: $I = m / h^2$, где m –

масса тела в килограммах, h – рост в метрах. Больных обследовали на момент включения в исследование и через 2 недели.

Курс низкоинтенсивной лазерной терапии проводили с использованием аппарата «Мустанг-2000» с длиной волны 635 нм. Стерильный световод с диаметром 500 мкм вводили в кубитальную вену пациента и соединяли с излучающей головкой. Мощность на выходе световода составляла 1,5 мВт, плотность мощности излучения в постоянном режиме – 0,2 Вт/см², флюенс – 0,2 Дж/см². Суммарная доза излучения экспозицией 900 секунд курсом 10 процедур составляла 180 Дж/см².

Набор больных для формирования групп, а также инструментальные и лабораторные исследования проведены в ООО «Сумская клиника лазерной медицины» (договор о сотрудничестве № 62.14-01.16-21/н).

Научное исследование выполнено с соблюдением международного и национального законодательства по вопросам этики в соответствии с требованиями закона Украины 23.09.2009 г. № 690 «Об утверждении порядка проведения клинических испытаний лекарственных средств и экспертизы материалов клинических испытаний и типового положения комиссии по вопросам этики». Дизайн исследования с позиции соблюдения этических и морально-правовых принципов одобрен комиссией по биоэтике Медицинского института Сумского государственного университета (протокол № 15 от 15.01.2015 г.). У пациентов всех групп получено информационное согласие на участие в исследовании в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы медицинских исследований с участием человека в качестве объекта исследования».

Статистическая обработка полученных результатов исследований проведена с помощью программного пакета Windows 10 – Office Professional Plus согласно лицензионному соглашению с компанией Microsoft (Agreement ID: V0731528) с использованием параметрических и непараметрических методов вариационной статистики.

Нормальность распределения показателя проверяли с помощью теста Шапиро–Уилка и методом прямой визуальной оценки гистограмм распределения собственных значений.

Количественные показатели, которые имели нормальное распределение, представлены в виде $M \pm m$. При непараметрическом распределении данные представлены в виде медианы (Me) как меры положения, верхнего ($Q75$) и нижнего квартилей ($Q25$) в качестве меры рассеивания. Для сравнения данных, которые имели нормальный характер распределения, использовали параметрические тесты с оценкой t -критерия Стьюдента. Для оценки меры зависимости между переменными использовали корреляционный анализ.

Результаты

На момент включения в исследование у 10 пациентов (25 %) группы АГ установлен пойкилоцитоз со средним значением измененных форм эритроцитов в препарате $17,7 \pm 4,6$ %, при этом эхиноциты I порядка составили $11,1 \pm 4,5$ %, эхиноциты II порядка – $4,4 \pm 0,9$ %, стоматоциты – $2,2 \pm 0,9$ % (рис. 2).

В группе АГ + ГУ наличие гиперурикемии обусловило значительное увеличение степени пойкилоцитоза – изменение формы эритроцитов установлено у 11 пациентов (26,2 %) со средним значением измененных форм $24,4 \pm 3,8$ %: эхиноцитов I порядка – $12,9 \pm 4,4$ %, эхиноцитов II порядка – $7,9 \pm 0,8$ %, стоматоцитов – $3,6 \pm 0,5$ % (рис. 3).

На фоне преобладания в обеих группах эхиноцитов I порядка степень выраженности дисморфии в группе с ГУ нарастала за счет увеличения количества эхиноцитов II порядка.

При изучении систолиастиолической функции миокарда ЛЖ отмечена статистически достоверная разница показателей индекса Теи между группами: незначительное превышение нормальных показателей у пациентов группы АГ – 0,42, выраженное увеличение индекса до 0,58 у пациентов группы АГ + ГУ.

Уровни среднего АД в обеих группах также достоверно отличались с преобладанием средних уровней АД при наличии гиперурикемии: среднего уровня САД – на 7,5 %, среднего уровня ДАД – на 5,2 % ($p < 0,05$).

В результате проведенного исследования установлена прямая корреляционная связь средней силы между уровнем МК и наличием пойкилоцитоза: $r = +0,69$ ($p < 0,001$). Также установлена прямая корреляционная связь умеренной силы $r = +0,47$ ($p < 0,05$) между уровнем МК и индексом Теи. Корреляционный анализ у больных с АГ показал наличие достоверных корреляционных связей между пойкилоцитозом и функциональной способностью миокарда ЛЖ. Так, доказано, что между уровнем пойкилоцитоза и индексом Теи существует прямая корреляционная связь средней силы по шкале Спирмена ($r = +0,64$; $p < 0,001$); между уровнем пойкилоцитоза и дневным САД – прямая корреляционная связь умеренной силы ($r = +0,31$; $p < 0,05$); между уровнем пойкилоцитоза и дневным ДАД – прямая корреляционная связь умеренной силы ($r = +0,34$; $p < 0,05$).

С лечебной целью проведен курс низкоинтенсивной лазерной терапии, по окончании которого в группе АГ установлено наличие пойкилоцитоза у 8 (20 %) пациентов со средним значением количества эритроцитов с измененной формой $15,1 \pm 3,9$ %, при этом снижение степени пойкилоцитоза составило Δ % -14,7 (табл. 2).

Динамика снижения степени дисморфии эритроцитов в группе АГ составила для эхиноцитов I порядка – Δ % -0,9, эхиноцитов II порядка – Δ % -52,3, стоматоцитов – Δ % -9,1 (рис. 4).

В группе АГ + ГУ после курса НИЛТ пойкилоцитоз установлен у 10 пациентов (23,8 %). Достигнута значимая динамика уменьшения выраженности измененных форм эритроцитов с $24,4$ % до $17,1$ %; количество эхиноцитов I порядка уменьшилось на $19,4$ %, эхиноцитов II порядка – на $30,6$ %, стоматоцитов – на $19,4$ % (рис. 5).

После курса НИЛТ в группе ГУ + АГ уменьшение ГУ составило $18,7$ %, в группе АГ – $3,9$ %. Достоверная однонаправленная динамика показателей МК (Δ % -18,7) и пойкилоцитоза (Δ % -29,9) в группе ГУ + АГ демонстрирует взаимосвязь между уровнем мочевой кислоты и выраженностью дисморфии эритроцитов.

После окончания лечения достигнуто снижение среднего уровня АД в обеих группах: в группе

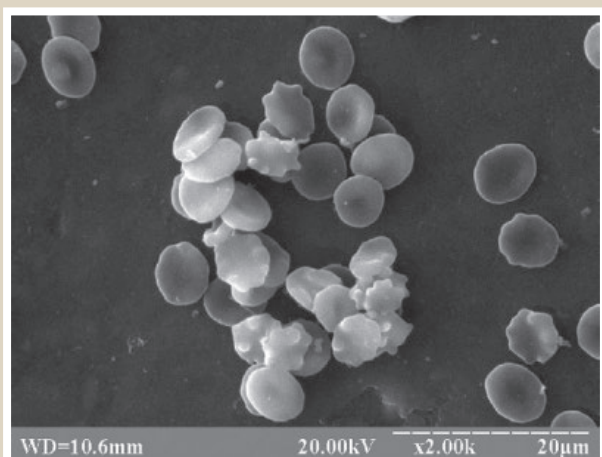


Рис. 2. Электронограмма образца крови пациента группы АГ: пойкилоцитоз 17,7 %. Увеличение ×2000.

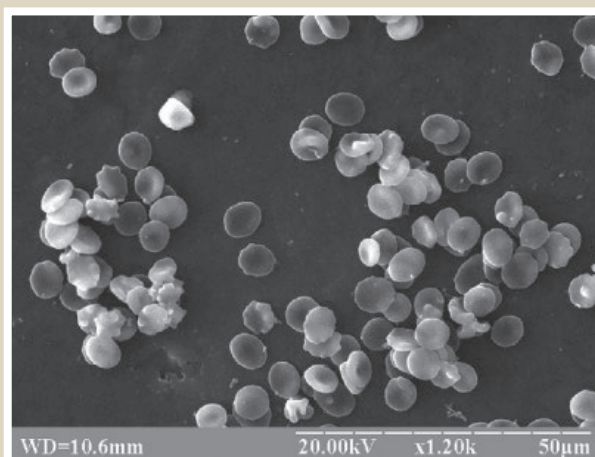


Рис. 3. Электронограмма образца крови пациента группы ГУ + АГ: пойкилоцитоз 24,4 %. Увеличение ×1200.

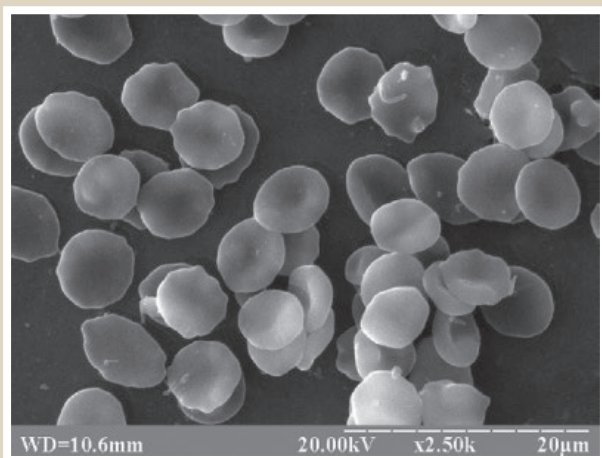


Рис. 4. Электронограмма образца крови пациента группы АГ после проведения низкоинтенсивной лазерной терапии: пойкилоцитоз 15,1 %. Увеличение ×2500.

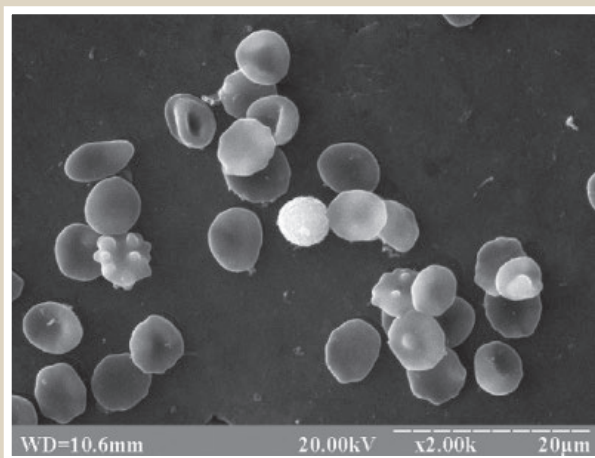


Рис. 5. Электронограмма образца крови пациента группы ГУ + АГ после проведения низкоинтенсивной лазерной терапии: пойкилоцитоз 17,1 %. Увеличение ×2000.

Таблица 2. Влияние внутривенной лазерной терапии на динамику показателей в исследуемых группах (Me [Q25; Q75], n = 82)

Показатель, единицы измерения	Первая группа АГ; n= 40		Вторая группа ГУ+АГ; n= 42		p-уровень
	До НИЛТ	После НИЛТ	До НИЛТ	После НИЛТ	
Мочевая кислота, мкмоль/л	356 [275; 370] Δ ₂ % -3,9	342 [268; 362]	498 [480; 658] Δ ₂ % -18,7	405 [360; 526]	p ₁₋₃ *, p ₃₋₄ < 0,001 p ₁₋₂ *, p ₂₋₄ < 0,05
Пойкилоцитоз*, %	17,7 ± 4,6 Δ ₂ % -14,7	15,1 ± 3,9	24,4 ± 3,8 Δ ₂ % -29,9	17,1 ± 3,7	p ₁₋₃ *, p ₃₋₄ < 0,001 p ₁₋₂ *, p ₂₋₄ < 0,05
Эхиноциты I порядка*, %	11,1 ± 4,5 Δ ₂ % -0,9	11,0 ± 4,1	12,9 ± 4,4 Δ ₂ % -19,4	10,4 ± 3,7	p ₁₋₃ *, p ₃₋₄ < 0,001 p ₁₋₂ *, p ₂₋₄ < 0,05
Эхиноциты II порядка*, %	4,4 ± 0,9 Δ ₂ % -52,3	2,1 ± 0,7	7,9 ± 0,8 Δ ₂ % -30,6	3,8 ± 0,6	p ₁₋₃ *, p ₃₋₄ < 0,001 p ₁₋₂ *, p ₂₋₄ < 0,05
Стоматоциты*, %	2,2 ± 0,9 Δ ₂ % -9,1	2,0 ± 0,3	3,6 ± 0,5 Δ ₂ % 19,4	2,9 ± 0,4	p ₁₋₃ *, p ₃₋₄ < 0,001 p ₁₋₂ *, p ₂₋₄ < 0,05
Индекс Теи	0,42 [0,36; 0,49] Δ ₂ % -9,5	0,38 [0,32; 0,47]	0,58 [0,44; 0,69] Δ ₂ % -29,3	0,41 [0,38; 0,52]	p ₁₋₃ *, p ₃₋₄ < 0,001 p ₁₋₂ *, p ₂₋₄ < 0,05
Среднее дневное САД, мм рт. ст.	146 [118; 139] Δ ₂ % -8,2	134 [116; 131]	155 [132; 192] Δ ₂ % -9,0	141 [125; 178]	p ₁₋₃ *, p ₃₋₄ < 0,001 p ₁₋₂ *, p ₂₋₄ < 0,05
Среднее дневное ДАД, мм рт. ст.	89 [72; 89] Δ ₂ % -10,1	80 [70; 86]	92 [75; 107] Δ ₂ % -5,4	87 [71; 103]	p ₁₋₃ *, p ₂₋₄ *, p ₃₋₄ < 0,05 p ₁₋₂ > 0,05

*: M ± m.

АГ – снижение САД на 8,2 % ($p < 0,05$), снижение ДАД на 10,1 % ($p > 0,05$); в группе ГУ + АГ – снижение САД на 9,0 % ($p < 0,05$), снижение ДАД на 5,4 % ($p < 0,05$).

Оценка функциональной способности миокарда после проведенного курса НИЛТ показала динамику снижения индекса Теи на 29,3 % в группе ГУ + АГ, на 9,5 % с достижением целевого показателя в группе АГ, что демонстрирует возможности использования физиотерапии в комплексном лечении АГ с измененной функцией миокарда.

Таким образом, после проведения НИЛТ уменьшение ГУ сопровождается уменьшением выраженности пойкилоцитоза, уровня АД и улучшением систолической функции миокарда левого желудочка.

Обсуждение

Показана прямая зависимость между уровнем МК и выраженностью пойкилоцитоза, АД, индексом Теи. Мы считаем, что значимым механизмом влияния на реологические свойства крови является формирование патологических форм эритроцитов (эхиноцитов) в условиях гиперурикемии. Эхиноцитоз повышает вязкость крови и вызывает синдром реологической обструкции, в том числе в коронарных артериях [15].

Способность МК влиять на морфологию эритроцита в условиях гиперурикемии обусловлена ее химической структурой. Эритроцит имеет на своей поверхности отрицательный заряд – дзета-потенциал, который уменьшается по мере удаления от мембраны за счет экранирования катионами натрия хлорида. Он предотвращает агрегацию эритроцитов, так как известно, что между телами с одинаковым зарядом действует отталкивающая сила. Уменьшение дзета-потенциала ведет к изменению морфологии эритроцита. Анион МК конкурирует с анионами хлорида в ионном облаке и способен уменьшать дзета-потенциал эритроцита путем его нейтрализации. Таким образом, МК приводит к изменению морфологии эритроцитов и повышает степень их агрегации. Вязкость крови с наличием эхиноцитоза увеличивается вследствие механических препятствий движению крови, которые возникают между спикулами эхиноцитов [16]. Способность эритроцитов двигаться по кровеносному руслу определяется диаметром сосуда, формой клеток (соотношением их площади и объема) и реологическими параметрами плазмы. В норме при максимальной площади эритроцит имеет минимальный объем, что соответствует пространственной концепции двояковогнутого дискоцита. Эхиноцит за счет спикул сохраняет площадь поверхности. Таким образом, способность прохождения эхиноцита через капилляр сохраняется или даже улучшается по сравнению с дискоцитом. Однако прохождение эхиноцитов через сосуды большого диаметра, предусматривающее взаимодействие клеток между собой, затруднено из-за механического взаимодействия между спикулами эхиноцитов и вследствие повышения вязкости крови. Следует отметить, что дальнейшее изменение формы эритроцита путем эхиноцитарной трансформации до формы сфероцита ведет к потере перфузионных свойств в капиллярном русле до 30 % для образца, состоящего из сфероцитов [17]. Таким образом, одним из

патогенетических механизмов влияния гиперурикемии на гемодинамику является изменение морфологии эритроцита в результате его взаимодействия с молекулой МК. Уменьшение кровоснабжения миокарда вследствие обструкции эхиноцитами гематомикроциркуляторного русла приводит к немой ишемии миокарда и нарастанию индекса Теи.

Согласно данным научной литературы [14], активация антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы), достигаемая НИЛТ, приводит к снижению активности ксантиноксидазы. Это влечет за собой снижение уровня МК, увеличивает дзета-потенциал эритроцита и обеспечивает стабилизацию его мембраны, что способствует сохранению его морфологии.

Оценивая скорость достижения биологического эффекта при применении дистантных методов фототерапии, следует отметить: ультрафиолетовое облучение кожи приводит к статистически достоверному изменению показателей гемодинамики в течение 30 минут как у пациентов с артериальной гипертензией, так и в контрольной группе [18]. Исследователи объясняют этот эффект высвобождением оксида азота из депо, расположенных в коже.

Изменение параметров системной гемодинамики, полученное после курса НИЛТ, сопоставимо с результатами, которые наблюдали при применении антигипертензивной терапии. Так, прием небиволола в дозировке 5 мг в сутки обеспечивал снижение показателей системного артериального давления и скорости проведения пульсовой волны по артериям на 14 сутки после инициации терапии [18], повышение индексов диастолической эффективности миокарда зафиксировано через 1 месяц [19,20].

Заслуживают внимания исследования, проводимые на животных с индуцированным инфарктом миокарда, в результате которых достигнуто уменьшение диастолической дисфункции миокарда ЛЖ на фоне проводимой НИЛТ на 3 сутки лечения [21].

Таким образом, НИЛТ можно рассматривать как комплексную к традиционной терапии методику, обеспечивающую эффективную коррекцию гиперурикемии, пойкилоцитоза, артериальной гипертензии и, в конечном итоге, дисфункции миокарда у пациентов с АГ.

Выводы

1. Установленное наличие прямых корреляционных связей средней силы между уровнем МК и пойкилоцитозом у больных с АГ подтверждает влияние гиперурикемии на форму эритроцитов, гематомикроциркуляторные нарушения и, как результат, формирование систолической дисфункции миокарда ЛЖ.

2. Применение внутривенной лазерной терапии позволяет достоверно снизить степень пойкилоцитоза, уровень мочевой кислоты, артериального давления и, соответственно, улучшить функциональную способность миокарда левого желудочка у пациентов с АГ.

Перспективы дальнейших исследований. Анализа требует оценка отдаленных результатов влияния НИЛТ на исследуемые параметры: уровень МК, степень пойкилоцитоза, удержание целевых уровней АД и индекса Теи.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Надійшла до редакції / Received: 05.11.2018

Після доопрацювання / Revised: 12.12.2018

Прийнято до друку / Accepted: 09.01.2019

Сведения об авторах:

Коваленко Е. Л., аспирант 3 года обучения каф. семейной медицины, Сумский государственный университет, Украина. ORCID ID: 0000-0003-0750-9945

Мелеховец О. К., канд. мед. наук, доцент каф. семейной медицины, Сумский государственный университет, Украина. ORCID ID: 0000-0001-9031-7009

Орловский В. Ф., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. семейной медицины, Сумский государственный университет, Украина. ORCID ID: 0000-00025951-5047

Мелеховец Ю. В., канд. мед. наук, ассистент каф. хирургии и онкологии, Сумский государственный университет, Украины. ORCID ID: 0000-0002-3219-9021

Відомості про авторів:

Коваленко Е. Л., аспірант 3 року навчання каф. сімейної медицини, Сумський державний університет, Україна.

Мелеховець О. К., канд. мед. наук, доцент каф. сімейної медицини, Сумський державний університет, Україна.

Орловський В. Ф., д-р мед. наук, професор, зав. каф. сімейної медицини, Сумський державний університет, Україна.

Мелеховець Ю. В., канд. мед. наук, асистент каф. хірургії та онкології, Сумський державний університет, Україна.

Information about authors:

Kovalenko Ye. L., MD, Postgraduate Student of the Department of Family Medicine, Sumy State University, Ukraine.

Melekhovets O. K., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Family Medicine, Sumy State University, Ukraine.

Orlovskiy V. F., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Family Medicine, Sumy State University, Ukraine.

Melekhovets Yu. V., MD, PhD, Assistant of the Department of Surgery and Oncology, Sumy State University, Ukraine.

Список литературы

- [1] Zipes D., Libby P. Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine, Eleven Edition. 2018.
- [2] Гиперурикемия и ее корреляты в российской популяции (результаты эпидемиологического исследования ЭССЕ-РФ) / С. А. Шальнова, А. Д. Деев, Г. В. Артамонова и др. *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. 2014. №10(2). С. 153–159.
- [3] Monitoring of awareness level in dispensary patients with arterial hypertension / V. Smilianov, I. Witczak, O. Smilianova et al. *Wiadomosci Lekarskie*. 2017. Vol. 70(2 pt 2). P. 299–302.
- [4] Erythrocyte aggregation and metabolic syndrome / P. Gyawali, R.S. Richards, D. L. Hughes, et al. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2014. Vol. 57. Issue 1. P. 73–83. doi: 10.3233/CH-131792
- [5] Relationship between red cell distribution width and serum uric acid in patients with untreated essential hypertension / M. Luo, Z. Z. Li, Y. Y. Li, et al. *Sci Rep*. 2014. Vol. 4. P. 7291. doi: 10.1038/srep07291
- [6] No associations exists between red blood cell distribution width and serum uric acid in both sexes / C. Zhang, Z. Meng, X. Li et al. *Medicine (Baltimore)*. 2018. Vol. 97. Issue 40. e12707. doi: 10.1097/MD.00000000000012707
- [7] Krishnan E. Gout and the risk for incident heart failure and systolic dysfunction. *BMJ Open*. 2012. Vol. 2. Issue 1. e000282. doi: 10.1136/bmjopen-2011-000282
- [8] Anandbir Singh Bath, Vishal Gupta. Cardio-light: nitric oxide uncaged Lasers in Medical Science. *Lasers in Medical Science*. 2019. Vol. 34. Issue 2. P. 405–409.
- [9] Influence of MLS laser radiation on erythrocyte membrane fluidity and secondary structure of human serum albumin / K. Pasternak, O. Nowacka, D. Wróbel et al. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2014. Vol. 388. Issue 1–2. P. 261–267.
- [10] Наказ МОЗ України «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при артеріальній гіпертензії» від 24.05.2012 р. №384 URL.: http://old.moz.gov.ua/ua/portal/dn_20120524_384.html

- [11] Tham E. B., Silverman N. H. Measurement of the Tei index: a comparison of M-mode and pulse Doppler methods. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2004. Vol. 17. Issue 12. P. 1259–1265. doi: 10.1016/j.echo.2004.07.009
- [12] 2018 ESH / ESC Guidelines for the management of arterial hypertension / B. Williams, G. Mancia, W. Spiering, et al. *European Heart Journal*. 2018. Vol. 39. Issue 33. P. 3021–3104. doi: 10.1093/eurheartj/ehy339
- [13] Hematology (Seventh Edition) / R. Hoffman, E. J. Benz, L. E. Silberstein, et al. Elsevier. 2018. P. 2374. URL.: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-35762-3.00165-7>
- [14] Эритроциты в норме, патологии и при лазерных воздействиях / И. М. Байбеков, Р. Ш. Мавлян-Ходжаев, А. Г. Эрстекис и др. Тверь: Триада, 2008. С. 43.
- [15] Uric acid increases erythrocyte aggregation: Implications for cardiovascular disease / G. D. Sloop, J. K. Bialczak, J. J. Weidman, et al. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2016. Vol. 63. Issue 4. P. 349–359. doi: 10.3233/CH-152023
- [16] Reinhart W. H., Singh-Marchetti M., Straub P. W. The influence of erythrocyte shape on suspension viscosities. *Eur J Clin Invest*. 1992. Vol. 22. Issue 1. P. 38–44. doi: 10.1111/j.1365-2362.1992.tb01933.x
- [17] Shape matters: the effect of red blood cell shape on perfusion of an artificial microvascular network / N. Z. Piety, W. H. Reinhart, P. H. Pourreau et al. *Transfusion*. 2016. Vol. 56. Issue 4. P. 844–851. doi: 10.1111/trf.13449
- [18] UVA irradiation of human skin vasodilates arterial vasculature and lowers blood pressure independently of nitric oxide synthase / D. Liu, B. O. Fernandez, A. Hamilton, et al. *J Invest Dermatol*. 2014. Vol. 134. Issue 7. P. 1839–1846. doi: 10.1038/jid.2014.27
- [19] Effects of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors and beta-blockers on markers of arterial stiffness / C. Koumaras, K. Tziomalos, E. Stavrinou et al. *Journal of the American Society of Hypertension*. 2014. Vol. 8. Issue 2. P. 74–82. doi: 10.1016/j.jash.2013.09.001
- [20] Differential effects of nebivolol and atenolol on transmitral diastolic filling parameters in patients with essential hypertension / M. Tuncer, U. Guntekin, Y. Gunes et al. *Adv Therapy*. 2008. Vol. 25. Issue 6. P. 619–26. doi: 10.1007/s12325-008-0065-3
- [21] Amelioration of cardiac function and activation of anti-inflammatory vasoactive peptides expression in the rat myocardium by low level laser therapy / M. T. Manchini, A. J. Serra, S. Feliciano Rdos et al. *PLoS One*. 2014. Vol. 9. Issue 7. e0101270. doi: 10.1371/journal.pone.0101270

References

- [1] Zipes, D., & Libby, P. (2018) Libby Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine.
- [2] Shalnova1, S. A., Deev, A. D., Artamonov, G. V., Duplyakov, D. V., Efanov, A. Y., Zhernakova, Y. V., et al. (2014) Giperurikemiya i eyo korelyaty v rossijskoj populyacii (rezul'taty e'pidemiologicheskogo issledovaniya E'SSE-RF) [Hyperuricemia and its correlates in the Russian population (results of ESSE-RF epidemiological study)]. *Racional'naya Farmakoterapiya v Kardiologii*, 10(2), 153–159. [in Russian]. <https://doi.org/10.20996/1819-6446-2014-10-2-153-159>
- [3] Smilianov, V., Witczak, I., Smilianova, O., & Rudenko, L. (2017) Monitoring of awareness level in dispensary patients with arterial hypertension. *Wiadomosci Lekarskie*, 70(2 pt 2), 299–302.
- [4] Gyawali, P., Richards, R. S., Hughes, D. L., & Tinley, P. (2014) Erythrocyte aggregation and metabolic syndrome. *Clin Hemorheol Microcirc.*, 57(1), 73–83. doi: 10.3233/CH-131792
- [5] Luo, M., Li, Z. Z., Li, Y. Y., Chen, L.-Z., Yan, Sh.-P., Chen, P., & Hu, Y.-Y. (2014) Relationship between red cell distribution width and serum uric acid in patients with untreated essential hypertension. *Sci Rep.*, 4, 7291. doi: 10.1038/srep07291
- [6] Zhang, C., Meng, Z., Li, X., Liu, M., Ren, X., Zhu, M., et al. (2018) No associations exists between red blood cell distribution width and serum uric acid in both sexes. *Medicine (Baltimore)*, 97(40), e12707. doi: 10.1097/MD.00000000000012707
- [7] Krishnan, E. (2012) Gout and the risk for incident heart failure and systolic dysfunction. *BMJ Open*, 2(1), e000282. doi: 10.1136/bmjopen-2011-000282
- [8] Anandbir Singh Bath, & Vishal Gupta (2019) Cardio-light: nitric oxide uncaged. *Lasers in Medical Science*, 34(2), 405–409.
- [9] Pasternak, K., Nowacka, O., Wróbel, D., Email, P., Bryszewska, M., & Kujawa J. (2014) Influence of MLS laser radiation on erythrocyte membrane fluidity and secondary structure of human serum albumin. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 388(1–2), 261–267.
- [10] Nakaz MOZ Ukrainy «Pro zatverdzhennia ta vprovadzhennia medyko-tehnolohichnykh dokumentiv zi standartyzatsii medychnoi dopomohy pry arterialnii hipertenzii» vid 24.05.2012 r. №384 [Order of the Ministry of Health of Ukraine «On Approval and Implementation of Medical-Technological Documents for the Standardization of Medical Assistance in Arterial Hypertension» from May 24, 2012, №384] [in Ukrainian].

- [11] Tham, E. B., & Silverman, N. H. (2004) Measurement of the Tei index: a comparison of M-mode and pulse Doppler methods. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 17(12), 1259–1265. doi: 10.1016/j.echo.2004.07.009
- [12] Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Agabiti Rosei, E., Azizi, M., Burnier, M., et al. (2018) 2018 ESH / ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. *European Heart Journal*, 39(33), 3021–3104. doi: 10.1093/eurheartj/ehy339
- [13] Hoffman, R., Benz, E. J., Silberstein, L. E., Heslop, H. E., Weitz, J. I., Anastasi, J., & Abutalib, S. A. (2018). *Hematology (Seventh Edition)*, P. 2374 Retrieved from <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-35762-3.00165-7>
- [14] Bajbekov, I. M., Mavlyan-Khodzhaev, R.Sh., E'rstekis, A. G., & Moskvina, S. V. (2008) *E'ritrocity v norme, patologii i pri lazernykh vozdeystviyakh [Erythrocytes in normal, pathological and laser conditions]*. Tver': Triada. [in Russian].
- [15] Sloop, G. D., Bialczak, J. K., Weidman, J. J., & St Cyr, J. A. (2016) Uric acid increases erythrocyte aggregation: Implications for cardiovascular disease. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 63(4), 349–359. doi: 10.3233/CH-152023
- [16] Reinhart, W. H., Singh-Marchetti, M., & Straub, P. W. (1992) The influence of erythrocyte shape on suspension viscosities. *Eur J Clin Invest.*, 22(1), 38–44. doi: 10.1111/j.1365-2362.1992.tb01933.x
- [17] Piety, N. Z., Reinhart, W. H., Pourreau, P. H., Abidi, R., & Shevkoplyas, S. S. (2016) Shape matters: the effect of red blood cell shape on perfusion of an artificial microvascular network. *Transfusion*, 56(4), 844–851. doi: 10.1111 / trf.13449
- [18] Liu, D., Fernandez, B. O., Hamilton, A., Lang, N. N., Gallagher, J. M. C., Newby, D. E., et al. (2014) UVA irradiation of human skin vasodilates arterial vasculature and lowers blood pressure independently of nitric oxide synthase. *J Invest Dermatol*, 134(7), 1839–1846. doi: 10.1038/jid.2014.27
- [19] Koumaras, C., Tziomalos, K., Stavrinou, E., Katsiki, N., Athyros, V. G., Mikhailidis, D. P., & Karagiannis, A. (2014) Effects of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors and beta-blockers on markers of arterial stiffness. *Journal of the American Society of Hypertension*. 8(2), 74–82. doi: 10.1016/j.jash.2013.09.001
- [20] Tuncer, M., Guntekin, U., Gunes, Y., Gumrukcuoglu, H. A., & Eryonucu, B. (2008) Differential effects of nebivolol and atenolol on transmitral diastolic filling parameters in patients with essential hypertension. *Adv Therapy.*, 25(6), 619–26. doi: 10.1007/s12325-008-0065-3
- [21] Manchini, M. T., Serra, A. J., Feliciano Rdos, S., Santana, E. T., Antônio, E. L., de Tarso Camillo de Carvalho, P., et al. (2014) Amelioration of cardiac function and activation of anti-inflammatory vasoactive peptides expression in the rat myocardium by low level laser therapy. *PLoS One.*, 9(7), e101270. doi: 10.1371/journal.pone.0101270

Динаміка у процесі лікування концентрації тестостерону та пролактину, показників артеріального тиску й кардіоваскулярного ремоделювання в чоловіків із гіпертонічною хворобою та андрогенним дефіцитом

В. А. Візір^{*A,E,F}, О. В. Насоненко^{B,C,D}, А. С. Садовов^{C,D,E}

Запорізький державний медичний університет, Україна

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

Ключові слова:

тестостерон, пролактин, артеріальна гіпертензія, ірбесартан, ніфедипін.

Запорізький медичний журнал.

– 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 428–436

DOI:

10.14739/2310-1210.2019.4.173172

*E-mail:

vizir@zsmu.zp.ua

Незважаючи на наявність численних оновлених настанов із лікування гіпертонічної хвороби (ГХ), підходи до призначення антигіпертензивної терапії з огляду на її вплив на сексуальну функцію та рівень статевих гормонів у чоловіків залишаються невизначеними.

Мета роботи – вивчення впливу комбінованої антигіпертензивної терапії з додаванням фенібуту на концентрації тестостерону та пролактину, показників артеріального тиску й кардіоваскулярного ремоделювання в пацієнтів із гіпертонічною хворобою на тлі андрогенного дефіциту.

Матеріали та методи. До дослідження включили 113 чоловіків із встановленим діагнозом ГХ II ст., яким виконали загальноклінічне обстеження, оцінювання концентрації загального (ЗТ), вільного тестостерону (ВТ) і пролактину методом ІФА, добове моніторування АТ (ДМАТ), визначення показників центрального аортального тиску та жорсткості артерій, здійснили трансторакальну ехокардіографію. Всім хворим призначали комбіновану антигіпертензивну терапію ірбесартаном і ніфедипіном. Залежно від призначеного лікування пацієнти були рандомізовані до 4 груп: хворим 1А (чоловіки з ГХ зі зниженим ЗТ) і 2А (чоловіки з ГХ із нормальним ЗТ) груп додатково призначали фенібут, пацієнти 1Б (ГХ на тлі андрогенного дефіциту) і 2Б (ГХ при нормальному ЗТ) груп приймали тільки антигіпертензивні препарати.

Результати. У результаті лікування рівні ЗТ і ВТ підвищились на тлі дискордантних змін концентрації пролактину: у групі 1А відзначене статистично значуще зростання рівнів ЗТ (на 29,72 %, $p = 0,0002$) і ВТ (на 28,08 %, $p = 0,0003$) при вірогідному зменшенні вмісту пролактину (на 10,68 %, $p = 0,008$). У усіх хворих спостерігалась вірогідна позитивна динаміка показників ДМАТ, центрального аортального тиску й кардіоваскулярного ремоделювання, при цьому в пацієнтів з андрогенним дефіцитом, що додатково приймали фенібут, ступені зниження середньодобових значень АТ, центральних САТ, ДАТ, ПАТ і серАТ та індексу аугментації, часу поширення відбитої хвилі, ампліфікації пульсового тиску, кардіо-кісточкового васкулярного індексу та відсоток поліпшення показників позадвожньої деформації та діастолічної функції виявились найбільшими.

Висновок. Призначення комбінованої антигіпертензивної терапії ірбесартаном і ніфедипіном із додаванням фенібуту в чоловіків з андрогенним дефіцитом сприяє досягненню цільових значень АТ, покращенню показників кардіоваскулярного ремоделювання.

Ключевые слова:

тестостерон, пролактин, артериальная гипертензия, ирбесартан, нифедипин.

Запорожский медицинский журнал.

– 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 428–436

Динамика в процессе лечения концентрации тестостерона и пролактина, показателей артериального давления и кардиоваскулярного ремоделирования у мужчин с гипертонической болезнью и андрогенным дефицитом

В. А. Визир, А. В. Насоненко, А. С. Садовов

Несмотря на наличие многочисленных обновленных руководств по лечению гипертонической болезни (ГБ), подходы к назначению антигипертензивной терапии с учетом ее влияния на сексуальную функцию и уровень половых гормонов у мужчин остаются не определенными.

Цель исследования – изучение влияния комбинированной антигипертензивной терапии с добавлением фенібута на концентрации тестостерона и пролактина, показатели артериального давления и кардиоваскулярного ремоделирования у пациентов с гипертонической болезнью на фоне андрогенного дефицита.

Материалы и методы. В исследование были включены 113 мужчин с установленным диагнозом ГБ II ст., им проводились общеклиническое обследование, оценка концентрации общего (ОТ), свободного тестостерона (СТ) и пролактина методом ИФА, суточное мониторирование АД (СМАД), определение показателей центрального аортального давления и жесткости артерий, трансторакальная эхокардиография. Всем больным назначали комбинированную антигипертензивную терапию ирбесартаном и нифедипином. В зависимости от назначенного лечения пациенты были рандомизированы в 4 группы: больным 1А (мужчины с ГБ со сниженным ОТ) и 2А (ГБ с нормальным ОТ) групп дополнительно назначали фенібут, пациенты 1Б (ГБ на фоне андрогенного дефицита) и 2Б (ГБ при нормальном ОТ) групп принимали только антигипертензивные препараты.

Результаты. В результате лечения уровни ОТ и СТ повысились на фоне дискордантных изменений концентрации пролактина: в группе 1А отмечен статистически значимый рост уровней ОТ (на 29,72%, $p=0,0002$) и СТ (на 28,08%, $p=0,0003$) при достоверном уменьшении содержания пролактина (на 10,68%, $p=0,008$). У всех больных наблюдалась достоверная

положительная динамика показателей СМАД, центрального аортального давления и кардиоваскулярного ремоделирования, при этом у пациентов с андрогенным дефицитом, дополнительно принимающих фенибут, степени снижения среднесуточных значений АД, центральных САД, ДАД, ПАД, СрАД и индекса аугментации, времени распространения отраженной волны, амплификации пульсового давления, кардио-лодыжечного васкулярного индекса, улучшения показателей продольной деформации и диастолической функции оказались наибольшими.

Вывод. Назначение комбинированной антигипертензивной терапии ирбесартаном и нифедипином с добавлением фенибута у мужчин с андрогенным дефицитом способствует достижению целевых значений АД и улучшению показателей кардиоваскулярного ремоделирования.

Dynamics of testosterone and prolactin levels, blood pressure and parameters of cardiovascular remodeling in hypertensive men with androgen deficiency in the course of treatment

V. A. Vizir, O. V. Nasonenko, A. S. Sodomov

Numerous previous and up-to-date guidelines for antihypertensive treatment do not highlight the problem of interrelations between sexual dysfunction and hypertension itself or with the use of frequently prescribed medications. Changes in testosterone and prolactin concentrations in men undergoing antihypertensive treatment are still not well described.

The aim of the study was to investigate the impact of combined antihypertensive treatment with the addition of phenibut on testosterone and prolactin concentrations, blood pressure and parameters of cardiovascular remodeling in hypertensive men with androgen deficiency.

Materials and methods. A total of 113 men with stage II essential hypertension were recruited to participate in the study. All patients were subjected to routine clinical examination, evaluation of total (TT), free testosterone (FT) and prolactin using ELISA, 24-hour blood pressure monitoring (24-hour BPM), assessment of central aortic pressure and arterial stiffness, transthoracic echocardiography. All study subjects were prescribed the combined antihypertensive treatment with irbesartan and nifedipine. Depending on treatment scheme, all patients were divided into four groups: group 1A consisted of men with low TT who received phenibut in addition to antihypertensive treatment, group 1B – patients with androgen deficiency on antihypertensive treatment only, group 2A – patients with normal TT with the addition of phenibut, group 2B – men with normal TT on antihypertensive medications only.

Results. As a result of prescribed treatment, TT and FT levels increased with discordant changes in the concentration of prolactin: a statistically significant increase in TT (29.72 %, $P = 0.0002$) and FT (28.08 %, $P = 0.0003$) with a significant decrease in prolactin concentrations (10.68 %, $P = 0.008$) were in the group 1A. All patients had positive 24-hour BPM dynamics, parameters of central aortic pressure and cardiovascular remodeling. Patients with androgen deficiency with the addition of phenibut had the highest reduction rates in 24-hour BPM values, central SBP, DBP, PBP, mean BP, augmentation index, RWTT, pulse pressure amplification, CAVIa and were characterized by significant improvement of longitudinal LV deformation and diastolic function.

Conclusions. The use of combined antihypertensive therapy with irbesartan and nifedipine with the addition of phenibut in men with androgen deficiency contributes to the achievement of target blood pressure levels and improvement of cardiovascular remodeling parameters.

Key words:
testosterone,
prolactin,
hypertension,
irbesartan,
nifedipine.

Zaporozhye
medical journal
2019; 21 (4), 428–436

Гіпертонічна хвороба (ГХ) залишається одним із найпоширеніших неінфекційних захворювань не тільки в Україні, а й у світі в цілому, причому її поширеність серед осіб чоловічої статі у країнах Центральної та Східної Європи залишається на рівні 33 % [1]. У сучасних настановах із лікування артеріальної гіпертензії (АГ) належним чином не висвітлюється гендерний аспект призначення антигіпертензивних препаратів, не розкривається проблема взаємозв'язку між порушенням сексуальної функції в чоловіків безпосередньо з перебігом ГХ, а також із застосуванням медикаментів для корекції підвищеного артеріального тиску (АТ) [2]. Загальновідомо, що концентрації ЗТ і ВТ знижуються з віком, але наявність соматичних захворювань, серед них важливе місце посідає ГХ, негативно впливає на процеси фізіологічного старіння та викликає доволі значуще зменшення вмісту андрогенів, що призводить до розвитку андрогенного дефіциту. Зміни рівнів ЗТ, ВТ і пролактину в чоловіків, які постійно приймають антигіпертензивні препарати, залишаються остаточно не вивченими.

Несприятливий ефект щодо сексуальної функції певних груп медикаментів для лікування ГХ (передусім тіазидних і тіазидоподібних діуретиків та β -блокаторів) в літературі описаний широко [3–5], з іншого боку, є також докази безпечного тривалого застосування інгібіторів

АПФ, блокаторів рецепторів ангіотензину II та блокаторів кальцієвих каналів щодо можливого розвитку еректильної дисфункції, зниження рівня тестостерону або підвищення концентрації пролактину [6–8]. Деякі клінічні й доклінічні дослідження показали позитивний вплив блокаторів АТ II та антагоністів кальцію на сексуальну функцію, але не в усіх роботах різниця між групою лікування та плацебо виявилась статистично значущою [5]. Враховуючи той факт, що в численних публікаціях описуються зміни вмісту статевих гормонів при еректильній дисфункції, яка розвинулась на тлі антигіпертензивного лікування вищезазначеними групами препаратів у лабораторних тварин, постає потреба у проведенні додаткових досліджень для вивчення сироваткових рівнів ЗТ, ВТ і пролактину в популяції чоловіків, які хворі на ГХ, під впливом терапії. З огляду на наявність неспецифічних загальних симптомів гіпогонадизму в чоловіків із поєднаним перебігом ГХ та андрогенного дефіциту й часто підвищеного рівня пролактину в таких хворих застосування ГАМК-пентиноїдів у цій групі пацієнтів видається перспективним.

Мета роботи

Вивчення впливу комбінованої антигіпертензивної терапії з додаванням фенібута на концентрації тестос-

стерону та пролактину, показників артеріального тиску й кардіоваскулярного ремоделювання в пацієнтів із гіпертонічною хворобою на тлі андрогенного дефіциту.

Матеріали і методи дослідження

До подвійного відкритого проспективного моноцентрового 12-тижневого дослідження з елементами рандомізації в паралельних групах включили 113 пацієнтів чоловічої статі віком 45–73 років із встановленим відповідно до Уніфікованого клінічного протоколу первинної, екстреної та вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги «Артеріальна гіпертензія» (наказ Міністерства охорони здоров'я від 24.05.2012 р. № 384) і рекомендаціями Європейського товариства гіпертензії [9] діагнозом ГХ II стадії. Дослідження проведене з дотриманням етичних принципів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини як об'єкта дослідження», конференції з гармонізації належної клінічної практики (ICH-GCP), дизайн погоджений з комісією з питань біоетики Запорізького державного медичного університету. На момент включення до дослідження протягом 2015–2017 рр. усі хворі перебували на стаціонарному лікуванні в умовах кардіологічного відділення КУ «Міська лікарня № 7» м. Запоріжжя.

Критерії включення: наявність письмової інформованої згоди на участь у дослідженні, чоловіча стать і вік – старші за 18 років. Як критерії виключення розглядалась наявність первинного гіпогонадизму, тяжких соматичних, онкологічних захворювань, патології периферичних артерій, порушення ритму та провідності серця, непереносність блокаторів ангіотензину II, антагоністів кальцію, фенібуту в анамнезі.

Усім пацієнтам здійснили загальноклінічне обстеження, оцінювання концентрації ЗТ, ВТ і пролактину імуноферментним методом з використанням набору реактивів «AccuBind ELISA» виробництва фірми Monobind Inc. (США) на базі навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медичного університету, добове моніторування АТ (ДМАТ), визначення по-

казників центрального аортального тиску та жорсткості артерій з застосуванням діагностичної системи BPLab Vasotens, трансторакальну ехокардіографію (ультразвуковий діагностичний прилад MyLab50, ESAOTE, Італія). Результати опрацьовувались статистично з використанням пакетів програм Statistica 6.0 (ліцензія № AXXR712D833214FAN5) і Microsoft Excel 2016. Відповідність характеру розподілу показників Гауссовому оцінювали візуально за допомогою побудови гістограми та шляхом використання критеріїв нормальності розподілу (критерій Колмогорова-Смирнова з поправкою Ліллієфорса, критерій Шапіро–Уїлка), нормальним вважався розподіл при значущості вказаних критеріїв $p > 0,05$. У випадку нормального розподілу показники представлені у вигляді середнього арифметичного та середньоквадратичного відхилення, у разі відхилення розподілу від нормального – у вигляді медіани та нижнього та верхнього квартиля. Порівнюючи змінні більше ніж у двох незалежних групах для зіставлення їхніх медіан, застосовували тест Крускала–Уолліса. Значущість різниці між парними групами оцінювали за допомогою тесту знакових рангів Вілкоксона.

Серед пацієнтів, яких залучили до дослідження, 59 чоловіків мали рівень ЗТ нижчий за референтні значення, передбачені специфікацією лабораторного набору (<2,5 нг/мл) і зниження концентрації ЗТ у них розглядалось як наявність андрогенного дефіциту, причому 54 особи мали нормальний сироватковий рівень ЗТ. Усім хворим призначали комбіновану антигіпертензивну терапію блокатором АТ II ірбесартаном у добовій дозі 300 мг і блокатором кальцієвих каналів ніфедипіном у дозі 40 мг/добу. Залежно від призначеної схеми лікування всі пацієнти були рандомізовані до однієї з чотирьох груп: до групи 1А включили хворих з андрогенним дефіцитом, які отримували фенібут (250 мг двічі на день) додатково до антигіпертензивної терапії, до групи 1Б увійшли чоловіки з андрогенним дефіцитом, яким призначали тільки антигіпертензивні препарати, до групи 2А – пацієнти з нормальним рівнем ЗТ, які додатково приймали фенібут, до групи 2Б – хворі, яким фенібут додатково до антигіпертензивного лікування не призначали (Рис. 1).

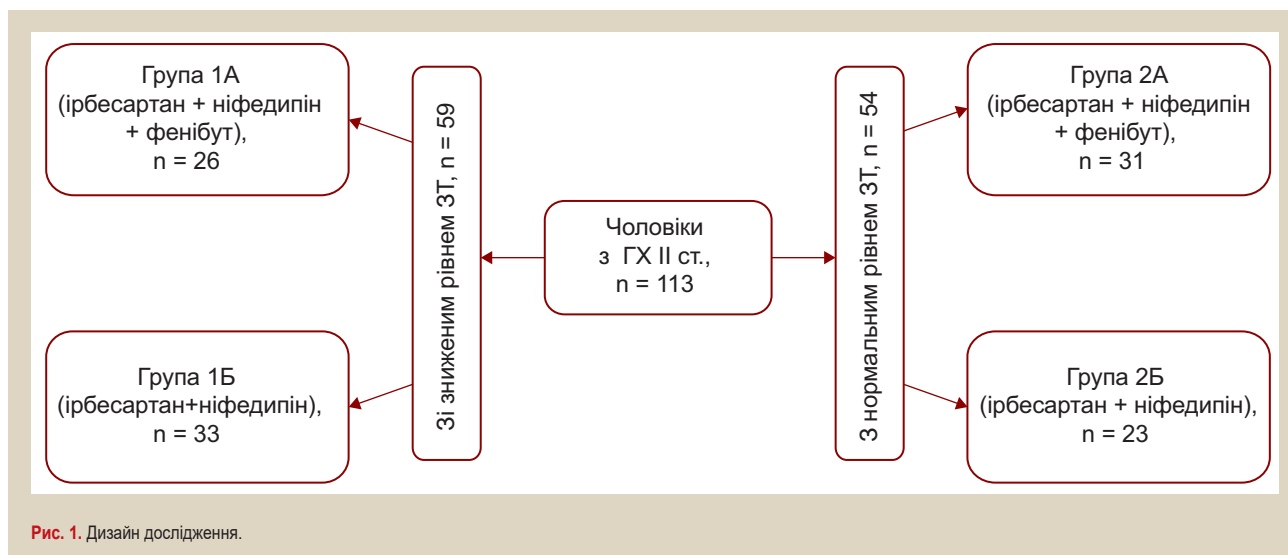


Рис. 1. Дизайн дослідження.

Усі групи виявились зіставними за віком, ІМТ, результатами офісного вимірювання АТ, тривалістю АГ і ЧСС. Серед хворих усіх чотирьох груп переважали пацієнти з другим ступенем АГ, при цьому частка чоловіків з АГ 3 ступеня була найвищою у групі 1А.

Результати

Лікування переносили добре всі хворі, побічні ефекти мали два пацієнти: один пацієнт із групи 1А мав скарги на прискорене серцебиття, ще один хворий із групи 2Б відзначав наявність набряків гомілок. Такі реакції не були постійними, не призвели до припинення участі хворих у дослідженні.

На *рисунку 2* представлена динаміка досліджуваних гормонів у процесі лікування. Вірогідним виявився тренд стосовно вмісту пролактину та обох форм тестостерону тільки у групі 1А: під впливом терапії відзначене статистично значуще зростання рівнів ЗТ (на 29,72 %, $p = 0,0002$) та ВТ (на 28,08 %, $p = 0,0003$) на тлі значущого зменшення концентрації пролактину (на 10,68 %, $p = 0,008$). У хворих 2А групи, які також отримували фенібут, вміст ЗТ після лікування зріс на 24,70 %, $p = 0,530$, підвищення рівня ВТ (на 4,20 %, $p = 0,43$) також не було статистично значущим. Досягла вірогідності в пацієнтів групи 2А динаміка рівня пролактину: вміст цього гормону в них знизився на 39,60 %, $p = 0,007$. У хворих, яким не додавали фенібут до антигіпертензивних препаратів, концентрація пролактину, навпаки, зросла (на 10,26 %, $p = 0,003$ і 21,37 %, $p = 0,007$ у групах 1Б і 2Б відповідно), а динаміка рівнів ЗТ і ВТ не набула статистичної вірогідності.

Під впливом лікування відзначене досягнення цільових офісних значень АТ 76,92 % пацієнтами групи 1А, 69,70 % – 1Б, 70,97 % – 2А та 69,57 % – 2Б, динаміка систолічного (САТ) і діастолічного АТ (ДАТ) в усіх групах лікування була статистично значущою (*рис. 3*). Показники офісного САТ у групі 1А знизились на 16,77 % ($p = 0,005$), 1Б – на 10,76 % ($p = 0,007$), 2А – на 13,38 % ($p = 0,035$), 2Б – на 12,74 % ($p = 0,006$), офісного ДАТ – на 5,38 % ($p = 0,012$), 5,21 % ($p = 0,020$), 7,29 % ($p = 0,011$) і 6,25 % ($p = 0,008$) відповідно.

За результатами порівняння показників ДМАТ на момент включення в дослідження та на дванадцятому тижні спостереження встановлена наявність позитивних змін більшості з них. Порівняння параметрів ДМАТ до та після лікування дало змогу визначити позитивну динаміку більшості з них (*табл. 1*). Так, значення САТ в активний і пасивний період на тлі терапії знизилось в усіх групах хворих: в 1А групі рівень середнього систолічного АТ в активний період (серСАТ) зменшився на 14,2 % ($p = 0,012$), 1Б – на 11,6 % ($p = 0,017$), 2А – на 14,5 % ($p = 0,007$), 2Б – на 14,8 % ($p = 0,006$); відсоток зниження середнього систолічного АТ у пасивний період (серСАТп) становив 7,8 % ($p = 0,004$), 14,1 % ($p = 0,002$), 9,7 % ($p = 0,010$) та 13,5 % ($p = 0,011$) для груп відповідно. Зниження середнього діастолічного АТ в активний період (серДАТ) було дещо меншим, але так само статистично вірогідним в усіх групах: у 1А групі – на 9,29 % ($p = 0,022$), 1Б – на 13,01 % ($p = 0,024$), 2А – на 6,83 % ($p = 0,033$), 1Б групі – на 4,47 % ($p = 0,028$). Зміни середнього діастолічного АТ

у пасивний період (серДАТп) були вірогідними тільки у хворих, яким призначали фенібут: у 1А групі – на 5,33 % ($p = 0,037$), 2А – на 7,59 % ($p = 0,030$), в той час як в 1Б – на 3,75 % ($p = 0,068$), 2Б – на 1,95 % ($p = 0,089$). Динаміка пульсового АТ за добу (ПАТ24) була найсуттєвішою у групі 1А (27,48 %, $p = 0,007$), тоді як у групі 1Б відсоток зниження ПАТ24 становив 25,86 % ($p = 0,018$), 2А – 6,38 % ($p = 0,029$), 2Б – 15,46 % ($p = 0,020$). Показники варіабельності САТ і ДАТ в активний і пасивний періоди також зазнали впливу лікування: у групі 1А значення варіабельності САТ удень (варСАТ) знизилось на 42,11 % ($p = 0,023$), 1Б – на 23,53 % ($p = 0,031$), 2А – на 15,38 % ($p = 0,035$), 2Б – на 20,00 % ($p = 0,021$). Зменшення варіабельності САТ у пасивний період (варСАТп) становило 18,52 % ($p = 0,033$), 25,00 % ($p = 0,016$), 12,00 % ($p = 0,031$) та 33,33 % ($p = 0,012$) у групах лікування відповідно. Варіабельність ДАТ удень і вночі у процесі лікування знизилась у межах 20 % по всіх групах спостереження, а максимальний відсоток зменшення вказаного показника спостерігали в підгрупі 1А (23,1 %, $p = 0,004$ та 27,7 %, $p = 0,003$ для варіабельності ДАТ в активний (варДАТ) та пасивний період (варДАТп) відповідно).

Динаміка була статистично значущою і щодо показників індексу часу гіпертензії (ІЧ): значення ІЧ САТ в активний період (ІЧ САТ) знизилось в 1А групі на 73,39 % ($p = 0,002$), 1Б – на 69,12 % ($p = 0,033$), 2А – на 61,54 % ($p = 0,029$), 2Б – на 57,14 % ($p = 0,034$), ІЧ ДАТ в активний період (ІЧ ДАТ) – на 47,37 % ($p = 0,037$), 73,54 % ($p = 0,022$), 75,22 % ($p = 0,027$) і 51,85 % ($p = 0,041$) відповідно. Аналогічні зміни спостерігались і для показників у пасивний період: ІЧ САТ вночі (ІЧ САТп) в 1А групі зменшився на 62,07 % ($p = 0,007$), 1Б – на 64,71 % ($p = 0,009$), 2А – на 42,86 % ($p = 0,011$), 2Б – на 32,14 % ($p = 0,023$), ІЧ ДАТ в пасивний період (ІЧ ДАТп) – на 78,64 % ($p = 0,003$), 78,79 % ($p = 0,003$), 79,10 % ($p = 0,002$) і 76,47 % ($p = 0,010$) відповідно.

Показники нічного зниження САТ і ДАТ в обстежених хворих також змінились під впливом лікування, динаміка виявилась статистично значущою у групах пацієнтів, які приймали фенібут. На тлі лікування кількість «діпперів» серед чоловіків із андрогенним дефіцитом 1А групи зросла до 68,2 % порівняно з 34,6 % до лікування, а профілі «найт-пікер» після лікування в цій підгрупі реєстрували в 7,7 % хворих після лікування (проти 23,1 % до лікування). У групі 1Б частка «діпперів» збільшилась на 32,3 %, а «найт-пікерів» зменшилась удвічі. Відносна кількість «нон-діпперів» серед пацієнтів із нормальним рівнем ЗТ на тлі лікування також знизилась (з 38,6 % до 26,9 % у 2А підгрупі та з 34,5 % до 32,1 % – у 2Б), кількість «найт-пікерів» зменшилась удвічі.

Аналізуючи показники центрального аортального тиску, виявили виражене зменшення на тлі лікування пульсового АТ в аорті (ПАТ_{ао}) (на 21,00 %, $p = 0,003$ у групі 1А, 18,20 %, $p = 0,006$ – 1Б, -19,40 %, $p = 0,004$ – 2А та 16,70 %, $p = 0,007$ – 2Б), САТ в аорті (САТ_{ао}) (у 1А групі на 9,79 %, $p = 0,011$, 1Б – 9,09 %, $p = 0,012$, 2А – 10,80 %, $p = 0,008$, 2Б – 9,35 %, $p = 0,017$), ДАТ (ДАТ_{ао}) (на 5,10 %, $p = 0,031$, 4,08 %, $p = 0,038$, 4,39 %, $p = 0,041$ і 3,29 %, $p = 0,042$ відповідно) та середнього АТ в аорті (серАТ_{ао}) (на 6,92 %, $p = 0,022$, 6,15 %, $p = 0,023$, 3,96 %, $p = 0,027$ і 2,97 %, $p = 0,041$ відповідно).

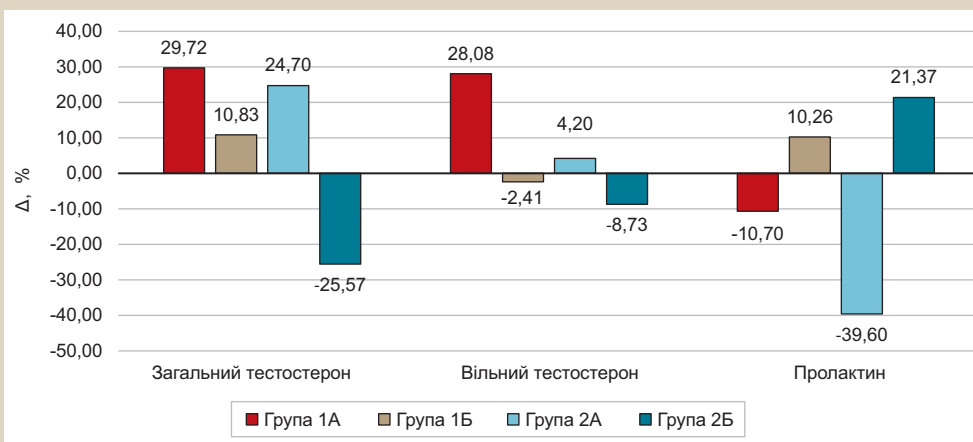


Рис. 2. Динаміка рівнів досліджуваних гормонів у пацієнтів із ГХ під впливом лікування.

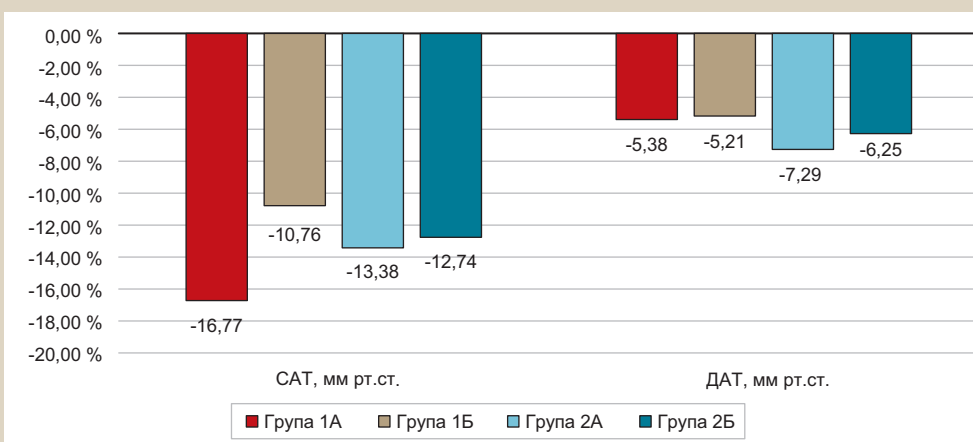


Рис. 3. Динаміка офісного артеріального тиску під впливом лікування.

Таблиця 1. Динаміка параметрів ДМАТ під впливом лікування

Показники, одиниці вимірювання	1А група (n = 26)		1Б група (n = 33)		2А група (n = 31)		2Б група (n = 23)	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
серСАТа, мм рт.ст.	156,25 ± 18,72	134,06 ± 11,43*	154,22 ± 21,38	136,31 ± 12,82*	149,70 ± 15,35	128,03 ± 11,74*	148,70 ± 17,82	126,68 ± 15,63*
серДАТа, мм рт.ст.	86,33 ± 13,34	78,31 ± 9,21*	92,11 ± 13,58	80,13 ± 8,52*	90,30 ± 12,73	84,13 ± 7,27*	87,41 ± 7,48	83,50 ± 7,73*
серСАТп, мм рт.ст.	143 [116; 155,5]	118 [107; 136]*	135 [118; 138]	116 [103; 135]*	124 [115; 141]	112 [109; 136]*	126 [108; 135]	109 [106; 131]*
серДАТп, мм рт.ст.	75 [65,5; 86,5]	71 [61; 81]*	80 [73; 87]	77 [70; 85]	79 [71; 95]	73 [72; 80]*	77 [71; 79]	75,5 [70; 79]
серПАТ24, мм рт.ст.	65,5 [43; 77]	47,5 [41; 61]*	58 [44; 63]	43 [39; 54]*	47 [46; 51]	44 [39; 50]*	48,5 [39; 51]	41 [36; 49]*
варСАТа, мм рт.ст.	19 [15; 20]	11 [7; 12]*	17 [15; 19]	13 [11; 17]*	13 [11; 18]	11 [8; 15]*	12,5 [11; 14]	10 [9; 13]*
варСАТп, мм рт.ст.	13,5 [10,5; 16]	11 [8; 13]*	12 [10; 15]	9 [10; 11]*	12,5 [12; 14]	11 [8; 13]*	12 [8; 13]	8 [6; 10]*
варДАТп, мм рт.ст.	11,50 ± 2,84	8,32 ± 2,21*	10,67 ± 2,74	8,78 ± 2,14*	11,10 ± 3,57	9,21 ± 3,36*	8,9 ± 3,25	8,12 ± 2,54*
ІЧ САТа, %	54,5 [28; 78]	14,5 [12; 28]*	68 [55; 76]	21 [18; 35]*	52 [36; 95]	20 [16; 34]*	49 [34; 56]	21 [15; 36]*
ІЧ ДАТа, %	28,5 [9; 71]	15 [5; 27]*	68 [7; 90]	18 [9; 38]*	56,5 [37; 95]	14 [7; 31]*	27 [19; 52]	13 [10; 23]*
ІЧСАТп, %	58 [10; 100]	22 [10; 36]*	68 [31; 91]	24 [13; 37]*	31,5 [24; 89]	18 [13; 27]*	28 [13; 74]	19 [12; 29]*
ІЧДАТп, %	51,5 [7,5; 89]	11 [7; 31]*	66 [38; 91]	14 [9; 24]*	67 [37; 95]	14 [11; 31]*	51 [24; 64]	12 [10; 28]*
Нічне зниження САТ, %	4,58 ± 12,15	10,75 ± 4,52*	12,11 ± 6,23	13,13 ± 4,54	8,30 ± 7,99	10,50 ± 3,45*	9,70 ± 5,40	11,12 ± 4,38*
Нічне зниження ДАТ, %	7,50 ± 11,03	9,50 ± 3,42*	12,44 ± 7,00	12,15 ± 5,34	9,60 ± 6,22	12,34 ± 4,34*	11,30 ± 7,20	11,46 ± 5,25

*: статистично значуща різниця між показниками до та після лікування (p < 0,05).

Дослідження показників жорсткості артерій у процесі лікування дало змогу виявити статистично значущу динаміку щодо швидкості поширення пульсової хвилі аортою (аоШПХ), стандартизованого індексу аугментації (АІХ75), ампліфікації пульсового тиску (РРА), часу поширення відбитої хвилі (RWTT), функції (dP/dt) і кардіо-кісточкового васкулярного індексу (CAVІa) в усіх групах (табл. 2). Показник аоШПХ став нижчим у групі 1А на 8,08 % (p = 0,022), 1Б – на 5,15 % (p = 0,038), 2А – на

10,23 % (p = 0,014), 2Б – на 10,11 % (p = 0,018), АІХ75 – на 25,00 % (p = 0,028), 1Б – на 20,69 % (p = 0,031), 2А – на 7,32 % (p = 0,040), 2Б – на 2,5 % (p = 0,047), при цьому статистично значущим зниження індексу аугментації в аорті було тільки у групах 1А (на 14,29 %, p = 0,036) і 1Б (12,28 %, p = 0,043). Значення РРА під впливом терапії зменшилось на 4,41 % (p = 0,038), 1Б – на 2,90 % (p = 0,042), 2А – на 2,31 % (p = 0,045), 2Б – на 2,24 % (p = 0,038), RWTT – у 1А групі на 6,35 %

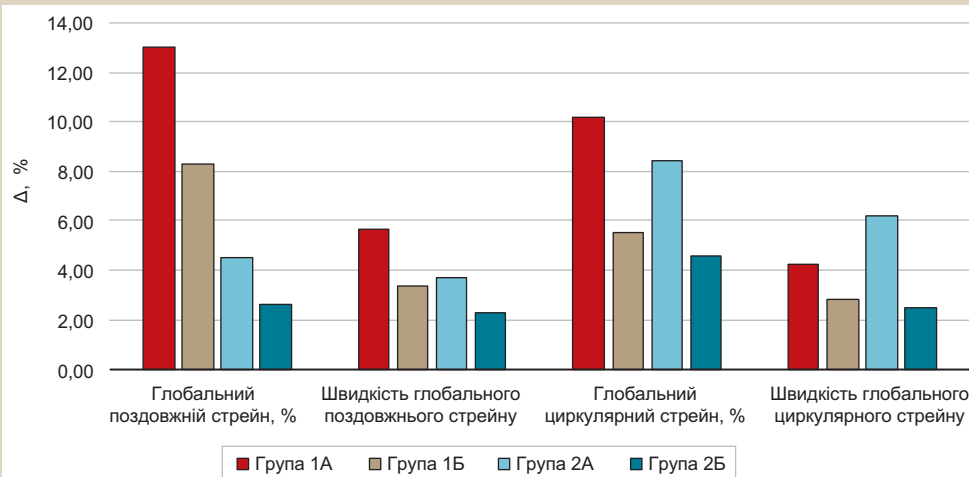


Рис. 4. Динаміка показників деформації міокарда ЛШ під впливом 12-тижневого антигіпертензивного лікування.

($p = 0,033$), 1Б – на 6,25 % ($p = 0,045$), 2А – на 2,86 % ($p = 0,041$), 2Б – на 1,40 % ($p = 0,048$). Функція (dP/dt) вірогідно знизилась на 2,42 % ($p = 0,031$), 4,30 % ($p = 0,028$), 1,20 % ($p = 0,043$), 1,37 % ($p = 0,044$) у групах лікування відповідно. Кардіо-кістчковий васкулярний індекс під впливом лікування також зазнав вірогідної динаміки, знизився на 9,16 % ($p = 0,022$), 8,67 % ($p = 0,027$), 1,60 % ($p = 0,041$) і 1,15 % ($p = 0,043$) відповідно.

Оцінюючи параметри кардіального ремоделювання, встановили відсутність статистично значущої динаміки розмірів камер серця та фракції викиду лівого шлуночка (ФВ ЛШ) на тлі лікування в усіх групах хворих. Вірогідними відмінності від вихідних значень були для товщини міжшлуночкової перетинки (ТМШП), задньої стінки лівого шлуночка (ТЗСЛШ) та індексу маси міокарда ЛШ (ІММЛШ) у пацієнтів з андрогенним дефіцитом, яким додатково до антигіпертензивних препаратів приймали фенібут, перераховані показники зменшились у цих хворих на 1,17 % ($p = 0,024$), 1,16 % ($p = 0,041$) та 2,23 % ($p = 0,017$) відповідно. У пацієнтів групи 2А значущою була тільки динаміка ТМШП (зменшилась на 0,85 %, $p = 0,047$), а у групах 1Б і 2Б зміни вказаних параметрів були незначущими. В результаті лікування спостерігали вірогідне покращення поздовжньої деформації міокарда ЛШ (рис. 4). Значення глобального поздовжнього стрейну на тлі терапії зросло в 1А групі на 13,08 % ($p = 0,015$), в 1Б групі на 8,31 % ($p = 0,021$), в 2А групі на 4,54 % ($p = 0,018$) та на 2,63 % ($p = 0,022$) – в 2Б, показник його швидкості також збільшився в 1А групі на 5,68 % ($p = 0,028$), 1Б – на 3,41 % ($p = 0,033$), 2А – на 3,73 % ($p = 0,031$), 2Б – на 2,30 % ($p = 0,039$). Зміни глобального циркулярного стрейну були менше вираженими, але також досягли вірогідності, збільшившись у 1А групі на 10,19 % ($p = 0,054$), 1Б – на 5,55 % ($p = 0,068$), 2А – на 8,49 % ($p = 0,059$), 2Б – на 4,63 % ($p = 0,066$). Швидкість глобального циркулярного стрейну та показник радіального стрейну після 12 тижнів лікування суттєво не змінились у жодній із груп.

У результаті лікування спостерігали покращення показників діастолічної функції ЛШ у хворих з андрогенним дефіцитом, що приймали фенібут, виявили зростання септальної швидкості (E' септ) на 14,29 %,

Таблиця 2. Динаміка показників жорсткості артерій під впливом лікування

Показники, одиниці вимірювання	До лікування		Після лікування	
	1А група (n = 26)	1Б група (n = 33)	2А група (n=31)	2Б група (n=23)
аоШПХ, м/с	9,9 [8,3; 11,7]	9,1 [8,0; 10,9]*	9,7 [8,6; 11,9]	9,2 [8,3; 11,0]*
AIХао, %	28 [17; 44]	24 [14; 38]*	28,5 [19; 47]	25 [16; 39]*
AIХ75, %	-21 [-43; -15]	-28 [-46; -19]*	-23 [-41; -13]	-29 [-44; -16]*
AIX, %	-33 [-35,5; -18]	-35 [-36; -21]	-30 [-33; -17]	-32 [-34; -19]
PPA, %	136 [130; 144]	130 [129; 140]*	138 [132; 140]	134 [128; 137]*
ED, мс	300 [289; 324]	308 [296; 334]	304 [293; 327]	307 [299; 332]
ASI, мм рт.ст.	112 [100; 136]	114 [102; 139]	109 [103; 132]	111 [106; 136]
RWTT, мс	126 [117; 159]	118 [110; 141] *	128 [119; 156]	120 [111; 142] *
dPdt, мм рт.ст./с	619 [504; 1141]	604 [498; 842]*	628 [506; 1138]	601 [489; 891]*
SEVR, %	136 [124; 169]	131 [120; 162]	138 [127; 167]	129 [121; 159]
IE, мс/см	0,67 [0,59; 0,91]	0,71 [0,62; 0,98]	0,69 [0,57; 0,90]	0,72 [0,57; 0,96]
Ssys, %	57 [51; 58]	59 [51; 62]	58 [53; 59]	59 [52; 61]
Sdia, %	40 [36; 49]	42 [35; 51]	41 [34; 48]	44 [34; 50]
CAVla, од.	11,24 [7,10; 13,29]	10,21 [7,77; 11,92]*	11,30 [7,07; 13,41]	10,32 [7,01; 11,91]*

*: статистично значуща різниця між показниками до та після лікування ($p < 0,05$).

$p = 0,004$, середньої (E' сер) – на 12,50 %, $p = 0,013$, та, відповідно, зниження співвідношення E/E' (на 6,10 %, $p = 0,032$). Вірогідне підвищення E' сер спостерігали й в інших групах лікування (1Б – на 12,5 %, $p = 0,014$, 2А – на 9,09 %, $p = 0,022$, 2Б – на 8,33 %, $p = 0,039$). Значення індексу E/E' на тлі лікування знизилось у 1Б групі на 5,29 %, $p = 0,033$, 2А групі – на 5,84 %, $p = 0,030$, 2Б групі на 1,87 %, $p = 0,045$ (табл. 3).

Таблиця 3. Динаміка показників діастолічної функції під впливом лікування

Показники, одиниці вимірювання	До лікування		Після лікування	
	1А група (n = 26)	1Б група (n = 33)	2А група (n=31)	2Б група (n=23)
E, м/с	0,70 [0,49; 0,77]	0,74 [0,51; 0,79]	0,68 [0,49; 0,77]	0,69 [0,50; 0,77]
A, м/с	0,79 [0,60; 0,88]	0,81 [0,64; 0,89]	0,78 [0,60; 0,88]	0,79 [0,62; 0,89]
E/A	0,94 [0,64; 1,11]	0,96 [0,66; 1,13]	0,94 [0,64; 1,11]	0,95 [0,64; 1,14]
E` септ, м/с	0,06 [0,05; 0,07]	0,07 [0,06; 0,08]*	0,06 [0,05; 0,07]	0,07 [0,06; 0,07]
E` лат, м/с	0,08 [0,05; 0,10]	0,08 [0,06; 0,10]	0,08 [0,05; 0,10]	0,08 [0,06; 0,11]
E` сер, м/с	0,07 [0,05; 0,08]	0,08 [0,06; 0,10]*	0,07 [0,05; 0,08]	0,08 [0,06; 0,09]*
E/E'	9,83 [6,12; 13,28]	9,23[6,09;11,12]*	9,83 [6,12; 13,28]	9,31[6,10;12,04]*
DecT, мс	219 [194; 227]	218 [191; 225]	222 [194; 227]	219 [190; 226]
IVRT, мс	111 [98; 112]	109 [97; 111]	111 [98; 113]	111 [98; 113]

*: статистично значуща різниця між показниками до та після лікування (p < 0,05).

Обговорення

Подібний до нашого дослідження дизайн описаний у роботі R. Ma et al. Як досліджувані препарати використали ірбесартан і фелодипін, але популяцією обстеження були жінки з ГХ. За даними R. Ma et al., застосування вищевідзначеної комбінації призвело до поліпшення сексуальної функції в пацієнток шляхом позитивного впливу терапії на оксидативний стрес і рівень гормонів, серед них відзначене зниження рівня тестостерону. У нашому дослідженні, що проведене у вибірці чоловіків із ГХ та андрогенним дефіцитом, спостерігалось вірогідне підвищення концентрації ЗТ і ВТ і зменшення рівня пролактину у хворих, які додатково до ірбесартану та ніфедипіну приймали фенібут, а за умови приймання тільки антигіпертензивних препаратів зміни андрогенів були невірогідними [10].

Антигіпертензивна ефективність комбінації ірбесартану з блокаторами кальцієвих каналів (подібна до результатів нашої роботи) отримана в дослідженнях I-ADD, I-COMBINE і Ж. Д. Кобалава, але як БКК вивчали амлодипін, а рівень андрогенів при призначенні лікування не враховували [11–13]. Зниження амбулаторного САТ за результатами I-ADD відрізнялось між групами на 8,8 ± 1,1 мм рт. ст. на користь комбінації ірбесартану 300 мг та амлодипіну 5 мг, частота досягнення контролю АТ при цьому становила 54,1 %. Аналогічний дизайн дослідження I-COMBINE дав можливість досягти контролю АТ у більшій частки пацієнтів (67,4 %). За даними Ж. Д. Кобалава, понад 40 % пацієнтів досягали цільових рівнів АТ при мінімальному дозуванні фіксованої комбінації амлодипіну 5 мг та ірбесартану 150 мг і понад 90 % при застосуванні максимально передбаченої дози (амлодипін 10 мг/ірбесартан 300 мг). У нашому дослідженні частота досягнення цільових значень АТ в усіх групах хворих становила майже 70 % і була найбільшою у групі чоловіків з андрогенним дефіцитом, які додатково

приймали фенібут, що вказує на участь гормональних зсувів у регуляції АТ і свідчить на користь необхідності врахування рівнів ЗТ, ВТ, пролактину під час вибору схеми терапії.

У більшості досліджень, де вивчали вплив антигіпертензивних препаратів на параметри центральної гемодинаміки та жорсткість артерій, ці показники оцінювались після лікування протягом пів року або більше. Період спостереження в нашому дослідженні був коротшим за шість місяців, подібно до дизайну дослідження Т. Ishimitsu et al. [14], що також вивчали зміни пружно-еластичних властивостей артерій під впливом комбінованого лікування блокатором ангіотензину II і блокатором кальцієвих каналів або діуретиком у хворих із хронічною хворобою нирок, рівень андрогенів не враховувався. У вказаному дослідженні статистично значущих змін жорсткості артерій не спостерігалось, на відміну від наших спостережень, що можна пояснити відсутністю ниркової патології та врахуванням рівня пролактину та тестостерону при виборі терапії в нашій вибірці. У віддаленому прогнозі комбінація БРА II і БКК має сприятливий вплив на жорсткість артерій також унаслідок досягнення контролю АГ [15], що є ще одним імовірним механізмом вірогідного покращення параметрів васкулярного ремоделювання в пацієнтів, яких залучили до цього дослідження.

Докази позитивного впливу ірбесартану щодо маси міокарда ЛШ у пацієнтів з АГ описані у двох порівняльних дослідженнях С. Gaudio et al. [16] і К. Malmqvist et al. (за даними випробування SILVHIA) [17], у першому з них показана індукція значущішого регресу індексу маси міокарда ЛШ ірбесартаном 150–300 мг 1 раз на добу порівняно з амлодипіном 5–10 мг 1 раз на добу на тлі зіставного контролю АТ упродовж 6 місяців, у другому – аналогічне поліпшення діастолічної функції, шлуночкової геометрії та контролю АТ під впливом ірбесартану на протигагу тільки досягненню контролю АТ при прийманні атенололу. У цьому дослідженні описані сприятливі ефекти ірбесартану щодо товщини комплексу інтими-медіа [18]. Про зменшення показників поздовжньої деформації міокарда ЛШ у чоловіків з АГ, зіставне з нашими даними, повідомлялось у роботі М. Ю. Колесника, андрогенний статус при цьому не враховувався [19]. Позитивний ефект щодо структурно-функціональних характеристик серця на тлі призначення комбінованого антигіпертензивного лікування блокатора рецептора ангіотензину II та діуретика або блокатора рецептора ангіотензину II та блокатора кальцієвих каналів спостерігали N. Toh et al., що повідомили про статистично значуще поліпшення релаксації ЛШ (підвищення E' та зниження E/E') у процесі лікування, що співвідносилось з нашими результатами [20]. Позитивний вплив ірбесартану на параметри діастолічної функції спостерігали і R. Müller-Brunotte et al. [21]. У нашому дослідженні застосування β-блокаторів і діуретиків не планувалось, враховуючи можливий несприятливий їхній вплив на сексуальну функцію та рівень андрогенів, а ефекти призначення ірбесартану та ніфедипіну у вигляді зменшення товщини стінок і маси міокарда ЛШ, редукції проявів діастолічної дисфункції були зіставними з результатами, які отримали відзначені вище дослідники.

Висновки

1. Призначення комбінованої антигіпертензивної терапії ірбесартаном і ніфедипіном з додаванням фенібуту в чоловіків з андрогенним дефіцитом сприяє досягненню цільових значень АТ як за результатами офісного вимірювання, так і при добовому моніторингу артеріального тиску, вірогідному зниженню варіабельності АТ в активний і пасивний періоди та статистично значущому зниженню індексу часу гіпертензії протягом доби.

2. На тлі лікування у групі чоловіків із ГХ на тлі гіпоандрогенії спостерігається вираженіше поліпшення всіх показників центрального аортального тиску та жорсткості артерій, як-от швидкості поширення пульсової хвилі, стандартизованого індексу аугментації, ампліфікації пульсового тиску, часу показу відбитої хвилі та кардіо-кісткового васкулярного індексу.

3. Використання схеми комбінованого антигіпертензивного лікування з додаванням фенібуту в пацієнтів із недостатністю тестостерону позитивно позначається на параметрах структурно-функціональної перебудови серця шляхом вірогідного зменшення товщини стінок та індексу маси міокарда лівого шлуночка, збільшення глобального поздовжнього стрейну та його швидкості за відсутності вірогідної динаміки щодо фракції викиду ЛШ, сприяє статистично значущому збільшенню септальної та середньої швидкостей мітрального кільця, зниженню індексу Е/Е' як основних проявів діастолічної дисфункції.

Перспективи подальших досліджень. Враховуючи факт фізіологічного зниження концентрації тестостерону з віком, перспективним вбачається вивчення ефективності призначення запропонованої схеми лікування у віковому аспекті. Проведення аналогічного масштабного дослідження з залученням більшої кількості обстежених дасть можливість підтвердити отримані результати та узагальнити підходи до вибору медикаментозної терапії у групі чоловіків із ГХ залежно від концентрації загального та вільного тестостерону, пролактину.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 04.02.2019

Після доопрацювання / Revised: 27.02.2019

Прийнято до друку / Accepted: 04.03.2019

Відомості про авторів:

Візір В. А., д-р мед. наук, професор каф. внутрішніх хвороб 2, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Насоненко О. В., асистент каф. внутрішніх хвороб 2, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Садомов А. С., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішніх хвороб 2, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Визир В. А., д-р мед. наук, профессор каф. внутренних болезней 2, Запорожский государственный медицинский университет, Украина,

Насоненко А. В., ассистент каф. внутренних болезней 2, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Садомов А. С., канд. мед. наук, доцент каф. внутренних болезней 2, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Vizir V. A., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Internal Diseases 2, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine, Nasonenko O. V., MD, Assistant of the Department of Internal Diseases 2, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine, Sadomov A. S., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Internal Diseases 2, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список літератури

- [1] Contributions of mean and shape of blood pressure distribution to worldwide trends and variations in raised blood pressure: a pooled analysis of 1018 population-based measurement studies with 88.6 million participants / B. Zhou, J. Bentham, M. Di Cesare, et al. *International Journal Of Epidemiology*. 2018. Vol. 47. Issue 3. P. 872–883i.
- [2] Javaroni V., Neves M. Erectile Dysfunction and Hypertension: Impact on Cardiovascular Risk and Treatment. *International Journal Of Hypertension*. 2012. Vol. 2012. P. 627278.
- [3] Manolis A., Doumas M. Sexual dysfunction: the 'prima ballerina' of hypertension-related quality-of-life complications. *Journal Of Hypertension*. 2008. Vol. 26. Issue 11. P. 2074–2084.
- [4] Antihypertensive Drugs and Male Sexual Dysfunction / K. Al Khaja, R. Sequeira, A. Alkhaja et al. *Journal Of Cardiovascular Pharmacology And Therapeutics*. 2016. Vol. 21. Issue 3. P. 233–244.
- [5] A review of the positive and negative effects of cardiovascular drugs on sexual function: a proposed table for use in clinical practice / M. Nicolai, S. Liem, S. Both, et al. *Netherlands Heart Journal*. 2013. Vol. 22. Issue 1. P. 11–19.
- [6] The Effect of Combined Antihypertensive Treatment (Felodipine with Either Irbesartan or Metoprolol) on Erectile Function: A Randomized Controlled Trial / L. Yang, J. Yu, R. Ma et al. *Cardiology*. 2013. Vol. 125. Issue 4. P. 235–241.
- [7] Ogihara T., Kuramoto K. Effect of Long-Term Treatment with Antihypertensive Drugs on Quality of Life of Elderly Patients with Hypertension: A Double-Blind Comparative Study between a Calcium Antagonist and a Diuretic. *Hypertension Research*. 2000. Vol. 23. Issue 1. P. 33–37.
- [8] Long-Term Treatment of Clonidine, Atenolol, Amlodipine and Dihydrochlorothiazide, but Not Enalapril, Impairs the Sexual Function in Male Spontaneously Hypertensive Rats / L. Lin, D. Wang, W. Wang et al. *PLOS ONE*. 2015. Vol. 10. Issue 1. P. 1–13.
- [9] 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension / G. Mancia, R. Fagard, K. Narkiewicz et al. *European Heart Journal*. 2013. Vol. 34. Issue 28. P. 2159–2219.
- [10] Effect of felodipine with irbesartan or metoprolol on sexual function and oxidative stress in women with essential hypertension / R. Ma, J. Yu, D. Xu et al. *Journal Of Hypertension*. 2012. Vol. 30. Issue 1. P. 210–216.
- [11] Bobrie G. I-ADD Study: Assessment of Efficacy and Safety Profile of Irbesartan/Amlodipine Fixed-Dose Combination Therapy Compared With Irbesartan Monotherapy in Hypertensive Patients Uncontrolled With Irbesartan 150 mg Monotherapy: A Multicenter, Phase III, Prospective, Randomized, Open-Label With Blinded-End Point Evaluation Study. *Clinical Therapeutics*. 2012. Vol. 34. Issue 8. P. 1720–1734.e3.
- [12] Bobrie G. I-COMBINE Study: Assessment of Efficacy and Safety Profile of Irbesartan/Amlodipine Fixed-Dose Combination Therapy Compared With Amlodipine Monotherapy in Hypertensive Patients Uncontrolled With Amlodipine 5 mg Monotherapy: A Multicenter, Phase III, Prospective, Randomized, Open-Label With Blinded-End Point Evaluation Study. *Clinical Therapeutics*. 2012. Vol. 34. Issue 8. P. 1705–1719.
- [13] Кобалава Ж. Д. Фиксированная комбинация ирбесартан/амлодипин: эффективность и безопасность применения 4 дозовых режимов у пациентов с артериальной гипертензией. *Кардиология*. 2014. Т. 54. №6. С. 15–20.
- [14] Combination of Angiotensin II Receptor Antagonist with Calcium Channel Blocker or Diuretic as Antihypertensive Therapy for Patients with Chronic Kidney Disease / T. Ishimitsu, E. Ohno, N. Nakano et al. *Clinical And Experimental Hypertension*. 2011. Vol. 33. Issue 6. P. 366–372.
- [15] Effect of combination tablets containing amlodipine 10 mg and irbesartan 100 mg on blood pressure and cardiovascular risk factors in patients with hypertension / S. Yagi, A. Takashima, M. Mitsugi et al. *Therapeutics And Clinical Risk Management*. 2015. Vol. 11. P. 83–88.
- [16] Comparative Effects of Irbesartan Versus Amlodipine on Left Ventricular Mass Index in Hypertensive Patients with Left Ventricular Hypertrophy / C. Gaudio, F. Ferri, M. Giovannini et al. *Journal Of Cardiovascular Pharmacology*. 2003. Vol. 42. Issue 5. P. 622–628.

- [17] Regression of left ventricular hypertrophy in human hypertension with irbesartan / K. Malmqvist, T. Kahan, M. Edner et al. *Journal Of Hypertension*. 2001. Vol. 19. Issue 6. P. 1167–1176.
- [18] Irbesartan reduces common carotid artery intima-media thickness in hypertensive patients when compared with atenolol: the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) study / D. Mörtzell, K. Malmqvist, C. Held et al. *Journal Of Internal Medicine*. 2007. Vol. 261. Issue 5. P. 472–479.
- [19] Колесник М. Ю. Деформація міокарда лівого шлуночка при артеріальній гіпертензії. *Світ медицини та біології*. 2015. №1(48). С. 35–39.
- [20] Effect of Diuretic or Calcium-Channel Blocker Plus Angiotensin-Receptor Blocker on Diastolic Function in Hypertensive Patients / N. Toh, K. Ishii, H. Kihara et al. *Circulation Journal*. 2016. Vol. 80. Issue 2. P. 426–434.
- [21] Tissue Velocity Echocardiography Shows Early Improvement in Diastolic Function With Irbesartan and Atenolol Therapy in Patients With Hypertensive Left Ventricular Hypertrophy Results From the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA) / R. Müller-Brunotte, T. Kahan, K. Malmqvist et al. *American Journal Of Hypertension*. 2006. Vol. 19. Issue 9. P. 927–936.
- References**
- [1] Zhou, B., Bentham, J., Di Cesare, M., Bixby, H., Danaei, G., Hajifathalian, K., et al. (2018). Contributions of mean and shape of blood pressure distribution to worldwide trends and variations in raised blood pressure: a pooled analysis of 1018 population-based measurement studies with 88.6 million participants. *International Journal Of Epidemiology*, 47(3), 872–883i. doi: 10.1093/ije/dyy016
- [2] Javaroni, V., & Neves, M. (2012). Erectile Dysfunction and Hypertension: Impact on Cardiovascular Risk and Treatment. *International Journal Of Hypertension*, 2012, 627278. doi: 10.1155/2012/627278
- [3] Manolis, A., & Dumas, M. (2008). Sexual dysfunction: the 'prima ballerina' of hypertension-related quality-of-life complications. *Journal Of Hypertension*, 26(11), 2074–2084. doi: 10.1097/hjh.0b013e32830dd0c6.
- [4] Al Khaja, K., Sequeira, R. P., Alkhaja, A. K., & Damanhuri, A. H. (2016). Antihypertensive Drugs and Male Sexual Dysfunction. *Journal Of Cardiovascular Pharmacology And Therapeutics*, 21(3), 233-244. doi: 10.1177/1074248415598321
- [5] Nicolai, M., Liem, S., Both, S., Pelger, R., Putter, H., Schaliij, M., & Elzevier, H. (2013). A review of the positive and negative effects of cardiovascular drugs on sexual function: a proposed table for use in clinical practice. *Netherlands Heart Journal*, 22(1), 11–19. doi: 10.1007/s12471-013-0482-z
- [6] Yang, L., Yu, J., Ma, R., Zhao, F., Lin, X., Liu, P. et al. (2013). The Effect of Combined Antihypertensive Treatment (Felodipine with Either Irbesartan or Metoprolol) on Erectile Function: A Randomized Controlled Trial. *Cardiology*, 125(4), 235–241. doi: 10.1159/000350955
- [7] Ogihara, T., & Kuuramoto, K. (2000). Effect of Long-Term Treatment with Antihypertensive Drugs on Quality of Life of Elderly Patients with Hypertension: A Double-Blind Comparative Study between a Calcium Antagonist and a Diuretic. *Hypertension Research*, 23(1), 33–37. doi: 10.1291/hyres.23.33
- [8] Lin, L., Wang, D., Wang, W., Cheng, Y., Su, D., & Liu, A. (2015). Long-Term Treatment of Clonidine, Atenolol, Amlodipine and Dihydrochlorothiazide, but Not Enalapril, Impairs the Sexual Function in Male Spontaneously Hypertensive Rats. *PLOS ONE*, 10(1), e0116155. doi: 10.1371/journal.pone.0116155
- [9] Mancia, G., Fagard, R., Narkiewicz, K., Redon, J., Zanchetti, A., Böhm, M., et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. (2013). *European Heart Journal*, 34(28), 2159–2219. doi: 10.1093/eurheartj/ehf151
- [10] Ma, R., Yu, J., Xu, D., Yang, L., Lin, X., Zhao, F., & Bai, F. (2012). Effect of felodipine with irbesartan or metoprolol on sexual function and oxidative stress in women with essential hypertension. *Journal Of Hypertension*, 30(1), 210–216. doi: 10.1097/hjh.0b013e32834e1e2e
- [11] Bobrie, G. (2012). I-ADD Study: Assessment of Efficacy and Safety Profile of Irbesartan/Amlodipine Fixed-Dose Combination Therapy Compared With Irbesartan Monotherapy in Hypertensive Patients Uncontrolled With Irbesartan 150 mg Monotherapy: A Multicenter, Phase III, Prospective, Randomized, Open-Label With Blinded-End Point Evaluation Study. *Clinical Therapeutics*, 34(8), 1720–1734.e3. doi: 10.1016/j.clinthera.2012.07.001
- [12] Bobrie, G. (2012). I-COMBINE Study: Assessment of Efficacy and Safety Profile of Irbesartan/Amlodipine Fixed-Dose Combination Therapy Compared With Amlodipine Monotherapy in Hypertensive Patients Uncontrolled With Amlodipine 5 mg Monotherapy: A Multicenter, Phase III, Prospective, Randomized, Open-Label With Blinded-End Point Evaluation Study. *Clinical Therapeutics*, 34(8), 1705–1719. doi: 10.1016/j.clinthera.2012.06.026
- [13] Kobalava, Zh. D. (2014). Fiksirovannaya kombinaciya irbesartan/amlodipin: e'ffektivnost' i bezopasnost' primeneniya 4 dozovykh rezhimov u pacientov s arterial'no] gipertoniej [Fixed Irbesartan/Amlodipine Combination: Efficacy and Safety of the Use of Four Dosing Regimens in Patients With Arterial Hypertension]. *Kardiologiya*, 54(6), 15–20. [in Russian].
- [14] Ishimitsu, T., Ohno, E., Nakano, N., Furukata, S., Akashiba, A., Minami, J., et al. (2011). Combination of Angiotensin II Receptor Antagonist with Calcium Channel Blocker or Diuretic as Antihypertensive Therapy for Patients with Chronic Kidney Disease. *Clinical And Experimental Hypertension*, 33(6), 366–372. doi: 10.3109/10641963.2010.503299
- [15] Yagi, S., Takashima, A., Mitsugi, M., Wada, T., Hotchi, J., Aihara, K., et al. (2015). Effect of combination tablets containing amlodipine 10 mg and irbesartan 100 mg on blood pressure and cardiovascular risk factors in patients with hypertension. *Therapeutics And Clinical Risk Management*, 11, 83–8. doi: 10.2147/tcrm.s72299
- [16] Gaudio, C., Ferri, F., Giovannini, M., Pannarale, G., Puddu, P., Vittore, A., et al. (2003). Comparative Effects of Irbesartan Versus Amlodipine on Left Ventricular Mass Index in Hypertensive Patients with Left Ventricular Hypertrophy. *Journal Of Cardiovascular Pharmacology*, 42(5), 622–628. doi: 10.1097/00005344-200311000-00007
- [17] Malmqvist, K., Kahan, T., Edner, M., Held, C., Hägg, A., Lind, L., et al. (2001). Regression of left ventricular hypertrophy in human hypertension with irbesartan. *Journal Of Hypertension*, 19(6), 1167–1176. doi: 10.1097/00004872-200106000-00023
- [18] Mörtzell, D., Malmqvist, K., Held, C., & Kahan, T. (2007). Irbesartan reduces common carotid artery intima-media thickness in hypertensive patients when compared with atenolol: the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA) study. *Journal Of Internal Medicine*, 261(5), 472–479. doi: 10.1111/j.1365-2796.2007.01775.x
- [19] Kolesnik, M. Y. (2015). Deformatsiia miokarda livoho shlunochka pry arterialnii hipertenzii [The Left Ventricle Myocardial Deformation In Arterial Hypertension]. *Svit medytsyny ta biologii*, 1(48), 35–39. [in Ukrainian].
- [20] Toh, N., Ishii, K., Kihara, H., Iwakura, K., Watanabe, H., Yoshikawa, J., & Ito, H. (2016). Effect of Diuretic or Calcium-Channel Blocker Plus Angiotensin-Receptor Blocker on Diastolic Function in Hypertensive Patients. *Circulation Journal*, 80(2), 426–434. doi: 10.1253/circj.15-0815
- [21] Müller-Brunotte, R., Kahan, T., Malmqvist, K., Ring, M., & Edner, M. (2006). Tissue Velocity Echocardiography Shows Early Improvement in Diastolic Function With Irbesartan and Atenolol Therapy in Patients With Hypertensive Left Ventricular Hypertrophy Results From the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA). *American Journal Of Hypertension*, 19(9), 927–936. doi: 10.1016/j.amjhyper.2006.02.009

Особливості визначення синдрому «низького трийодтироніну» при серцевій недостатності та його вплив на перебіг захворювання

С. М. Пивовар*^{A-D}, Ю. С. Рудик^{E,F}, Т. В. Лозик^E, В. Ю. Гальчінська^{C, E}, Т. О. Ченчик^C

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

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

Серцева недостатність (СН) – актуальна проблема кардіології. Синдром «низького трийодтироніну» (СНТ) спостерігають при СН. Немає єдиної думки щодо критеріїв визначення СНТ.

Мета роботи – дослідити особливості визначення СНТ при СН і його зв'язок із перебігом захворювання.

Матеріали та методи. У дослідження залучили 157 хворих на СН на тлі післяінфарктного кардіосклерозу. На першому етапі дослідження хворих поділили на 2 когорти: I – 122 пацієнти з нормальними рівнями вільних T_3 (T_{3c}), T_4 (T_{4c}) і тиреотропного гормона (ТТГ); II – 35 хворих із СНТ ($T_{3c} \leq 2,5$ пмоль/л при нормальних рівнях T_{4c} та ТТГ). На другому етапі в I групу включили 129 хворих без СНТ; II – 28 пацієнтів із СНТ (при $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л). Визначили рівні ТТГ, T_{3c} і T_{4c} реверсивного T_3 (T_{3r}). Виконали ехокардіоскопію. Вивчили перебіг СН протягом 2 років.

Результати. Частота СНТ (при $T_{3c} < 2,5$ пмоль/л) серед хворих на СН становить 22,3 %. Ризик повторної госпіталізації хворих із приводу декомпенсації, за ROC-аналізом, зростає при перетині точки розподілу $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л ($p = 0,0017$). При $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л поширення СНТ становить 17,8 %. Хворі із СНТ (при $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л) молодші (на 2,5 року, $p = 0,039$), мають більші КДР (на 4,8 %, $p = 0,010$), КДО (на 10,2 %, $p = 0,012$), КСР (на 8,8 %, $p = 0,003$), КСО (на 20,1 %, $p = 0,006$), меншу фракцію викиду лівого шлуночка (на 9,5 %, $p = 0,033$), порівнюючи з пацієнтами без СНТ. Відносний ризик повторної госпіталізації хворих при СНТ (при $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л) становить 2,224 [1,363–3,630] ($p < 0,05$).

Висновки. Частота синдрому СНТ (за критерієм $T_{3c} < 2,5$ пмоль/л) серед хворих на СН становить 22,3 %; при рівні $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л – 17,8 %. Ризик розвитку повторної госпіталізації хворих за даними ROC-аналізу збільшується при перетині рівня $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л. Хворі із СНТ (при $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л) молодші, мають більшу дилатацію лівого шлуночка та меншу його фракцію викиду, більшу частоту коронарних інтервенцій і вищий ризик повторної госпіталізації, порівняно з пацієнтами без СНТ.

Ключові слова:

синдром «низького трийодтироніну», тиреотропний гормон, крива ROC, ризик, дилатація шлуночків, зворотний трийодтиронін, ехокардіографія, серцева недостатність.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 437–443

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.4.173178

*E-mail: sn_p@ukr.net

Особенности определения синдрома «низкого трийодтиронина» при сердечной недостаточности и его влияние на течение заболевания

С. Н. Пивовар, Ю. С. Рудик, Т. В. Лозик, В. Ю. Гальчинская, Т. А. Ченчик

Сердечная недостаточность (СН) – актуальная проблема кардиологии. Синдром «низкого трийодтиронина» (СНТ) наблюдают у части больных СН. Нет единого мнения относительно критериев определения СНТ.

Цель работы – исследовать особенности определения СНТ при СН и его связь с течением заболевания.

Материалы и методы. Обследовали 157 больных СН на фоне постинфарктного кардиосклероза. На первом этапе исследования больных разделили на 2 когорты: I – 122 пациента с нормальными уровнями свободных T_3 (T_{3c}), T_4 (T_{4c}) и тиреотропного гормона (ТТГ); II – 35 больных СНТ ($T_{3c} \leq 2,5$ пмоль/л при нормальных уровнях T_{4c} и ТТГ). На втором этапе в I группу включили 129 больных без СНТ; во II – 28 пациентов с СНТ (при $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л). Определяли уровни (ТТГ), T_{3c} и T_{4c} реверсивного T_3 (T_{3r}). Проводили эхокардиоскопию. Изучали течение СН на протяжении 2 лет.

Результаты. Частота СНТ (при $T_{3c} < 2,5$ пмоль/л) среди больных с СН составляет 22,3 %. Риск повторной госпитализации пациентов по поводу декомпенсации, согласно ROC-анализа, возрастает при пересечении точки $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л ($p = 0,0017$). При $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л распространение СНТ составляет 17,8 %. Больные с СНТ (при $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л) младше (на 2,5 года, $p = 0,039$), имеют большие КДР (на 4,8 %, $p = 0,010$), КДО (на 10,2 %, $p = 0,012$), КСР (на 8,8 %, $p = 0,003$), КСО (на 20,1 %, $p = 0,006$), меньшую фракцию выброса левого желудочка (на 9,5 %, $p = 0,033$) по сравнению с пациентами без СНТ. Относительный риск повторной госпитализации больных при СНТ (при $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л) составляет 2,224 [1,363–3,630] ($p < 0,05$).

Выводы. Частота синдрома СНТ (по критерию $T_{3c} < 2,5$ пмоль/л) среди больных с СН составляет 22,3 %; при уровне $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л – 17,8 %. Риск развития повторной госпитализации больных возрастает при пересечении уровня $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л. Больные с СНТ (при $T_{3c} \leq 2,07$ пмоль/л) младше, имеют большую дилатацию левого желудочка и меньшую фракцию выброса, большую частоту коронарных интервенций и более высокий риск повторной госпитализации по сравнению с пациентами без СНТ.

Ключевые слова:

синдром «низкого трийодтиронина», тиреотропный гормон, кривая ROC, риск, дилатация желудочков, обратный трийодтиронин, эхокардиография, сердечная недостаточность.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 437–443

The features of “low T_3 ” syndrome definition in a heart failure and its effect on a course of the disease

S. M. Pyovov, Yu. S. Rudyk, T. V. Lozyk, V. Yu. Halchinska, T. O. Chenchyk

Heart failure (HF) is an important issue in cardiology. Some patients with HF have the low T_3 syndrome (LT₃S). There is no consensus regarding the criteria for determining LT₃S.

Key words:

euthyroid sick syndromes, thyrotropin, ROC curve, risk, dilatation, heart ventricles, reverse triiodothyronine, echocardiography, heart failure.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (4), 437–443

The purpose is to study the features of LT_3S determination in HF and its relationship with the disease course.

Materials and methods. A total of 157-patients with HF and postinfarction atherosclerosis were examined. At the I stage, all patients were divided into 2 groups: I – 122 patients with normal level of free T_{3f} , T_{4f} and thyroid-stimulating hormone (TSH); II – 35 patients with LT_3S ($T_{3f} \leq 2.5$ pmol/l and normal levels of T_{4f} and TSH). At the II stage, 129 patients without LT_3S were included into group I and 28 patients with LT_3S ($T_{3f} \leq 2.07$ pmol/l) – into group II. Serum levels of TSH, T_{3f} , T_{4f} , reverse T_3 (T_{3r}) were determined. Echocardiography was performed. HF course was studied during 2 years.

Results. The frequency of LT_3S ($T_{3f} < 2.5$ pmol/l) among patients with HF is 22.3 %. The risk of rehospitalization of patients according to ROC-analysis increases at the intersection of the point $T_{3f} \leq 2.07$ pmol/l ($P = 0.0017$). At $T_{3f} \leq 2.07$ pmol/l the frequency of LT_3S is 17.8 %. Patients with LT_3S ($T_{3f} \leq 2.07$ pmol/l) are younger (2.5 years younger; $P = 0.039$), have larger end-diastolic size (by 4.8 %; $p P = 0.010$) and volume (by 10.2 %; $P = 0.012$), end-systolic size (by 8.8 %; $P = 0.003$) and volume (by 20.1 %; $P = 0.006$), lower left ventricle (LV) ejection fraction (by 9.5 %; $P = 0.033$), than the patients without LT_3S . The relative risk of rehospitalization in patients with LT_3S ($T_{3f} \leq 2.07$ pmol/l) is 2.224 ($P < 0.05$).

Conclusions. The frequency of LT_3S ($T_{3f} < 2.5$ pmol/l) among patients with HF is 22.3 % at level of $T_{3f} \leq 2.07$ pmol/l – 17.8 %. The risk of rehospitalization in patients with HF increases at intersection of the point $T_{3f} \leq 2.07$ pmol/l. Patients with LT_3S ($T_{3f} \leq 2.07$ pmol/l) are younger, have larger LV dilatation and lower ejection fraction, higher frequency of coronary intervention and rehospitalization risk than the patients without LT_3S .

Наслідок інфаркту міокарда (ІМ) – серцева недостатність (СН). Ця патологія – актуальна медико-соціальна проблема в нашій країні [1]. Поширеність СН серед дорослого населення в Україні коливається від 1,5 до 5,5 % та зростає пропорційно віку [2]. Про серйозність прогнозу СН свідчить те, що приблизно половина пацієнтів помирає протягом 4 років [1]. Розуміння нових патофізіологічних механізмів, що детермінують перебіг захворювання, важливе для оптимізації схем терапії.

З перебігом СН та її прогресуванням пов'язані супутні захворювання та динаміка низки біомаркерів. Серед усіх нейроендокринних систем гормони щитоподібної залози (ГЩЗ) відіграють важливу роль у гомеостазі серцево-судинної системи [3,4]. Синдром «низького трийодтироніну» (СНТ) (синдром «Low T_3 », синдром «периферійного дистироїдизму») спостерігають у частини хворих на СН. Порушення активності перетворення тироксину (T_4) у T_3 периферійними дейодиназами має зв'язок із клінічним перебігом СН [5]. У попередніх дослідженнях синдрому «низького T_3 » у хворих на СН, концентрація ГЩЗ виміряна у стабільній фазі СН [6,7]. Однак поширеність і прогностичний вплив цього синдрому під час госпіталізації хворих із приводу декомпенсації СН не досліджено.

Мета роботи

Дослідити особливості визначення синдрому «низького T_3 » при СН і його вплив на перебіг захворювання.

Матеріали і методи дослідження

Набір хворих здійснювали у клініко-діагностичному терапевтичному відділенні, що є клінічною базою відділу. У дослідження залучили 157 хворих на СН (36 жінок і 121 чоловіка) європеїдної раси. Критерії залучення: підписання інформованої згоди, ІМ в анамнезі, верифікований діагноз СН – I–IV ФК за NYHA. Критерії виключення: не підписання інформованої згоди, гемодинамічно значущі клапанні вади серця, СН іншої, ніж післяінфарктний кардіосклероз етіології, замісна гормональна терапія L-тироксинам, тиреосупресивна терапія, клінічний чи субклінічний гіпотиреоз, тиреотоксикоз, запальні захворювання, інші серйозні патології (пухлина, туберкульоз), що могли б ускладнити лікування чи знизити очікувану тривалість життя.

Діагностування СН і лікування хворих виконали відповідно до рекомендацій Європейського товариства кардіологів [8]. Пацієнти пройшли стандартизоване обстеження, що включало детальне вивчення історії хвороби (супутні захворювання та ліки), фізикальний огляд, параметри клінічного та біохімічного аналізів крові, електрокардіограма (12 відведень) під час госпіталізації.

Доплер-ехокардіоскопічне дослідження виконали за допомогою ультразвукової діагностичної системи VIVID-3, (General Electric, USA) на базі відділення функціональної діагностики. Визначали кінцево-діастолічний і кінцево-сistolічний розміри (КДР і КСР відповідно) лівого шлуночка (ЛШ), товщину міжшлуночкової перетинки (МШП), задньої стінки ЛШ (ЗСЛШ), діаметр лівого передсердя (ЛП), правого шлуночка (ПШ) та інші параметри. Розраховували кінцево-діастолічний об'єм ЛШ (КДО), кінцево-сistolічний об'єм ЛШ (КСО), фракцію викиду ЛШ (ФВ ЛШ), індекс ЛП (ІЛП), масу міокарда ЛШ (ММ ЛШ) та її індекс (ІММ ЛШ).

Дослідження зразків крові виконали в лабораторії біохімічних та імуноферментних методів досліджень із морфологією. Для визначення сироваткового рівня тиреотропного гормону (ТТГ) (діапазон норми – 0,3–4,0 мМО/л), вільного T_3 ($T_{3в}$) (діапазон норми – 2,5–5,8 пмоль/л) та вільного T_4 ($T_{4в}$) (діапазон норми – 10–25 пмоль/л) використовували набори реактивів («ТТГ-ИФА», «свТ4-ИФА» та «свТ3-ИФА» компанії «Хема», Україна). Рівень реверсивного трийодтироніну (T_{3r}) (діапазон норми – 90–350 пг/мл) визначили за допомогою реактиву «ELISA kit» (Elabscience®, КНР).

Імуноферментні дослідження виконали на приладі «Напівавтоматичний імуноферментний аналізатор «Immunochem-2100» (High technology, USA) № 501322057FSE. Свідоцтво про останню перевірку № 08-421/2 від 26.11.2018 р.

Період спостереження за хворими становив 2 роки, протягом котрого оцінювали перебіг СН, враховували розвиток пароксизмів фібриляції передсердь, частоту госпіталізацій із приводу декомпенсації захворювання.

Аналіз нормальності розподілу показників виконали за допомогою критерію Шапіро–Уїлка. Дані наведені як середнє значення (M) і стандартне відхилення ($\pm SD$) (у разі нормального розподілу) або медіана (Me) й інтерквартильний діапазон (при розподілі даних, що відрізня-

ється від нормального). Кількісні показники порівнювали за допомогою непарного Т-тесту або непараметричного критерію – Манна–Уїтні. Різницю серед частот ознак у групах оцінювали за критерієм χ^2 Пірсона (з поправкою Йейтса при кількості ознак менше ніж 10). Для визначення прогностичного рівня T_{3b} виконали ROC-аналіз. Здійснили парне порівняння параметрів ROC-аналізу для різних параметрів. Розрахували відносний ризик (ВР) із 95 % довірчим інтервалом (ДІ). Для визначення зв'язку між показниками виконали кореляційний аналіз Спірмана (враховуючи вид розподілу рівня T_{3r}). Різницю між значеннями вважали статистично вірогідною при рівні критерію значущості $p < 0,05$.

Статистичне опрацювали за допомогою пакета програми MedCalc, 16.4 (free version).

Результати

На першому етапі дослідження хворих на СН поділили на 2 групи: в першу увійшли 122 (77,7 %) пацієнти, які мали нормальні рівні T_{3b} , T_{4b} та ТТГ (табл. 1); у другу – 35 (22,3 %) хворих із рівнем T_{3b} , що менший за нижню межу норми (2,5 пмоль/л) при нормальних рівнях T_{4b} і ТТГ. У цих хворих діагностували СНТ. Під час статистичного аналізу встановили, що хворі із СНТ порівняно з пацієнтами без цього синдрому мали вірогідно більше значення індексу маси тіла (ІМТ) ($31,00 \pm 5,52$ кг/м² проти $28,95 \pm 5,07$ кг/м²) – на 7,1 % ($p = 0,046$) і меншу сироваткову концентрацію вільного T_3 ($1,77$ [1,59–2,07] пмоль/л проти $3,49$ [3,13–3,79] пмоль/л) – на 49,3 % ($p = 0,001$).

Хворі на СН на тлі СНТ мали дилатацію порожнини ЛШ: КДР був більшим на 3,3 %, порівнюючи з групою пацієнтів без СНТ ($5,57 \pm 0,42$ см проти $5,39 \pm 0,44$ см, $p = 0,040$); КДО – на 7,7 % ($155,03 \pm 26,81$ мл проти $144,00 \pm 26,81$ мл, $p = 0,041$); КСР – на 5,2 % ($4,20 \pm 0,47$ см проти $3,99 \pm 0,57$ см, $p = 0,056$); КСО – на 11,6 % ($81,34 \pm 21,64$ мл проти $72,91 \pm 25,05$, $p = 0,084$) (табл. 1).

Аналіз частот ознак у групах (за критерієм χ^2) продемонстрував, що у групі хворих на СН на тлі СНТ ІІІ ФК за NYHA був у 40,0 % пацієнтів проти 18,9 % у групі без периферійного дистиреоїдизму ($\chi^2 = 6,77$, $p = 0,034$); вірогідно частіше був ІІІ функціональний клас стенокардії напруження (57,1 % проти 28,7 % при $\chi^2 = 20,01$, $p < 0,001$), більший відсоток хворих мав коронарну інтвенцію (22,9 % проти 4,9 %, при $\chi^2 = 10,78$, $p < 0,001$).

Спробували виділити групу хворих на СН, котрі мали рівень $T_{3b} < 2,5$ пмоль/л, нормальні сироваткові концентрації T_{4b} і ТТГ і високий рівень T_{3r} (> 350 пг/мл). Однак тільки 5 хворих відповідали цим критеріям, тому статистичний аналіз не виконували.

Кореляційний аналіз показав, що сироватковий рівень реверсивного T_3 має позитивну залежність тільки з відносним вмістом гранулоцитів крові ($r = 0,363$, $p < 0,001$).

Хворі на СН із повторною госпіталізацією протягом 2 років, порівнюючи з пацієнтами зі сприятливим перебігом патології, мали нижчі рівні T_{3b} ($1,90$ [1,57–2,30] пмоль/л, проти $3,44$ [2,86–3,75] пмоль/л) – на 44,7 % ($p = 0,001$) та T_{3r} ($239,10$ [173,37–361,11] пг/мл, проти $293,67$ [219,19–365,65] пг/мл) – на 18,6 % ($p = 0,038$) (табл. 2).

За рівнями T_{4b} і ТТГ групи хворих не відрізнялися (табл. 2).

Таблиця 1. Характеристика груп хворих на СН за наявністю СНТ (за критерієм $T_3 < 2,5$ пмоль/л)

Показник, одиниці вимірювання	Групи хворих з СН (n = 157)		χ^2 ; p
	Без СНТ (n = 122)	Із СНТ (n = 35)	
Вік, роки	58,00 [54,75–67,00]	57,00 [51,00–67,00]	> 0,05
Стать, жінки, n (%)	28 (23,0)	8 (22,9)	0,10; 0,05
ІМТ, кг/м ²	$28,95 \pm 5,07$	$31,00 \pm 5,52$	0,046
ФК СН за NYHA, n (%):			
II	95 (77,9)	20 (57,1)	6,77; 0,034
III	23 (18,9)	14 (40,0)	
ФК стенокардії напруження, n (%):			
I	3 (2,5)	0	20,01; 0,001
II	14 (11,5)	9 (25,7)	
III	35 (28,7)	20 (57,1)	
Цукровий діабет 2 типу, n (%)	20 (16,4)	8 (22,9)	0,78; 0,05
Нетоксичний зуб, n (%)	7 (5,7)	4 (11,8)	1,47; 0,05
Коронарна інтвенція, n (%)	6 (4,9)	8 (22,9)	10,78; 0,001
Фібриляція передсердь, n (%)	10 (8,2)	5 (14,3)	1,17; >0,05
Вік розвитку ІМ, роки	51,00 [47,00–59,25]	54,00 [46,00–60,00]	>0,05
САТ, мм рт. ст.	140,00 [126,75–160,00]	138,00 [120,00–160,00]	>0,05
ДАТ, мм рт. ст.	85,50 [80,00–95,00]	90,00 [80,00–100,00]	>0,05
ЧСС, хв ⁻¹	75,00 [70,00–82,00]	75,00 [69,00–81,00]	>0,05
Еритроцити, 10 ¹² /л	4,60 [4,20–4,90]	4,55 [4,25–4,94]	>0,05
Гемоглобін, г/л	$139,78 \pm 15,79$	$137,51 \pm 16,34$	>0,05
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	$6,72 \pm 1,78$	$6,47 \pm 1,46$	>0,05
Гранулоцити, %	$62,42 \pm 9,08$	$61,06 \pm 10,82$	>0,05
Лімфоцити, %	$27,83 \pm 8,37$	$31,27 \pm 9,34$	0,05
Моноцити, %	$6,68 \pm 2,92$	$6,16 \pm 2,79$	>0,05
Тромбоцити, 10 ⁹ /л	205,00 [180,00–236,00]	205,50 [189,00–250,25]	>0,05
Креатинін, мкмоль/л	85,00 [75,00–105,20]	85,05 [75,05–94,78]	>0,05
Глюкоза, ммоль/л	5,24 [4,5–6,3]	5,23 [4,70–6,64]	>0,05
Загальний ХС, ммоль/л	$5,02 \pm 1,53$	$4,50$ [3,84–6,03]	>0,05
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	$3,04 \pm 1,35$	$4,88 \pm 1,45$	>0,05
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	$1,12 \pm 0,29$	$1,01 \pm 0,22$	>0,05
ХС ЛПДНЩ, ммоль/л	$0,76 \pm 0,50$	$0,70 \pm 0,38$	>0,05
Тригліцериди, ммоль/л	1,48 [0,99–2,12]	1,30 [0,84–2,18]	>0,05
ТТГ, мМО/л	1,88 [1,13–2,89]	1,67 [1,13–2,74]	>0,05
T_{3b} , пмоль/л	3,49 [3,13–3,79]	1,77 [1,59–2,07]	0,001
T_{4b} , пмоль/л	11,96 [8,63–15,57]	12,22 [9,06–12,96]	>0,05
T_{3r} , пг/мл	293,67 [215,60–369,24]	233,99 [204,18–298,20]	>0,05
КДР ЛШ, см	$5,39 \pm 0,44$	$5,57 \pm 0,42$	0,040
КДО ЛШ, мл	$144,00 \pm 26,81$	$155,03 \pm 26,81$	0,041
КСР ЛШ, см	$3,99 \pm 0,57$	$4,20 \pm 0,47$	0,056
КСО ЛШ, мл	$72,91 \pm 25,05$	$81,34 \pm 21,64$	0,084
МШП, см	1,20 [1,10–1,20]	1,20 [1,10–1,20]	>0,05
ЗСЛШ, см	1,20 [1,10–1,20]	1,20 [1,10–1,20]	>0,05
ФВ ЛШ, %	$50,12 \pm 10,88$	$47,89 \pm 8,21$	>0,05
ММ ЛШ, г	$336,52 \pm 74,77$	$329,36 \pm 70,96$	>0,05
ІММ ЛШ, г/м ²	$117,07 \pm 25,94$	$113,48 \pm 23,97$	>0,05
ЛП, см	$4,08 \pm 0,53$	$4,13 \pm 0,46$	>0,05
ІЛП, см/м ²	$1,42 \pm 0,21$	$1,43 \pm 0,20$	>0,05
ПШ, см	2,70 [2,60–3,00]	2,75 [2,60–3,00]	>0,05
ПП, см	3,60 [3,40–4,00]	3,60 [3,50–3,89]	>0,05
Повторна госпіталізація, n (%)	28 (23,0)	13 (37,1)	2,84; > 0,05

ФК: функціональний клас; САТ: систолічний артеріальний тиск; ДАТ: діастолічний артеріальний тиск; ХС: холестерин.

Під час ROC-аналізу встановили, що ризик розвитку повторної госпіталізації хворих на СН із приводу декомпенсації захворювання зростає при досягненні оптимальної точки розподілу для сироваткового рівня $T_{3b} \leq 2,07$ пмоль/л (чутливість – 67,77 %, специфічність – 71,05 %, $p = 0,0017$) та $T_{3r} \leq 253,88$ пг/

Таблиця 2. Сироваткові концентрації тиреоїдних гормонів і ТТГ у хворих із СН

Показник, одиниці вимірювання	Групи хворих із СН (n = 157)		p
	Без повторної госпіталізації (n = 114)	З повторною госпіталізацією (n = 43)	
ТТГ, мМО/л	1,88 [1,22–2,79]	1,51 [1,02–2,97]	>0,05
T _{4в} , пмоль/л	11,96 [8,58–14,61]	12,59 [9,86–15,30]	>0,05
T _{3в} , пмоль/л	3,44 [2,86–3,75]	1,90 [1,57–2,30]	0,001
T _{3г} , пг/мл	293,67 [219,19–365,65]	239,10 [173,37–361,11]	0,038

Таблиця 3. Прогностична цінність сироваткових рівнів T_{3в} і T_{3г} (ROC-аналіз)

Показник, одиниці вимірювання	Точка розподілу (cut-off value)	Площа під кривою (AUC)	95 % ДІ	Чутливість, %	Специфічність, %	p
T _{3в} , пмоль/л	≤2,07	0,670	0,564–0,776	67,44	71,05	0,0017
T _{3г} , пг/мл	≤253,88	0,608	0,526–0,685	58,14	65,49	0,04

Таблиця 4. Парне порівняння параметрів ROC-аналізу для T_{3в} і T_{3г}

Показник	Значення
Різниця площі	0,0617
Середньоквадратична похибка	0,0751
Інтервал довіри 95 %	-0,0854–0,2090
z-статистика	0,823
P	0,4107

мл (чутливість – 58,14 %, специфічність – 65,49 %, p = 0,04) (табл. 3).

Парне порівняння даних ROC-аналізу не показало вірогідну різницю прогностичної цінності рівнів вільного та реверсивного T₃ (табл. 4).

На другому етапі дослідження, за результатами ROC-аналізу, хворих на СН поділили на 2 групи. У першу ввійшли 129 (82,2 %) пацієнтів, які мали нормальні рівні вільного T₄ та ТТГ, рівень вільного T₃ у межах 2,08–5,80 пмоль/л. У другу групу – 28 (17,8 %) хворих, які мали рівень вільного T₃ ≤2,07 пмоль/л при нормальних рівнях вільного T₄ та ТТГ. У пацієнтів цієї групи діагностували СНТ (за критерієм T_{3в} ≤2,07 пмоль/л). Хворі з СНТ (за рівнем T_{3в} ≤2,07 пмоль/л) порівняно з пацієнтами без синдрому є молодшими (55,50 [49,50–60,50] року проти 58,00 [55,00–67,50]) – на 2,5 року (p = 0,039), мають більші КДР (5,64 ± 0,35 см проти 5,38 ± 0,45 см) – на 4,8 % (p = 0,010), КДО (158,60 ± 22,44 мл проти 143,86 ± 27,45 мл) – на 10,2 % (p = 0,012), КСР (4,33 ± 0,42 см проти 3,98 ± 0,56 см) – на 8,8 % (p = 0,003), КСО (86,70 ± 20,49 мл проти 72,20 ± 24,59 мл) – на 20,1 % (p = 0,006) та меншу фракцію викиду ЛШ (45,70 ± 7,15 % проти 50,49 ± 10,75 %) – на 9,5 % (p = 0,033) (табл. 5).

Хворі із СНТ мали нижчий рівень вільного T₃ (1,65 ± 0,33 пмоль/л проти 3,40 ± 0,58 пмоль/л) – на 51,5 % (p = 0,001) і реверсивного T₃ (243,38 [206,48–306,87] пг/мл проти 289,54 [214,53–367,77] пг/мл) – на 15,9 % (p = 0,031) (табл. 5).

Аналіз різниці частот ознак у групах показав, що у групі хворих на СН на тлі СНТ (за критерієм T₃ ≤2,07 пмоль/л) ІІІ ФК за NYHA був у 42,9 % пацієнтів проти 19,4 % у групі без цього синдрому (c² = 7,20, p = 0,027), вірогідно більший ФК стенокардії напруження (c² = 14,47, p < 0,002), більший відсоток хворих мали коронарну ін-

тервенцію (25,9 % проти 5,4 % при c² = 10,85, p < 0,001), більшу частоту повторних госпіталізацій із приводу декомпенсації СН протягом 2 років спостереження (50,0 % проти 22,5 % при c² = 8,76, p = 0,003) (табл. 5).

Аналіз показав, що відносний ризик повторної госпіталізації хворих на СН протягом 2 років за наявності в них СНТ (за рівнем T_{3в} ≤2,07 пмоль/л) становить 2,224 [1,363–3,630] (p < 0,05). При СНТ (за критерієм T_{3в} ≤2,5 пмоль/л) відносний ризик повторної госпіталізації хворих на СН протягом 2 років дорівнює 1,618 [0,943–2,777] (p > 0,05).

Спробували виокремити групу хворих на СН із рівнем T_{3в} ≤2,07 пмоль/л, нормальною концентрацією T_{4в} і ТТГ при рівні T_{3г} >350 пг/мл. Цим критеріям відповідали 3 особи. Статистичний аналіз не виконували.

Обговорення

Секреція гормонів ЩЗ контролюється гіпофізарним ТТГ, що стимулюється гіпоталамічним тиреотропін-релізінговим гормоном (ТРГ) і пригнічується негативним зворотним зв'язком від сироваткових рівнів тиреоїдних гормонів. ЩЗ виділяє кілька гормонів, включаючи T₄, T₃ і T_{3г}, та є єдиним джерелом T₄. На відміну від останнього, T₃ (біологічно активніший гормон) секретується ЩЗ не більше ніж 20 % від загального рівня. Решта T₃ синтезується іншими тканинами (поза ЩЗ) шляхом ферментативного видалення атома йоду з молекули T₄ дейодиназами, що наявні в кількох формах. Дейодиназа типу I (D₁) міститься передусім у печінці та нирках і відповідає за синтез 80 % T₃. Дейодиназа II типу (D₂) розташована найбільше у мозку та в м'язах, включаючи серце людини, та регулює тканинну концентрацію T₃. Дейодиназа III типу (D₃), перетворюючи T₄ у реверсивний T₃ (неактивний), зменшує сироватковий рівень T_{3в} [9].

Ефекти тиреоїдних гормонів на функціонування серцево-судинної системи відомі протягом багатьох років та є яскраво вираженими як при тиреотоксикозі, так і при гіпотиреозі. Тироксин проходить крізь мембрани у клітину та відповідає за низку геномних і негеномних ефектів. T₃ має позитивну інотропну та хронотропну дію щодо міокарда, регулюючи транскрипцію міоцит-специфічних генів [9]. T₃ безпосередньо впливає на гладкі м'язи судин, зумовлюючи дилатацію артерій і зниження периферичної судинної резистентності. Для нормального функціонування серцево-судинної системи (ССС) необхідні оптимальні концентрації ГЩЗ; їхній надлишок або дефіцит мають дезінтегративну дію.

Зниження сироваткової концентрації T₃ і паралельне підвищення T_{3г} є результатом багатьох захворювань, травм, голодування та післяопераційного стану [10]. Ці зміни функції осі «гіпоталамус – гіпофіз – щитоподібна залоза» (ГЩЗ), взяті разом, називають СНТ. У стані голодування цей перехід від виробництва метаболічно сильного гормону T₃ до синтезу метаболічно неактивного зворотного (реверсивного) T_{3г} має компенсаторну роль. Але під час хронічних захворюваннях, як-от СН і депресія, низька концентрація T₃ може мати негативні наслідки. Ці зміни в осі ГЩЗ також називають синдромом еутиреоїдних патологій (ЕТП) – термін, який мінімізує клінічне значення цього стану. Альтернативне

позначення, яке не припускає метаболічного значення, є «синдром нетиреоїдної хвороби» [10].

Основним механізмом низької концентрації T_3 у сироватці крові пацієнтів із нетиреоїдними захворюваннями є знижена активність D_1 у печінці. Підвищена концентрація цитокінів, як-от інтерлейкіна-6 і фактора некрозу пухлини α , є причиною порушення експресії печінкової D_1 . Інші механізми, що беруть участь у патогенезі синдрому з низьким рівнем T_3 , передбачають зниження концентрації білків, що зв'язують гормони ЩЗ, і зменшення секреції ТРГ і ТТГ. Секреція дофаміну та тривала гіперкортизолемія можуть відігравати певну роль [10].

СНТ – поширена зміна метаболізму ГЩЗ при СН, що мають близько третини пацієнтів [6]. За даними нашого дослідження, частота СНТ (при $T_{3в} < 2,5$ пмоль/л) серед хворих із СН становить 22,3 %.

У фаховій літературі немає єдиної думки щодо критеріїв дефініції синдрому СНТ. Так, у роботах [6,7,11] використовували нижнє значення діапазону норми $T_{3в}$, що коливалося від 4,0 до 2,5 пмоль/л, при нормальних рівнях $T_{4в}$ і ТТГ.

У статтях італійських дослідників [12,13] поряд із названими параметрами використовували додатковий критерій – підвищений рівень $T_{3г}$. Нам не вдалося сформулювати репрезентативну групу хворих на СН, що мали б знижений рівень $T_{3в}$ нормальні концентрації ТТГ і $T_{4в}$, підвищений рівень $T_{3г}$.

У цьому дослідженні встановили: хворі на СН із повторною госпіталізацією протягом 2 років, порівнюючи з пацієнтами зі сприятливим перебігом патології, мали нижчі рівні $T_{3в}$ (1,90 [1,57–2,30] пмоль/л проти 3,44 [2,86–3,75] пмоль/л) – на 44,7 % ($p = 0,001$). ROC-аналіз показав, що ризик розвитку повторної госпіталізації хворих на СН із приводу декомпенсації збільшується під час перевищення оптимальної точки поділу для сироваткового рівня $T_{3в} \leq 2,07$ пмоль/л. Виявлено, що при граничному рівні $T_{3в} \leq 2,07$ пмоль/л поширеність СНТ становить 17,8 %. Нижчий прогностичний рівень $T_{3в}$ у нашій когорті хворих, імовірно, пояснюється неоднорідністю пацієнтів за показником ФВ ЛШ. У дослідження залучили хворих і зі зниженою, і зі збереженою ФВ.

Не встановили вірогідний кореляційний зв'язок рівня реверсивного T_3 із параметрами внутрішньосерцевої гемодинаміки, клінічного та біохімічного аналізів крові (за винятком гранулоцитів крові, $r = 0,363$), концентраціями тиреоїдних гормонів. Не змогли сформулювати групу хворих із низьким рівнем $T_{3в}$ і високим зворотнім T_3 , достатню для статистичного аналізу. Це може вказувати на недоцільність використання рівня реверсивного T_3 як додаткового критерію для діагностики СНТ.

За даними японських дослідників, навіть пацієнти з І ФК СН та у стадії компенсації мають ранні прояви СНТ [6]. У пацієнтів із СН цей синдром асоціюється з поганою функцією ЛШ, тахіаритмією та підвищенням смертності [13]. Низька концентрація T_3 при СН – сильніший прогностичний предиктор, ніж дисліпідемія, вік чи ФВ ЛШ [14].

У нашому дослідженні хворі з СНТ (за рівнем $T_{3в} \leq 2,07$ пмоль/л), порівнюючи з пацієнтами без цього синдрому, є молодшими, мають більшу дилатацію лівого шлуночка, меншу величину його фракції викиду. Також

Таблиця 5. Характеристика груп хворих на СН за наявністю СНТ (за критерієм $T_{3в} \leq 2,07$ пмоль/л)

Показник, одиниці вимірювання	Групи хворих на СН (n = 157)		с ² ; p
	Без СНТ (n = 129)	З СНТ (n = 28)	
Вік, роки	58,00 [55,00–67,50]	55,50 [49,50–60,50]	0,039
Стать, жінки, n (%)	31 (24,0)	5 (17,9)	0,48; >0,05
ІМТ, кг/м ²	28,08 [25,59–31,14]	29,75 [26,12–32,93]	>0,05
ФК СН за NYHA, n (%):			
II	100 (77,5)	15 (53,6)	7,20; 0,027
III	25 (19,4)	12 (42,9)	
ФК стенокардії напруги n (%):			
I	3 (2,3)	0	14,47; 0,002
II	16 (12,4)	7 (25,0)	
III	39 (30,2)	16 (57,1)	
Цукровий діабет 2 типу, n (%)	22 (17,1)	6 (21,4)	0,58; >0,05
Нетоксичний зоб, n (%)	7 (5,4)	4 (14,8)	3,00; 0,083
Коронарна інтервенція, n (%)	7 (5,4)	7 (25,0)	10,85; 0,001
Фібриляція передсердь, n (%)	11 (8,5)	4 (14,3)	0,83; >0,05
Вік розвитку ІМ, роки	51,00 [47,50–60,00]	51,00 [45,00–57,00]	>0,05
САТ, мм рт.ст.	140,00 [125,00–160,00]	140,00 [122,5–160,00]	>0,05
ДАТ, мм рт.ст.	85,00 [80,00–95,00]	90,00 [80,00–100,00]	>0,05
ЧСС, хв ⁻¹	75,00 [70,00–82,00]	74,50 [64,50–81,75]	>0,05
Еритроцити, 10 ¹² /л	4,60 [4,20–4,89]	4,60 [4,30–5,01]	>0,05
Гемоглобін, г/л	138,99 ± 16,30	140,31 ± 14,26	>0,05
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	6,68 ± 1,68	6,57 ± 1,43	>0,05
Гранулоцити, %	62,21 ± 9,05	61,57 ± 1,43	>0,05
Лімфоцити, %	28,29 ± 8,46	30,19 ± 9,71	>0,05
Моноцити, %	6,56 ± 2,91	6,58 ± 2,87	>0,05
Тромбоцити, 10 ⁹ /л	203,00 [180,00–233,00]	212,50 [192,00–253,00]	0,062
Креатинін, мкмоль/л	85,50 [75,00–103,25]	84,50 [73,15–94,53]	>0,05
Глюкоза, ммоль/л	5,24 [4,50–6,30]	5,23 [4,68–6,41]	>0,05
Загальний ХС, ммоль/л	4,97 ± 1,50	5,05 ± 1,54	>0,05
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	3,04 ± 1,65	3,28 ± 1,15	>0,05
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	1,12 ± 0,29	0,98 ± 0,21	>0,05
ХС ЛПДНЩ, ммоль/л	0,76 ± 0,49	0,66 ± 0,40	>0,05
ТГ, ммоль/л	1,49 [0,99–2,19]	1,14 [0,84–2,03]	>0,05
ТТГ, мМО/л	1,81 [1,14–2,67]	1,80 [1,10–2,97]	>0,05
$T_{3в}$, пмоль/л	3,40 ± 0,58	1,65 ± 0,33	0,0001
$T_{4в}$, пмоль/л	11,76 [8,62–15,24]	12,46 [9,21–13,97]	>0,05
T_3 , пг/мл	289,54 [214,53–367,77]	243,38 [206,48–306,87]	0,031
КДР ЛШ, см	5,38 ± 0,45	5,64 ± 0,35	0,010
КДО ЛШ, мл	143,86 ± 27,45	158,60 ± 22,44	0,012
КСР ЛШ, см	3,98 ± 0,56	4,33 ± 0,42	0,003
КСО ЛШ, мл	72,20 ± 24,59	86,70 ± 20,49	0,006
МШП, см	1,20 [1,10–1,22]	1,20 [1,10–1,20]	>0,05
ЗСЛШ, см	1,20 [1,10–1,20]	1,20 [1,10–1,20]	>0,05
ФВ ЛШ, %	50,49 ± 10,75	45,70 ± 7,15	0,033
ММ ЛШ, г	335,30 ± 73,83	332,9 ± 74,66	>0,05
ІММ ЛШ, г/м ²	116,76 ± 25,43	113,90 ± 25,98	>0,05
ЛП, см	4,08 ± 0,53	4,14 ± 0,47	>0,05
ІЛП, см/м ²	1,42 ± 0,20	1,42 ± 0,22	>0,05
ПШ, см	2,65 [2,60–3,00]	2,90 [2,50–3,00]	>0,05
ПП, см	3,60 [3,40–4,00]	3,60 [3,50–3,84]	>0,05
Повторна госпіталізація, n (%)	29 (22,5)	14 (50,0)	8,76; 0,003

ФК: функціональний клас; САТ: систолічний артеріальний тиск; ДАТ: діастолічний артеріальний тиск; ХС: холестерин.

пацієнти із СН на тлі СНТ (за критерієм $T_3 \leq 2,07$ пмоль/л) мали меншу толерантність до фізичного навантаження та частіше мали коронарну інтервенцію. Відносний ризик повторної госпіталізації хворих на СН протягом 2 років за наявності в них СНТ (за рівнем $T_{3в} \leq 2,07$ пмоль/л) становить 2,224 [1,363–3,630] ($p < 0,05$).

Питання лікування хворих на СН у поєднанні з СНТ залишається відкритим. Дані фахової літератури свідчать [15], що лікування ГЦЗ гіпотетично може поліпшувати серцеву функцію при СН, як це відбувається в пацієнтів із гіпотиреозом. Призначення T_3 нормалізує серцеву функцію при СНТ, що викликаний голодуванням. При трансплантації серця трийодтиронін використовують для реанімації серця донорів із поганою функцією, в реципієнтів – для поліпшення аеробного метаболізму міокарда, а також для посилення функції серця в потенційних донорів після смерті головного мозку [15]. Повідомлялося, що після операції на серці в дітей і дорослих введення T_3 підсилювало серцево-судинне функціонування [13]. Є відомості, що нормалізація концентрації T_3 корисна також для пацієнтів із СН [15]. Великих рандомізованих досліджень щодо застосування трийодтироніну при СН нині немає. Доволі не зрозумілими залишаються особливості застосування β -адреноблокаторів при СНТ, враховуючи їхню негативну дію на активність дийодинази.

Висновки

1. Частота синдрому СНТ (за критерієм $T_{3в} < 2,5$ пмоль/л) серед хворих на СН становить 22,3 %. При граничному рівні $T_{3в} \leq 2,07$ пмоль/л поширеність цього синдрому дорівнює 17,8 %.

2. У хворих із синдромом «низького T_3 » (за критерієм $T_{3в} \leq 2,5$ пмоль/л) вірогідно більшими є значення індексу маси тіла (на 7,1 %), дилатація лівого шлуночка; частіше встановлюють ІІІ ФК за NYHA та коронарну інтервенцію в анамнезі.

3. У хворих на СН із повторною госпіталізацією рівень вільного трийодтироніну є меншим за 2,0 пмоль/л (1,90 пмоль/л проти 3,44 пмоль/л у групі без повторної госпіталізації). Ризик повторної госпіталізації хворих на СН із приводу декомпенсації захворювання, за результатами ROC-аналізу, зростає при досягненні точки розподілу для сироваткового рівня $T_{3в} \leq 2,07$ пмоль/л (чутливість – 67,77 %, специфічність – 71,05 %).

4. Хворі з синдромом «низького T_3 » (за критерієм $T_{3в} \leq 2,07$ пмоль/л) вірогідно молодші (на 2,5 року), мають меншу фракцію викиду лівого шлуночка (на 9,5 %), вищий ризик повторної госпіталізації протягом 2 років.

5. Враховуючи отримані дані щодо впливу синдрому «низького T_3 » на перебіг серцевої недостатності, можна припустити: для діагностики цього стану доцільніше використання сироваткового рівня $T_{3в} \leq 2,07$ пмоль/л порівняно з концентрацією цього гормону $< 2,5$ пмоль/л.

Перспективи подальших досліджень. Оскільки β -адреноблокатори, що призначаються за стандартом лікування хворих на СН та ІХС, знижують активність дийодинази, передбачається з'ясувати їхній вплив на перебіг серцевої недостатності при синдромі низького трийодтироніну.

Фінансування

Дослідження – фрагмент НДР відділу клінічної фармакології та фармакогенетики неінфекційних захворювань: «Розробити методи профілактики несприятливого перебігу хронічної серцевої недостатності з урахуванням фармако-генетичного профілю хворих та супутньої патології» (№ держреєстрації: 0116U003038).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 13.12.2018

Після доопрацювання / Revised: 06.03.2019

Прийнято до друку / Accepted: 14.03.2019

Відомості про авторів:

Пивовар С. М., канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділу клінічної фармакології та фармакогенетики неінфекційних захворювань, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.
ORCID ID: 0000-0002-9991-8027

Рудик Ю. С., д-р мед. наук, старший науковий співробітник, зав. відділу клінічної фармакології та фармакогенетики неінфекційних захворювань, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.
ORCID ID: 0000-0002-3363-868X

Лозик Т. В., науковий співробітник, відділ клінічної фармакології та фармакогенетики неінфекційних захворювань, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.
ORCID ID: 0000-0001-8188-1898

Гальчинська В. Ю., канд. біол. наук, зав. лабораторії біохімічних та імуноферментних методів досліджень з морфологією, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

Ченчик Т. О., старший науковий співробітник лабораторії біохімічних та імуноферментних методів досліджень з морфологією, ДУ «Національний інститут терапії імені Л. Т. Малої НАМН України», м. Харків.

Сведения об авторах:

Пивовар С. Н., канд. мед. наук, старший научный сотрудник отдела клинической фармакологии и фармакогенетики неинфекционных заболеваний, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков.

Рудык Ю. С., д-р мед. наук, старший научный сотрудник, зав. отделом клинической фармакологии и фармакогенетики неинфекционных заболеваний, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков.

Лозик Т. В., научный сотрудник, отдел клинической фармакологии и фармакогенетики неинфекционных заболеваний, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков.

Гальчинская В. Ю., канд. биол. наук, зав. лабораторией биохимических и иммуноферментных методов исследований с морфологией, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков.

Ченчик Т. А., старший научный сотрудник, лаборатория биохимических и иммуноферментных методов исследований с морфологией, ГУ «Национальный институт терапии имени Л. Т. Малой НАМН Украины», г. Харьков.

Information about authors:

Pivovar S. M., MD, PhD, Senior Researcher of the Department of Clinical Pharmacology and Pharmacogenetics of Non-Communicable Diseases, Government Institution "L. T. Mala Therapy National Institute of the NAMS of Ukraine", Kharkiv, Ukraine.

Rudyk Yu. S., MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Pharmacogenetics of Non-Communicable Diseases, Government Institution "L. T. Malaya Therapy National Institute of the NAMS of Ukraine", Kharkiv, Ukraine.

Lozyk T. V., Researcher of the Department of Clinical Pharmacology and Pharmacogenetics of Non-Communicable Diseases, Government Institution "L. T. Mala Therapy National Institute of the NAMS of Ukraine", Kharkiv, Ukraine.

Halchinska V. Yu., PhD, Head of the Laboratory of Biochemical and Immunoenzyme Methods of Research with Morphology, Government Institution "L. T. Mala Therapy National Institute of the NAMS of Ukraine", Kharkiv, Ukraine.

Chenchyk T. O., Senior Researcher of the Laboratory of Biochemical and Immunoenzyme Methods of Research with Morphology, Government Institution "L. T. Mala Therapy National Institute of the NAMS of Ukraine", Kharkiv, Ukraine.

Список літератури

- [1] Воронков Л. Г., Ільницька М. Р., Бабич П. М. Прогноз пацієнтів із хронічною серцевою недостатністю та систолічною дисфункцією лівого шлуночка залежно від даних неінвазивних методів обстеження. *Український терапевтичний журнал*. 2015. №1. С. 24–31.
- [2] Обоснование, дизайн и результаты украинского многоцентрового исследования КОРИОЛАН (КОРИОЛ – Альтернатива насосной Недостаточности сердца) / Л. Г. Воронков, Г. В. Дзяк, Е. Н. Амосова и др. *Серцева недостатність*. 2015. №2. С. 28–33.
- [3] Рудык Ю. С., Пивовар С. Н., Билецкая О. М. Кардиопротективные механизмы гормонов щитовидной железы. *Украинский терапевтический журнал*. 2013. №3. С. 95–102.
- [4] N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-pro-BNP) in different thyroid function states / M. Schultz, J. Faber, C. Kistorp, et al. *Clin Endocrinol. (Oxf)*. 2004. Vol. 60. P. 54–59. doi: 10.1111/j.1365-2265.2004.01941.x
- [5] Gerdes A. M., Ojamaa K. Thyroid hormone and cardioprotection. *Compr Physiol*. 2016. Vol. 6. Issue 3. P. 1199–1219. doi: 10.1002/cphy.c150012
- [6] Subclinical hypothyroidism is an independent predictor of adverse cardiovascular outcomes in patients with acute decompensated heart failure / T. Hayashi, T. Hasegawa, H. Kanzaki, et al. *ESC Heart Fail*. 2016. Vol. 3. Issue 3. P. 168–176. doi: 10.1002/ehf2.12084
- [7] Usefulness of Serum Triiodothyronine (T3) to Predict Outcomes in Patients Hospitalized With Acute Heart Failure / G. D. Rothberger, S. Gadhvi, N. Michelakis, et al. *Am J Cardiol*. 2017. Vol. 119. Issue 4. P. 599–603. doi: 10.1016/j.amjcard.2016.10.045
- [8] 2016. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC / P. Ponikowski, A. Voors, D. Anker, et al. *European Heart Journal*. 2016. Vol. 37. Issue 27. P. 2129–2200. doi: 10.1093/eurheartj/ehw128
- [9] Larsen P. R., Zavacki A. M. Role of the Iodothyronine Deiodinases in the Physiology and Pathophysiology of Thyroid Hormone Action. *Eur Thyroid J*. 2012. Vol. 1. Issue 4. P. 232–242. doi: 10.1159/000343922
- [10] De Groot L. J. Non-thyroidal illness syndrome is a manifestation of hypothalamic-pituitary dysfunction, and in view of current evidence, should be treated with appropriate replacement therapies. *Crit Care Clin*. 2006. Vol. 22. Issue 1. P. 57–86. doi: 10.1016/j.ccc.2005.10.001
- [11] Low T3 syndrome is a strong prognostic predictor in diffuse large B cell lymphoma / R. Gao, J. H. Liang, L. Wang, et al. *British Journal of Haematology*. 2017. Vol. 177. Issue 1. P. 95–105. doi: 10.1111/bjh.14528
- [12] Iervasi G., Nicolini G. Thyroid hormone and cardiovascular system: from basic concepts to clinical application. *Intern Emerg Med*. 2013. Vol. 8. Suppl 1. S71–4. doi: 10.1007/s11739-013-0911-4
- [13] A loss of function genetic screening identifies novel mediators of thyroid cancer cell viability / M. C. Cantisani, A. Parascandolo, M. Perala, et al. *Oncotarget*. 2016. Vol. 7. P. 28510–28522. doi: 10.18632/oncotarget.8577
- [14] Danzi S., Klein I. Thyroid disease and the cardiovascular system. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2014. Vol. 43. Issue 2. P. 517–528. doi: 10.1016/j.ecl.2014.02.005
- [15] Effects of triiodothyronine replacement therapy in patients with chronic stable heart failure and low-triiodothyronine syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled study / A. Amin, M. Chitsazan, S. Taghavi, et al. *ESC heart failure*. 2015. Vol. 2. Issue 1. P. 5–11.
- [3] Rudyk, Yu. S., Pyvovar, S. N., & Beletskaia, O. M. (2013). Kardioprotektivnye mekhanizmy gormonov shchitovidnoj zhelezy [The cardioprotective mechanisms of thyroid hormones]. *Ukrayinskyi terapevtychnyi zhurnal*, 3, 95–102. [in Russian].
- [4] Schultz, M., Faber, J., Kistorp, C., Jarlov, A., Pedersen, F., Wiinberg, N., & Hildebrandt, P. (2004). N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-pro-BNP) in different thyroid function states. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 60(1), 54–59. doi: 10.1111/j.1365-2265.2004.01941.x
- [5] Gerdes, A. M., & Ojamaa, K. (2016). Thyroid hormone and cardioprotection. *Compr Physiol*, 6(3), 1199–1219. doi: 10.1002/cphy.c150012
- [6] Hayashi, T., Hasegawa, T., Kanzaki, H., Funada, A., Amaki, M., Takahama, H., et al. (2016). Subclinical hypothyroidism is an independent predictor of adverse cardiovascular outcomes in patients with acute decompensated heart failure. *ESC Heart Failure*, 3(3), 168–176. doi: 10.1002/ehf2.12084
- [7] Rothberger, G. D., Gadhvi, S., Michelakis, N., Kumar, A., Calixte, R., & Shapiro, L. E. (2017). Usefulness of Serum Triiodothyronine (T3) to Predict Outcomes in Patients Hospitalized With Acute Heart Failure. *Am J Cardiol*, 119(4), 599–603. doi: 10.1016/j.amjcard.2016.10.045
- [8] Ponikowski, P., Voors, A., Anker, D., Bueno, H., Cleland, J. G. F., Coats, A. J. S., et al. (2016). 2016. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Heart Journal*, 37(27), 2129–2200. doi: 10.1093/eurheartj/ehw128
- [9] Larsen, P. R., & Zavacki, A. M. (2012). Role of the Iodothyronine Deiodinases in the Physiology and Pathophysiology of Thyroid Hormone Action. *Eur Thyroid J*, 1(4), 232–242. doi: 10.1159/000343922
- [10] De Groot, L. J. (2006). Non-thyroidal illness syndrome is a manifestation of hypothalamic-pituitary dysfunction, and in view of current evidence, should be treated with appropriate replacement therapies. *Crit Care Clin*, 22(1), 57–86. doi: 10.1016/j.ccc.2005.10.001
- [11] Gao, R., Liang, J. H., Wang, L., Zhu, H. Y., Wu, J. Z., et al. (2017). Low T3 syndrome is a strong prognostic predictor in diffuse large B cell lymphoma. *British Journal of Haematology*, 177(1), 95–105. doi: 10.1111/bjh.14528
- [12] Iervasi, G., & Nicolini, G. (2013). Thyroid hormone and cardiovascular system: from basic concepts to clinical application. *Intern Emerg Med*, 8. Suppl 1, S71–4. doi: 10.1007/s11739-013-0911-4
- [13] Cantisani, M. C., Parascandolo, A., Perala, M., Allocca, C., Fey, V., Sahlberg, N., et al. (2016). A loss-of-function genetic screening identifies novel mediators of thyroid cancer cell viability. *Oncotarget*, 7(19), 28510–28522. doi: 10.18632/oncotarget.8577
- [14] Danzi S., Klein I. Thyroid disease and the cardiovascular system. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2014. Vol. 43. Issue 2. P. 517–528. doi: 10.1016/j.ecl.2014.02.005
- [15] Effects of triiodothyronine replacement therapy in patients with chronic stable heart failure and low-triiodothyronine syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled study / A. Amin, M. Chitsazan, S. Taghavi, et al. *ESC heart failure*. 2015. Vol. 2. Issue 1. P. 5–11.

References

- [1] Voronkov, L. G., Ільницька, М. Р., & Бабич, П. М. (2015) Prohnoz patsientiv iz khronichnoiu sertsevoiu nedostatnistiu ta systolichnoiu dysfunksiieiu livooho shlunochka zalezno vid danykh neinvazyvnykh metodiv obstezhennia [The prognosis of patintes with chronic heart failure and left ventricular systolic dysfunction depending on the data noninvasive method examination]. *Ukrayinskyi terapevtychnyi zhurnal*, 1, 24–31. [in Ukrainian].
- [2] Voronkov, L. G., Dzyak, G. V., Amosova, E. N., Bagrij, A. E., Volkov, V. I., & Lutaj, M. I. (2015). Obosnovanie, dizajn i rezul'taty ukraynskogo mnogocentrovogo issledovaniya KORIOLAN (KORIOЛ – A'l'ternativa nasosnoj Nedostatocnosti serdca). [Rationale, design, and the results of Ukrainian multicenter study KORIOLAN (KORIOЛ – Alternative pumping Heart Failure)]. *Sertseva nedostatnist*, 2, 28–33. [in Russian].

Features of the connective tissue metabolism, the content of adipokines and cytokeratin-18 in patients with non-alcoholic steatohepatitis combined with osteoarthritis and obesity

O. S. Khukhlina*^{E,F}, O. D. Liakhovych^{A,B,C}, L. V. Kaniovska^{E,B}, O. V. Kaushanska^{E,B},
V. O. Shuper^{E,C}

Higher State Educational Establishment "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine

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

Key words:

nonalcoholic steatohepatitis, connective tissue, adipokines, cytokeratin-18.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (4), 444–448

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.4.173182

*E-mail: oksanakhukhlina@gmail.com

Aim. To determine the indices of connective tissue metabolism, adipokines and cytokeratin-18 in non-alcoholic steatohepatitis patients with osteoarthritis and obesity comorbidities.

Materials and methods. 90 patients were examined and divided into three groups: group 1 (n = 30) included patients suffering from OA grade II–III according to Kellgren and Lawrence classification with normal body mass (BMI = 21–25 kg/m²), group 2 (n = 30) – patients with NASH and OB without OA (BMI > 30 kg/m²), group 3 (n = 30) – patients with OA with NASH and OB (BMI more than 30 kg/m²). The control group consisted of 30 age-matched practically healthy persons (PHP). The average age of patients was (62.3 ± 5.7) years.

Results. In NASH patients with OB and OA, there is a significant increase in the synthesis of collagen and glycosaminoglycans which is accompanied by ineffective resorption of newly formed collagen due to inhibition of the collagenolytic activity of blood plasma in NASH arising from activation of proteinase inhibitors (α2-MG), a significant imbalance in the metabolic system of connective tissue, which, particularly in OA and OB comorbidities, leads to progressive fibrosis of the liver and its functions impairment. It has been established that blood adipokines level not only depends on body weight, but also reflects the risk for occurrence of nosologies associated with OB.

Conclusions. In patients with NASH and morbid OB, a significant increase in collagen and glycosaminoglycans synthesis was observed. Adipokine deficiency, found in the work, can play a significant pathogenetic role in the development and progression of NASH as well as OB and OA. Adipokines leptin and adiponectin and also cytokeratin-18 may serve as sensitive risk markers for comorbid diseases development and could be candidates for their measurements inclusion in the diagnostic algorithm for NASH, OA, OB and their combination.

Ключові слова:

неалкогольний стеатогепатит, сполучна тканина, адипокіни, цитокератин-18.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 444–448

Особливості метаболізму сполучної тканини, вміст адипокінів і цитокератину-18 у хворих на неалкогольний стеатогепатит, що поєднаний з остеоартрозом та ожирінням

О. С. Хухліна, О. Д. Ляхович, Л. В. Каньовська, О. В. Каушанська, В. О. Шупер

Мета роботи – визначити показники обміну сполучної тканини, адипокінів і цитокератину-18 у хворих на неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) за коморбідності з остеоартрозом (ОА) та ожирінням (ОЖ).

Матеріали та методи. Обстежили 90 пацієнтів, яких поділили на 3 групи: 1 група (n = 30) – хворі, які страждають на ОА колінних суглобів II–III стадії за Kellgren і Lawgense з нормальною масою тіла (ІМТ = 21–25 кг/м²), 2 групу (n = 30) – пацієнти з НАСГ та ожирінням без ОА (ІМТ >30 кг/м²), 3 групу (n = 30) – пацієнти з ОА, НАСГ та ожирінням (ІМТ понад 30 кг/м²). Контрольна група – 30 практично здорових осіб відповідного віку. Середній вік хворих становив 62,3 ± 5,7 року.

Результати. У хворих на НАСГ, що поєднаний з ожирінням та остеоартрозом, встановили істотне підвищення синтезу колагену та глікозаміногліканів, котре супроводжується неефективною резорбцією новоутвореного колагену внаслідок гальмування колагенолітичної активності плазми крові при НАСГ, що виник унаслідок активації інгібіторів протеїназ (α2-МГ), дисбалансу в системі метаболізму сполучної тканини. Це, особливо за умов супутніх ОА та ОЖ, призводить до фіброзування печінки, що прогресує, та порушення її функцій. Встановлено, що рівень адипокінів у крові залежить не тільки від маси тіла, але й показує ризик виникнення нозологій, асоційованих із гладкістю.

Висновки. У хворих на неалкогольний стеатогепатит, що виник на тлі ожиріння, встановлено істотне підвищення синтезу колагену та глікозаміногліканів. Дефіцит адипонектину може відігравати важливу патогенетичну роль у розвитку та прогресуванні як НАСГ, так і ожиріння та остеоартрозу. Адипокіни лептин та адипонектин і цитокератин-18 можуть бути чутливими маркерами ризику розвитку коморбідних захворювань, а отже можуть стати кандидатами на включення їх визначення в діагностичний алгоритм при НАСГ, ОА і ОЖ та їх поєднанні.

Особенности метаболизма соединительной ткани, содержание адипокинов и цитокератина-18 у больных с неалкогольным стеатогепатитом, совмещенным с остеоартрозом и ожирением

О. С. Хухлина, О. Д. Ляхович, Л. В. Канёвская, Е. В. Каушанская, В. А. Шупер

Цель работы – определить показатели обмена соединительной ткани, адипокинов и цитокератина-18 у больных с неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) при коморбидности с остеоартрозом (ОА) и ожирением (ОЖ).

Материалы и методы. Обследовали 90 пациентов, которые разделены на 3 группы: 1 группу (n = 30) составили больные, страдающие ОА коленных суставов II–III стадии по Kellgren и Lawrense с нормальной массой тела (ИМТ = 21–25 кг/м²), 2 группу (n = 30) – пациенты с НАСГ и ожирением без ОА (ИМТ >30 кг/м²), 3 группу (n = 30) – пациенты с ОА с НАСГ и ожирением (ИМТ более 30 кг/м²). Контрольную группу составили 30 здоровых лиц соответствующего возраста. Средний возраст больных – 62,3 ± 5,7 года.

Результаты. У больных НАСГ на фоне ожирения и остеоартроза установлено существенное повышение синтеза коллагена и гликозаминогликанов, которое сопровождается неэффективной резорбцией новосинтезированного коллагена вследствие торможения коллагенолитической активности плазмы крови при НАСГ, возникшем вследствие активации ингибиторов протеиназ (α2-МГ), дисбаланса в системе метаболизма соединительной ткани. Это, особенно в условиях сопутствующих ОА и ОЖ, приводит к прогрессирующему фиброзированию печени и нарушению ее функций. Установлено, что уровень адипокинов в крови зависит не только от массы тела, но и отражает риск возникновения нозологий, ассоциированных с тучностью.

Выводы. У больных неалкогольным стеатогепатитом, который возник на фоне ожирения, установлено существенное повышение синтеза коллагена и гликозаминогликанов. Дефицит адипонектина может играть важную патогенетическую роль в развитии и прогрессировании как НАСГ, так и ожирения и остеоартроза. Адипокины лептин и адипонектин, а также цитокератин-18 могут быть чувствительными маркерами риска развития коморбидных заболеваний, а значит могут стать кандидатами на включение их определения в диагностический алгоритм при НАСГ, ОА и ОЖ и их сочетании.

Ключевые слова: неалкогольный стеатогепатит, соединительная ткань, адипокины, цитокератин-18.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 444–448

Relevance

Modern achievements in hepatology have contributed to the recognition of the leading role of the connective tissue (CT) system in the pathogenesis of liver disease progression [7]. Liver fibrosis is a progressive pathological process that persists on the background of inflammation and leads to excessive matrix components accumulation in the extracellular space. If this process is accompanied by an ineffective resorption of the CT, as well as an excessive regeneration, it leads to distortion of the normal liver architectonics, and as a consequence, to liver cirrhosis [5]. Scientists are currently attempting to find possible biochemical markers of liver fibrosis degree [11].

Osteoarthritis (OA) is one of the most common diseases of joints, which is accompanied by a decrease in the quality of life and disability. Recently, the data on certain OA-related phenotypes were obtained. The age-associated, estrogen-dependent, genetically determined, pain, post-traumatic, crystalline-induced and metabolic ones are the most common OA phenotypes, which differ in pathogenetic processes and clinical manifestations [3, 10]. Metabolic variant of OA phenotype is one of the most frequent and associated with metabolic syndrome and low-grade inflammation. It has become an interest of scientists to find the relationship between the components of metabolic syndrome, proinflammatory cytokines activity and the metabolic state of CT components in patients with OA.

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a potential component of the metabolic syndrome including a range of clinical and morphological concepts: liver steatosis, nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and may be complicated by liver fibrosis and cirrhosis development. The pathogenetic causes of NAFLD are mostly insulin resistance (IR) and an imbalance in adipocytokines and hormone-like substances regulating fat metabolism. Adiponectin and leptin are biologically active compounds produced by adipose tissue, which are not only essential for lipids and carbohydrates metabolism regulation, but also affect the vascular wall state, inflammatory processes and thrombus formation. The literature data provide evidence that low levels of adiponectin are associated with the development of OB and IR. Other authors also point to the key role of leptin in the regulation of fat and carbohydrate metabolism as a link to atherosclerosis and NAFLD [1]. On the other hand, adipokines can play a certain role in the development of arthritis and osteoarthritis [2].

Aim

To determine the indices of connective tissue metabolism, adipokines and cytoke-
ratin-18 in non-alcoholic steatohepatitis patients with osteoarthritis and obesity comorbidities.

Materials and methods

A total of 90 patients were examined and divided into three groups: group 1 (n = 30) included patients suffering from OA grade II–III according to Kellgren and Lawrence classification with normal body mass (BMI = 21–25 kg/m²), group 2 (n = 30) – patients with NASH and OB without OA (BMI >30 kg/m²), group 3 (n = 30) – patients with OA with NASH and OB (BMI more than 30 kg/m²). The control group consisted of 30 healthy age-matched individuals. The average age of patients was 62.3 ± 5.7 years.

NASH was diagnosed based on anamnestic, clinical, laboratory data, detection of the serum hepatitis B and C viruses markers, the results of USG according to the unified clinical protocol, approved by the Order of the Ministry of Health of Ukraine of 06.11.2014 No 826, in the presence of the criteria for exclusion of chronic diffuse liver disease of viral, hereditary, autoimmune or drug-induced genesis as causes of cholestatic or cytolytic syndromes, taking into account the 10th revision of ICE. OA was diagnosed based on the EULAR recommendations (2010) and the Order of the Ministry of Health of Ukraine of October 12, 2006, No 676 “Clinical Protocol for the Provision of Medical Aid to Patients with Osteoarthritis” under section 13 “Rheumatology” and the Protocol of the Ministry of Health of Ukraine of April 11, 2014, No 263 under section “Rheumatology”. The presence of abdominal OB in patients was assessed based on the Order of the Ministry of Health of Ukraine of January 14, 2013 No 16 “Methodical Recommendations for General Practitioners of Family Medicine on Counseling Patients regarding the Basic Principles of Healthy Eating”.

Changes in the metabolism of the extracellular matrix components were determined by free oxyproline (FOP) content in the blood according to S. S. Tetianets method (1985), protein-bound blood oxyproline (PBOP) by M. S. Osadchuk method (1979), hexosamines (HA) by O. G. Arhipova method (1988), sialic acids (SA), non-protein-bound fucose by “Danush Ltd” company sets (Lviv), ceruloplasmin (CP) with sets by Revin method (1976).

Using ELISA kits, the serum levels of leptin (Diagnostics Biochem Canada Inc, Canada), adiponectin (Mediagnost, Germany) and cytokeratin-18 (CK-18) (IDL Biotech, Sweden) were determined.

The statistical processing of the study results was carried out on a personal computer with the help of the standard applications Microsoft Excellence and SPSS Statistics 20 Multilingual. The mean values (M), the arithmetic mean (t), and the validity of the differences p according to Student's t-distribution were evaluated. The difference in indices for various periods of the study was considered significant at $P < 0.05$. To determine the relationship between the indicators, Kendall's tau-b correlation coefficient was used.

Results

The analysis of the fibrosing reactions degree in NASH revealed a significant increase in blood PBOP content in patients of all groups: group 1 – by 1.27 times, group 2 – by 4.34 times, group 3 – by 5.02 times compared to the PHP ($P < 0.05$), which indicated a high activity of collagen anabolism in this contingent of individuals.

The blood content of FOP (Table 1) which is the biochemical marker for collagen catabolism, varied as follows: in the patients of group 1 – increased by 1.27 times, in patients of group 2 – decreased by 1.25 times, in patients of group 3 – increased by 1.31 times compared to the PHP ($P < 0.05$).

Regarding the glycosaminoglycan and glycoprotein components of CT metabolism in patients with steatohepatitis, the following results should be mentioned. In particular, the content of GA in patients of all groups was increased: in group 1 – by 1.71 times, in group 2 – by 1.22 times, in group 3 – by 1.4 times compared to the PHP ($P < 0.05$). At the same time, SA serum levels in the patients of all groups were increased more intensively: by 1.38, 1.93 and 3.41 times ($P < 0.05$), respectively (Table 1). It should be noted that GA and SA contents were strongly directly correlated with the indicators of inflammatory process and cytolysis degree in the liver: between serum GA content and ALT

activity ($r = 0.62$, $P < 0.05$), between GA content and AST activity ($r = 0.64$, $P < 0.05$), between SA content and ALT activity ($r = 0.71$, $P < 0.05$), as well as between GA content and γ -globulins level ($r = 0.64$, $P < 0.05$).

Indicators of non-protein bound fucose (NPBF) content were also increased significantly in patients of all groups by 1.96, 1.71 and 2.12 times, respectively (Table 1), and exceeded the content of those in the PHP group ($P < 0.05$). The obtained data testify that in NASH patients with OB there is an induction of catabolism of fucoglycoproteins of extracellular matrix (ECM), which is the most intense in OA comorbidity.

Plasma inhibitory activity is represented by α 1-proteinase inhibitor (α 1-PI) and α 2-macroglobulin (α 2-MG) in 95 %. In particular, we found significant ($P < 0.05$) increase in α 2-MG content in patients of all groups: in group 1 – by 1.53 times, in group 2 – by 1.3 times, in group 3 – by 1.74 times in comparison with that in the control group. Patients with NASH and OB had the lowest α 2-macroglobulin content, which contributed to diffuse liver fibrosis development in response to chronic inflammation. A reverse correlation between the indices of serum FOP content and α 2-MG ($r = -0.53$, $P < 0.05$) was established.

An analysis of changes in blood components of other ECM elements of protein origin, namely ceruloplasmin, showed its increase in patients of all groups with a significant prevalence among patients of group 3 ($P < 0.05$). Serum ceruloplasmin content in patients of this group was directly correlated with the indicators of cytolysis syndrome activity: with ALT ($r = 0.64$, $P < 0.05$) and AST ($r = 0.65$, $P < 0.05$). We established a strong direct correlation between indicators of serum ceruloplasmin and activity of alkaline phosphatase (ALP) ($r = 0.71$, $P < 0.05$).

The analysis of serum leptin level in the studied groups revealed the following significant changes: in a combined progression of NASH, OA and OB, its highest concentration was observed and it was 5.02 times higher than in the control ($P < 0.05$) (Table 2). In individuals with NASH secondary to OB, the level of leptin was 4.34 times higher than that

Table 1. Indicators of metabolic state of connective tissue in NASH patients with obesity and osteoarthritis comorbidities (M \pm m)

	Practically healthy persons (n = 30)	OA with normal body weight (n = 30) 1 group	NASH + OB (n = 30) 2 group	NASH + OB+ OA (n = 30) 3 group
PBOP, μ mol/l	39.89 \pm 0.30	56.96 \pm 0.30*	64.08 \pm 0.31 ^o	86.44 \pm 0.34 ^{ox}
FOP, μ mol/l	11.98 \pm 0.34	18.51 \pm 0.32*	9.61 \pm 0.43 ^o	15.66 \pm 0.42 ^{ox}
GA, mmol/l	5.77 \pm 0.29	9.87 \pm 0.27*	7.02 \pm 0.28 ^o	8.07 \pm 0.25 ^{ox}
SA, mmol/l	2.24 \pm 0.16	3.10 \pm 0.13*	4.33 \pm 0.13 ^o	7.64 \pm 0.15 ^{ox}
NPBF, μ mol/l	37.87 \pm 0.63	74.32 \pm 0.52*	64.84 \pm 0.53 ^o	80.45 \pm 0.44 ^{ox}
CP, mmol/l	12.18 \pm 0.33	14.58 \pm 0.38*	15.40 \pm 0.41*	22.38 \pm 0.34 ^{ox}
α 2-MG, μ mol/l	2.42 \pm 0.09	3.70 \pm 0.09*	3.18 \pm 0.07 ^o	4.21 \pm 0.05 ^{ox}

*: the difference in indicators is significant ($P < 0.05$) as compared with the group of practically healthy individuals; ^o: the difference in indicators is significant ($P < 0.05$) between group 1 and groups 2 and 3; ^{ox}: the difference in indicators is significant ($P < 0.05$) between groups 2 and 3.

Table 2. Indicators of the serum content of leptin, adiponectin and cytokeratin-18 in NASH patients with obesity and osteoarthritis comorbidities (M \pm m)

	Practically healthy persons (n = 30)	OA with normal body weight (n = 30) 1 group	NASH + OB (n = 30) 2 group	NASH + OB+ OA (n = 30) 3 group
Leptin, ng/ml	10.05 \pm 0.54	12.80 \pm 0.60*	43.62 \pm 0.55 ^o	50.47 \pm 0.71 ^{ox}
Adiponectin, ng/ml	8.42 \pm 0.55	6.73 \pm 0.50*	4.03 \pm 0.21 ^o	5.72 \pm 0.41 ^{ox}
Cytokeratin 18, U/l	60.00 \pm 2.29	124.53 \pm 1.53*	266.50 \pm 9.49 ^o	318.80 \pm 15.44 ^{ox}

*: the difference in indicators is significant ($P < 0.05$) as compared with the group of practically healthy individuals; ^o: the difference in indicators is significant ($P < 0.05$) between group 1 and groups 2 and 3; ^{ox}: the difference in indicators is significant ($P < 0.05$) between groups 2 and 3.

in the control group; in patients with OA and normal BMI, this indicator was 1.27 times higher compared to the PHP ($P < 0.05$) with a significant intergroup difference.

The analysis of serum adiponectin revealed a decrease in their content in all study groups. In individuals with NASH and morbid OB, this indicator was the lowest and significantly 2.09 times ($P < 0.05$) lower than in the PHP group. In combined course of NASH with OA and OB, the level of serum adiponectin was 1.47 times lower in comparison with the PHP ($P < 0.05$). In the group of patients with OA and normal BMI, this indicator was 1.25 times lower than in the PHP ($P < 0.05$) with a significant intergroup difference.

Analyzing the level of cytokeratin-18 in the comparison groups, we found that it 2.08 times exceeded the control indicators in the patients of group 1; in the patients of group 2, it was 4.44 times higher in the control group, and 5.31 times higher in the patients of group 3. That is, we can say that in NAFLD patients at the stage of NASH, especially in the case of comorbidity, plasma levels of cytokeratin-18 were significantly increased.

As a result of the correlation analysis between the indices of the CT metabolism, adipokines and cytokeratin-18, the following data were obtained: adiponectin content was directly correlated with the content of FOP ($r = 0.47$, $P < 0.05$) and GA ($r = 0.42$, $P < 0.05$). The indicators of leptin were directly correlated with the content of PBOP ($r = 0.65$, $P < 0.05$), SA ($r = 0.66$, $P < 0.05$), NPBF ($r = 0.55$, $P < 0.05$) and CP ($r = 0.63$, $P < 0.05$). It should be noted that the indices of cytokeratin-18 were directly correlated with the indices of CT metabolism, in particular with the content of PBOP ($r = 0.72$, $P < 0.05$), GA content ($r = 0.43$, $P < 0.05$) and SA ($r = 0.72$, $P < 0.05$), with the content of NPBF ($r = 0.65$, $P < 0.05$) and CP ($r = 0.74$, $P < 0.05$).

The optimal distribution points of the CK-18 biomarker for the diagnosis of liver steatosis in patients with OA and OB were determined using the ROC-analysis. The indicator had an area under the curve (AUC) of more than 0.8 (0.89), indicating the value of the selected biomarker (high quality model). Consequently, based on the performed ROC analysis, it has been proved that CK-18 is a sensitive marker associated with the presence of liver steatosis and can be used for early diagnosis of NASH in patients with OA and OB.

Discussion

According to the study results, an increase in the synthesis of collagen accompanied by a decrease in the processes of newly formed collagen resorption was found in NASH patients, while in OA, there was a catabolic activation of the extracellular matrix structural components induced by proteolytic enzymes overexpression. Thus, there was a degradation of collagen fibrils consisting mainly of type I collagen. In particular, these processes could be activated as a result of adipokines action, which are secreted by adipose tissue and affect the functions of cartilage and bone tissue.

High serum levels of GA and SA in NASH patients, especially in OA and OB comorbidities, could contribute to so-called collagen cementation in ECM reducing the probability of its resorption.

The obtained data indicate that there was a significant increase in the synthesis of collagen and glycosaminogly-

cans in NASH patients with OB and OA, which was accompanied by ineffective resorption of newly formed collagen due to inhibition of collagenolytic activity of blood plasma in NASH, arising from activation of proteinase inhibitors ($\alpha 2$ -MG), a significant imbalance in the metabolic system of CT, which, particularly in OA and OB comorbidities, leads to progressive fibrosis of the liver and its functions impairment.

The combined course of NASH, OA and OB was characterized by adipokine imbalance, which manifested itself in the increase in leptin serum level and the decrease in adiponectin.

Cytokeratin-18 (CK-18) is one of the most promising markers for diagnosis of NAFLD. It is believed that apoptosis of hepatocytes plays a crucial role in NAFLD progression, liver fibrosis and cirrhosis formation. In the development of apoptosis of hepatocytes, caspases, which cleave cytokeratin-18, are generally activated [8]. Numerous studies have shown that these cleaved fragments can be detected using monoclonal antibodies.

CK-18 is the main cytoskeletal protein of hepatocytes and other epithelial cells. It has been previously reported as circulating mechanistic indicator of cell death [6]. Two forms of CK-18 can be observed in blood plasma: the full-length form (CK-18 M65) and the caspase-cleaved form (CK-18 M30). The CK-18 M65 is used to assess necrosis, while the CK-18 M30 is used specifically to evaluate the rate of apoptosis [4].

The accumulated data indicate that hepatocyte apoptosis plays an important role in chronic liver disease [13]. By a meta-analysis of eight case-controlled studies, the researchers found that plasma levels of CK-18 could be a significant risk factor for NASH, chronic hepatitis C (CHC) and chronic hepatitis B (CHB) [12]. Some reports also showed that plasma levels of the CK-18 M30 were associated with NASH progression in obese patients [9].

The above data suggest that adipokines and cytokeratin-18 are sensitive markers of hepatocyte apoptosis, CT imbalance, and, consequently, the progression of liver fibrotic changes.

Conclusions

In patients with NASH and morbid OB, a significant increase in collagen and glycosaminoglycans synthesis was observed. It was accompanied by an ineffective resorption of newly formed collagen due to collagenolytic activity of blood plasma inhibition in NASH resulted from activation of proteinase inhibitors ($\alpha 2$ -MG), significant imbalance in the CT metabolism, which was worsened by accompanying OA leading to progressive liver fibrosis and dysfunction.

Taking into account that adiponectin was found to be positively correlated with the insulin sensitivity indices, active in body weight regulation, proinflammatory agent in joint diseases and involved in degradation of articular cartilage matrix, the adipokine deficiency, found in the work, may play a significant pathogenetic role in the development and progression of NASH as well as OB and OA.

Thus, the blood level of adipokines and CK-18 not only depends on body weight, but also reflects the risk for occurrence of nosologies associated with OB. Besides, leptin and adiponectin may serve as sensitive risk markers for

comorbid diseases development and could be candidates for their measurements inclusion in the diagnostic algorithm for NASH, OA, OB and their combination.

The prospect of further research. The study of the CT metabolism, the content of adipokines and CK-18 under the influence of various hepatotropic drugs in NASH with OB and OA comorbidities.

Funding

The study was carried out on the basis of the Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University" and is a part of scientific research work of the Department of Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases "Features of the Comorbidity of Diseases of Internal Organs: Risk Factors, Mechanisms of Development and Interaction, Pharmacotherapy" (State registration number: 0114U002475).

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

Надійшла до редакції / Received: 28.09.2018
Після доопрацювання / Revised: 19.10.2018
Прийнято до друку / Accepted: 30.10.2018

Information about the authors:

Khukhlina O. S., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi.
Liakhovych O. D., MD, Postgraduate Student of the Department of Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi.
Kaniowska L. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi.
Kaushanska O. V., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi.
Shuper V. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Internal Medicine, Clinical Pharmacology and Occupational Diseases, Bukovinian State Medical University, Chernivtsi.

Відомості про авторів:

Хухліна О. С., д-р мед. наук, професор, зав. каф. внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна.
Ляхович О. Д., аспірант каф. внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна.
Каньовська Л. В., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна.
Каушанська О. В., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна.
Шупер В. О., канд. мед. наук, доцент каф. внутрішньої медицини, клінічної фармакології та професійних хвороб, ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, Україна.

Сведения об авторах:

Хухлина О. С., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. внутренней медицины, клинической фармакологии и профессиональных болезней, ВГУЗ «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина.

Ляхович О. Д., аспирант каф. внутренней медицины, клинической фармакологии и профессиональных болезней, ВГУЗ «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина.
Каньовская Л. В., канд. мед. наук, доцент каф. внутренней медицины, клинической фармакологии и профессиональных болезней, ВГУЗ «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина.
Каушанская Е. В., канд. мед. наук, доцент каф. внутренней медицины, клинической фармакологии и профессиональных болезней, ВГУЗ «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина.
Шупер В. А., канд. мед. наук, доцент каф. внутренней медицины, клинической фармакологии и профессиональных болезней, ВГУЗ «Буковинский государственный медицинский университет», г. Черновцы, Украина.

References

- [1] Babak, O. Ya., & Andreeva, A. O. (2013) Hormonalni zminy v zhivovii tkanyini khvorykh na hipertonichnu khvorobu i ozhyrinnia [The hormonal changes in adipose tissue in patients with hypertension against the background of obesity]. *Ukrainskyi terapevtychnyi zhurnal*, 1, 63–7. [in Ukrainian].
- [2] Babak, O. Ya., & Lapshyna, K. A. (2016) Lechebnaya taktika u pacientov s nealkogol'noj zhirovoj bolezn'yu pecheni s uchetom urovnya citokeratina-18 v plazme krvi [Therapeutic strategy in patients with non-alcoholic fatty liver disease, considering cytokeratin-18 level determination in blood plasma]. *Suchasna gastroenterologia*, 2, 15–20. [in Russian].
- [3] Golovach, I. Yu. (2014) Osteoartrit: sovremennye fundamental'nye i prikladnye aspekty patogeneza zabolvaniya [Osteoarthritis: modern fundamental and applied aspects of the pathogenesis of the disease]. *Bol'. Sustavy. Pozvonochnik*, 3, 54–8. [in Russian].
- [4] Dynnyk, N. V. (2016) Zastosuvannya neinvazyvnykh biomarkeriv ta mistse tsytokeratynu 18 u diahnostytsi patsientiv z nealkoholnoiu zhirovuiu khvorobou pechinky [The use of non-invasive biomarkers and cytokeratin 18 in the diagnosis of patients with non-alcoholic fatty liver disease]. *Ukrainskyi naukovy-medychnyi molodizhnyi zhurnal*, 2, 12–8. [in Ukrainian].
- [5] Alam, S., Alam, M., Alam, S. M., Chowdhury, Z., & Kabir, J. (2015) Prevalence and Predictor of Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH) in Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Journal of Bangladesh College of Physicians and Surgeons*, 32(2), 71–77. doi: 10.3329/jbcps.v32i2.26034
- [6] Casteda, S., Roman-Blas, J. A., Largo, R., & Herrero-Beaumont, G. (2014) Osteoarthritis: a progressive disease with changing phenotypes. *Rheumatology (Oxford)*, 53(1), 1–3. doi: 10.1093/rheumatology/ket247
- [7] Chakraborty, J. B., Oakley, F., & Walsh, M. J. (2012) Mechanisms and biomarkers of apoptosis in liver disease and fibrosis. *Int J Hepatol*, 2012, 648915. doi: 10.1155/2012/648915
- [8] Fujii, H., & Kawada, N. (2012) Inflammation and fibrogenesis in steatohepatitis. *J Gastroenterol*, 47(3), 215–25. doi: 10.1007/s00535-012-0527-x
- [9] Haima, P. (2014) *Non-invasive Detection of Liver Injury and Fatty Liver Disease. Use of the Apoptosis Specific Biomarker Cytokeratin-18 (ck18) to detect non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and predict progressive liver disease.* Switzerland: TECOmedical Group. 16 p.
- [10] K-Kutala, B., Bedossa, P., Guedj, J., Asselath, T., Martinot-Peignoux, M., Duval, X., & Marcellin, P. (2015) Patients with chronic hepatitis C without advanced fibrosis and hepatocellular carcinoma: a retrospective clinical-pathological study. *Dig Liver Dis.*, 47(4), 296–302. doi: 10.1016/j.dld.2014.12.010
- [11] Liang, J., Liu, F., Wang, F., Han, T., Jing, L., Ma, Z., & Gao Y. (2017) A Noninvasive Score Model for Prediction of NASH in Patients with Chronic Hepatitis B and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Biomed Res Int*, 2017, 8793278. doi: 10.1155/2017/8793278
- [12] Rosso, C., Caviglia, G. P., Abate, M. L., Vanni, E., Mezzabotta, L., Touscoz, G. A., et al. (2016) Cytokeratin 18-Aspartate396 apoptotic fragment for fibrosis detection in patients with non-alcoholic fatty liver disease and chronic viral hepatitis. *Dig Liver Dis.*, 48(1), 55–61. doi: 10.1016/j.dld.2015.09.008
- [13] Yang, Z. H., Yang, S. X., Qin, C. Z., & Chen, Y. X. (2015) Clinical values of elevated serum cytokeratin-18 levels in hepatitis: a meta-analysis. *Hepat Mon*, 15(5), e25328. doi: 10.5812/hepatmon.15(5)2015.25328

Реактивність кардіореспіраторної системи в пацієнтів із бронхіальною астмою за даними тестів із керованим диханням

О. П. Романчук^{2,A,F}, В. І. Величко^{1,E,D}, Я. І. Бажора*^{1,B,C}

¹Одеський національний медичний університет, Україна, ²Одеський медичний інститут Міжнародного гуманітарного університету, Україна

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

Бронхіальна астма (БА) нині визначена як алергічне запалення дихальних шляхів, з яким пов'язана гіперреактивність бронхів до різних стимулів. В основі клінічної картини БА – бронхообструктивний синдром, що є поліморфним за механізмом формування, котрий визначає гетерогенність патогенезу БА. Через анатомічний і функціональний взаємозв'язок із серцево-судинною системою, цей механізм слід розглядати комплексно, вивчаючи зміни у складі поєднаної кардіореспіраторної системи.

Мета роботи – визначити регуляторні особливості перебігу БА різного ступеня важкості під час тестів із керованим диханням.

Матеріали та методи. Обстежили 86 пацієнтів жіночої (59 %) і чоловічої (41 %) статі віком $41,0 \pm 0,8$ року. Хворих поділили на 2 групи: перша (група порівняння) – 27 пацієнтів, друга (основна) – 59 пацієнтів із клінічно підтвердженим персистируючим, або неконтрольованим перебігом БА. На амбулаторному етапі лікування використовували комплексний поліфункціональний метод дослідження кардіореспіраторної системи – спіроартеріокардіоритмографію (САКР). Здійснили 3 послідовні двохвилинні реєстрації: з некерованим диханням (НД), із керованим диханням 6 разів/хв ($КД_6$), із керованим диханням 15 разів/хв ($КД_{15}$). Регуляторні впливи визначали на підставі спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму (ВСР) і дихання (ВД). Спектральний аналіз виконали у 3 частотних діапазонах: понад низькочастотному (VLF, 0,00–0,04 Гц), низькочастотному (LF, 0,04–0,15 Гц), високочастотному (HF, 0,15–0,40 Гц).

Результати. Кардіореспіраторна система пацієнтів із НК БА відзначається збільшенням ЧСС при $КД_{15}$, меншими абсолютними показниками ВСР, збільшенням внеску LFn і зменшенням внеску HFn, зниженням показників чутливості артеріального барорефлексу, істотним підвищенням показників ВД; встановили збільшення ДО, ДО/Твд, ДО/Твид і ХОД, а також погіршення частотної та об'ємної синхронізації кардіореспіраторної системи.

Висновки. Використання тестів із керованим диханням дало змогу виявити характерні регуляторні особливості розвитку та перебігу бронхіальної астми. Можна передбачити їхнє широке впровадження у практику діагностики та моніторингу перебігу цього захворювання.

Ключові слова:

бронхіальна астма, спіроартеріокардіоритмографія, дихання тести.

Запорізький медичний журнал.

– 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 449–457

DOI:

10.14739/2310-1210.2019.4.173191

*E-mail:

yana19_91@ukr.net

Реактивность кардиореспираторной системы у пациентов с бронхиальной астмой по данным тестов с управляемым дыханием

А. П. Романчук, В. И. Величко, Я. И. Бажора

Сегодня бронхиальная астма (БА) определяется как аллергическое воспаление дыхательных путей, с которым связана гиперреактивность бронхов к различным стимулам. В основе клинической картины БА лежит бронхообструктивный синдром, который является полиморфным по механизму формирования и определяет гетерогенность патогенеза БА. В силу анатомической и функциональной взаимосвязи с сердечно-сосудистой системой, этот механизм следует рассматривать комплексно, изучая изменения в составе объединенной кардиореспираторной системы.

Цель работы – определить регуляторные особенности течения БА различной степени тяжести при выполнении тестов с управляемым дыханием.

Материалы и методы. Обследованы 86 пациентов женского (59 %) и мужского (41 %) пола в возрасте $41,0 \pm 0,8$ года. Больных поделили на 2 группы: первая (група сравнения) – 27 пациентов, вторая (основная) – 59 пациентов с клинически подтвержденным персистирующим или неконтролируемым течением БА. На амбулаторном этапе лечения использовали комплексный полифункциональный метод исследования кардиореспираторной системы – спиреоартериокардиоритмографию (САКР). Проводили 3 последовательные двухминутные регистрации: с неуправляемым дыханием (НД), с управляемым дыханием 6 раз в минуту ($КД_6$) и с управляемым дыханием 15 раз в минуту ($КД_{15}$). Регуляторные влияния определяли на основании спектрального анализа вариабельности сердечного ритма (ВСР), артериального давления и дыхания (ВД). Спектральный анализ проводили в 3 частотных диапазонах: более низкочастотном (VLF, 0,00–0,04 Гц), низкочастотном (LF, 0,04–0,15 Гц) и высокочастотном (HF, 0,15–0,40 Гц).

Результаты. Кардиореспираторная система пациентов с неконтролируемым течением БА отличается увеличением ЧСС при $КД_{15}$, сниженными абсолютными показателями ВСР, увеличением вклада LFn и уменьшением вклада HFn, снижением показателей чувствительности артериального барорефлекса, повышением показателей ВД; отмечено также увеличение ДО, ДО/Твд, ДО/Твид та ХОД, а также ухудшение частотной и объемной синхронизации кардиореспираторной системы.

Вывод. Использование тестов с управляемым дыханием позволило выявить характерные регуляторные особенности развития и течения бронхиальной астмы. Можно предложить их широкое внедрение в практику диагностики и мониторинга течения астмы.

Ключевые слова:

бронхиальная астма, спиреоартериокардиоритмография, дыхания тесты.

Запорожский медицинский журнал.

– 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 449–457

Key words:
bronchial asthma,
spiroarteriocar
diorythmograph
hy, breath tests.

Zaporozhye
medical journal
2019; 21 (4), 449–457

Reactivity of cardiorespiratory system in bronchial asthma patients according to the tests with respiratory maneuvers performance

O. P. Romanchuk, V. I. Velychko, Ya. I. Bazhora

Today asthma is defined as allergic inflammation of the respiratory tract, which is associated with hyperreactivity of the bronchi to various stimuli. The basis of asthma clinical picture forms broncho-obstructive syndrome, which is polymorphic in the mechanism of formation, and this determines the heterogeneity of asthma pathogenesis. Due to the anatomical and functional relationship with the cardiovascular system, this mechanism should be considered in a complex manner studying the composition changes in the associated cardiopulmonary system.

The objective: to determine the regulatory features in asthma course of various degrees of severity during respiratory maneuvers performance.

Materials and methods. In total, 86 patients (female (59 %) and male (41 %)), aged 41.0 ± 0.8 years old were divided into 2 groups. The first (comparison group) included 27 patients, the second (main) consisted of 59 patients with clinically confirmed persistent or uncontrolled asthma. At the outpatient stage of treatment, a comprehensive multifunctional method for the cardiorespiratory system examination – spiroarteriocardiorythmography (SACR) was used. There were three consecutive two-minute registrations: at normal respiration (NR), at respiratory rate 6 times per minute (RR_6) and at respiratory rate 15 times per minute (RR_{15}). Regulatory influences were determined based on the spectral analysis of heart rate (HRV) and respiration (RV) variability. Spectral analysis was performed in three frequency bands: over low-frequency (VLF, 0–0.04 Hz), low frequency (LF, 0.04–0.15 Hz) and high-frequency (HF, 0.15–0.4 Hz).

Results. Cardiorespiratory system of patients with uncontrolled course of asthma is characterized by an increase in heart rate at RR_{15} ; reduced absolute HRV indicators; an increase in the contribution of LFn and a decrease in the contribution of HFn; a decrease in the arterial baroreflex sensitivity; an increase in EB; there was also an increase in RV, RV/T_{in} , RV/T_{exh} , as well as worsening of frequency and volume synchronization of the cardiorespiratory system.

Conclusions. The use of respiratory maneuvers performance tests allowed revealing the characteristic regulatory features of bronchial asthma development and course, so it can be proposed for wide practical implementation in the diagnosis and monitoring of bronchial asthma course.

Сучасні досягнення у вивченні механізмів патогенезу бронхіальної астми (БА) та його базової концепції полягають у визначенні БА як алергічного запалення дихальних шляхів, з яким пов'язана гіперреактивність бронхів до різних стимулів [1]. Виходячи з цього, можна припустити, що ефективність роботи кардіореспіраторної системи та можливість розвитку БА визначається особливостями її регуляції.

Визначальну роль у регуляції функції кардіореспіраторної системи мають центральна та вегетативна нервові [2,3], а також гуморальна системи [4], які забезпечують її функціональний гомеостаз, а основною патогенетичною ланкою розвитку різних захворювань є їхня дизрегуляція [5–8].

Проблема вивчення БА полягає в тому, що бронхообструктивний синдром, який лежить в основі клінічної картини БА, є поліморфним за механізмом формування, що визначає гетерогенність патогенезу БА [9,10]. У патогенезі домінують механізми, що пов'язані з дихальною системою. Через анатомічний, функціональний взаємозв'язок із серцево-судинною системою ці механізми слід розглядати комплексно, вивчаючи зміни у складі поєднаної кардіореспіраторної системи [11].

Нині БА розглядають як гетерогенне захворювання, в патогенезі якого, крім алергічного запалення, вагому роль відіграють психоневрологічні порушення, тісно пов'язані з соматичними. Особлива роль в її розвитку належить вегетативній дисфункції, що визначає формування гіперчутливості та гіперреактивності бронхів на різні чинники зовнішнього та внутрішнього середовища [5,12].

Чимала увага до вивчення вегетативної регуляції в пацієнтів із БА пов'язана не тільки з розумінням процесів патогенезу [3], але і з розробкою нових підходів до тера-

пії [11]. Саме тому особливу зацікавленість викликають відмінності регуляторних механізмів у відповідь на вплив різних факторів, що виникають в організмі хворих, зокрема і на БА, що дали б змогу активізувати саногенетичні механізми боротьби з хворобою [12].

Мета роботи

Визначення регуляторних особливостей перебігу БА різного ступеня важкості під час тестів із керованим диханням.

Матеріали і методи дослідження

Для досягнення мети на амбулаторному етапі лікування з використанням комплексного поліфункціонального методу дослідження кардіореспіраторної системи спіроартеріокардіоритмографії (САКР) обстежили 86 пацієнтів жіночої (59 %) та чоловічої (41 %) статі віком $41,0 \pm 0,8$ року. Хворих поділили на 2 групи: перша (група порівняння – ГП) – 27 пацієнтів із клінічно підтвердженим інтермітувальним, або контрольованим перебігом БА віком $39,8 \pm 1,7$ року (11 чоловіків, 16 жінок); друга (основна група – ОГ) – 59 пацієнтів із клінічно підтвердженим персистуючим, або неконтрольованим перебігом БА віком $41,7 \pm 0,9$ року (24 чоловіки, 35 жінок), які склали основну групу. Поділ пацієнтів на групи наведений у таблиці 1.

Як контрольні параметри кардіореспіраторної регуляції використали результати обстеження чималої кількості осіб різної статі та віку, які не обтяжені будь-якою патологією [12]. Надалі деякі показники реактивності кардіореспіраторної системи у зв'язку з віковими варіаціями, враховуючи фізичну активність і функціональний стан організму, уточнені [6,13–15].

Прилад спіроартеріокардіоритмограф (САКР-2) є апаратно-програмним комплексом для синхронного запису біотоків серця, безперервного вимірювання артеріального тиску (за Пеназом) і дихальних потоків. Прилад вироблено ТОВ «Інтос» (Санкт-Петербург, РФ), реєстраційне посвідчення № 29/03020703/5869-04 від 29 січня 2004 р., відповідає технічним умовам ТУ 9442-004-25902369-2003.

Метод САКР дає можливість в одночасному режимі реєстрації визначити активність регуляторних впливів на серцевий ритм, систолічний і діастолічний артеріальний тиск, а також дихання [12].

Обстеження пацієнтів виконували натще в ранкові години, воно передбачало реєстрацію показників діяльності кардіореспіраторної системи з використанням спіроартеріокардіоритмографії (САКР) за розробленим нами протоколом. Тест передбачав здійснення 3 послідовних двоххвилинних реєстрацій: з некерованим диханням (НД), з керованим диханням 6 разів/хв (КД₆) і керованим диханням 15 разів/хв (КД₁₅) [9, 13, 16]. Додатково реєстрували показники фізичного розвитку. Визначали масу (МТ, кг) і довжину тіла (ДТ, см), розраховували площу тіла. Виконували рутинні методи дослідження систолічного (СТ), діастолічного (ДТ) та пульсового (ПТ) артеріального тиску, а також розраховували низку індексів, які характеризують функціональний стан кардіореспіраторної системи та організму загалом: Робінсона (ІР), Кердо (ІК), Хільдебрандта (ІХ) [17, 18].

Регуляторні впливи визначали на підставі спектрального аналізу варіабельності серцевого ритму (ВСР), артеріального тиску та дихання (ВД). Спектральний аналіз виконали у 3 частотних діапазонах: понаднизькочастотному (VLF, 0,00–0,04 Гц), низькочастотному (LF, 0,04–0,15 Гц) та високочастотному (HF, 0,15–0,40 Гц), які вимірюють в абсолютних значеннях потужності (мс² – для СР, мм рт. ст.² – для СТ та ДТ, (л/хв)² – для некерованого дихання). У програмному забезпеченні САКР реалізовані обидва підходи до оцінювання чутливості барорефлексу (BR) [19]. У цій роботі аналізуємо показники, розраховані спектральним методом, які називаються α -коефіцієнтом. Окремо α -коефіцієнт розраховували в діапазонах високих (BR_{HF}) і низьких (BR_{LF}) частот [19].

$$Br_{LF} = \frac{\sqrt{LF_{HR}}}{LF_{SP}} \quad (1)$$

$$Br_{HF} = \frac{\sqrt{HF_{HR}}}{HF_{SP}} \quad (2)$$

Показники гемодинаміки та хвилинного обсягу кровообігу (ХОК, л) визначали на підставі даних ЕКГ в 1 відведенні за методом, що запропонований Т. Н. Kim. За даними ультразвукової спірометрії, що реалізована у приладі САКР, визначали показники патерну дихання – ДО (л), об'ємної швидкості вдиху й видиху – ДО/Твд (л/с) і ДО/Твид (л/с), співвідношення фаз вдиху та видиху Твд/Твид, а також хвилинний обсяг дихання – ХОД, л [13, 16]. За даними гемодинаміки та спірометрії у приладі реалізована можливість визначити показники синхронізації серцево-судинної та дихальної систем – індекс Хільдебрандта (ІХ) і ХОК/ХОД, які показують частоту

Таблиця 1. Поділ пацієнтів на групи

Пацієнти	Група порівняння (n = 27)	Основна група (n = 59)
Вік, роки	39,8 ± 1,7	41,7 ± 0,9
Стать	Жіноча (n, %)	35 (59,3 %)
	Чоловіча (n, %)	24 (40,7 %)

Таблиця 2. Дані клінічного дослідження крові пацієнтів із груп дослідження, Ме (Q25; Q75)

Показники, одиниці вимірювання	ГП	ОГ
Еритроцити, 10 ¹² /л	4,6 (4,1; 4,9)	4,7 (4,2; 4,9)
Гемоглобін, г/л	146,0 (139,0; 150,0)	152,0 (142,0; 158,0)*
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	7,6 (6,9; 8,3)	6,9 (5,7; 7,8)*
Кольоровий показник	0,95 (0,90; 1,05)	0,95 (0,90; 1,05)
Лімфоцити, %	32,0 (25,0; 39,0)	34,0 (28,0; 38,0)
Моноцити, %	6,0 (2,0; 7,0)	6,0 (4,0; 8,0)
ШОЕ, мм/год	8,0 (4,0; 13,0)	7,0 (4,0; 9,0)
Тромбоцити, 10 ⁹ /л	274,0 (187,0; 312,0)	267,0 (224,0; 301,0)

*: p < 0,05 – відмінність між ГП та ОГ.

Таблиця 3. Дані біохімічного дослідження крові пацієнтів із груп дослідження, Ме (Q25; Q75)

Показники, одиниці вимірювання	ГП	ОГ
Загальний білок, г/л	73,1 (69,8; 83,5)	76,1 (69,0; 80,0)
Сечовина, ммоль/л	5,4 (3,4; 6,4)	6,1 (5,4; 6,7)*
Лужна фосфатаза, од/л	77,0 (60,0; 93,0)	80,0 (67,0; 91,0)
Сечова кислота, мкмоль/л	288,0 (268,0; 345,0)	291,0 (237,0; 325,0)
Креатинін, мкмоль/л	79,0 (62,0; 97,0)	90,0 (73,0; 101,0)
Загальний білірубін, мкмоль/л	13,0 (9,4; 15,9)	11,6 (9,8; 15,4)
Холестерин, моль/л	4,1 (3,9; 5,2)	4,5 (3,9; 5,0)
АлТ, од/л	26,0 (24,0; 30,0)	29,0 (25,0; 33,0)
АсТ, од/л	22,0 (19,0; 26,0)	25,0 (22,0; 30,0)*

*: p < 0,05 – відмінність між ГП та ОГ.

та об'єму складові синхронізації кардіореспіраторної системи [17].

Для оцінювання результатів дослідження застосували непараметричні методи статистичного аналізу з визначенням критеріїв Манна–Уїтні та Вілкоксона. Статистичне опрацювання здійснили за допомогою пакета статистичних програм Statistica 10.

У дослідженні акцент зроблено на регуляторних впливах на серцевий ритм і дихання.

Результати

За даними загальноклінічних обстежень пацієнтів цих груп, встановили відмінності, котрі характеризують особливості клінічного перебігу цієї нозології (табл. 2, 3).

У таблиці 4 наведені результати спірометричного обстеження, що вказують на суттєве погіршення бронхіальної прохідності й наявність обструкції в пацієнтів з ОГ порівняно з ГП.

У таблиці 5 наведені результати морфометричного дослідження, які вказують, що неконтрольований перебіг БА разом зі збільшенням маси тіла супроводжується перебудовою конституції, що характеризується вірогідним збільшенням обводів живота та грудної клітки при значущих відмінностях ІМТ. Якщо перший із них має

Таблиця 4. Дані дослідження функції зовнішнього дихання в пацієнтів із груп дослідження, Me (Q25; Q75)

Показники, одиниці вимірювання	ГП	ОГ
Вдих		
ЖЄЛ, л	3,350 (3,170; 4,870)	3,130 (2,750; 3,750) *
ФЖЄЛ, л	3,780 (3,350; 4,870)	3,290 (2,580; 3,760) *
ОФВ1, л	3,780 (3,350; 4,870)	3,290 (2,580; 3,760) *
ОФВ1/ФЖЄЛ	100,0 (100,0; 100,0)	100,0 (100,0; 100,0)
Видих		
ЖЄЛ, л	4,690 (3,020; 5,120)	3,110 (2,800; 3,660) *
ФЖЄЛ, л	4,840 (3,350; 5,270)	3,210 (2,740; 3,870) *
ОФВ1, л	3,720 (2,840; 3,960)	1,880 (1,680; 2,330) **
ОФВ1/ФЖЄЛ	74,3 (70,5; 78,2)	62,9 (60,2; 65,0) **

*: p < 0,05; **: p < 0,01 – відмінність між ГП та ОГ.

Таблиця 5. Дані морфометричного дослідження пацієнтів із груп дослідження, Me (Q25; Q75)

Показники, одиниці вимірювання	ГП	ОГ
Маса тіла, кг	80,0 (60,0; 86,0)	86,0 (78,0; 95,0) *
Довжина тіла, см	170,0 (152,5; 178,0)	169,0 (165,0; 176,0)
ІМТ, кг/м ²	26,6 (25,4; 29,0)	29,1 (27,7; 30,5) *
Вміст жиру, %	34,0 (27,0; 38,2)	40,4 (38,2; 45,3) *
Обвід талії, см	88,0 (83,0; 98,0)	88,0 (78,0; 96,0)
Обвід живота, см	93,0 (89,0; 103,0)	100,0 (91,0; 107,0) *
Обвід стегна, см	56,0 (52,0; 60,0)	58,0 (49,0; 66,0)
Обвід грудної клітки, см	99,0 (95,0; 117,0)	108,0 (98,0; 117,0) *

*: p < 0,05 – відмінність між ГП та ОГ.

Таблиця 6. Зміни показників ВСР у пацієнтів із груп дослідження під час тестів із керованим диханням, Me (Q25; Q75)

Показники, одиниці вимірювання	НД	КД ₆	КД ₁₅	
ТР, мс ²	Норма	2450–7225	9565–20398	1875–5852
	ГП	2642 (1444; 4356)	8667 (2490; 13502)**	2304 (864; 3192)
	ОГ	1089 (576; 2662)#	3237 (1260; 8299)#*	1296 (665; 2460)#
VLF, мс ²	Норма	208–812	425–1109	317–961
	ГП	475 (139; 718)	829 (299; 1183)*	640 (339; 847)
	ОГ	286 (115; 661)	400 (210; 795)#	339 (146; 645)#
LF, мс ²	Норма	552–2116	7259–17004	282–876
	ГП	772 (492; 1049)	4502 (954; 10120)**	449 (313; 841)**
	ОГ	424 (136; 750)#	1568 (739; 3576)**#	235 (112; 557)*
LFn, п.у	Норма	22,3–56,8	82,2–91,7	13,0–37,7
	ГП	37,7 (24,6; 57,6)	76,7 (58,1; 84,7)**	35,1 (26,1; 52,4)
	ОГ	54,0 (30,5; 72,9)#	72,3 (45,0; 84,4)*	40,2 (20,9; 62,7)
HF, мс ²	Норма	835–3481	692–3036	656–3469
	ГП	1149 (302; 1697)	1339 (510; 2520)	954 (148; 1764)
	ОГ	216 (81; 1162)#	729 (222; 1640)#	333 (98; 1190)#
HFn, п.у	Норма	40,9–75,6	7,6–16,1	59,1–81,3
	ГП	52,4 (29,8; 69,9)	20,6 (14,7; 39,9)*	59,3 (46,1; 72,5)
	ОГ	35,8 (24,5; 56,7)#	25,1 (13,3; 47,4)**	56,8 (35,0; 73,5)
LFHF, мс ² /мс ²	Норма	0,38–1,47	4,21–12,60	0,21–0,73
	ГП	0,64 (0,36; 1,96)	3,61 (1,44; 5,76)*	0,64 (0,36; 1,21)
	ОГ	1,44 (0,49; 2,89)#	2,89 (0,81; 6,25)*	0,73 (0,25; 1,69)

*: p < 0,05; **: p < 0,01 – відмінність між КД₆ і КД₁₅ і НД; #: p < 0,05; **: p < 0,01 – відмінність між ГП та ОГ.

частіше аліментарне походження, то другий може характеризувати зміни будови грудної клітки при розвитку емфізематозних проявів, що є доволі характерним для БА.

Тести з керованим диханням (КД) широко використовують у діагностиці БА. Найчастіше користуються тестами з керованим повільним диханням (6 разів/хв) і Вальсаальви [15]. Для визначення особливостей змін у кардіореспіраторній системі використали тести з КД₆ і КД₁₅, що внаслідок сталого ритму дихання викликають відповідні перебудови у вегетативному забезпеченні серцево-судинної системи. Ці зміни модулюються не тільки частотою дихання, але й пов'язані з реактивністю дихальної та серцево-судинної систем пацієнта, що відбивається в різних варіантах змін показників ВСР і ВД у відповідь на КД.

Аналіз даних кардіоінтервалометрії показав: у пацієнтів ГП та ОГ КД майже не викликає зміни за винятком незначного підвищення ЧСС у пацієнтів із ГП при КД₁₅ від 80,6 (71,4; 97,2) до 89,6 (78,5; 98,4), p < 0,05; ці зміни зіставні з такими при КД₁₅ у практично здорових осіб, у яких відбувається значуще підвищення ЧСС під час тестів з КД₆ (менше виражене) та КД₁₅ (більше виражене) [6]. За іншими показниками значущі зміни не виявили. Отже, хронотропна реактивність серця на КД (особливо в пацієнтів з ОГ) відсутня.

Найбільшу зацікавленість викликають зміни параметрів ВСР, що прямо пов'язані з частотою та ритмом заданого дихання (табл. 6).

Відмінності ВСР у пацієнтів із ГП і ОГ при НД стосуються значущого зменшення регуляторних впливів при неконтрольованому перебігу БА, що відбивається на абсолютних значеннях показників ВСР у всіх частотних діапазонах, найменш виражені в VLF-діапазоні [20]. Щодо нормалізованих значень LFn і HFn, то їхній внесок в ОГ змінюється в бік переважання високочастотної складової; це свідчить про незначну тенденцію до симпатикотонії. За даними, що наведені в таблиці 6, під час тесту з КД₆ очікувано відбувається значуще збільшення загальної потужності (ТР) серцевого ритму в обох групах – у ГП з 2642 (1444; 4356) до 8667 (2490; 13502), p < 0,01, а в ОГ з 1089 (576; 2662) до 3237 (1260; 8299), p < 0,01. За абсолютними значеннями цього показника під час тесту з КД₆ групи також значущо (p < 0,01) відрізняються. З огляду на окремі складові ВСР, які формують показник ТР – VLF, LF та HF, їхні зміни в пацієнтів досліджуваних груп є доволі інформативними та можуть свідчити про механізми формування порушень у кардіореспіраторній системі. Варто відзначити: збільшення ТР у пацієнтів ГП відбувається шляхом значущого підвищення VLF із 475 (139; 718) до 829 (299; 1183), p < 0,05, LF з 772 (492; 1049) до 4502 (954; 10120), p < 0,01, а HF-складова ВСР залишається незмінною, що, до речі, характерне для практично здорових осіб. Хоча в останніх, крім високочастотної компоненти регуляції серцевого ритму, інтактною залишається також VLF-складова. В ОГ збільшення ТР відбувається завдяки LF складовій регуляції з 424 (136; 750) до 1568 (739; 3576), p < 0,01 та HF-складовій ВСР із 216 (81; 1162) до 729 (222; 1640), p < 0,01. Це достатньо неочікувано і може свідчити про підвищену реактивність вагусної гілки регуляції серцевого ритму в ОГ і характеризувати цю стадію перебігу БА, коли гіпер-

реактивність бронхіального дерева суттєво підвищена [2,8]. Порівняльний аналіз змін показників ВСР під час тесту з КД₆ у пацієнтів обох груп показав вирівнювання відносних параметрів (LF_n, HF_n, LFHF) на тлі значущих відмінностей абсолютних значень, які в пацієнтів з ОГ були істотно нижчими, ніж у ГП, як і при некерованому диханні. Винятком був тільки показник VLF, який суттєво збільшився в пацієнтів ГП, що може характеризувати більшу участь нейроендокринної ланки регуляції [3] на стадії контрольованого перебігу БА.

Отже, визначили два аспекти, які відрізняють реактивність пацієнтів із БА від практично здорових осіб: значуще збільшення VLF-складової ВСР при КД₆ у пацієнтів із контрольованим перебігом БА та зростання HF у пацієнтів із неконтрольованим перебігом БА. На нашу думку, це можна використати у процесі диференційної діагностики важкості перебігу БА.

Аналіз змін показників ВСР при КД₁₅, коли у практично здорових осіб визначили переважання HF компоненти ВСР, у пацієнтів обох груп засвідчив зниження регуляторної активності в LF-діапазоні, яке було вираженішим у пацієнтів із ГП – із 772 (492; 1049) при некерованому диханні до 449 (313; 841), $p < 0,01$, при КД₁₅, а в пацієнтів ОГ зниження було меншим, але значущим – з 424 (136; 750) до 235 (112; 557), $p < 0,05$. Варто відзначити, що виконання тесту з КД₁₅ в ОГ викликало меншу активізацію високочастотних впливів на серцевий ритм, ніж тест КД₆. Це може характеризувати парадоксальну реактивність при неконтрольованому перебігу БА. Як і при КД₆, при КД₁₅ відбувається вирівнювання нормалізованих показників ВСР.

Дані, що одержали, доповнюються результатами розрахунку чутливості артеріального барорефлексу при тестах із КД (табл. 7). При некерованому диханні показники BR_{LF} та BR_{HF} у пацієнтів обох груп є істотно меншими, ніж у практично здорових осіб: у ГП – менш значуще, в ОГ – більш значуще. Під час тестів із КД відзначають певні відмінності від практично здорових осіб, які стосуються відсутності реакції артеріального барорефлексу при КД₆ і КД₁₅ у низькочастотному діапазоні в пацієнтів обох досліджуваних груп, а також значущої ($p < 0,05$), але незначущої реакції під час тесту КД₆ у пацієнтів ГП 13,8 (9,2; 17,5) при КД₆ проти 9,1 (6,1; 26,4) при НД. Порівняно з практично здоровими особами значення BR_{LF} і BR_{HF} у пацієнтів з ОГ під час обох тестів із КД є суттєво меншими. У пацієнтів із ГП при КД₆ ці показники є меншими, а при КД₁₅ відповідають значенням практично здорових осіб.

Зниження показників чутливості артеріального барорефлексу під час тестів із КД₆ і КД₁₅ характеризує неконтрольований перебіг БА. При контрольованому перебігу БА відзначають значуще зменшення чутливості артеріального барорефлексу тільки при КД₆, яке є вираженішим у LF діапазоні.

Основні відмінності показників ВД у хворих на БА від практично здорових осіб при некерованому диханні: значуще підвищення загальної потужності дихання (TR_д), яке є вираженішим у ГП, суттєве підвищення регуляторних впливів у VLF-діапазоні та істотне підвищення (порівняно з нормативними значеннями) впливів у LF і HF-діапазонах, яке в ОГ порівняно з ГП було вірогідно меншим.

Інформативним виявився аналіз змін показників

Таблиця 7. Зміни показників чутливості артеріального барорефлексу в пацієнтів із груп дослідження під час тестів із керованим диханням, Ме (Q25; Q75)

Показники, одиниці вимірювання	НД	КД ₆	КД ₁₅	
BR _{LF} , мс/мм рт. ст.	Норма	8,7–19,7	13,5–26,6	5,8–12,2
	ГП	9,4 (4,9; 21,6)	13,28 (3,96; 22,69)	8,13 (5,08; 11,13)
	ОГ	6,6 (4,4; 11,0) [#]	7,3 (3,1; 10,3) ^{##}	5,3 (2,9; 7,4) ^{##}
BR _{HF} , мс/мм рт. ст.	Норма	11,8–28,0	15,3–26,6	5,1–14,3
	ГП	9,1 (6,1; 26,4)	13,8 (9,2; 17,5)	7,3 (4,4; 17,8)
	ОГ	5,3 (3,1; 12,1) ^{##}	6,0 (4,0; 11,7) ^{##}	5,5 (2,7; 8,9) [#]

*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$ – відмінність між КД₆ і КД₁₅ і НД; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$ – відмінність між ГП та ОГ.

Таблиця 8. Зміни показників ВД у пацієнтів груп, що досліджували, при виконанні тестів із керованим диханням, Ме (Q25; Q75)

Показники, одиниці вимірювання	НД	КД ₆	КД ₁₅	
TR _д (л/хв) ²	Норма	290,0–635,0	432,7–1024,0	566,5–3036,0
	ГП	1373 (721; 3378)	2596 (1428; 3648) [*]	3556 (1616; 6336) ^{**}
	ОГ	1162 (625; 1814) [#]	2560 (1190; 4160) ^{**}	2926 (1620; 5425) ^{**}
VLF _д (л/хв) ²	Норма	1,3–4,8	4,9–14,4	2,6–13,7
	ГП	8,1 (6,3; 14,9)	35,4 (16,8; 43,6) ^{**}	21,2 (7,8; 50,4) ^{**}
	ОГ	7,3 (3,6; 18,5)	20,3 (13,0; 38,4) ^{**}	16,8 (9,0; 37,9) ^{**}
LF _д (л/хв) ²	Норма	7,9–33,6	335,0–761,7	12,3–50,4
	ГП	44,2 (29,7; 61,6)	1642 (712; 2470) ^{***}	102 (36; 158) ^{**}
	ОГ	26,0 (11,6; 64,0) [#]	864 (364; 1866) ^{****}	68 (34; 146) ^{**}
LF _{дп} , н.о.	Норма	2,2–14,7	81,2–88,3	1,3–2,4
	ГП	2,9 (1,4; 5,7)	74,1 (61,6; 85,1)	2,9 (1,8; 4,7)
	ОГ	2,7 (1,6; 6,9)	48,1 (26,1; 70,0)	2,1 (1,5; 3,6)
HF _д (л/хв) ²	Норма	207,4–547,5	62,5–204,5	552,3–2926,8
	ГП	1217 (622; 2987)	474 (327; 948)	3271 (1466; 5476) ^{**}
	ОГ	818 (453; 1267) [#]	595 (384; 2550) [#]	2809 (1444; 4757) ^{***}
HF _{дп} , н.о.	Норма	78,0–94,0	9,7–16,6	93,4–96,5
	ГП	92,1 (84,2; 94,3)	23,8 (12,4; 33,5) ^{***}	93,6 (88,9; 95,3)
	ОГ	85,3 (45,9; 93,6)	41,2 (25,9; 65,4) ^{**}	93,5 (89,1; 95,9)
LFHF _д (л/хв) ² /(л/хв) ²	Норма	0,025–0,150	2,528–7,208	0,016–0,027
	ГП	0,031 (0,016; 0,063)	3,155 (1,850; 6,917)	0,031 (0,020; 0,053)
	ОГ	0,040 (0,023; 0,102)	1,188 (0,410; 2,723) ^{###}	0,023 (0,017; 0,042) [#]

*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$ – відмінність між КД₆ і КД₁₅ та НД; #: $p < 0,05$; ##: $p < 0,01$ – відмінність між ГП та ОГ.

ВД при керованому диханні (табл. 8). Аналіз даних при КД показав: тести з КД₆ і КД₁₅ порівняно з даними практично здорових осіб у пацієнтів із БА призводять до значущого підвищення загальної потужності дихання (TR_д), що, на нашу думку, відповідає вихідному рівню при некерованому диханні. Але при тестах КД₆ і КД₁₅ є суттєві відмінності, що стосуються внеску окремих складових TR_д, VLF-складова при тестах підвищується відносно рівномірно, майже не відрізняючись у ГП та ОГ і вказуючи на більший вплив у цьому частотному діапазоні на дихання порівняно з практично здоровими особами.

Не акцентуючи увагу на змінах абсолютних значень впливів LF та HF-діапазонах під час тестів із КД, які є вірогідними, зупинимось на відносних внесках останніх у процес регуляції довільного та керованого дихання. При некерованому диханні за абсолютними значеннями активності низько- та високочастотних впливів результати засвідчують потрапляння у більшої частини пацієнтів у межі нормативних значень. Але за показником LF_{дп} (н.о.) в пацієнтів обох груп і показником HF_{дп} (н.о.) в пацієнтів з ОГ відзначена тенденція до зменшення, що

Таблиця 9. Зміни показників патерну дихання в пацієнтів із груп дослідження під час тестів із керованим диханням

Показники, одиниці вимірювання	НД	КД ₆	КД ₁₅	
ДО, л	Норма	0,430–0,710	1,500–2,570	0,700–1,340
	ГП	0,965 (0,660; 1,245)	2,650 (1,500; 3,240)	1,545 (1,190; 1,920)
	ОГ	0,680 (0,500; 0,870) ^{***}	1,880 (1,190; 2,160) ^{***}	1,210 (0,930; 1,600) [#]
ДО/Твд, л/с	Норма	0,27–0,43	0,35–0,61	0,43–0,73
	ГП	0,56 (0,34; 0,76)	0,80 (0,63; 1,12)	0,90 (0,68; 1,07)
	ОГ	0,48 (0,36; 0,60) [#]	0,62 (0,51; 0,86) ^{***}	0,70 (0,57; 1,03) [#]
ДО/Твид, л/с	Норма	0,18–0,29	0,27–0,46	0,29–0,61
	ГП	0,41 (0,29; 0,69)	0,42 (0,36; 0,75)	0,67 (0,59; 0,85)
	ОГ	0,41 (0,31; 0,52)	0,44 (0,29; 0,71)	0,60 (0,45; 0,89) [#]
ХОД, л	Норма	6,3–10,4	9,8–16,7	11,1–20,5
	ГП	13,7 (9,3; 21,7)	17,2 (14,1; 23,2)	24,1 (19,4; 29,3)
	ОГ	13,1 (10,1; 16,8)	14,7 (11,4; 22,4) [#]	20,2 (15,0; 26,0) [#]

*: p < 0,05; **: p < 0,01 – відмінність між КД₆ і КД₁₅ і НД; #: p < 0,05; **: p < 0,01 – відмінність між ГП та ОГ.

Таблиця 10. Зміни показників синхронізації кардіореспіраторної системи в пацієнтів із груп дослідження під час тестів із керованим диханням, Me (Q25; Q75)

Показники	НД	КД ₆	КД ₁₅	
IX	Норма	3,98–6,20	9,97–12,14	4,48–5,84
	ГП	5,3 (4,3; 6,4)	12,2 (9,7; 14,2)	5,9 (5,2; 6,5)
	ОГ	4,5 (3,5; 5,9) [#]	9,8 (8,2; 12,3) [#]	5,7 (5,0; 6,3)
ХОК/ХОД	Норма	0,48–0,75	0,33–0,58	0,25–0,48
	ГП	0,30 (0,23; 0,55)	0,28 (0,20; 0,34)	0,20 (0,17; 0,25)
	ОГ	0,40 (0,33; 0,53) [#]	0,35 (0,23; 0,47) [#]	0,27 (0,21; 0,35) [#]

*: p < 0,05; **: p < 0,01 – відмінність між КД₆ і КД₁₅ та НД; #: p < 0,05; **: p < 0,01 – відмінність між ГП та ОГ.

є цілком очікуваним, враховуючи збільшення внеску VLF-складової. Надзвичайно інформативним, зважаючи на ці показники, є те, що під час тесту КД₆, який суттєво збільшує низькочастотні (LF) впливи на ВД, у пацієнтів із БА відзначають вірогідно менший внесок останніх порівняно з практично здоровими особами – 74,1 (61,6; 85,1) у ГП та 48,1 (26,1; 70,0) в ОГ. Зміни в ОГ є значущо меншими (p < 0,01), ніж у ГП. Останнє, на нашу думку, є підтвердженням зниження симпатичної реактивності при БА, яке є більш вираженим у пацієнтів з ОГ. Результати доповнює аналіз змін активності у HF-діапазоні, які при КД₆ характеризуються істотним збільшенням внеску регуляторних впливів 23,8 (12,4; 33,5) у пацієнтів із ГП і 41,2 (25,9; 65,4) у пацієнтів з ОГ у порівнянні з нормативними значеннями (9,7–16,6 н.о.). У пацієнтів з ОГ цей внесок значущо більший (p < 0,01), ніж у пацієнтів із ГП. Такі параметри ВД в окремих діапазонах відбиваються на співвідношенні LF/HF, яке в пацієнтів з ОГ є істотно меншим, ніж у практично здорових осіб і пацієнтів із ГП. Окремо додамо: при КД₁₅ показник LF/HF у пацієнтів ОГ також значущо менший, ніж у пацієнтів ГП. Такі зміни показників ВД можуть засвідчувати оптимізацію вегетативної регуляції дихання при цій частоті дихання у хворих на БА.

У таблиці 9 наведені дані змін показників патерну дихання під час тестів із КД. При некерованому диханні відзначили суттєві відмінності від результатів практично здорових осіб у пацієнтів ГП (більш виражені) та ОГ (менш виражені). Вони стосуються збільшення ДО (л), ДО/Твд (л/с), ДО/Твид (л/с) та ХОД (л). Характерною є

значуща відмінність показників ДО (л) і ДО/Твд (л/с) у пацієнтів із ГП та ОГ, що вказує на менші значення цих параметрів патерну дихання при неконтрольованому перебігу БА. Зважаючи на зміни цих показників при КД₆, відзначимо: відбувається їхнє значуще збільшення, котре характеризує активнішу участь дихальної системи під час цього тесту порівняно з практично здоровими особами. У ГП збільшуються ДО (л) з 0,965 (0,660; 1,245) до 2,650 (1,500; 3,240), p < 0,005, ДО/Твд (л/с) із 0,56 (0,34; 0,76) до 0,80 (0,63; 1,12), p < 0,01 та ХОД (л) із 13,7 (9,3; 21,7) до 17,2 (14,1; 23,2), p < 0,01. В ОГ збільшення цих показників значуще: ДО (л) із 0,680 (0,500; 0,870) до 1,880 (1,190; 2,160), p < 0,005, ДО/Твд (л/с) із 0,48 (0,36; 0,60) до 0,62 (0,51; 0,86), p < 0,01, ХОД (л) з 13,1 (10,1; 16,8) до 14,7 (11,4; 22,4), p < 0,05, однак за ДО (л) і ДО/Твд (л/с) вірогідно поступається показникам у ГП. Інформативно, що ДО (л) в ОГ нижче, ніж у практично здорових осіб, а показник ДО/Твд (л/с) вище. Порівняно з НД показники ДО/Твид (л/с) при КД₆ суттєво не відрізняються в обох групах, але істотно перевищують значення практично здорових осіб.

При КД₁₅ ДО (л) порівняно з НД значущо збільшується як у ГП, так і в ОГ. Хоча в ОГ значущо менше, ніж у ГП, але відповідно до ДО (л) при НД. Аналогічні відмінності визначили й показниками ДО/Твд (л/с) та ДО/Твид, які значущо збільшуються, але відповідно до значень при НД. Заслугує на увагу те, що пацієнти з ОГ, які за показником ХОД (л) при НД значущо не відрізняються від ГП, при КД₁₅, як і при КД₆, мають значно нижчі значення ХОД (л), ніж пацієнти з ГП. Якщо розглядати тести з КД із позицій активної мобілізації функції дихання, можна припустити, що при НД у пацієнтів з ОГ відбувається певна компенсація повітрообміну завдяки частоті дихання, а при заданому ритмі дихання така компенсація не відбувається.

Отже, тести КД₆ і КД₁₅ можна використовувати як навантажувальні для виявлення можливості компенсації відхилень завдяки частоті дихання. Аналіз цих змін у поєднанні з іншими показниками діяльності кардіореспіраторної системи, на нашу думку, може бути корисним для вивчення механізмів порушень при БА.

Заслугують на увагу результати аналізу змін показників частотної та об'ємної синхронізації кардіореспіраторної системи (табл. 10). При НД значення IX у пацієнтів із ГП порівняно з практично здоровими особами мають тенденцію до зростання та є значущо більшими, ніж у пацієнтів з ОГ 5,3 (4,3; 6,4) проти 4,5 (3,5; 5,9), p < 0,05. При КД₆ у пацієнтів із ГП вони у межах нормативних значень, проте є також значущо більшими, ніж у пацієнтів з ОГ 12,2 (9,7; 14,2) проти 9,8 (8,2; 12,3), p < 0,01. Результати останніх характеризуються значущо меншими значеннями, ніж у практично здорових осіб. На нашу думку, зміни IX при КД₆ можуть свідчити про резервні можливості кардіореспіраторної системи при БА. З цих позицій очікувано, що в пацієнтів із ОГ вони є суттєво гіршими, ніж у ГП і практично здорових осіб. При КД₁₅, як у ГП, так і в ОГ показники IX не відрізняються, але є значущо більшими, ніж у практично здорових осіб. Отже, тенденція до частотної десинхронізації кардіореспіраторної системи, яку спостерігали у пацієнтів із ГП при НД, при КД₆ відповідає нормативним значенням, що може характеризувати оптимізацію кардіореспіраторних

взаємодій при повільному диханні в пацієнтів із контрольованим перебігом БА. Синхронізовані значення ІХ при НД в ОГ при $КД_6$ засвідчують певну частотну десинхронізацію при неконтрольованому перебігу БА. Водночас тест із $КД_{15}$ достатньо чітко визначає частотну кардіореспіраторну десинхронізацію як у ГП, так і в ОГ, коли значення ІХ значущо більше, ніж нормативні та наближаються до критичних 6,5.

Інформативними виявилися також значення показників об'ємної синхронізації (ХОК/ХОД), які при всіх варіантах дихання пацієнтів із ГП та ОГ були значущо меншими, ніж у практично здорових осіб. У ГП ці відмінності були більш значущими. Це може свідчити про десинхронізацію серцево-судинної та дихальної систем при контрольованому перебігу БА, яка може бути чинником розвитку ускладнень, які виникатимуть надалі. Менш значущі відхилення цього показника в ОГ, де перебіг БА неконтрольований, може свідчити про певну стабілізацію адаптаційно-компенсаторних перебудов у організмі, що формуються при розвитку нейровегетативних і метаболічних дисфункцій на цій стадії захворювання.

Обговорення

Характеризуючи реакцію кардіореспіраторної системи хворих на БА у відповідь на кероване дихання, слід відзначити особливості пацієнтів із неконтрольованим перебігом, що стосуються показника ЧСС, який у відповідь на $КД_6$ та $КД_{15}$ значущо не змінюється на відміну від практично здорових [6, 15] та осіб із контрольованим перебігом БА; в останніх визначили збільшення ЧСС тільки при $КД_{15}$. Абсолютні значення показників ВСП (TR, LF, HF), за винятком VLF, у пацієнтів із неконтрольованим перебігом є значущо меншими, ніж у практично здорових та осіб із контрольованим перебігом БА як при некерованому диханні, так і при $КД_6$ і $КД_{15}$, що не суперечить даним, які отримали інші дослідники [10, 11]. Нормалізовані показники ВСП (LFn, HFn) у цій групі пацієнтів при некерованому диханні порівняно з практично здоровими та пацієнтами з контрольованим перебігом БА характеризуються збільшенням внеску LFn та зменшенням внеску HFn, що свідчить про певне переважання симпатикотонічних впливів за співвідношенням LF/HF. Це не узгоджується з даними інших авторів [5], хоча при виконанні тесту $КД_6$ визначили менше збільшення LFn і суттєвіше збільшення HFn при контрольованому та неконтрольованому перебігу БА порівняно з практично здоровими [15], а при $КД_{15}$ – суттєвіше збільшення LFn і менше збільшення HFn при обох варіантах перебігу БА. Отже, можна говорити про більшу, ніж у практично здорових осіб, реактивність ваготонічних впливів при $КД_6$ та їхнє значуще зменшення при $КД_{15}$. Це може мати важливе діагностичне значення. Ці дані позначаються на показниках чутливості артеріального барорефлексу, які при обох варіантах перебігу БА знижуються у високочастотному та низькочастотному діапазонах при некерованому диханні, а при керованому диханні в осіб із неконтрольованим перебігом БА, на відміну від практично здорових осіб та осіб із контрольованим перебігом БА, залишаються незмінними. Неконтрольований перебіг БА супроводжується суттєвішим порушенням

нейрорефлекторних і гуморальних механізмів регуляції центральної гемодинаміки [9].

Важливо, що абсолютні значення показників ВД (TR_D , VLF_D , LF_D та HF_D) є істотно вищими при обох варіантах перебігу БА як при некерованому, так і при керованому диханні. Донині це взагалі не визначали, вперше описано в роботі [16]. За нормалізованими значеннями показників ВД (LFn_D, HFn_D) при некерованому диханні відзначається зменшення внеску LFn_D і відповідні нормативним значенням показники HFn_D при обох варіантах перебігу БА. При $КД_6$ відбувається очікуване збільшення LFn_D при обох варіантах перебігу БА, але при контрольованому варіанті перебігу БА значущо менше, ніж у практично здорових, а при неконтрольованому варіанті перебігу БА значущо менше, ніж у практично здорових та осіб із контрольованим перебігом БА, що засвідчує низьку симпатикотонічну реактивність у хворих на цю нозологію та певним чином визначає умови розвитку БА [3]. При $КД_6$ відбувається неочікуване збільшення HFn_D при обох варіантах перебігу БА, яке при контрольованому варіанті перебігу БА значущо більше, ніж у практично здорових, а при неконтрольованому варіанті перебігу БА значущо більше, ніж у практично здорових та осіб із контрольованим перебігом БА, що показує високий тонус парасимпатики та може характеризувати важкість перебігу БА. Водночас при $КД_{15}$ при обох варіантах перебігу БА відзначили збільшення показників LFn_D порівняно практично здоровими особами, які, однак, не відрізняються від показників при некерованому диханні [20], а показники HFn_D при обох варіантах перебігу БА є значущо нижчими, ніж у практично здорових осіб і не відрізняються за значеннями, що може засвідчувати оптимізацію вегетативної регуляції дихання при цій частоті. Останній механізм щодо вегетативної регуляції дихання в роботах інших дослідників не описаний, хоча підтверджує відомі патофізіологічні механізми.

Важливо, що за показниками патерну дихання при некерованому диханні в пацієнтів із неконтрольованим перебігом БА визначили збільшення ДО (л), ДО/Твд (л/с), ДО/Твид (л/с) та ХОД (л) порівняно з практично здоровими особами, а при $КД_6$ ДО (л) у них очікувано збільшується, але значущо менше, ніж у практично здорових осіб та осіб із контрольованим перебігом БА. Показники ДО/Твд (л/с) є більшими, ніж у здорових, але меншими, ніж в осіб із контрольованим перебігом БА. $КД_{15}$ викликає значуще збільшення всіх показників патерну дихання порівняно з практично здоровими, але значущо менше, ніж при контрольованому перебігу БА. Д, які отримали, доповнюють відомі результати [3] про погіршення показників патерну дихання при $КД_6$ та їхню певну стабілізацію при $КД_{15}$ у пацієнтів із неконтрольованим перебігом БА. Це можна використовувати як критерії оцінювання розвитку та перебігу БА.

На увагу заслуговують також результати аналізу показників синхронізації кардіореспіраторної системи, що погіршуються за частотною та об'ємною складовими. Вираженіші відхилення визначили в пацієнтів із контрольованим перебігом БА. Враховуючи, що показники об'ємної синхронізації донині не використовували у практиці взагалі, результати дослідження потребують уточнення.

Висновки

1. Використання тестів із керованим диханням показало характерні регуляторні особливості розвитку та перебігу бронхіальної астми.

2. Враховуючи, що результати отримали з використанням сучасного експресного, поліфункціонального методу дослідження спіроартеріокардіоритмографії, можна передбачити широке впровадження їх у практику діагностики та моніторингу перебігу бронхіальної астми.

Перспективи подальших досліджень. Надалі можливим є розроблення критеріїв ефективності застосування різних груп лікарських засобів при лікуванні бронхіальної астми.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 05.09.2018
Після доопрацювання / Revised: 08.01.2019
Прийнято до друку / Accepted: 21.01.2019

Відомості про авторів:

Романчук О. П., д-р мед. наук, професор, зав. каф. загальномедичних наук, заступник директора, Одеський медичний інститут Міжнародного гуманітарного університету, Україна.

Величко В. І., д-р мед. наук, професор, зав. каф. сімейної медицини та загальної практики, Одеський національний медичний університет, Україна.

Бажора Я. І., асистент каф. сімейної медицини та загальної практики, Одеський національний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Романчук О. П., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. общемедицинских наук, заместитель директора, Одесский медицинский институт Международного гуманитарного университета, Украина.

Величко В. И., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. семейной медицины и общей практики, Одесский национальный медицинский университет, Украина.

Бажора Я. И., ассистент каф. семейной медицины и общей практики, Одесский национальный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Romanchuk O. P., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of General Medical Sciences, Deputy Director, Odesa Medical Institute of the International Humanitarian University, Ukraine.

Velychko V. I., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Family Medicine and General Practice, Odesa National Medical University, Odesa, Ukraine.

Bazhora Ya. I., MD, Assistant of the Department of Family Medicine and General Practice, Odesa National Medical University, Odesa, Ukraine.

Список літератури

- [1] Karemaker J. M. An introduction into autonomic nervous function. *J. Physiol.* 2017. Vol. 38. Issue 5. R89–R118. doi: 10.1088/1361-6579/aa6782
- [2] Kenney M. J., Ganta C. K. Autonomic nervous system and immune system interactions. *Compr Physiol.* 2014. Vol. 4. Issue 2. P. 1177–1200. doi: 10.1002/cphy.c130051
- [3] Ненартович И. А. Эпигенетика бронхиальной астмы: обзор литературы. *Вестник Витебского государственного медицинского университета.* 2017. Т. 16. №2. С. 7–14. doi: 10.22263/2312-4156.2017.2.7

- [4] March M., Sleiman E. P. M., Hakonarson H. Genetic polymorphisms and associated susceptibility to asthma. *Int J Gen Med.* 2013. Vol. 6. P. 253–265. doi: 10.2147/IJGM.S28156
- [5] Respiratory modulation of human autonomic function on Earth / D. L. Eckberg, W. H. Cooke, A. Diedrich et al. *J Physiol.* 2016. Vol. 594. Issue 19. P. 5611–5627. doi: 10.1113/JP271654
- [6] Guzii O. V., Romanchuk A. P. Determinants of the functional state of sportsmen using heart rate variability measurements in tests with controlled respiration. *Journal of Physical Education and Sport.* 2018. doi: 10.7752/jpes.2018.02105
- [7] 2017 GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention URL.: <http://ginasthma.org/2017-gina-report-globalstrategy-for-asthma-management-and-prevention/>
- [8] Mathias C. J., Bannister R. *Autonomic Failure. A Textbook of Clinical Disorders of the Autonomic Nervous System.* Oxford : Oxford University Press, 2013. 345 p.
- [9] Increased flow resistance and decreased flow rate in patients with acute respiratory distress syndrome: the role of autonomic nervous modulation / I. C. Chen, J. Kuo, W.-J. Ko et al. *J. Chin. Med. Assoc.* 2016. Vol. 79. Issue 1. P. 17–24. doi: 10.1016/j.jcma.2015.10.001
- [10] Efficacy of a Novel Method for Inspiratory Muscle Training in People With Chronic Obstructive Pulmonary Disease / D. Langer, N. Charusisin, C. Jácome et al. *Phys Ther.* 2015. Vol. 95. Issue 9. P. 1264–1273. doi: 10.2522/ptj.20140245
- [11] Heart Rate Variability Biofeedback Does Not Substitute for Asthma Steroid Controller Medication / P. M. Lehrer, C. G. Irvin, S.-E. Lu et al. *Appl Psychophysiol Biofeedback.* 2018. Vol. 43. Issue 1. P. 57–73. doi: 10.1007/s10484-017-9382-0
- [12] Факторы и механизмы саноогенеза : монография / под ред. В. Н. Запорожана. Одесса : ОНМедУ, 2014. 448 с.
- [13] Паненко А. В., Романчук О. П. До питання дослідження вікових особливостей варіабельності дихання. *Одеський медичний журнал.* 2004. №5. С. 63–66.
- [14] Представленность разных величин функциональных показателей сердечно-сосудистой системы в возрасте 22–90 лет / Н. Б. Панкова, И. Б. Алчинова, Е. Н. Яковенко и др. *Технологии живых систем.* 2016. Т. 13. №7. – С. 16–24.
- [15] Guzii O. V., Romanchuk A. P. Heart rate variability during controlled respiration after endurance training. *Journal of Physical Education and Sport.* 2017. Vol. 17. Issue 3. P. 2024–2029. doi: 10.7752/jpes.2017.03203
- [16] Бажора Я. І., Романчук О. П. Варіабельність та паттерн дихання пацієнтів з персистуючим перебігом бронхіальної астми та ожирінням. *Український журнал медицини, біології та спорту.* 2018. Т. 3. №7(16). С. 74–83. doi: 10.26693/jmbs03.07.074
- [17] Noskin L. A., Rubinsky A. V., Romanchuk A. P. Indications of the Level Individual Cardiovascular and Respiratory Homeostasis Using Continuous Spiroarteriocardiorhythmography. *Biomed. J. Sci&Tech Res.* 2018. Vol. 6. Issue 1. P. 5061–5062. doi: 10.26717/bjstr.2018.06.001309
- [18] Characteristics of the Functioning of the Cardio-Respiratory System and Autonomic Regulation in Para-Athletes with Spinal Injury / K. S. Ternovoy, A. P. Romanchuk, M. Yu. Sorokin et al. *Human Physiology.* 2012. Vol. 38. Issue 4. P. 410–415. doi: 10.1134/S0362119712040147
- [19] Гузій О. В., Романчук О. П. Чутливість артеріального барорефлексу при відновленні організму після тренувального навантаження. *Запорозький медичний журнал.* 2016. №3. С. 24–29. doi: 10.14739/2310-1210.2016.3.76922
- [20] Romanchuk O. P., Bazhora Ya. I. Regulatory peculiar features of uncontrolled bronchial asthma. *J Education, Health and Sport.* 2018. Vol. 8. №1. P. 330–346. doi: 2018doi:10.5281/zenodo.1408134

References

- [1] Karemaker, J. M. (2017). An introduction into autonomic nervous function. *J Physiol.*, 38(5), R89–R118. doi: 10.1088/1361-6579/aa6782
- [2] Kenney, M. J., & Ganta, C. K. (2014). Autonomic nervous system and immune system interactions. *Compr Physiol.*, 4(3), 1177–200. doi: 10.1002/cphy.c130051
- [3] Nenartovich, I. A. (2017). Epigenetika bronkhial'noj astmy: obzor literatury [Bronchial asthma epigenetics: literature review]. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*, 16(2), 7–14. doi: 10.22263/2312-4156.2017.2.7 [in Russian].
- [4] March, M. E., Sleiman, P. M., & Hakonarson, H. (2013). Genetic polymorphisms and associated susceptibility to asthma. *Int J Gen Med*, 6, 253–65. doi: 10.2147/IJGM.S28156
- [5] Eckberg, D. L., Cooke, W. H., Diedrich, A., Biaggioni, I., Buckley, J. C., Pawelczyk, J. A., et al (2016). Respiratory modulation of human autonomic function on Earth. *J Physiol.*, 594(19), 5611–5627. doi: 10.1113/JP271654
- [6] Guzii, O. V., & Romanchuk, A. P. (2018). Determinants of the functional state of sportsmen using heart rate variability measurements in tests with controlled respiration. *Journal of Physical Education and Sport.* doi: 10.7752/jpes.2018.02105

- [7] 2017 GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention Retrieved from <http://ginasthma.org/2017-gina-report-globalstrategy-for-asthma-management-and-prevention>.
- [8] Mathias, C. J., & Bannister, R. (2013). *Autonomic Failure. A Textbook of Clinical Disorders of the Autonomic Nervous System* (Oxford: Oxford University Press).
- [9] Chen, I. C., Kuo, J., Ko, W-J., Shih, H-C., & Kuo, C-D. (2016). Increased flow resistance and decreased flow rate in patients with acute respiratory distress syndrome: the role of autonomic nervous modulation. *J. Chin. Med. Assoc.*, 79(1), 17–24. doi: 10.1016/j.jcma.2015.10.001
- [10] Langer, D., Charusisin, N., Jácome, C., Hoffman, M., McConnell, A., Decramer, M., & Gosselink, R. (2015). Efficacy of a Novel Method for Inspiratory Muscle Training in People With Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Phys Ther.*, 95(9), 1264–73. doi: 10.2522/ptj.20140245
- [11] Lehrer, P. M., Irvin, C. G., Lu, S. -E., Scardella, A., Roehmheld-Hamm, B., Aviles-Velez, M., et al. (2017). Heart Rate Variability Biofeedback Does Not Substitute for Asthma Steroid Controller Medication. *Appl Psychophys Biofeedback.*, 43(1), 57–73. doi: 10.1007/s10484-017-9382-0
- [12] Zaporozhan, V. N. (Ed) (2014). *Faktory i mehanizmy sanoheneza [Factors and mechanisms sanogenesis]*. Odesa: ONMU. [in Russian].
- [13] Panenko, A. V., & Romanchuk, O. P. (2004). Do pytan'nia doslidzhen'nia vikovykh osoblyvostei variabelnosti dykhannia [To the question of age-related characteristics of breathability variability]. *Odeskyi medychnyi zhurnal*, 5, 63–66. [in Ukrainian].
- [14] Pankova, N. B., Alchinova, I. B., Yakovenko, E. N., & Karganov, M. Yu. (2016). Predstavlenost' raznykh velichin funktsional'nykh pokazatelej serdechno-sosudistoi sistemy v vozraste 22–90 let [The prevalence of the different values of the cardiovascular system functional parameters at the age of 22–90 years]. *Tehnologii zhivyykh sistem*, 13(7), 16–24. [in Russian].
- [15] Guzii, O. V., & Romanchuk, A. P. (2017). Heart rate variability during controlled respiration after endurance training. *Journal of Physical Education and Sport*. 17(3), 2024–2029. doi: 10.7752/jpes.2017.03203
- [16] Bazhora, Ya. I., & Romanchuk, A. P. (2018) Variabelnist ta pattern dykhannia patsientiv z persystuichym perebihom bronkhialnoi astmy ta ozhyrinniam [Variability and Respiration Pattern of Patients with Persistent Asthma and Obesity]. *Ukrainskyi zhurnal medytsyny, biolohii ta sportu*, 3, 7(16), 74–83. doi: 10.26693/jmbs03.07.074 [in Ukrainian].
- [17] Noskin, L. A., Rubinsky, A. V., & Romanchuk, A. P. (2018). Indications of the Level Individual Cardiovascular and Respiratory Homeostasis Using Continuous Spiroarteriocardiorythmography. *Biomed J Sci&Tech Res*, 6(1), 5061–5062. doi: 10.26717/bjstr.2018.06.001309
- [18] Ternovoi, K. S., Romanchuk, A. P., Sorokin, M. Yu., & Pankova, N. B. (2012). Characteristics of the Functioning of the Cardio-Respiratory System and Autonomic Regulation in Para-Athletes with Spinal Injury. *Human Physiology*, 38(4), 410–415. doi: 10.1134/S0362119712040147
- [19] Guzii, O. V., & Romanchuk, A. P. (2016). Chutlyvist arterialnoho barorefleksu pry vidnovlenni orhanizmu pislia trenuvalnoho navantazhennia [Sensitivity of arterial barorefl ex in the terms of body recovery after training load]. *Zaporozhye medical journal*, 3(96), 24–29. [in Ukrainian]. doi: 10.14739/2310-1210.2016.3.76922
- [20] Romanchuk, O. P., & Bazhora, Ya. I. (2018). Regulatory peculiar features of uncontrolled bronchial asthma. *J. Education, Health and Spor*. 8(1), 330–346. doi: 10.5281/zenodo.1408134

Correlation of polymorphous variants (Apal, Tagl, Bsm1) of the VDR receptor gene with the vitamin D level and liver fibrosis in children with autoimmune hepatitis

V. S. Berezenko^{1,3,A,E,F}, Kh. Z. Mykhailiuk^{*1,3,A-D}, Z. I. Rossokha^{2,A,E,F}, S. P. Kyriachenko^{2,C,E}

¹SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukianova of NAMS of Ukraine", Kyiv, ²SI "Reference Center for Molecular Diagnostics of the Ministry of Health of Ukraine", Kyiv, ³Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

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

Key words:

children, autoimmune hepatitis, fibrosis, vitamin D, genetic polymorphism, VDR gene.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (4), 458–465

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.4.173196

*E-mail: x_volocuga@ukr.net

The aim. To study the correlation of the frequency distribution of alleles, genotypes and their combinations for the allelic variants of Apal, Tagl, Bsm1 of the Vitamin D receptor gene (VDR) with the vitamin D levels and the stage of fibrosis in children with autoimmune hepatitis.

Materials and methods. 51 children with autoimmune hepatitis were examined between 2016 and 2018. In all children, the diagnosis was confirmed in accordance with the International Guidelines for the study of liver diseases (European Association for the Study of Liver (EASL) Clinical Practice Guidelines: Autoimmune Hepatitis, 2015). In the examined children, the elastography of the liver parenchyma was performed by the shear wave method. Needle biopsy of the liver with histological examination of the specimens was performed in 42 children. The disease activity was determined using the histological activity index (HAI) by Knodell based on the results of a morphological study of the liver biopsy and biochemical parameters. The stage of the disease was evaluated by the histological index of fibrosis using the METAVIR scoring system and semi-quantitatively using the shear wave elastography of liver parenchyma. A level of 25(OH)D was determined in the blood serum. The determination of the Apal, Tagl, Bsm1 polymorphic loci of vitamin D receptor (VDR) was carried out using the molecular-genetic method. The association of polymorphic variants of the VDR gene with the level of vitamin D and the stage of liver fibrosis in children with autoimmune hepatitis has been evaluated.

Results. 72.0 % of the examined children had advanced severe liver fibrosis (F3–4 by the METAVIR score), among them 34.0 % of children had signs of liver cirrhosis. Children with advanced severe fibrosis (F3–4 by the METAVIR score) had the CC genotype of the polymorphic version of the Tagl of the VDR gene significantly more often ($\chi^2 = 3.953$; $P < 0.05$), and the genotype AA/CC/AA according to the investigated allelic variants of the VDR gene ($\chi^2 = 3.953$; $P < 0.05$). In 72.5 % of the examined children, there was a deficiency of vitamin D. In children with severe fibrosis (F3–4 by the METAVIR score) vitamin D deficiency was significantly more frequent as compared to children with less severe fibrosis (F1–2 by the METAVIR score) ($\chi^2 = 5.207$; $P = 0.023$). The genotype GA of the Bsm1 polymorphic variant was associated with a decrease in serum vitamin D levels ($P < 0.05$). At the AC/TC/GA combination of the Apal, Tagl and Bsm1 allelic variants of the VDR gene, vitamin D deficiency was registered significantly more frequently ($P < 0.05$).

Conclusions. The level of vitamin D in children with autoimmune hepatitis was dependent on the stage of fibrosis. Children with severe fibrosis had a genetically determined vitamin D deficiency significantly more often. Vitamin D deficiency was associated with the CC genotype presence of the Tagl polymorphic variant of the VDR gene in patients as well as the GA genotype of the Bsm1 polymorphic variant and the AC/TC/GA genotype of the three allelic variants of the gene studied.

Ключові слова:

діти, автоімунний гепатит, фіброз, вітамін D, поліморфізм генів, ген VDR.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 458–465

Зв'язок поліморфних варіантів (Apal, Tagl, Bsm1) гена рецептора VDR із рівнем вітаміну D і фіброзом печінки в дітей з автоімунним гепатитом

В. С. Березенко, Х. З. Михайлюк, З. І. Россоха, С. П. Кир'яченко

Мета роботи – вивчити зв'язок розподілу частот алелей, генотипів та їх комбінацій за алельними варіантами Apal, Tagl, Bsm1 гена рецептора вітаміну D (VDR) із рівнем вітаміну D і стадією фіброзу в дітей, які хворі на автоімунний гепатит.

Матеріали та методи. Обстежили 51 дитину з автоімунним гепатитом у 2016–2018 рр. Усім дітям діагноз встановили відповідно до міжнародних рекомендацій із вивчення захворювань печінки (European Association for the Study of Liver (EASL) Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis, 2015). У дітей, яких обстежили, виконали еластографію паренхіми печінки методом зсувної хвилі. У 42 дітей виконали пункційну біопсію печінки з гістологічним дослідженням біоптату. Активність захворювання визначали за допомогою гістологічного індексу активності (ІГА) за Knodell за результатами морфологічного дослідження біоптату печінки та біохімічними показниками. Стадію захворювання оцінювали за гістологічним індексом фіброзу METAVIR і напівкількісно за допомогою еластографії зсувної хвилі паренхіми печінки. У сироватці крові визначили рівень 25(OH)D. Молекулярно-генетичним методом дослідили поліморфні локуси Apal, Tagl, Bsm1 гена рецептора вітаміну D (VDR). Оцінили асоціацію поліморфних варіантів гена VDR із рівнем забезпеченості вітаміном D і стадією фіброзу в дітей, які хворі на автоімунний гепатит.

Результати. 72,0 % дітей, яких обстежили, мали виразний фіброз печінки F3–4 METAVIR, із них у 34,0 % виявили ознаки цирозу печінки. Діти з фіброзом F3–4 METAVIR вірогідно частіше мали CC генотип за поліморфним варіантом Tagl гена рецептора VDR ($\chi^2 = 3,953$; $p < 0,05$), генотип AA/CC/AA за дослідженими алельними варіантами гена рецептора VDR ($\chi^2 = 3,953$; $p < 0,05$). У 72,5 % обстежених дітей встановили дефіцит вітаміну D. У дітей із фіброзом F3–4 METAVIR віро-

гідно частіше визначали дефіцит вітаміну D порівняно з дітьми зі стадією фіброзу F1–2 METAVIR ($\chi^2 = 5,207$; $p = 0,023$). Генотип GA за поліморфним варіантом BsmI був пов'язаний зі зниженням рівня вітаміну D у сироватці крові ($p < 0,05$). При комбінації AC/TC/GA за алейними варіантами AраI, TagI, BsmI гена рецептора VDR вірогідно частіше виявляли дефіцит вітаміну D ($p < 0,05$).

Висновки. Забезпеченість вітаміном D у дітей з аутоімунним гепатитом залежала від стадії фіброзу. Діти з виразним фіброзом вірогідно частіше мали генетично зумовлений дефіцит вітаміну D. Дефіцит вітаміну D асоційований із наявністю у хворих CC генотипу за поліморфним варіантом TagI гена VDR, а також генотипу GA за поліморфним варіантом BsmI і генотипу AC/TC/GA за трьома алейними варіантами гена, який дослідили.

Связь полиморфных вариантов (AраI, TagI, BsmI) гена рецептора VDR с уровнем витамина D и фиброзом печени у детей с аутоиммунным гепатитом

В. С. Березенко, Х. З. Михайлюк, З. И. Россоха, С. П. Кирьяченко

Цель работы – изучить связь распределения частот аллелей, генотипов и их комбинаций с аллельными вариантами AраI, TagI, BsmI гена рецептора витамина D (VDR) с уровнем витамина D и стадией фиброза печени у детей с аутоиммунным гепатитом.

Материалы и методы. Обследовали 51 ребенка с аутоиммунным гепатитом за период 2016–2018 г. Всем детям диагноз установлен в соответствии с международными рекомендациями ассоциации по изучению заболеваний печени (European Association for the Study of Liver (EASL) Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis, 2015). Детям проведена эластография паренхимы печени методом сдвиговой волны. 42 детям выполнена пункционная биопсия печени с гистологическим исследованием биоптата. Активность гепатита определяли с помощью гистологического индекса активности (ИГА) по Knodell по результатам морфологического исследования биоптата печени и биохимическим показателям. Стадию заболевания оценивали по гистологическому индексу фиброза METAVIR и полуколичественного с помощью эластографии сдвиговой волны паренхимы печени. В сыворотке крови определен уровень 25(OH)D. Молекулярно-генетическим методом исследовали полиморфные локусы AраI, TagI, BsmI гена рецептора витамина D (VDR). Оценены ассоциации полиморфных вариантов гена VDR с уровнем витамина D и стадией фиброза у детей с аутоиммунным гепатитом.

Результаты. 72,0 % обследованных имели фиброз печени F3–4 по METAVIR, из них у 34,0 % детей установлены признаки цирроза печени. Дети с фиброзом F3–4 METAVIR достоверно чаще имели CC генотип по полиморфному варианту TagI гена рецептора VDR ($\chi^2 = 3,953$; $p < 0,05$), генотип AA/CC/AA по исследованным аллельным вариантам гена рецептора VDR ($\chi^2 = 3,953$; $p < 0,05$). У 72,5 % детей установлен дефицит витамина D. У детей с фиброзом F3–4 METAVIR достоверно чаще отмечен дефицит витамина D по сравнению с детьми со стадией фиброза F1–2 METAVIR ($\chi^2 = 5,207$; $p = 0,023$). Генотип GA по полиморфному варианту BsmI связан со снижением уровня витамина D в сыворотке крови ($p < 0,05$). При комбинации AC/TC/GA по аллельным вариантам AраI, TagI, BsmI гена рецептора VDR достоверно чаще диагностирован дефицит витамина D ($p < 0,05$).

Выводы. Уровень витамина D у детей с аутоиммунным гепатитом зависел от стадии фиброза. Дети с выразительным фиброзом достоверно чаще имели генетически обусловленный дефицит витамина D. Дефицит витамина D ассоциирован с наличием у больных CC генотипа по полиморфному варианту TagI гена VDR, а также генотипа GA по полиморфному варианту BsmI и генотипа AC/TC/GA по трем аллельными вариантами исследованного гена.

Ключевые слова:

ДЕТИ, аутоиммунный гепатит, фиброз, витамин D, полиморфизм генов, ген VDR.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 458–465

Introduction

Genetically determined predisposition, linkage to the antigens of the human main histocompatibility complex (HLA), alleles 1-B8-DR3, DR4, DR7, DR17, leads to the development of a severe, progressive liver disease such as autoimmune hepatitis in individuals who have lost their immunological tolerance to liver antigens [28]. In recent years, one of the trigger factors in the development and progression of autoimmune hepatitis is recognized as a violation of the vitamin D metabolism in the body as a factor that can accelerate the progression of the pathological process in the liver and negatively affect the effectiveness of therapy [1,2]. Low levels of 25 (OH) D in patients with chronic liver disease (CLD) occur in 90 % of cases, including those in whom the severe deficiency is correlated predominantly with the histological changes, degree of the disease progression and liver fibrosis development as well as the response to treatment [2,3].

Vitamin D has been shown to play a key role in cell differentiation and proliferation, apoptosis, angiogenesis, and immunomodulation [4,5]. This action is regulated by more than 900 genes [6–8]. Biological effects (autocrine,

paracrine, immunoregulatory) are due to the hormonally active form of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D (1 alpha, 25(OH)2D; calcitriol) by binding to vitamin D receptors of (VDR). VDR belongs to a huge family of nuclear receptors of steroid hormones that are present in more than 30 tissues, including liver, pancreatic islet cells, epithelial cells of the gastrointestinal tract, genitourinary system, organs of endocrine system, endothelium, hematopoietic cells, myocardium and striated muscle, neurons, placental cells, as well as in monocytes of blood and activated T and B lymphocytes [9–12]. D-hormone, penetrating into the nucleus of a cell, binds to a nuclear receptor encoded by the vitamin D receptor gene (VDR). The hormone-receptor complex operates through a system of transcription factors or directly binds to functionally active sites of genes. The VDR gene, which is located on the long arm of chromosome 12 (12q 13.11), has a size of 75 KB consisting of 63495 nucleotide pairs with 11 exons [13]. Recently, 1,518 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) of the human VDR gene have been described. A large number of polymorphic genetic variants explain the variability and diversity of vitamin D biological influences. The most studied, considering the importance for pathology development, are polymorphisms: FokI

(rs2228570), BsmI (rs1544410), ApaI (rs7975232), TaqI (rs731236), EcoRV (rs4516035), Tru9I, Cdx2 (rs11568820). The association of the VDR gene polymorphism with the development of diabetes mellitus, urolithiasis, psoriasis, malignant neoplasms, cardiovascular, neurodegenerative and autoimmune diseases has been established. It is proved that polymorphic genetic variants are associated with different blood levels of 25-(OH)-D, while decreased levels of the vitamin, in turn, are associated with autoimmune diseases development [1,14–17]. Studies by Vogel and co-authors suggest a possible association of vitamin D receptor gene polymorphism with an increased risk of developing autoimmune hepatitis. Thus, polymorphic variants of the VDR gene, in particular BsmI and TaqI, were associated with autoimmune hepatitis development [18]. The role of FokI polymorphism is associated with an increased risk of autoimmune hepatitis in patients from China and Germany [16], and the CC genotype (rs7975232, ApaI polymorphism) was associated with progression of the disease and liver fibrosis development [19,20]. Reduced expression of the VDR gene in autoimmune hepatitis was correlated with progression of the disease and, accordingly, with an increased risk of cirrhosis and liver fibrosis [19].

Today, the causal link between the vitamin D deficiency and the course of autoimmune hepatitis is poorly understood. In the scientific literature, there are no papers relating to the study of the VDR gene allelic polymorphism in association with the progression of autoimmune hepatitis, depending on the level of vitamin D in children; this has defined the direction of our investigation.

The aim

To study the correlation of the frequency distribution of alleles, genotypes and their combinations for the allelic variants of ApaI, TaqI, BsmI of the Vitamin D receptor gene (VDR) with the vitamin D levels and the stage of fibrosis in children with autoimmune hepatitis.

Materials and methods

The study was conducted at the Pediatric Hepatology Center, SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukianova of NAMS of Ukraine". A total of 51 children with autoimmune hepatitis, aged from 1 to 18 years were examined between 2016 and 2018. The study included children who had not received calcium and vitamin D supplements for 6 months.

In all children, the diagnosis was confirmed in accordance with the International Guidelines for the study of liver diseases (European Association for the Study of Liver (EASL)) Clinical Practice Guidelines: Autoimmune Hepatitis, 2015). For verifying the diagnosis, liver biopsy was performed in 42 patients with further morphological and immune-histochemical studies of the biopsy samples. The disease activity was determined using the histological activity index (HAI) by Knodell based on the results of a morphological study of the liver biopsy and biochemical parameters. The stage of the disease was evaluated by the histological index of fibrosis using the METAVIR scoring system and semi-quantitatively using the shear wave elastography of liver parenchyma. In 9 patients, for whom

the morphological examination of the liver biopsy was performed at the place of residence, the phase of fibrosis was evaluated by the parameters of the liver parenchyma stiffness by the shear wave elastography. Detection of the liver tissue stiffness was carried out in the SI "Institute of Nuclear Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv using the scanner "Radmyr ULTIMA" on an area of the right intercostal spaces with convex (5 MHz) and linear array (10 MHz) abdominal transducers and a high-frequency transducer for the liver surface. The median index of the obtained measurements characterized the elasticity of the liver parenchyma; the result was expressed in kilopascal (kPa). To interpret the obtained parameters and determine the stage of fibrosis, we used the data of L. Castera and co-authors' investigation, according to which the values of elastography below 5.8 kPa, F1 ≥ 5.8 – ≤ 7.2 kPa corresponded to the level of F0 fibrosis (minimal changes), F2 – ≥ 7.2 – ≤ 9.5 kPa (moderate changes), F3 – ≥ 9.5 – < 12.5 kPa (significant changes) and F4 – more than 12.5 kPa (liver cirrhosis) [31].

In order to verify the diagnosis of vitamin D deficiency and insufficiency, the classification (2011) adopted by the International Institute of Medicine and the Endocrine Practice Guidelines Committee was used. According to this classification, vitamin D deficiency in children and adults is considered as a clinical syndrome due to low levels of 25(OH)D in blood serum (below 20 ng/ml or 50 nmol/l). The serum level of 25(OH)D from 21 ng/ml to 29 ng/ml (i.e., from 50.1 to 74.9 nmol/l) should be considered as vitamin D insufficiency. A normal level of vitamin D equals the blood serum concentration of 25(OH)D above 30 ng/ml. The serum level of 25(OH)D was measured with an electrochemiluminescent method using the Elecsys 2010 system on the Cobas e 411 analyzer (Roche Diagnostics, Germany). The serum levels of total 25(OH)D that can be determined according to this method are in the range of 7.5–175.0 nmol/l, the variation coefficient is within 3.0 %.

The molecular-genetic study of polymorphous variants of the VDR gene was performed by the polymerase chain reaction (PCR) method. Initially, DNA was extracted from the peripheral blood using the commercial Quick-DNA Mini-prep Plus Kit test system (manufactured by Zymo Research, USA). For the determination of the polymorphic variants of the BsmI G/A (rs1544410), TaqI T/C (rs731236) [30] and ApaI A/C (rs7975232) [31] of the VDR gene, the modified protocols with oligo-nucleotide primers and the restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis were used. The investigated genes were amplified using specific primers (produced by Metabion, Germany) and the commercial Dream Taq Green PCR Master Mix (manufactured by Thermo Scientific, USA). The test tubes with the final amplification mixture were transferred to the Flex Cycler BU amplifier (Analytic Jena, Germany) to provide an appropriate temperature regime.

The products of the DNA fragments amplification (amplicons) of the VDR gene were subjected to hydrolytic cleavage by restriction endonuclease BsmI, TaqI and ApaI (produced by Thermo Scientific, USA), respectively. For the restriction analysis, separate mixtures were prepared and transferred into the pre-labeled test tubes, and then amplicons were added. The proportional composition of the components in the template mixture is given in *Table 1*.

Table 1. Composition of the template mixtures for RFLP analysis

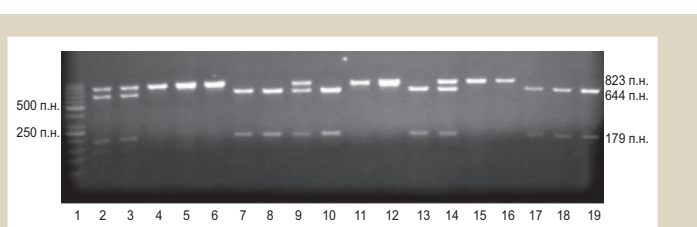
Gene (polymorphism)	Reagents	Volume	The size of the restriction fragments
VDRBsmI/G/A (rs1544410)	10xBufferR	1 µl	GG genotype: 644 and 179 bp GA genotype: 823, 644 and 179 bp AA genotype: 823 bp
	Enzyme BsmI	1 µl	
	Water	8 µl	
	Amplicon	5 µl	
VDRTaqI/T/C (rs731236)	10xBuffer TaqI	1 µl	TT genotype: 496 and 249 bp CT genotype: 496, 295, 249 and 201 bp CC genotype: 295, 249 and 201 bp
	Enzyme TaqI	1 µl	
	Water	8 µl	
	Amplicon	5 µl	
VDRApaI/A/C (rs7975232)	10xBufferB	1 µl	AA genotype: 501 bp AC genotype: 501, 288 and 213 bp CC genotype: 288 and 213 bp
	Enzyme ApaI	1 µl	
	Water	8 µl	
	Amplicon	5 µl	

The reaction of the fragments restriction for BsmI G/A (rs1544410) and VDR ApaI/A/C (rs7975232) of the VDR gene was carried out according to the manufacturer's recommendations in a solid-state microthermostat at 37 °C for 16 hours. The process was stopped by raising the temperature to 65 °C for 20 minutes. The restriction of TaqI T/C (rs731236) of the VDR gene was incubated at 65 °C for 16 hours without further thermo-inactivation of the enzyme (in accordance with the manufacturer's instructions). The state of the restriction fragments of the VDR gene was analyzed on 3 % agarose gel (agarose produced by Cleaver Scientific, UK) stained with ethidium bromide. Gene Ruler 50 bp DNA Ladder molecular weight marker (manufactured by Thermo Scientific, USA) was added to evaluate the fragments size (Fig. 1–3).

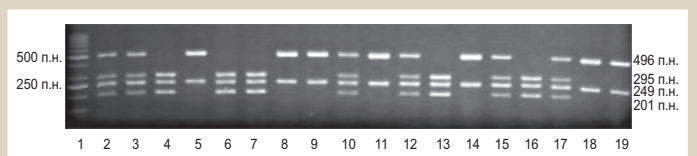
As shown in Fig. 1, the VDR gene BsmI G/A (rs1544410) amplifiers were subjected to hydrolytic cleavage at an existing restriction site 5'-GAATGCN↓-3', resulting in fragmentation having a molecular weight of 644 bp and 179 bp – the GG genotype. The restriction site disappeared at the nucleotide substitution from G to A, so if the size of the amplified DNA fragments after interaction with the restriction nuclease remained unchanged (823 bp), the AA genotype was recorded. Accordingly, in the heterozygous genotype (GA), all three types of fragments were observed simultaneously: 823, 644 and 179 bp.

Fig. 2 shows the electrophoregram of the VDR gene TaqI (rs731236) T/C restriction fragments. The amplicons were subjected to hydrolytic digestion by the TaqI restriction endonuclease at the specific restriction site 5'-T↓CGA-3'. On the amplified fragments of the VDR gene, one of these sites was always present that formed fragments of 496 and 249 bp under the action of TaqI endonuclease. By their presence, the TT genotype was determined. In response to the nucleotide substitution from T to C, an additional restriction site appeared. As a result, in the CC genotype, in addition to 249 bp, restriction fragments with a molecular weight of 295 bp and 201 bp were formed. In the heterozygous genotype (TC), fragments 496 bp, 295 bp, 249 bp and 201 bp, respectively, were observed.

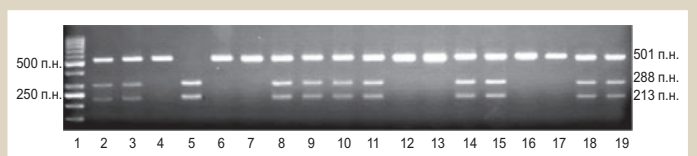
The size of the amplified ApaI (rs7975232) A/C fragment of the VDR gene remained the same (501 bp) under the influence of the ApaI restriction endonuclease in the absence of a nucleotide substitution (the AA genotype), (Fig. 3). The presence of a polymorphic variant was determined by the appearance of the restriction site 5'-GGGCC↓C-3', resulting in formation of fragments 288 bp and 213 bp in

**Fig. 1.** Electrophoregram of the distribution of VDR BsmI (rs1544410) G/A restriction fragments.

sample 1: molecular weight marker; samples 7–8, 10, 13, 17–19: the GG genotype; samples 2, 3, 9, 14: the GA genotype; samples 4–6, 11, 12, 15, 16: the AA genotype.

**Fig. 2.** Electrophoregram of the distribution of VDR TaqI (rs731236) T/C restriction fragments.

sample 1: molecular weight marker; samples 5, 8, 9, 11, 14, 18, 19: the TT genotype; samples 2, 3, 10, 12, 15, 17: the TC genotype; samples 4, 6, 7, 13, 16: the CC genotype.

**Fig. 3.** Electrophoregram of the distribution of VDR ApaI (rs7975232) A/C restriction fragments.

sample 1: molecular weight marker; samples 4, 6, 7, 12, 13, 16, 17: the genotype AA; samples 2, 3, 8–11, 14, 15, 18, 19: the genotype AC; sample 5: the genotype CC.

size (the CC genotype). The heterozygous genotype (AC) was characterized by the all types of fragments presence: 501 bp, 288 bp, and 213 bp.

The obtained data were statistically analyzed using the Statistica 6.1 software package and SPSS17.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois, USA). The general statistical analysis included median (Me) and interquartile intervals (UQ-LQ) calculations. Laboratory indices were presented in the form of arithmetic data (mean ($M \pm m$), standard error of the mean (SEM)). For nominal variables, the correlation was calculated using the Pearson (χ^2) criterion and Fisher's (two-tailed) criterion; those differences were considered statistically significant, for which a P value was <0.05.

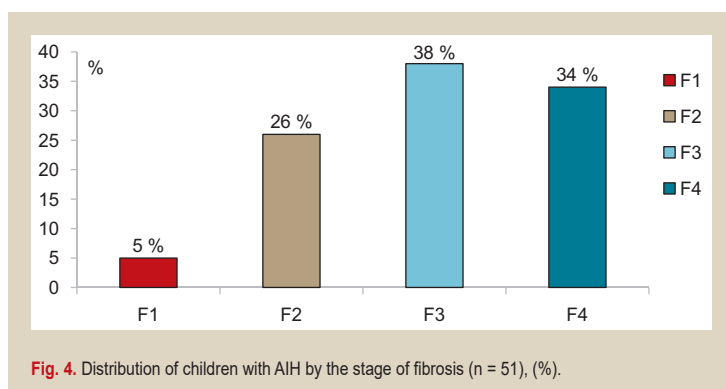
Table 2. Frequency distribution of the alleles and genotypes of the Apal, Tagl and BsmI polymorphisms of the VDR gene in children with autoimmune hepatitis (abs., %)

Apal (A/C)			Tagl (T/C)			BsmI (G/A)		
Genotype	n	%	Genotype	n	%	Genotype	n	%
AA	16	31.0	TT	21	41.0	GG	20	40.0
AC	26	51.0	TC	22	43.0	GA	15	29.0
CC	9	18.0	CC	8	16.0	AA	16	31.0
A Allele	58	57.0	T allele	64	63.0	G allele	55	54.0
C allele	44	43.0	C allele	48	37.0	A allele	47	46.0

Table 3. Vitamin D levels in children with autoimmune hepatitis depending on the stage of fibrosis, abs., %

Stage of fibrosis by the METAVIR score, (n = 51)	Vitamin D levels, abs., %		
	Optimal level (n = 6)	Insufficiency (n = 8)	Deficiency (n = 37)
F1–2 (n = 15)	4 (27.0)	3 (20.0)	8 (53.0)*
F3–4 (n = 36)	2 (5.5)	5 (14.0)	29 (80.5)

*: the difference is significant ($P < 0.05$) between the groups of children with the stage of fibrosis F1–2 and F3–4.



Results

Among the surveyed children ($n = 51$), girls dominated and accounted for 61.0 %, and boys made up 39.0 %. Such a distribution corresponds to the clinical features of the disease, which is more often recorded among girls. Higher prevalence among females is associated with the HLA antigens system: HLA-1-B8-DR3 or DR4 [24–26]. Autoimmune hepatitis (AIH) belongs to orphan diseases with a small frequency in the general population that has caused a small number of children included in the study. While Verma et al. [26] believe that the prevalence of AIH in the world is between 2 and 17 per 100.000 children, and it may vary within ethnic groups. The disease is more often diagnosed at the age of 10–30 years. The average age of patients at the time of our study was 11 [8; 15] years, corresponding to the literature data [28]. The average age for boys was 10 [8; 14] years, for girls 11.5 [9; 15]. 62.7% ($n = 32$) of patients were in the age group of 11–18 years.

We did not find a significant difference between the frequency distributions of the of alleles and genotypes of the Apal, Tagl and BsmI polymorphic variants of the VDR gene in children with AIH by gender and age ($P > 0.05$), so further analysis of the studied gene variations effects was performed in the general group of patients. The results of the identified peculiarities of distribution in the general group are presented in Table 2. Distribution of genotypes based on the VDR Apal, Tagl, BsmI genetic variants was analyzed according to the Hardy-Weinberg Law. The concordance

with the Hardy-Weinberg law was found for the Apal and Tagl genotype variants but not for the BsmI variant, that may be associated with a higher risk of multifactorial disease development such as autoimmune hepatitis.

According to our data, 72.0 % ($n = 36$) of the subjects had advanced liver fibrosis (F 3–4 METAVIR), and 34.0 % of them ($n = 17$) had signs of liver cirrhosis. Distribution of children by the stage of fibrosis is shown in Fig. 4.

The mean concentration of vitamin D in the examined children was 16.3 [10.9; 22.0] ng/ml corresponding to vitamin D deficiency. The vitamin D levels in children with AIH, depending on the stage of fibrosis, are given in Table 3.

12.0 % ($n = 6$) of children had optimal levels of vitamin D, deficiency was diagnosed in 15.5 % ($n = 8$), and deficiency was found in 72.5 % ($n = 37$) of the subjects. For computational convenience, we combined the subgroups of children with the stage of fibrosis F1 and F2, as well as F3 and F4.

According to our data, vitamin D levels in children depended on the stage of liver fibrosis. Patients with advanced fibrosis (F3–4 METAVIR) were significantly more likely to have vitamin D deficiency ($\chi^2 = 5.21$; $P = 0.022$) compared to children with F1–2 fibrosis by the METAVIR score (Table 5).

The evaluation of the AIH genetic risk was not the goal of our research. However we studied the effects of genetic variants on the complicated course of the disease associated with liver cirrhosis development by intra-group comparisons. We calculated genetic risk models including additive, recessive, dominant, multiplicative and co-dominant for complicated AIH development. The study of the association between genotypes of Apal, BsmI and Tagl polymorphic variants of the VDR gene with the stage of fibrosis in children with AIH demonstrated that children with advanced fibrosis (F3–4 METAVIR) were significantly more likely to have the CC genotype of the polymorphic variant Tagl of the VDR gene ($\chi^2 = 3.953$; $P < 0.05$) compared to children with the fibrosis stage F1–2 by the METAVIR score (Table 4). The highest predictive ability was shown for recessive inheritance model.

In children of the general group, the association between the serum levels of vitamin D and the VDR gene polymorphism was investigated. There was no significant difference in the levels of vitamin D depending on the geno-

types studied with the exception of the BsmI allelic variant. In children with the GA genotype by the BsmI polymorphic variant, there was a significant decrease in serum vitamin D levels (12.442 ± 5.515) compared to those with the AA (18.540 ± 7.805) and GG (19.230 ± 7.057) genotypes. For the TagI and BsmI of the VDR gene polymorphic variants in children with AIH, there was no significant difference in the levels of vitamin D (Table 5).

According to the results of our study, the following combinations of the genotypes in the three allelic variants of the gene were not found among the examined patients: AA/TT/GG, AA/TT/GA, AA/TT/AA, AA/TC/GG, AA/TC/GA, AA/CC/GG, AA/CC/GA, AC/TC/GG, AC/TC/AA, AC/CC/GG, AC/CC/GA, AC/CC/AA, CC/TT/GA, CC/TT/AA, CC/TC/GG, CC/TC/AA, CC/TC/GA, CC/CC/GG, CC/CC/GA, CC/CC/GG. The following six combinations of the genotypes were detected in the examined patients: AA/TC/AA (n = 8), AA/CC/AA (n = 8), AC/TT/GG (n = 11), AC/TT/GA (n = 1), AC/TC/GA (n = 14), CC/TT/GG (n = 9). We analyzed the effects of three allelic variants combinations of the VDR gene (Apal, TagI, BsmI) on the vitamin D levels and the liver fibrosis severity in this contingent (Tables 6, 7).

The results demonstrated that children with the AA/TC/AA, AC/TT/GG and CC/TT/GG genotype combinations were significantly more likely to have higher vitamin D serum levels than children with the AC/TC/GA genotype combination of the polymorphic variants Apal, TagI, BsmI of the VDR gene ($P < 0.05$). In general, all the examined children had varying degrees of vitamin D deficiency. Children with the AA/TC/AA genotype combination had the highest level of 25(OH)D – 19.84 ± 8.29 ng/ml.

The correlation analysis of the VDR gene allelic variant combinations with the fibrosis stage showed that children with the genotype AA/CC/AA combination were significantly more likely to have advanced fibrosis F 3-4 by the METAVIR score ($\chi^2 = 3.953$; $P < 0.05$) (Table 7).

Discussion

While searching for the scientific research results in PubMed, EMBASE and Cochrane Library we did not find any studies on the association between polymorphic variants of the VDR gene with the risk of AIH development or their peculiarities in the pediatric population, only some studies conducted among adults were revealed. Most studies were devoted to polymorphisms of the VDR gene in patients with primary biliary cirrhosis [20–23,29]. Thus, M. Vogel and co-authors, analyzing the effect of the VDR gene polymorphisms in AIH and primary biliary cirrhosis, revealed the association between BsmI and TaqI polymorphisms of the VDR and primary biliary cirrhosis in the German population, as well as the association between FokI and TaqI polymorphisms and AIH. The authors established a significant correlation between the GA ($\chi^2 = 8.33$; $P = 0.004$; OR = 0.44 [0.25; 0.78]) and AA ($\chi^2 = 7.37$; $P = 0.001$; OR = 2.1 [1.22; 3.62]) genotypes in patients with primary biliary cirrhosis compared with the control group. A noticeably weaker association with primary biliary cirrhosis was additionally demonstrated for the TC genotype ($\chi^2 = 4.79$; $P = 0.003$; OR = 0.54 [0.31; 0.94]). The analysis of the FokI polymorphic locus distribution showed that the frequency of the CC genotype was increased significantly ($\chi^2 = 8.09$;

Table 4. Distribution of children by the Apal, TagI and BsmI polymorphic variants of the VDR gene depending on the stage of liver fibrosis by the METAVIR score, abs., %

Genotype n	F1–2, n = 15		F3–4, n = 36	
	%	n	%	n
VDR, Apal				
AA	3	20.0	13	36.0
AC	10	67.0	16	44.5
CC	2	13.0	7	19.5
A allele	16	53.0	42	58.0
C allele	14	47.0	30	42.0
VDR, TagI				
TT	7	47.0	14	39.0
TC	8	53.0	14	39.0
CC	–	–	8	22.0*
T allele	22	73.0	42	58.0
C allele	8	27.0	30	42.0*
VDR, BsmI				
GG	6	40.0	14	39.0
GA	6	40.0	9	25.0
AA	3	20.0	13	36.0
G allele	18	60.0	37	51.0
A allele	12	40.0	35	49.0

*: the difference is significant ($P < 0.05$).

Table 5. Vitamin D levels in children with autoimmune hepatitis depending on the polymorphic variant of the VDR gene, M \pm m, ng/ml

Apal		
AA (n = 16)	AC (n = 26)	CC (n = 9)
18.540 \pm 7.805	15.460 \pm 7.707	18.750 \pm 4.357
TagI		
TT (n = 21)	TC (n = 22)	CC (n = 8)
18.830 \pm 7.100	15.193 \pm 7.482	17.240 \pm 7.618
BsmI		
GG (n = 20)	GA (n = 15)	AA (n = 16)
19.230 \pm 7.057*	12.442 \pm 5.515	18.530 \pm 7.805**

*: the difference is significant ($P < 0.05$) between the GG and GA genotypes of the BsmI polymorphic variant; **: the difference is significant ($P < 0.05$) between the GA and AA genotypes of the BsmI polymorphic variant.

Table 6. Vitamin D levels depending on the genotype combinations of the Apal, TagI and BsmI variants of the VDR gene, abs., M \pm m, ng/ml

AA/TC/AA n = 8 (16.0)	AA/CC/AA n = 8 (16.0)	AC/TT/GG n = 11 (21.0)	AC/TT/GA n = 1 (2.0)	AC/TC/GA n = 14 (27.0)	CC/TT/GG n = 9 (18.0)
19.84 \pm 8.29*	17.24 \pm 7.61	19.57 \pm 8.72*	11.09	12.54 \pm 5.71	18.76 \pm 4.36*

*: the difference is significant ($P < 0.05$).

Table 7. Distribution of children by the METAVIR fibrosis score depending on combinations of the Apal, TagI and BsmI allelic variants of the VDR gene, abs., %

Combinations of the allelic variants	F1–2, n = 15		F3–4, n = 36	
AA/TC/AC	3	20.0	5	14.0
AA/CC/AA	–	–	8	22.0*
AC/TT/GG	1	7.0	–	–
AC/TT/GA	4	27.0	7	19.5
AC/TC/GA	5	33.0	9	25.0
CC/TT/GG	2	13.0	7	19.5

*: the difference is significant ($P < 0.05$).

$P = 0.004$; OR = 1.94 [1.23; 3.07]), and the frequency of the TT genotype was decreased compared with the control group ($\chi^2 = 5.13$; $P = 0.002$; OR = 0.50 [0.28; 0.92]) [21].

The information retrieval conducted by us has validated our study on the possibility of the VDR gene analysis application in the pediatric hepatology as a prognostic marker for the unfavorable course of AIH with progression to liver cirrhosis.

Analysis of the FokI polymorphic locus in our AIH patients was not performed. The distribution of allelic and genotype frequencies found in our study were similar to those found in patients from Germany.

Conclusions

Thus, according to our data, deficiency of vitamin D was found in 72.5 % of patients with AIH. The level of vitamin D depended on the stage of liver fibrosis. Children with advanced fibrosis F3–4 by the METAVIR score were significantly more likely to have vitamin D deficiency.

Vitamin D deficiency was associated with the genetic peculiarities of the patients: the GA genotype of the BsmI polymorphic variant presence and the AC/TC/GA genotype combination of the Apal, TagI and BsmI polymorphic variants of the VDR gene.

The CC genotype of the TagI polymorphic variant and the AA/CC/AA genotype combination of the Apal, TagI and BsmI polymorphic variants of the VDR gene were associated with advanced fibrosis F3–4 by the METAVIR score in children with AIH.

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

Надійшла до редакції / Received: 08.10.2018
Після доопрацювання / Revised: 05.02.2019
Прийнято до друку / Accepted: 11.02.2019

Information about authors:

Berezenko V. S., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pediatric Hepatology, SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynaecology named after Academician O. M. Lukianova of NAMS of Ukraine", Head of the Department of Pediatrics No 1, Bogomolets National Medical University, Kyiv. Mykhailiuk Kh. Z., MD, Physician of the Department of Pediatric Hepatology, Postgraduate Student of SI "Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynaecology named after Academician O. M. Lukianova of NAMS of Ukraine", Assistant of the Department of Pediatrics No 1, Bogomolets National Medical University, Kyiv. Rossokha Z. I., MD, PhD, Director of SI "Reference-Center for Molecular Diagnostics, Ministry of Public Health of Ukraine", Kyiv. Kyriachenko S. P., PhD, Biologist of the Molecular Genetic Laboratory of SI "Reference-Center for Molecular Diagnostics, Ministry of Public Health of Ukraine", Kyiv.

Відомості про авторів:

Березенко В. С., д-р мед. наук, професор, керівник відділення дитячої гепатології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», зав. каф. педіатрії № 1, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ.
Михайлюк Х. З., лікар-ординатор відділення дитячої гепатології, аспірант, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», асистент каф. педіатрії № 1, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ.

Росоха 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.

Сведения об авторах:

Березенко В. С., д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения детской гепатологии, ДУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика А. Н. Лукьяновой НАМН Украины», зав. каф. педиатрии № 1, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев.
Михайлюк Х. З., врач-ординатор отделения детской гепатологии, аспирант, ДУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика А. Н. Лукьяновой НАМН Украины», ассистент каф. педиатрии № 1, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев.
Росоха З. И., канд. мед. наук, директор ГУ «Референс центр молекулярной диагностики МЗ Украины», г. Киев.
Кирьяченко С. П., канд. биол. наук, биолог молекулярно-генетической лаборатории, ГУ «Референс центр молекулярной диагностики МЗ Украины», г. Киев.

References

- Luong, K. V., & Nguyen, L. T. (2013). The Role of Vitamin D in Autoimmune Hepatitis. *J ClinMedRes*, 5(6), 407–415. doi: 10.4021/jocmr1505w
- Efe, C., Kav, T., Aydin, C., Cengiz, M., Imga, N. N., Purnak, T., et al. (2014). Low Serum Vitamin D Levels Are Associated with Severe Histological Features and Poor Response to Therapy in Patients with Autoimmune Hepatitis Article in Digestive Diseases and Sciences. *DisDisSci*, 59(12), 3035–42. doi: 10.1007/s10620-014-3267-3
- Eltayeb, A. A., Abdou, M. A., Abdel-aal, A. M., & Othman, M. H. (2015). Vitamin D status and viral response to the rapy in hepatitis C infected children. *World J Gastroenterol.*, 21(4), 1284–1291. doi: 10.3748/wjg.v21.i4.1284
- Kamen, D. L., & Tangpricha, V. (2010). Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity. *J. Mol. Med.*, 88, 441–450. doi: 10.1007/s00109-010-0590-9
- Iruzubieta, P., Terán, Á., Crespo, J., & Fábrega, E. (2014). Vitamin D deficiency in chronic liver disease. *World J Hepatol.*, 6(12), 901–915. doi: 10.4254/wjh.v6.i12.901
- Povorozniuk, V. V., & Pludovskij, P. (2014). *Defitsyt ta nedostatnist vitaminu D: epidemiolohiia, diahnozyka, profilaktyka ta likuvannia [Vitamin D-deficiency and insufficiency: epidemiology, diagnostics, prevention and treatment]*. Doneck. [in Ukrainian].
- Kitsun, M. T., & Roberts, S. K. (2012). D-livering the message: The importance of vitamin D status in chronic liver disease. *J Hepatol.*, 57(4), 897–909. doi: 10.1016/j.jhep.2012.04.033
- Mora, J. R., Iwata, M., von Andrian, U. H. (2008). Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol.*, 8(9), 685–98. doi: 10.1038/nri2378
- Kamen, D. L., & Tangpricha, V. (2010). Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity. *J Mol Med (Berl)*, 88(5), 441–450. doi: 10.1007/s00109-010-0590-9
- Agmon-Levin, N., Theodor, E., Segal, R. M., & Shoenfeld, Y. (2013). Vitamin D in systemic and organ-specific autoimmune diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*, 45, 256–66. doi: 10.1007/s12016-012-8342-y
- Kamen, D. L., & Tangpricha, V. (2010). Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity. *J. Mol. Med.*, 88(5), 441–50. doi: 10.1007/s00109-010-0590-9
- Malham, M., Jorgensen, S. P., Ott, P., Agnholt, J., Vilstrup, H., Borre, M., & Dahlerup, J. F. (2011). Vitamin D deficiency in cirrhosis relates to liver dysfunction rather than aetiology. *World J Gastroenterol.*, 17(7), 922–925. doi: 10.3748/wjg.v17.i7.922
- Yakovleva, O. A., Nikolova, O. M., Doroshkevich, I. A., & Shcherbenyuk, N. V. (2017). Geneticheskij polimorfizm receptora vitamina D opredeljaet ego metabolizm i e'fektivnost' [Genetic polymorphism of vitamin D receptor determines its metabolism and efficiency]. *Bol'. Sustavy. Pozvonochnik.*, 7(2), 73–78. doi: 10.22141/2224-1507.7.2.2017.108699
- Peterlik, M., & Cross, H. S. (2009). Vitamin D and calcium insufficiency-related chronic diseases: molecular and cellular pathophysiology. *European Journal of Clinical Nutrition.*, 63, 1377–1386. doi: 10.1038/ejcn.2009.105
- Arteh, J., Narra, S., & Nair, S. (2010). Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease. *Dig Dis Sci.*, 55(9), 2624–8. doi: 10.1007/s10620-009-1069-9

- [16] Fan, L., Tu, X., Zhu, Y., Zhou, L., Pfeiffer, T., Feltens, R., et al. (2005) Genetic association of vitamin D receptor polymorphisms with autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis in the Chinese. *J Gastroenterol Hepatol.*, 20(2), 249–55. doi: 10.1111/j.1440-1746.2005.03532.x
- [17] Luong, K. V., & Nguyen, L. T. (2013). The Role of Vitamin D in Autoimmune Hepatitis. *J Clin Med Res.*, 5(6), 407–415. doi: 10.4021/jocmr1505w
- [18] Altieri, B., Muscogiuri, G., Barrea, L., Mathieu, Ch., Vallone, C. V., Mascitelli, L., et al. (2017). Does vitamin D play a role in autoimmune endocrine disorders? A proof of concept. *Rev Endocr Metab Disord.*, 18(3), 335–346. doi: 10.1007/s11154-016-9405-9
- [19] Konstantakis, C., Tselekouni, P., Kalafateli, M., & Triantos, C. (2016). Vitamin D deficiency in patients with liver cirrhosis. *Ann Gastroenterol.*, 29(3), 297–306. doi: 10.20524/aog.2016.0037
- [20] Kemińska-Podhorecka, A., Wunsch, E., Jarowicz, T., Raszeja-Wyszomirska, J., Loniewska, B., Kaczmarczyk, M., et al. (2012). Vitamin D Receptor Polymorphisms Predispose to Primary Biliary Cirrhosis and Severity of the Disease in Polish Population. *Gastroenterology Research and Practice*, 2012, 408723. doi: 10.1155/2012/408723
- [21] Vogel, A., Strassburg, C. P., & Manns, M. (2002). Genetic association of vitamin D receptor polymorphisms with primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis. *Hepatology.*, 35(1), 126–31. doi: 10.1053/jhep.2002.30084
- [22] Tanaka, A., Nezu, S., Uegaki, S., Kikuchi, K., Shibuya, A., Miyakawa, H., et al. (2009). Vitamin D receptor polymorphisms are associated with increased susceptibility to primary biliary cirrhosis in Japanese and Italian populations. *J Hepatol.*, 50(6), 1202–9. doi: 10.1016/j.jhep.2009.01.015
- [23] Adorini, L. (2009). Vitamin D receptor polymorphisms in primary biliary cirrhosis: A functional connection? *Journal of Hepatology*, 50(6), 1071–1073. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2009.03.005>
- [24] Czaja, A. J., Carpenter, H. A., & Moore, S. B. (2008). HLA DRB1*13 as a risk factor for type 1 autoimmune hepatitis in North American patients. *Dig Dis Sci.*, 53(2), 522–528. doi: 10.1007/s10620-007-9859-4
- [25] Ferri Liu, P. M., de Miranda, D. M., Fagundes, E. D., Ferreira, A. R., & Simões e Silva, A. C. (2013). Autoimmune hepatitis in childhood: The role of genetic and immune factors. *World J Gastroenterol.*, 19(28), 4455–4463. doi: 10.3748/wjg.v19.i28.4455
- [26] Verma, S., Torbenson, M., & Thuluvath, P. J. (2007). The impact of ethnicity on the natural history of autoimmune hepatitis. *Hepatology*, 46(6), 1828–1835. doi: 10.1002/hep.21884
- [27] Radhakrishnan, K. R., Alkhoury, N., Wolrley, S., Arrigain, S., Hupertz, V., Kay, M., et al. (2010). Autoimmune hepatitis in children—impact of cirrhosis at presentation on natural history and long-term outcome. *Dig Liver Dis.*, 42(10), 724–728. doi: 10.1016/j.dld.2010.01.002
- [28] European Association for The Study of the Liver (2015). EASL Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis. *Journal of Hepatology*, 63(4), 971–1004. doi: 10.1016/j.jhep.2015.06.030
- [29] Rasheed, H., Hegazy, R. A., Gawdat, H. I., Mehaney, D. A., Kamel, M. M., Fawzy, M. M., et al. (2016) Serum vitamin D and vitamin D receptor gene polymorphism in mycosis fungoides patients: a case control study. *PLoS One.*, 11(6), e0158014. doi:10.1371/journal.pone.0158014
- [30] Obukhova, O. A. (2014). *Rozpodil polimorfizmiv VDR-hena v ukraïns'koho naselennia ta poshuk yikh zviazku iz rozvytkom aterotrombotychnoho insult (Avtoref. dis...kand. biol. nauk)*. [The distribution of polymorphisms in the VDR-gene in Ukrainian population and search of their association with the development of atherothrombotic stroke. Dr. biol. sci. diss.]. Kyiv. [in Ukrainian].
- [31] Berzigotti, A., & Castera L. (2013). Update on ultrasound imaging of liver fibrosis. *Journal of Hepatology.*, 59, 180–182. doi.org/10.1016/j.jhep.2012.12.028

Is protracted bacterial bronchitis a new nosological group or an old problem of differential diagnosis of chronic cough in children?

S. I. Ilchenko^{*A,B,C,F}, A. O. Fialkovska^{C,D,E}, L. O. Zhukova^{B,C}

SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», Dnipro

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

Key words:

cough, bronchitis, chronic bronchitis, child.

Zaporozhye
medical journal
2019; 21 (4), 466–470

DOI:
10.14739/2310-1210.
2019.4.173341

*E-mail:
ilchensv@gmail.com

The purpose is to study the clinical-anamnestic and microbiological features of the protracted bacterial bronchitis (PBB), recurrent bronchitis (RB), chronic bronchitis (CB) in children and to determine the risk factors for the development of chronic bronchitis.

Materials and methods. A total of 89 children were examined, among them 21 children with PBB, 27 children with RB and 41 children with CB. The study included the collection of anamnesis, objective examination, chest X-ray, bronchoscopy and microbiological examination of the bronchial mucosa and upper respiratory tract composition.

Results. An analysis of PBB clinical features showed that their total duration was 4.1 ± 0.3 weeks. In children with RB, the duration of exacerbations did not differ significantly and was 3.8 ± 0.4 weeks. In patients with CB, the annual number of bronchitis and the total duration of cough were two times higher than in patients with RB. Bacteriological analysis showed that *Streptococcus pneumoniae* was the most frequent causative agent of the disease in children with PBB and RB. In children with exacerbation of CB, *Haemophilus influenzae* was more commonly identified. At the same time, such a representative of the normal bronchial microbiome as *Aerococcus viridans*, was identified in 81.0 % of PBB patients, in 33.3 % of RB patients, and in 8.7 % of CB patients.

Conclusions. The study showed that risk factors for CB development in children with PBB and RB are the lower respiratory tract *H. influenzae* colonization and decreased activity or absence of the normal airway microbiota (*Aerococcus viridans*).

Ключові слова:

кашель, затяжний бактеріальний бронхіт, рецидивний бронхіт, хронічний бронхіт, діти.

Запорізький
медичний
журнал. – 2019. –
Т. 21, № 4(115). –
С. 466–470

Затяжні бактеріальні бронхіти – нова нозологічна група або старі проблеми диференційної діагностики хронічного кашлю в дітей?

С. І. Ільченко, А. О. Фіалковська, Л. О. Жукова

Мета роботи – вивчити клініко-анамнестичні та мікробіологічні особливості затяжних бактеріальних бронхітів (ЗББ), рецидивного бронхіту (РБ), хронічного бронхіту (ХБ) у дітей і встановити фактори ризику розвитку ХБ.

Матеріали та методи. Обстежили 89 дітей: 21 хворого на ЗББ, 27 дітей із РБ і 41 пацієнта з ХБ. Дослідження включало детальний збір анамнезу, об'єктивне обстеження дітей, рентгенографію органів грудної клітки, бронхоскопію та мікробіологічне дослідження складу слизової оболонки бронхів і верхніх дихальних шляхів.

Результати. Аналіз особливостей клінічного перебігу ЗББ показав, що загальна тривалість становила $4,1 \pm 0,3$ тижня. У дітей із РБ тривалість загострень вірогідно не відрізнялася та становила $3,8 \pm 0,4$ тижня. У хворих на ХБ кількість бронхітів на рік і загальна тривалість кашлю були вдвічі більшими, ніж у хворих на РБ. Бактеріологічний аналіз показав, що найчастішим збудником захворювання в дітей із ЗББ і РБ був *Streptococcus pneumoniae*. У дітей із клінікою загострення ХБ частіше визначали *Haemophilus influenzae*. Такий представник нормальної мікрофлори бронхів, як *Aerococcus viridans* ідентифікували у 81,0 % пацієнтів із ЗББ, у 33,3 % дітей із РБ, у 8,7 % хворих на ХБ.

Висновки. Дослідження показало, що факторами ризику розвитку ХБ у дітей із ЗББ і РБ є колонізація нижніх дихальних шляхів *H. influenzae* та зниження активності або відсутність нормальної мікрофлори бронхів (*Aerococcus viridans*).

Ключевые слова:

кашель, бронхит, хронический бронхит, дети.

Запорожский
медицинский
журнал. – 2019. –
Т. 21, № 4(115). –
С. 466–470

Затяжные бактериальные бронхиты – новая нозологическая группа или старые проблемы дифференциальной диагностики хронического кашля у детей?

С. И. Ильченко, А. А. Филалковская, Л. А. Жукова

Цель работы – изучить клинко-анамнестические и микробиологические особенности затяжных бактериальных бронхитов (ЗББ), рецидивирующего бронхита (РБ), хронического бронхита (ХБ) у детей и определить факторы риска развития ХБ.

Материалы и методы. Обследовали 89 детей: 21 пациента с ЗББ, 27 детей с РБ, 41 больного ХБ. Исследование включало детальную сбор анамнеза, объективное обследование детей, рентгенографию органов грудной клетки, бронхоскопию и микробиологическое исследование состава слизистой оболочки бронхов и верхних дыхательных путей.

Результаты. Анализ особенностей клинического течения ЗББ показал, что общая их продолжительность составила $4,1 \pm 0,3$ недели. У детей с РБ продолжительность обострений достоверно не отличалась и составляла $3,8 \pm 0,4$ недели. У больных ХБ количество бронхитов в году и общая продолжительность кашля были вдвое больше, чем у больных РБ. Бактериологический анализ мокроты показал, что наиболее частым возбудителем заболевания у детей с ЗББ и РБ был *Streptococcus pneumoniae*. У детей с клиникой обострения ХБ чаще определяли *Haemophilus influenzae*. Такой предста-

витель нормальной микрофлоры бронхов, как *Aerococcus viridans* идентифицирован у 81,0 % пациентов с ЗББ, у 33,3 % больных РБ, у 8,7 % детей с ХБ.

Выводы. Исследование показало, что факторами риска развития ХБ у детей с ЗББ и РБ являются колонизация их нижних дыхательных путей *H. influenzae* и снижение активности или отсутствие нормальной микрофлоры бронхов (*Aerococcus viridans*).

Introduction

Cough is one of the most common symptoms of bronchitis in childhood. In most foreign recommendations on the classification of cough in children, for example, the British Thoracic Society, it is recommended to use the concepts "acute cough" is cough lasting 3 weeks, "chronic cough" is cough lasting 8 weeks. Prolonged acute cough is a "grey" area between acute and chronic cough, sometimes called "subacute cough" [1]. In domestic pulmonary practice in both children and adults, chronic cough is defined as a daily cough lasting more than 8 weeks [2]. While in the modern guidelines of the United States, Australia and New Zealand, chronic cough in children is defined as one that lasts more than 4 weeks [3].

For comparison, the duration of cough and the course of various forms of bronchitis according to International Classification of Diseases, 10th Revision (ICD-10), cough in children more than 8 weeks can be a symptom of only chronic bronchitis (J41), and long-lasting acute cough (4–8 weeks) – subacute bronchitis (J20). In the domestic pediatric pulmonary medicine, there is a problem of inconsistency between the national clinical classification of bronchitis in children and ICD-10. Thus, in the new clinical classification of bronchitis in children, which was adopted at the XIII Congress of Pediatricians of Ukraine (2016), there are acute, recurrent (there is no such form in ICD-10) and chronic bronchitis. According to the definition of this classification, "recurrent bronchitis (RB) is a bronchial disease with the recurrence of acute bronchitis episodes (2–3 times a year) for 1–2 years on the background of acute respiratory viral infections without signs of bronchial obstruction, characterized by a prolonged exacerbation (3–4 weeks and longer)". Chronic bronchitis (CB) is characterized by "the presence of productive cough for several months within two years, persistent moist rale, 2–3 exacerbations a year within two years". Thus, chronic cough, according to its course duration, can be both in case of RB and CB.

Today, the relatively new clinical nosology in children – protracted bacterial bronchitis (PBB) – is being actively studied and discussed in the world. The PBB was first described in the study conducted in Australia in 2006 and is now included in the international cough guidelines [4]. PBB is characterized by an isolated chronic (lasting >4 weeks) wet or productive cough without signs of another cause, and usually responds to 2 weeks of an appropriate oral antibiotic [5]. Foreign studies show that PBB may be the most common cause for chronic wet cough in preschool children (0–6 years old) [6].

The prevalence of PBB among children with chronic wet cough in Ukraine is unknown, but many foreign studies report that its prevalence ranges from 10 to 40 % in the population [7,8]. In the study by Gedik et al., which included 563 children with chronic cough, the most common final diagnosis among all the participants were: asthma (24.9 %), asthma-like symptoms (19.0 %), protracted bacterial bron-

chitis (PBB) (11.9 %), and upper airway cough syndrome (9.1 %) [9]. In an Australian multicenter study, 41 % of 346 children who had a chronic wet cough, after a thorough examination, were diagnosed with PBB [8].

The persistent bacterial infection of the lower respiratory tract is the basis of PBB pathogenesis. The most common cause of PBB is atypical *H. influenzae* (47–81 %), *S. pneumoniae* (24–39 %), *M. catarrhalis* (19–43 %), which were isolated from the bronchoalveolar lavage samples [10,11]. The occurrence of PBB is associated with the violation of mucociliary clearance, immune deficiency, airway abnormalities and bacterial biofilms formation in the respiratory tract [12].

PBB is often misdiagnosed (for example, as asthma) or inadequately treated, which leads to symptoms persistence and potential structural damage to the respiratory system [13,14].

PBB require complex differential diagnostics. They need to be differentiated with acute bronchitis of viral etiology. Other reasons which should be considered are foreign body in respiratory tract and cough due to adenotonsillar hypertrophy. Cystic fibrosis, bronchiectasis, primary ciliary dyskinesia, pulmonary aspiration and immunodeficiency are rare but important differential diagnoses [15].

Due to the fact that protracted bacterial bronchitis today remains an understudied problem in Ukraine, it is relevant to study its clinical, anamnestic and microbiological features, as well as their role in the development of CB in children.

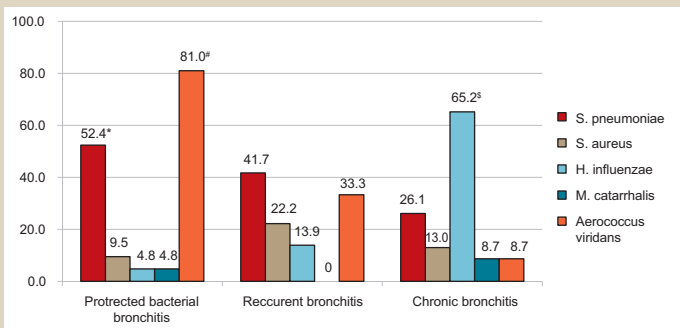
The purpose

The purpose is to study the clinical-anamnestic and microbiological features of PBB, RB and CB in children and to determine the risk factors for CB development.

Materials and methods

To achieve the goal, a comprehensive survey was conducted including 89 children aged from 6 months to 18 years, who had complaints of prolonged wet cough (more than 4 weeks). Among the examined children, the groups of patients with RB and CB (according to diagnoses already documented earlier in the primary medical documentation) and a group of children with the first episode of bronchitis with a protracted course (that is, possibly PBB) were identified. Exclusion criteria were: the presence of hereditary or congenital bronchopulmonary pathology (bronchial asthma, cystic fibrosis, primary ciliary dyskinesia, deficiency of alpha-1-antitrypsin, congenital malformations of bronchus and lungs), microaspiration syndrome, immunodeficiency, congenital heart disease, tobacco smoking.

After selection, all the examined children were divided into 3 groups. The first group consisted of 21 children with PBB (average age – 3.8 ± 0.6 years), the second group – 27 children with RB (average age – 13.2 ± 2.1 years) and



*: significance of differences compared with the third group (P < 0.05); #: significance of differences compared with the second and the third group (P < 0.05); \$: significance of differences compared with the first and the second group (P < 0.05).

Fig. 1. The structure of the identified microflora (%) in the bronchoalveolar lavage fluid of patients.

the third group – 41 child with CB (average age – 14.7 ± 2.6 years).

Parents of patients received complete information on the scope of diagnostic measures and signed a written consent to participate in the study.

Instrumental methods of examination included chest X-ray and bronchoscopy. The study of qualitative and quantitative microbial composition of bronchial mucosa was performed in bronchoalveolar lavage fluid obtained during diagnostic and therapeutic bronchoscopy according to the standard method. In addition, the microbial spectrum of the upper respiratory tract obtained by oropharyngeal deep swabbing was studied. The conclusion was made based on a staining reaction presence on plates. The museum strain *Aerococcus viridans* № 167 was used as a control strain.

All statistical calculations were performed by means of Statistica v 6.1 (license number – AGAR909E415822FA). Quantitative and qualitative indicators were evaluated. Descriptive statistics were presented in the form of average and standard error of mean (M ± m) for values with normal distribution. Statistical significance was defined at P < 0.05.

Results

Analysis of PBB clinical features showed that their total duration was 4.1 ± 0.3 weeks in the 1st group children; the duration of exacerbations did not differ significantly and was 3.8 ± 0.6 weeks (P > 0.05) in the 2nd group children. In patients with CB, the annual number of bronchitis and the total duration of cough were two times higher than in patients with RB (4.5 ± 0.2 vs 2.6 ± 0.3 times; 4.3 ± 0.3 vs 2.2 ± 0.2 months, respectively, P < 0.001). There were found significant differences in repeated bronchitis duration in patients with RB and CB (3.2 ± 0.8 vs 6.2 ± 1.1 years, P < 0.05).

According to X-ray data, all patients including PBB demonstrated an increase in vascular pattern and pulmonary hilum enlargement was revealed in 19.0 % of patients. In CB patients as compared to RB patients, the following signs were more common: increased vascular pattern (73.2 % vs 40.7 %, P < 0.01), pulmonary hilum enlargement and consolidation (65.9 % vs 11.1 %, P < 0.001). Deformation of the vascular pattern was inherent in CB patients and was found in all the patients of this group without any

exception (100 %), while it was revealed in only one child (P < 0.001) among RB patients. Emphysematosis, attenuation differences, pulmonary tissues infiltration were found in children with CB (24.4 %, 17.1 %, 7.3 %, respectively) and were absent in children with RB. In the first two cases, the differences were significant with P < 0.01 and P < 0.05, respectively.

The results of endobronchial examination showed visual signs of hypotension of the trachea and bronchi in half of CB patients (51.2 %), which is one of the risk factors for the drainage function of the bronchi disturbance. Endobronchitis was mostly diffuse (in 61.0 % of the subjects) and catarrhal-purulent (58.5 %), catarrhal (26.8 %) and purulent (14.6 %) by the nature in this study group. In assessing the bronchial epithelial layer condition, the moderate signs of the mucous membrane atrophy were noted in 34.1 % of cases and the bronchial epithelial dysplasia was noted in 46.3 %. In patients with RB, visual signs of the bronchial mucous membrane atrophy or dysplasia were not recorded in any case.

Comparison of bronchial signs in patients with CB and RB showed a difference in the frequency of tracheal and bronchial mobility reduction (51.2 % vs 18.5 %, P < 0.01), the bronchial wall hypertrophy (19.5 % vs 3.7 %, P < 0.05), the nature of endobronchitis (catarrhal purulent 58.5 % vs 33.3 %, P < 0.05, purulent 14.6 % in the absence of it in children with RB, P < 0.05, catarrhal – 26.8 % vs 66.7 %, P < 0.05). There was no significant difference (P > 0.05) between the frequency of bilateral (65.9 % vs 74.1 %) and left sided endobronchitis (17.1 % vs 25.9 %), bronchial edema (22.0 % vs 14.8 %).

The analysis of the cytomorphological studies results of brush biopsy material from the bronchial mucous membrane of RB and CB patients in the remission period confirmed the infiltration of inflammatory cells into bronchial mucosa. A comparative analysis of the brush biopsy specimens for cellular structure from the bronchial mucosa of the examined children also confirmed that the features of CB inflammation in the clinical remission period were mainly lymphocytic-macrophage infiltration and RB – neutrophilic-macrophage infiltration.

The bacteriological analysis of sputum showed that the most frequent cause of the disease in children with PBB and exacerbation of RB was *Streptococcus pneumoniae* (52.4 % and 41.7 %, respectively). *Staphylococcus aureus* was detected in 9.5 % of PBB patients and in 22.2 % of RB patients, *Haemophilus influenzae* was found in 4.8 % and 13.9 % of sick children, respectively. In children with CB exacerbation, *Haemophilus influenzae* was identified significantly more frequently (in 65.2 % of cases, P < 0.05), *Streptococcus pneumoniae* was detected in 26.1 % of patients, *Staphylococcus aureus* and *Moraxella catarrhalis* were identified in 13.0 % and 8.7 % of patients, respectively (Fig. 1).

At the same time, monocultures of *Haemophilus influenzae* were defined approximately in 70 %, *Streptococcus pneumoniae* and *Moraxella catarrhalis* – in about 50 % of cases.

Aerococcus viridans, as a representative of the normal bronchial microbiome, was identified in 81.0 % of PBB patients, only in one third of RB children (33.3 %) and in 8.7 % of CB (P < 0.05) in the clinical remission periods

(Fig. 2). In the period of exacerbation, there was no case of the microorganism identification.

An association between dysbiotic disorders in the bronchi (in the form of the normal microflora decreased activity or none at all) and such anamnestic data as the beginning of RB in preschool age ($r = 0.39$, $P < 0.01$) and repeated courses of antibiotic therapy ($r = 0.53$, $P < 0.001$) was established.

Discussion

Thus, today, in different international guidelines, there is a mixed approach to the term “chronic cough” in children. In our opinion, it would be rational to use the classification of cough taking into account the age of patients, because age-related anatomical and functional features influence the pathological changes in the bronchi.

The existence of PBB as a new nosological group is also a debatable issue. This is due to the fact that PBB, as a separate nosological form, is not in the ICD-10. In addition, its diagnostic criteria do not correspond to any forms of bronchitis, presented in the domestic clinical classification of bronchopulmonary diseases in children. It should be foreseen that until there are unified approaches to PBB diagnosis, there will be no reliable statistics for the disease among children, in particular in Ukraine. In our opinion, one way to overcome this problem could be to register children under 6 years of age with a subacute course of bronchitis (corresponding to ICD-10 J20) as patients with PBB (it must be taken into account as the terms of bronchitis course and bacterial etiology as well as the age of a patient).

Our study confirmed that children of pre-school age mainly suffer from protracted bacterial bronchitis (the average age of children was 3.8 ± 0.6 years). The duration of bronchitis was 4.1 ± 0.3 weeks corresponding to the literature data [5,7].

It is assumed that PBA is the predictor of chronic purulent bronchitis [16]. Ukrainian scientists believe that the risk group for chronic bronchitis development are children with recurrent lower respiratory tract infection, namely with recurrent bronchitis [17]. Studies conducted by Yu. G. Antipkin, K. D. Duka et al. allowed to identify a group of children with “transitional forms” of recurrent bronchitis, which require the same treatment approaches as chronic bronchitis [17,18]. Perhaps in this group there are children with recurring PBB. Danielle F. Wurzel has shown that recurrent PBB in children and Haemophilus influenzae persistence in the respiratory tract are the risk factors for bronchiectasis [19]. Bronchiectasis, as a variant of acquired pathology, should be considered as signs of chronic deforming endobronchitis.

Regarding Haemophilus influenzae presence in the microbiota of the respiratory tract in children, our study shows that this pathogen was significantly more common among children with chronic bronchitis enabling it to be considered as one of the risk factors for chronic inflammation.

In addition, normal microbiota of the lower respiratory tract mucous membrane, in particular Aerococcus viridans, plays a very important role in chronic bronchopulmonary inflammation in RB children that was confirmed in our previous studies [15,17]. The characteristics identification of such bronchitis course in the absence of Aerococcus

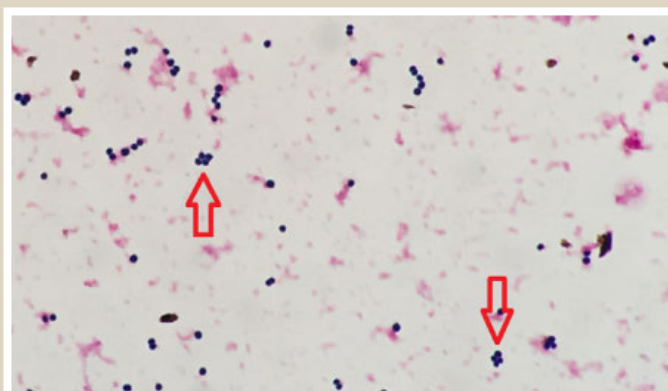


Fig. 2. Aerococcus viridans are gram-positive, arranged in pairs and tetrads (photo, contrast microscopy, $\times 400$).

viridans in bronchial secretion is of significant importance as it is accompanied by frequent and prolonged exacerbations and intoxication syndrome.

Conclusions

1. Protracted bacterial bronchitis in modern conditions should be considered as a variant of the subacute course of bronchitis, due to specific microbiotic disorders in the bronchi and age-related anatomical and functional characteristics of preschool children.

2. Protracted bacterial bronchitis is predominantly typical for preschool children with average duration of 4.1 ± 0.3 weeks. In children with recurrent bronchitis, the duration of exacerbations does not differ significantly and lasts for 3.8 ± 0.6 weeks. Streptococcus pneumoniae is the most frequent causative agent of protracted bacterial and recurrent bronchitis and Haemophilus influenzae – of chronic bronchitis.

3. The risk factors for chronic bronchitis development in children with protracted bacterial and recurrent bronchitis are the lower respiratory tract H. influenzae colonization and decreased activity or absence of normal airway microbiota (Aerococcus viridans).

The perspective for further scientific research is to develop personalized preventive programs for patients with high risk for chronic bronchopulmonary pathology.

Funding

The study is a fragment of the research work of the Department of Propedeutics of Pediatric Diseases of SI “Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine”: “Clinical and functional features of bronchitis in children against the background of various comorbid conditions, prevention and prediction of their course” (State registration number 0116U004962, 2017–2019 years).

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

Надійшла до редакції / Received: 18.01.2019
Після доопрацювання / Revised: 19.02.2019
Прийнято до друку / Accepted: 26.02.2019

Information about authors:

Ilchenko S. I., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Propedeutics of Pediatric Diseases, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.
Fialkovska A. O., MD, PhD, Assistant of the Department of Propedeutics of Pediatric Diseases, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.
Zhukova L. O., MD, Assistant of the Department of Propedeutics of Pediatric Diseases, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.

Відомості про авторів:

Ильченко С. И., д-р мед. наук, профессор каф. пропедевтики детских болезней, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.
Фіалковська А. О., канд. мед. наук, асистент каф. пропедевтики детских болезней ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.
Жукова Л. О., асистент каф. пропедевтики детских болезней, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Сведения об авторах:

Ильченко С. И., д-р мед. наук, профессор каф. пропедевтики детских болезней, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.
Фіалковская А. А., канд. мед. наук, ассистент каф. пропедевтики детских болезней ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.
Жукова Л. А., ассистент каф. пропедевтики детских болезней, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

References

- [1] Shields, M. D., Bush, A., Everard, M. L., McKenzie, S., Primhak, R. (2008). British Thoracic Society Cough Guideline Group. BTS guidelines: Recommendations for the assessment and management of cough in children. *Thorax*, 63(3), iii1–iii15. doi: 10.1136/thx.2007.077370
- [2] MOZ Ukrainy (2015) Unifikovani klinichniy protokol pervynnoi medychnoi dopomohy «Kashel u ditei vikom vid shesty rokov» [Unified clinical protocol for primary care "Cough in children from six years old"]. Kyiv. [in Ukrainian].
- [3] Samsygina, G. A. (2015). Khronicheskij kashel' v detskom vozraste [Chronic cough in children] *Pediatrica. Zhurnal im. G. N. Speranskogo*, 94(4), 163–170. [in Russian].
- [4] Marchant, J. M., Masters, I. B., Taylor, S. M., Cox, N. C., Seymour, G. J., & Chang, A. B. (2006). Evaluation and outcome of young children with chronic cough. *Chest*, 129(5), 1132–1141. doi: 10.1378/chest.129.5.1132
- [5] Kantar, A., Chang, A. B., Shields, M. D., Marchant J. M., Grimwood K., Grigg J., et al. (2017). ERS statement on protracted bacterial bronchitis in children. *European Respiratory Journal*, 50(2). doi: 10.1183/13993003.02139-2016
- [6] Filippo, P. D., Scaparrota, A., Petrosino, M. I., Attanasi, M., Di Pillo S., Chiarelli F., & Mohn, A. (2018). An underestimated cause of chronic cough: The protracted bacterial bronchitis. *Annals of Thoracic Medicine*, 13(1), 7–13. doi: 10.4103/atm.ATM_12_17. doi: 10.4103/atm.ATM_12_17
- [7] Craven, V., & Everard, M. L. (2013) Protracted bacterial bronchitis: Reinventing an old disease. *Arch Dis Child*, 98(1), 72–76. doi: 10.1136/archdischild-2012-302760
- [8] Chang, A. B., Robertson, C. F., Van Asperen, P. P., Glasgow, N. J., Mellis, C. M., Masters, I. B., et al. (2012). A multicenter study on chronic cough in children: Burden and etiologies based on a standardized management pathway. *Chest*, 142(4), 943–950. doi: 10.1378/chest.11-2725
- [9] Gedik, A. H., Cakir, E., Torun, E., Demir, A. D., Kucukkoc, M., Erenberk, U., et al. (2015). Evaluation of 563 children with chronic cough accompanied by a new clinical algorithm. *Ital J Pediatr*, 41(1), 1–7. doi: 10.1186/s13052-015-0180-0
- [10] Bidiwala, A., Krilov, L. R., Pirezada, M., & Patel, S. J. (2015). Pro-Con Debate: Protracted Bacterial Bronchitis as a Cause of Chronic Cough in Children. *Pediatr Ann*, 44(8), 329–336. doi: 10.3928/00904481-20150812-11
- [11] Zgherea, D., Pagala, S., Mendiratta, M., Marcus, M. G., Shelov, S. P., & Kazachkov, M. (2012). Bronchoscopic findings in children with chronic wet cough. *Pediatrics*, 129(2), 364–369. doi: 10.1542/peds.2011-0805
- [12] Paul, S. P., & Hilliard, T. (2014) The importance of recognizing protracted bacterial bronchitis in children. *Indian J Pediatr*, 81(1), 1–3. doi: 10.1007/s12098-013-1197-2
- [13] Craven, V., & Everard, M. L. (2013). Protracted bacterial bronchitis: Reinventing an old disease. *Arch Dis Child*, 98(1), 72–76. doi: 10.1136/archdischild-2012-302760
- [14] Narang, R., Bakewell, K., Peach, J., Clayton, S., Samuels, M., Alexander, J., et al. (2014) Bacterial distribution in the lungs of children with protracted bacterial bronchitis. *PLoS One*, 9(9), e108523. doi: 10.1371/journal.pone.0108523
- [15] Ilchenko, S. I., & Fialkovska, A. O. (2018). Diahnoz «khronichnyi bronkhit» v dytiachii pulmonologii: «za» ta «proty» [Diagnosis "chronic bronchitis" in children's pulmonology: "pro" and "contra"]. *Ukrainskyi pulmonologichnyi zhurnal*, 4, 32–34. [in Ukrainian].
- [16] Goyal, V., Grimwood, K., Marchant, J. M., Masters, I. B., & Chang, A. B. (2016). Paediatric chronic suppurative lung disease: clinical characteristics and outcomes. *Eur J Pediatr*, 175(8), 1077–1084. doi: 10.1007/s00431-016-2743-5
- [17] Duka, K. D., Ilchenko, S. I., & Ivanov, S. G. (2013). Khronichnyi bronkhit u ditei ta pidlitkiv – mynule, suchasne i maibutnie [Chronic bronchitis in children and adolescents – past, present and future]. Dnipropetrovsk. [in Ukrainian].
- [18] Antipkin, Y. G., Lapshin, V. F., Umanec, T. R. (2009). Recidiviruyushij bronkhit u detej: diskussionnye voprosy [Recurrent bronchitis in children: discussion questions]. *Zdorovia Ukrainy*, 18(1), 19–21. [in Russian].
- [19] Wurzel, D. F., Marchant, J. M., Yerkovich, S. T., Upham, J. W., Petsky, H. L., Smith-Vaughan, H., et al. (2016). Protracted Bacterial Bronchitis in Children: Natural History and Risk Factors for Bronchiectasis. *Chest*, 150(5), 1101–1108. doi: 10.1016/j.chest.2016.06.030

Analysis of COL1A1_1 gene (rs1107946) polymorphism as a risk factor for low birth weight

T. Ye. Shumna^{A,E}, T. O. Levchuk^{*A-D}, O. M. Kamyshnyj^F

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

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

Objective. Identification of the CA genotype of the (rs1107946) polymorphism of COL1A1_1 gene and the pattern of allele distribution in low birth weight babies.

Materials and methods. A total of 168 babies were examined. The babies were divided into 3 groups depending on the birth weight: the 1st group comprised of 52 babies (birth weight was 1500–1999 g), the 2nd group – 76 babies (birth weight was 2000–2499 g) and the 3rd group – 40 babies (birth weight was more than 2500 g, that is they had normal birth weight). Polymerase chain reaction genotyping method was used.

Results. It was found that the frequency of the C allele detection was equal to 39.60 %, the A allele – 60.42 %, chi-square (df = 1) 29.17, $P < 0.05$. At the same time, the homozygous AA genotype was observed significantly more often and amounted to 52.98 % versus 32.14 % of the CC genotype cases. The heterozygous CA genotype was detected only in 14.9 % of children, significantly less than homozygous genotypes CC (df = 1) 13.92, $P < 0.05$ and AA (df = 1) 54.38, $P < 0.05$. The AA genotype of the (rs1107946) polymorphism of COL1A1_1 gene was found among babies of the 1st and 2nd groups in 61.53 % and 52.63 %, CC – 23.08 % and 31.58 %, CA – 15.38 % and 15.79 % of cases, respectively. The CC genotype of the polymorphism was detected almost in half of babies from the 3rd group (47.5 %), while the AA genotype was detected only in 35.0 % and the CA genotype – in 17.5 %.

Conclusions. The molecular and genetic study of the CA genotype of the (rs1107946) polymorphism of COL1A1_1 gene showed that the determination of the A allele frequency was significantly higher than the C allele among the examined babies. Consequently, the homozygous AA genotype was significantly more common than the CC genotype. The results of the study indicated the prognostic value of the A allelic gene for the risk of low birth weight – that is, the lower birth weight (1500–1999) was found in babies with homozygous AA genotype.

Key words:

allelic genes, genotyp, collagen, thinness, babies.

Zaporozhye medical journal
2019; 21 (4), 471–477

DOI:

10.14739/2310-1210.
2019.4.173342

*E-mail:

tatyana0702@
gmail.com

Аналіз поліморфізму гена COL1A1_1 (rs1107946) як фактора ризику народження дітей з малою масою тіла

Т. Є. Шумна, Т. О. Левчук, О. М. Камишний

Мета роботи – визначення генотипів поліморфізму C/A гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) і закономірність розподілу алельних генів у дітей із малою масою тіла при народженні.

Матеріали та методи. Обстежили 168 дітей. Пацієнтів поділили на 3 групи залежно від ваги при народженні: I група – 52 дітей (вага при народженні становила 1500–1999 г), II – 76 дітей (вага при народженні – 2000–2499 г), III – 40 дітей (вага при народженні – понад 2500 г, тобто нормальна маса тіла). Генотипування здійснили методом полімеразної ланцюгової реакції.

Результати. Частота виявлення алеля С становила 39,60 %, алеля А – 60,42 %, chi-square (df = 1) 29,17, $p < 0,05$. Гомозиготний генотип АА виявляли вірогідно частіше – 52,98 % проти 32,14 % випадків генотипу СС. Гетерозиготний генотип СА визначили тільки у 14,9 % дітей, вірогідно рідше, ніж гомозиготні генотипи СС (df = 1) 13,92, $p < 0,05$, АА (df = 1) 54,38, $p < 0,05$. Генотип АА поліморфізму гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) виявили в дітей I та II груп у 61,53 % та 52,63 %, СС – 23,08 % та 31,58 %, СА – 15,38 % та 15,79 % випадків відповідно. Майже в половини дітей із III групи (47,5 %) встановили генотип СС поліморфізму, генотип АА – тільки у 35,0 %, СА – 17,5 %.

Висновки. Молекулярно-генетичне дослідження визначення поліморфізму C/A гена колагену COL1A1_1 (rs1107946) показало, що частота виявлення алеля А була серед обстежених дітей вірогідно вища, ніж алеля С. Відповідно, гомозиготний генотип АА виявляли вірогідно частіше, ніж генотип СС. Результати дослідження свідчать про прогностичне значення алельного гена А в розвитку ризику народження дітей із малою масою тіла, тобто меншу масу тіла (1500–1999 г) мали діти з гомозиготним генотипом АА.

Ключові слова:

алельні гени, генотипи, колаген, низька вага, діти.

Зaporizhzhia medical journal

– 2019. –
Т. 21, № 4(115). –
С. 471–477

Анализ полиморфизма гена COL1A1_1 (rs1107946) как фактор риска рождения детей с низкой массой тела

Т. Е. Шумная, Т. О. Левчук, А. М. Камышный

Цель работы – определение генотипов полиморфизма C/A гена коллагена COL1A1_1 (rs1107946) и закономерность распределения аллельных генов у детей с малой массой тела при рождении.

Материалы и методы. Обследовали 168 детей. Пациентов поделили на 3 группы в зависимости от веса при рождении: I группа – 52 детей с весом при рождении 1500–1999 г, II группа – 76 детей с весом при рождении 2000–2499 г, III груп-

Ключевые слова:

аллельные гены, генотипы, коллаген, низкий вес, дети.

Зaporozhsky medical journal

– 2019. –
Т. 21, № 4(115). –
С. 471–477

па – 40 детей с весом при рождении 2500 г и более (с нормальной массой тела). Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции.

Результаты. Частота определения аллеля С составила 39,6 %, аллеля А – 60,42 %, Chi-square (df = 1) 29,17, $p < 0,05$. При этом гомозиготный генотип АА устанавливали достоверно чаще – 52,98 % против 32,14 % случаев генотипа СС. Гетерозиготный генотип СА определяли только у 14,9 % детей, достоверно реже, чем гомозиготные генотипы СС (df = 1) 13,92, $p < 0,05$, АА (df = 1) 54,38, $p < 0,05$. Генотип АА полиморфизма гена коллагена COL1A1_1 (rs1107946) отмечен среди детей I та II группы в 61,53 % и 52,63 %, СС – 23,08 % и 31,58 %, СА – 15,38 % и 15,79 % случаев соответственно. Почти у половины детей III группы (47,5 %) установлен генотип полиморфизма СС, генотип АА – у 35,0 %, генотип СА – только у 17,5 % обследованных.

Выводы. Молекулярно-генетическое определение полиморфизма С/А гена коллагена COL1A1_1 (rs1107946) показало, что частота определения аллеля А была среди обследованных детей достоверно выше, чем аллеля С. Соответственно, гомозиготный генотип АА устанавливали достоверно чаще, чем генотип СС. Результаты исследования свидетельствуют о прогностическом значении аллельного гена А в развитии риска рождения детей с малой массой тела, то есть более низкий вес тела (1500–1999 г) имели дети с гомозиготным генотипом АА.

Birth weight is an important parameter that influences later health of a newborn. But on the other hand, the low birth weight is a consequence of premature birth or intrauterine growth retardation, which can lead to problems of adaptation to extrauterine life, severe postpartum complications and even death within the first 5 years of life. In case of the low birth weight, there is also a risk of developing chronic kidney disease, hypertension, obesity, neuropsychiatric symptoms, cognitive decline and autistic spectrum disorders at older ages [1–11].

Therefore, the topical issue of pediatrics is the study of low birth weight causes and the problem of “low weight” itself is polyethiologic one [12,13].

Indeed, today it is known that all risk factors for a child's low birth weight can be divided into intrauterine, placental, parental and genetic both from mother and father. That is, the weight and length of a fetus body and then of a newborn child are determined by genetic inheritance from both parents [14–16].

At the present stage, the data on the study of some polymorphisms affecting various risk factors for low birth weight, namely endocrine mechanisms [17], folic acid metabolism [18,19], vitamin D metabolism [20], metals exposure [21], cytokine profile changes [22], the influence of caffeine [23], etc., can most often be found in the literature. Although existing information about genetic factors caused by one or another gene polymorphism is not sufficient to study this problem.

However Y. V. Alegina and co-authors in their study demonstrated the association of COL1A1 gene polymorphism with miscarriage, but we did not meet the data on the incidence rate of this gene polymorphism in children born with low body weight, necessitating further our study [24]. After all, structural integrity of connective tissues is upheld by collagen, which is the most abundant protein in the human body, up to 25 % of the total body protein. The word «collagen» means in Greek “glue”. At present, scientists know 28 types of collagen, but the most common in the human body is type 1 collagen. It is a part of many tissues: skin, ligaments, bones, cornea, placenta, arteries, liver, dentin, and the like. Type 1 collagen fibers have the highest mechanical strength among all collagen types. Collagen synthesis is regulated by about 40 genes. Therefore, virtually any gene mutation in collagen synthesis leads to loss or alteration of this protein function that, in turn, affects the properties of tissues and organs, including the “strength” of tissues. The gene COL1A1 encodes

the component of type 1 collagen. The collagen molecule typically consists of three protein chains interlaced with each other. The main protein of the collagen includes two chains of collagen $\alpha 1$ and one chain of collagen $\alpha 2$ [25].

Objective

Identification of the CA genotype of the (rs1107946) polymorphism of COL1A1_1 gene and the pattern of allele distribution in low birth weight babies.

Materials and methods

To study the CA genotype of the (rs1107946) polymorphism of COL1A1_1 gene, babies with different birth weight were examined. A total of 168 children were divided into 3 groups according to the birth weight: the 1st group consisted of 52 babies (birth weight was 1500–1999 g), the 2nd group included 76 babies (birth weight was 2000–2499 g), the 3rd group – 40 babies (birth weight was more than 2500 g).

Polymerase chain reaction genotyping was performed with the Applied Biosystems (USA) using total DNA samples extracted from whole venous blood with a set of SNP-Screen reagents (manufacturer “Syntol”) on the amplifier CFX96TM Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). This study was carried out in the Department of Molecular and Genetic Researches of the Educational Medical and Laboratory Center at the Microbiology Department of Zaporizhzhia State Medical University in Zaporizhzhia city (Head of the Microbiology Department, Head of the Department of Molecular and Genetic Researches of the Educational Medical and Laboratory Center of Zaporizhzhia State Medical University – MD, Professor O. M. Kamyshnyi). The work was carried out within the framework of the scientific and research work of the Children Diseases Department of Zaporizhzhia State Medical University.

The obtained results of the studied distribution of allele frequencies and genotypes were used to analyze the genetic structure of the population according to the Hardy-Weinberg equilibrium. To compare the allele frequencies and genotypes in different groups, the non-parametric statistical “2 × 2 Table” method, Chi-square (df = 1) test were used. Also, the odds ratio (OR) was calculated using a four-field table with a confidence interval (CI) construction by the Woolf method. To evaluate the diagnostic significance, the indicators such as sensitivity, specificity, accuracy and prognostic value of positive and negative results were determined. To

process the study results, the non-parametric statistical methods of the licensed software package Statistics for Windows 6.1.RU, serial number AXXR712D833214SAN5 were used.

Results

A molecular and genetic study of 168 babies was performed to detect the CA genotype of the (rs1107946) polymorphism of COL1A1_1 gene, which showed that the frequency of C allele detection was equal to 39.6 %, A allele detection – 60.42 %. Chi-square (df = 1) 29.17, $P < 0.05$. At the same time, the homozygous AA genotype was observed significantly more often and amounted to 52.98 % versus 32.14 % of the CC genotype cases. The heterozygous CA genotype was detected only in 14.9 % of children, significantly less than homozygous genotypes CC (df = 1) 13.92, $P < 0.05$ and AA (df = 1) 54.38, $P < 0.05$.

The AA genotype of the (rs1107946) polymorphism of COL1A1_1 gene was found among babies of the 1st group in 61.53 % of cases. Moreover, the AA genotype was significantly more common than the CA genotype (df = 1), 23.40, $P < 0.05$, and the CC genotype (df = 1), 15.76, $P < 0.05$. The CC genotype was found in 23.08 % of the examined babies in the 1st group, that was significantly less than the AA genotype (df = 1), 15.76, $P < 0.05$. Among the 1st group babies, the heterozygous CA genotype was detected in 15.38 %. Although the CA genotype was less common than the CC genotype, no significant differences were found. These data are shown in Fig. 1.

Among the 2nd group babies, the AA genotype of the (rs1107946) polymorphism of COL1A1_1 gene prevailed, which was recorded in 52.63 % of babies (Fig. 2).

However, among the 2nd group babies, the AA genotype of the (rs1107946) polymorphism of COL1A1_1 gene was significantly more common than the CA genotype

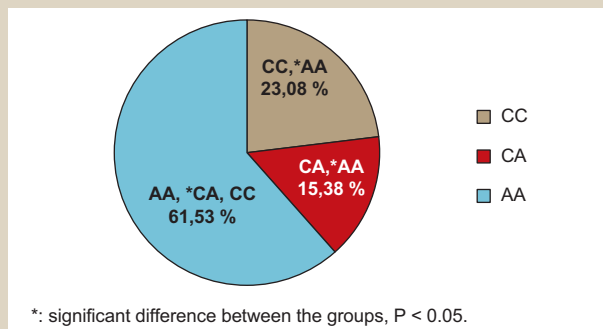


Fig. 1. Distribution of genotypes of type 1 collagen (COL1A1_1) gene among babies of the 1st group.

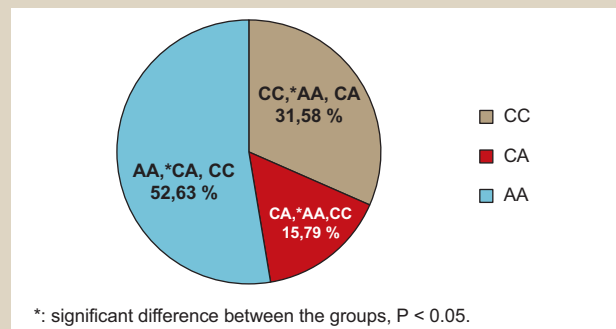


Fig. 2. Distribution of genotypes of type 1 collagen (COL1A1_1) gene among the 2nd group babies.

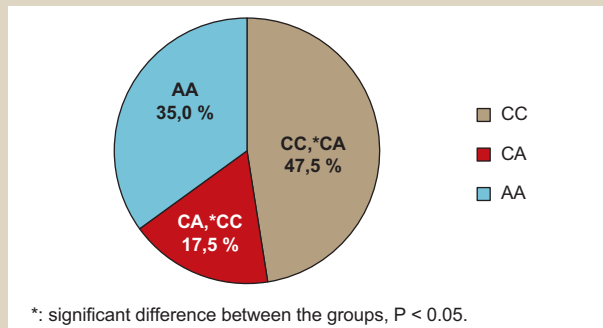


Fig. 3. Distribution of genotypes of type 1 collagen (COL1A1_1) gene among the 3rd group babies.

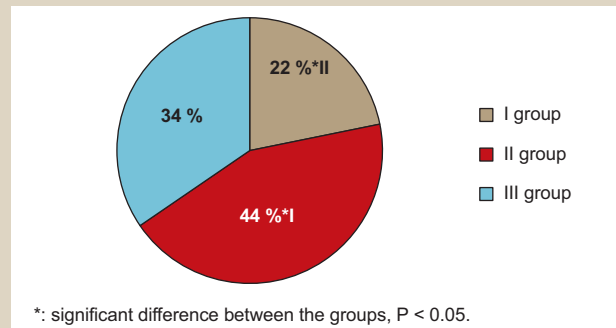


Fig. 4. Distribution of the CC genotype depending on the birth weight.

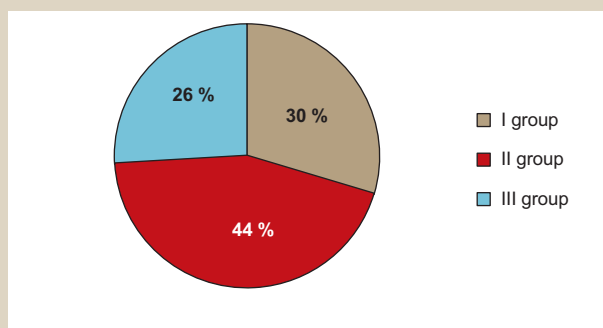


Fig. 5. Distribution of the CA genotype depending on the birth weight.

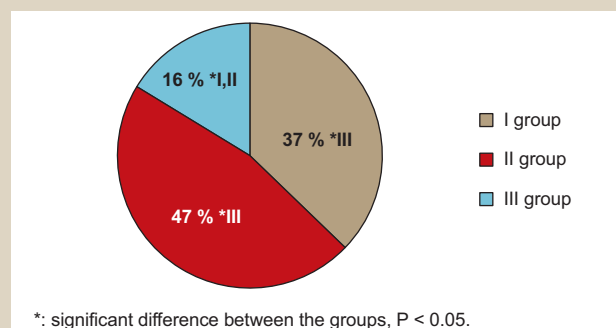


Fig. 6. Distribution of the AA genotype depending on the birth weight.

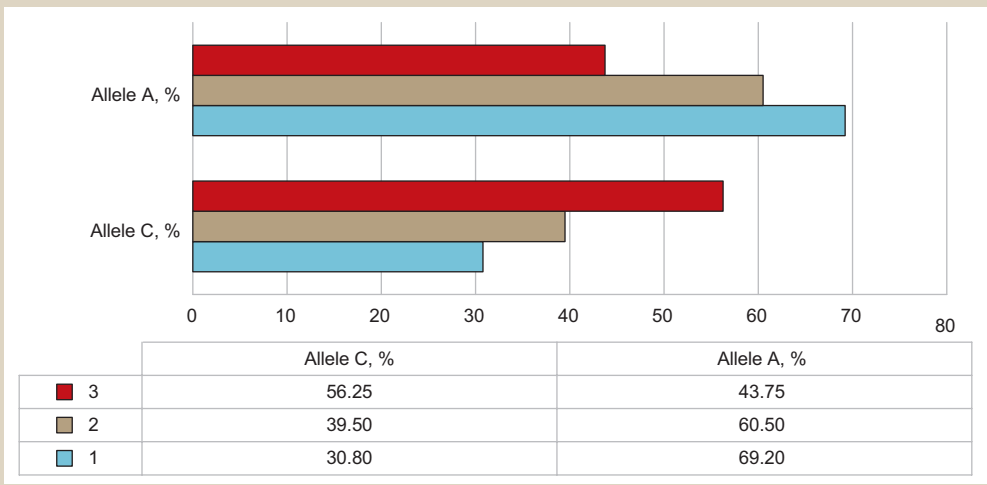


Fig. 7. Frequency of COL1A1_1 CA (rs1107946) collagen gene polymorphism identification.

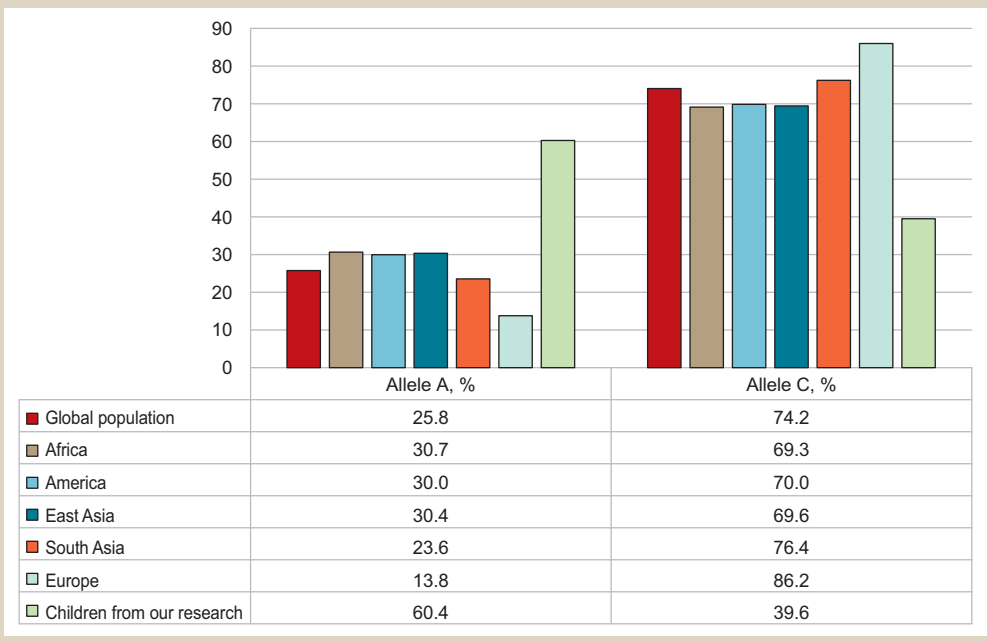


Fig. 8. Comparative characteristics of the allele frequency of the COL1A1_1 gene (rs1107946) polymorphism in the world population.

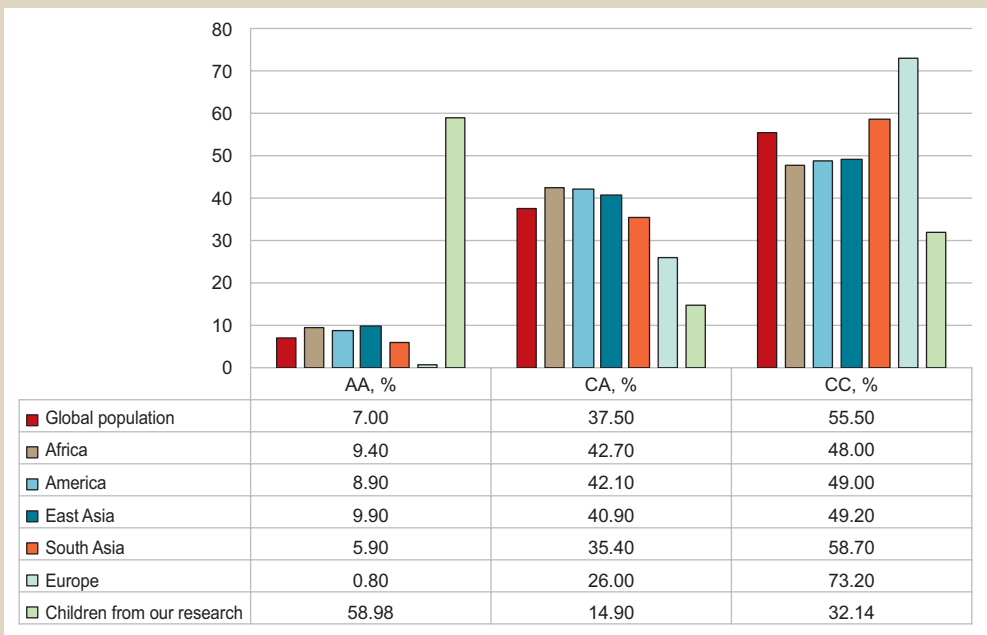


Fig. 9. Comparative characteristic of the AA, CA, CC genotypes frequency of the COL1A1_1 gene (rs1107946) polymorphism in the world population.

(df = 1), 6.91, $P < 0.05$, and CC genotype (df = 1), 22.92, $P < 0.05$. Thus, the CC genotype was found in 31.58 % of the examined babies in the 2nd group, that was significantly more common than the CA genotype (df = 1), 5.24, $P < 0.05$ and significantly less than the AA genotype (df = 1), 6.91, $P < 0.05$. The CA genotype was detected only in 15.79 % of the 2nd group babies, which was significantly less common than the AA genotype (df = 1), 5.24, $P < 0.05$, and CC genotype (df = 1), 22.92, $P < 0.05$.

The CC genotype of the (rs1107946) polymorphism of COL1A1_1 gene frequency was significantly higher than the CA genotype (df = 1), 7.94, $P < 0.05$, in almost half of babies from the 3rd group (47.5 %). The CA genotype was detected in 17.5 % of babies, which was significantly less common than the CC genotype (df = 1), 7.94, $P < 0.05$. Among babies of the 3rd group, the AA genotype was revealed in 35 % of cases. The data are presented in Fig. 3.

The following comparative analysis was done to detect the frequency of each genotype of (rs1107946) polymorphism of type 1 collagen (COL1A1_1) gene not only within each of the examined groups of babies, but also between the study groups, that is, we analyzed the frequency of each genotype detection depending on the birth weight. The CC genotype was significantly greater among the 2nd group babies (43.63 %), (df = 1), 5.95, $P < 0.05$, than among babies of the 1st group (22.82 %). There was no significant difference in comparison with the control group (Fig. 4 and Table 1).

Among the 1st group babies, the genotype CA was found in 29.63 %, among the 2nd group babies – in 44.44 %, among babies of the 3rd group – in 25.93 %; there were no significant differences between the three groups (Fig. 5 and Table 1).

The low percentage of the AA genotype was revealed among the 3rd group babies (16.28 %) as compared with the 1st group babies (df = 1), 9.56, $P < 0.05$ and the babies of the 2nd group (df = 1), 18.14, $P < 0.05$. Among the 1st group babies, the AA genotype was determined in 37.21 %, among the 2nd group – in 46.51 % (Fig. 6 and Table 1).

According to the Hardy-Weinberg equilibrium, the frequency of alleles at the CA (rs1107946) polymorphism of COL1A1_1 in the examined babies (Fig. 7) showed that the A allele detection was significantly higher in the 1st group babies (babies with the birth weight of 1500–1999 g) amounting to 69.2 % of cases (df = 1), 17.5, $P < 0.05$ and in the 2nd group (babies with the birth weight of 2000–2499 g) – 60.5 % (df = 1), 37.57, $P < 0.05$ in comparison to babies with birth weight of more than 2500 g (the 3rd group) – 43.75 %.

Also, the A allele frequency was significantly higher among the 1st group babies than among the 2nd group babies, (df = 1), 4.15, $P < 0.05$. According to the data of the multiplicative inheritance models, the distribution of the allele frequencies among babies also proved that the inheritance of a phenotypic feature such as a low birth weight was associated with the predominance of A allele of COL1A1_1 gene (rs1107946) polymorphism (Table 2).

But the homozygous AA genotype with a reliable odds ratio = 2.97, DI [1.26–7.00] was found only among the 1st group babies (birth weight of 1500–1999 g). Such pattern was not observed in case of the CA and CC genotypes.

Table 1. Characterization of genotypes of the COL1A1_1 gene (rs1107946) polymorphism (abs./%)

Groups	n	Genotypes /n (abs/%)		
		CC (55/100 %)	AA (86/100 %)	CA (27/100 %)
I	52	12/22.82 %	32/37.21 %	8/29.63 %
II	76	24/43.63 %	40/46.51 %	12/ 44.44 %
p (I – II)		<0.05	>0.05	>0.05
III	40	19/34.55 %	14/16.28 %	7/25.93 %
p (I – III)		>0.05	<0.05	>0.05
p (II – III)		>0.05	<0.05	>0.05

Table 2. Distribution of the allele frequencies among the babies according to multiplicative inheritance models

Groups	Babies n	Alleles n	Alleles (abs/%)	
			A	C
I	52	104	72/69.23 %	32/30.77 %
II	76	152	92/60.53 %	60/39.47 %
p (I – II)			<0.05	<0.05
III	40	80	35/43.75 %	45/56.25 %
p (I – III)			<0.05	<0.05
p (II – III)			<0.05	>0.05

Discussion

We compared the results of our study with population-based studies. The frequency of the AA genotype detection in children enrolled in the study was significantly higher than in the world population [26]. The same pattern was observed in relation to the A allele. The opposite pattern was found regarding the CC and CA genotypes, as these genotypes were determined less frequently among the children in our study than in the population (Fig. 8, 9). This can be explained by the sample representativeness in our study, that is, children weighing less than 2500 g at birth. The study results showed the prognostic value of the A allelic gene for the risk of low birth weight, that is babies who were homozygous for the AA genotype had lower birth weight (1500–1999 g).

As a result of the study, it has been found that all low birth weight babies were carriers of the A allele. For instance, among babies carrying the A allele, the odds ratio was equal to 2.89, DI [1.58–5.31] in the 1st group and 1.97, DI [1.14–3.41] in the 2nd group.

Analyzing the study results, we calculated the prognostic value of the A allele detection among the low birth weight babies: sensitivity – 0.63, specificity – 0.55, positive prognostic value 0.82 and negative prognostic value – 0.69.

Conclusions

1. The molecular and genetic study of the CA genotype of the (rs1107946) polymorphism of COL1A1_1 gene showed that the A allele frequency was significantly higher than the C allele and was equal to 60.42 % and 39.6 %, respectively. At the same time, the homozygous AA genotype was detected significantly more often and amounted to 52.98 % versus 32.14 % of the CC genotype cases, $P < 0.05$; the heterozygous CA genotype was determined only in 14.9 % of babies.

2. Depending on the birth weight, the genotypes had the following distribution: the homozygous CC genotype – 22.88 %, 43.63 %, 34.55 %, the homozygous AA geno-

type –37.21 %, 46.51 %, 16.28 % and the heterozygous CA genotype – 29.63 %, 44.44 %, 25.93 %. These data are not consistent with the population-based studies due to the representativeness of the birth weight sample.

3. It was found that the babies of the 1st and 2nd groups had the A allele more frequently with the odds ratio equal to 2.89, DI [1.58–5.31] and 1.97, DI [1.14–3.41], respectively. The results of the study showed the prognostic value of the A allele for the risk of low birth weight.

Prospects for further studies. In the future, we are planning to study the effect of other collagen gene polymorphisms as well as their effect on the low birth weight.

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

Надійшла до редакції / Received: 05.12.2018
Після доопрацювання / Revised: 15.02.2019
Прийнято до друку / Accepted: 26.02.2019

Information about the authors:

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

Levchuk T. O., MD, Assistant of the Department of Children Diseases, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Kamyshnyi O. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Head of the Department of Molecular and Genetic Researches of the Educational Medical and Laboratory Center, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

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

Левчук Т. О., асистент каф. дитячих хвороб, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Камішний 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.

Сведения об авторах:

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

Левчук Т. О., ассистент кафедры детских болезней, 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.

References

- [1] Luycckx, V. A., & Brenner, B. M. (2015). Birth weight, malnutrition and kidney-associated outcomes – a global concern. *Nature Reviews Nephrology*, 11(3), 135–149. doi: 10.1038/nrneph.2014.251
- [2] Euser, A. M., de Wit, C. C., Finken, M. J., Rijken, M., & Wit, J. M. (2008). Growth of preterm born children. *Horm Res*, 70(6), 319–28. doi: 10.1159/000161862
- [3] Anderson, K. R., Schoch, J. J., Lohse, C. M., Hand, J. L., Davis, D. M., & Tollefson, M. M. (2016). Increasing incidence of infantile hemangiomas (IH) over the past 35 years: Correlation with decreasing gestational age at birth and birth weight. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 74(1), 120–126. doi: 10.1016/j.jaad.2015.08.024
- [4] Morrison, K. M., Ramsingh, L., Gunn, E., Streiner, D., Van Lieshout, R., Boyle, M., et al. (2016). Cardiometabolic Health in Adults Born Premature With Extremely Low Birth Weight. *Pediatrics*, 138(4).
- [5] Khalsa, D. D., Beydoun, H. A., & Carmody, J. B. (2016). Prevalence of chronic kidney disease risk factors among low birth weight adolescents. *Pediatric Nephrology*, 31(9), 1509–1516. doi: 10.1007/s00467-016-3384-7
- [6] Synnes, A., Luu, T. M., Moddemann, D., Church, P., Lee, D., Vincer, M., et al. (2017). Determinants of developmental outcomes in a very preterm Canadian cohort. *Archives of Disease in Childhood – Fetal and Neonatal Edition*, 102(3), F235–F234. doi: 10.1136/archdischild-2016-311228
- [7] Zavadenko, N. N., & Davydova, L. A. (2018). Nedonoshennost' i nizkaya massa tela pri rozhenii kak factory riska narushenij nervno-psikhicheskogo razvitiya u detej [Prematurity and low birth weight as risk factors for neurodevelopmental disorders in children]. *Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii*, 63(4), 43–51. doi: 10.21508/1027-4065-2018-63-4-43-51
- [8] Linsell, L., Malouf, R., Johnson, S., Morris, J., Kurinczuk, J. J., & Marlow, N. (2016). Prognostic Factors for Behavioral Problems and Psychiatric Disorders in Children Born Very Preterm or Very Low Birth Weight: A Systematic Review. *J Dev Behav Pediatr*, 37(1), 88–102. doi: 10.1097/DBP.0000000000000238
- [9] Sucksdorff, M., Lehtonen, L., Chudal, R., Suominen, A., Joellsson, P., Gissler, M., & Sourander, A. (2015). Preterm Birth and Poor Fetal Growth as Risk Factors of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Pediatrics*, 136(3), e599–608. doi: 10.1542/peds.2015-1043
- [10] Kelishadi, R., Haghdoost, A. A., Jamshidi, F., Aliramezany, M., & Moosazadeh, M. (2015). Low birthweight or rapid catch-up growth: which is more associated with cardiovascular disease and its risk factors in later life? A systematic review and cryptanalysis. *Paediatrics and International Child Health*, 35(2), 110–23. doi: 10.1179/2046905514Y.00000000136
- [11] Jorayvaz, F. R., Vollenweider, P., Bochud, M., Mooser, V., Waeber, G., & Marques-Vidal, P. (2016). Low birth weight leads to obesity, diabetes and increased leptin levels in adults: the CoLaus study. *Cardiovascular Diabetology*, 15, 73. doi: 10.1186/s12933-016-0389-2
- [12] Demelash, H., Motbainor, A., Nigatu, D., Gashaw, K., & Melese, A. (2015). Risk factors for low birth weight in Bale zone hospitals, South-East Ethiopia: a case-control study. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 15, 264. doi: 10.1186/s12884-015-0677-y
- [13] Kiseleva, L. G., Chumakova, G. N., Soloviev, A. G., Kharkova, O. A., Gryzunova, E. M., & Makarova, A. A. (2017). Zaderzhka razvitiya ploda pri tabakokurenii materej [Fetal growth restriction in smoking mothers]. *Neonatologiya: novosti, mneniya, obuchenie*, 3(17), 89–96. [in Russian].
- [14] Synnes, A., Luu, T. M., Moddemann, D., Church, P., Lee, D., Vincer, M., et al. (2017). Determinants of developmental outcomes in a very preterm Canadian cohort. *ADC Fetal & Neonatal Edition*, 102(3), F235–F234. doi: 10.1136/archdischild-2016-311228
- [15] Connolly, N., Anixt, J., Manning, P., Ping-I Lin, D., Marsolo, K. A., & Bowers, K. (2016). Maternal metabolic risk factors for autism spectrum disorder—An analysis of electronic medical records and linked birth data. *Autism research*, 9(8), 829–837. doi: 10.1002/aur.1586
- [16] Zhang, G., Bacelis, J., Lengyel, C., Teramo, K., Hallman, M., Helgeand, Ø., et al. (2015). Assessing the Causal Relationship of Maternal Height on Birth Size and Gestational Age at Birth: A Mendelian Randomization Analysis. *PLOS Medicine*, 12(8), e1001865. doi: 10.1371/journal.pmed.1001865
- [17] Gesteiro, E., Sánchez-Muniz, F. J., Ortega-Azorin, C., Guillén, M., Corella, D., & Bastida, S. (2017). Maternal and neonatal FTO rs9939609 polymorphism affect insulin sensitivity markers and lipoprotein profile at birth in appropriate-for-gestational-age term neonates. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 72(2), 169–181. doi: 10.1007/s13105-016-0467-7
- [18] Wu, H., Zhu, P., Geng, X., Liu, Z., Cui, L., Gao, Z., et al. (2017). Genetic polymorphism of MTHFR C677T with preterm birth and low birth weight susceptibility: a meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*, 295(5), 1105–1118. doi: 10.1007/s00404-017-4322-z
- [19] Chen, S., Zhu, R., Zhu, H., Yang, H., Gong, F., Wang, L., et al. (2017). The prevalence and risk factors of preterm small-for-gestational-age infants: a population-based retrospective cohort study in rural Chinese population. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 17(1), 237. doi: 10.1186/s12884-017-1412-7
- [20] Finken, M. J., Schrevel, M., Houwing-Duistermaat, J. J., Kharagjitsingh, A. V., Dekker, F. W., Koeleman, B. P., et al. (2016). Vitamin D receptor polymorphisms and growth until adulthood after very premature birth. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 34(5), 564–570. doi: 10.1007/s00774-015-0697-8
- [21] Thomas, S., Arbuckle, T. E., Fisher, M., Fraser, W. D., Ettinger, A., & King, W. (2015). Metals exposure and risk of small-for-gestational age birth in a Canadian birth cohort: The MIREC study. *Environmental Research*, 140, 430–439. doi: 10.1016/j.envres.2015.04.018

- [22] Pearce, B. D., Nguyen, P. H., Gonzalez-Casanova, I., Qian, Y., Omer, S. B., Martorell, R., & Ramakrishnan, U. (2016). Pre-pregnancy maternal plasma cytokine levels and risks of small-for-gestational-age at birth. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 29(24), 4065–4069. doi: 10.3109/14767058.2016.1156669
- [23] Seiko, Sasaki, Mariko, Limpar, Fumihiro, Sata, Sumitaka, Kobayashi, & Reiko, Kishi. (2017). Interaction between maternal caffeine intake during pregnancy and CYP1A2C164A polymorphism affects infant birth size in the Hokkaido study. *Pediatric Research*, 82, 19–28. <https://www.nature.com/articles/pr201770>
- [24] Alegina, E. V., Tetrushvili, N. K., Agadzhanova, A. A., Trofimov, D. Yu., & Donnikov, A. E. (2016). Role of Collagen Gene Polymorphisms in the Structure of Early Gestation Loss. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 160(3), 360–363. doi: 10.1007/s10517-016-3171-2
- [25] Arseni, L., Lombardi, A., & Orioli, D. (2018). From Structure to Phenotype Impact of Collagen Alterations on Human Health. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5). doi: 10.3390/ijms19051407
- [26] Ensembl Project Retrieved from <http://www.ensembl.org/> http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Citations?db=core;r=17:50203129-50204129;v=rs1107946;vdb=variation;vf=362559692

Endothelial dysfunction in children with pyelonephritis

O. Ye. Abaturov^{1,A,E,F}, L. I. Vakulenko^{*1,A,B,C,D}, O. V. Kunak^{2,B}

¹SE "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro, ²ME "Dnipropetrovsk Regional Children's Clinical Hospital" DRC", Dnipro, Ukraine

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

Key words:

endothelial dysfunction, pyelonephritis, vascular endothelium, vasodilatation, children.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (4), 478–483

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.4.173343

*E-mail: vakulenkoi@ukr.net

Aim. To study the characteristics of vascular endothelium system functioning as a marker of the balance between endothelium-dependent vasodilatation and endothelium-dependent vasoconstriction in children with acute and chronic pyelonephritis.

Materials and methods. 39 children with acute and 37 with chronic pyelonephritis aged 11–17 years, without exacerbation of the inflammatory process were examined. The control group consisted of 30 apparently healthy children. Endothelium-dependent vasodilatation test adapted to children was used.

Results. In children with acute pyelonephritis, the initial index of the brachial artery diameter did not differ significantly from the norm (3.40 ± 0.19 mm, $P > 0.05$), while it was significantly less in patients with chronic pyelonephritis (2.20 ± 0.12 mm, $P < 0.05$). In the phase of maximal vasodilatation, the brachial artery diameter index was significantly higher (4.10 ± 0.15 mm, $P < 0.05$) in patients with acute pyelonephritis, and in patients with chronic pyelonephritis – significantly less than the norm (2.60 ± 0.17 mm, $P < 0.05$). As a result, the brachial artery diameter increase was significantly less in children with chronic pyelonephritis than in healthy children (8.2 ± 0.2 %, $P < 0.05$), while it was significantly higher (24.10 ± 0.53 %, $P < 0.05$) in children with acute pyelonephritis. Linear blood flow velocity at rest was significantly lower than normal (111.80 ± 0.17 , $P < 0.05$) in children with acute pyelonephritis and it was significantly increased (148.70 ± 0.14 cm/s, $P < 0.05$) in children with chronic pyelonephritis. In the phase of reactive hyperemia, the linear flow velocity was decreased in both groups of patients.

Conclusions. Endothelial dysfunction is registered in 17.9 % of acute pyelonephritis and in 64.9 % of chronic pyelonephritis cases in children. Diverging paths are observed: in patients with acute pyelonephritis, activity of vasodilatory agents predominates, and in chronic pyelonephritis – vasoconstrictor agents. Endothelial dysfunction associated with chronic pyelonephritis has the risk of unfavorable course of the disease and requires differential management.

Ключові слова:

ендотеліальна дисфункція, гострий пієлонефрит, хронічний пієлонефрит, проба з ендотеліальною вазодилатацією, діти.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 478–483

Ендотеліальна дисфункція в дітей із пієлонефритом

О. Є. Абатуров, Л. І. Вакулєнко, О. В. Кунак

Мета роботи – вивчення особливостей функціонування системи судинного ендотелію як маркера балансу ендотеліальної вазодилатації та вазоконстрикції в дітей із гострим і хронічним пієлонефритом.

Матеріали та методи. Обстежили 39 дітей із гострим і 37 осіб із хронічним пієлонефритом віком 11–17 років поза загостренням запального процесу. Контрольна група – 30 умовно здорових дітей. Виконали пробу з ендотеліальною вазодилатацією, адаптовану для дитячого віку.

Результати. У дітей із гострим пієлонефритом вихідний показник діаметра плечової артерії статистично значущо не відрізнявся від норми ($3,40 \pm 0,19$ мм, $p > 0,05$), а у хворих на хронічний пієлонефрит був вірогідно меншим ($2,20 \pm 0,12$ мм, $p < 0,05$). У фазу максимальної вазодилатації діаметр плечової артерії в пацієнтів із гострим пієлонефритом був вірогідно більшим ($4,10 \pm 0,15$ мм, $p < 0,05$), а в пацієнтів із хронічним пієлонефритом вірогідно меншим за норму ($2,60 \pm 0,17$ мм, $p < 0,05$). Як результат, приріст діаметра плечової артерії в дітей із хронічним пієлонефритом був вірогідно меншим порівняно зі здоровими ($8,2 \pm 0,2$ %, $p < 0,05$), а в дітей із гострим пієлонефритом вірогідно більшим ($24,10 \pm 0,53$ %, $p < 0,05$). Показник лінійної швидкості кровотоку у стані спокою в дітей із гострим пієлонефритом був вірогідно меншим за норму ($111,80 \pm 0,17$ см/с, $p < 0,05$), а в дітей, які мали хронічний запальний процес у нирках, вірогідно більшим ($148,70 \pm 0,14$ см/с, $p < 0,05$). У фазі реактивної гіперемії показник лінійної швидкості кровотоку в обох групах пацієнтів зменшувався.

Висновки. Ендотеліальна дисфункція зареєстрована в 17,9 % випадків гострого пієлонефриту та в 64,9 % дітей, які хворі на хронічний пієлонефрит. Визначили різноспрямованість дисфункції: в пацієнтів із гострим пієлонефритом переважає активність факторів вазодилатації, а з хронічним пієлонефритом – факторів вазоконстрикції. Ендотеліальна дисфункція, асоційована з хронічним пієлонефритом, має ризик розвитку несприятливого перебігу захворювання, що потребує призначення диференційованої медикаментозної корекції.

Эндотелиальная дисфункция у детей с пиелонефритом

А. Е. Абатуров, Л. И. Вакулєнко, Е. В. Кунак

Цель работы – изучение особенностей функционирования системы сосудистого эндотелия как маркера баланса эндотелийзависимой вазодилатации и эндотелийзависимой вазоконстрикции у детей с острым и хроническим пиелонефритом.

Материалы и методы. Обследовали 39 детей с острым и 37 детей с хроническим пиелонефритом в возрасте 11–17 лет вне обострения воспалительного процесса. Контрольную группу составили 30 условно здоровых детей. Использовали пробу с эндотелийзависимой вазодилатацией, адаптированной для детского возраста.

Результаты. У детей с острым пиелонефритом исходный показатель диаметра плечевой артерии статистически значимо не отличался от нормы ($3,40 \pm 0,19$ мм, $p > 0,05$), а у больных с хроническим пиелонефритом был достоверно меньше ($2,20 \pm 0,12$ мм, $p < 0,05$). В фазу максимальной вазодилатации диаметр плечевой артерии у пациентов с острым пиелонефритом был достоверно больше ($4,10 \pm 0,15$ мм, $p < 0,05$), а у пациентов с хроническим пиелонефритом достоверно меньше нормы ($2,60 \pm 0,17$ мм, $p < 0,05$). Как результат, прирост диаметра плечевой артерии у детей с хроническим пиелонефритом был достоверно меньше по сравнению со здоровыми ($8,2 \pm 0,2$ %, $p < 0,05$), а у детей с острым пиелонефритом достоверно больше ($24,10 \pm 0,53$ %, $p < 0,05$).

Показатель линейной скорости кровотока в покое у детей с острым пиелонефритом был достоверно меньше нормы ($111,80 \pm 0,17$ см/с, $p < 0,05$), а у детей с хроническим воспалительным процессом в почках достоверно больше ($148,70 \pm 0,14$ см/с, $p < 0,05$). В фазе реактивной гиперемии показатель линейной скорости кровотока в обеих группах пациентов уменьшался.

Выводы. Эндотелиальная дисфункция зарегистрирована в 17,9 % случаев острого пиелонефрита и у 64,9 % детей с хроническим пиелонефритом. Отмечена разнонаправленность дисфункции: у пациентов с острым пиелонефритом преобладает активность вазодилатирующих факторов, а при хроническом пиелонефрите – факторов вазоконстрикции. Эндотелиальная дисфункция, ассоциированная с хроническим пиелонефритом, имеет риск развития неблагоприятного течения заболевания, требующего проведения дифференцированной медикаментозной коррекции.

Ключевые слова:

эндотелиальная дисфункция, острый пиелонефрит, хронический пиелонефрит, проба с эндотелий-зависимой вазодилатацией, дети.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 478–483

Introduction

Currently, there is a common understanding that the system of vascular endothelium (SVE) is a powerful autocrine-paracrine organ that provides homeostasis of the vessel wall and prevents the development of pathology [2,7,9]. As a multifunctional organ, SVE is simultaneously the effector and target of many pathological processes [2,16,20]. Endothelium synthesizes and releases vasoactive substances in response to constant influence of endovascular factors. [2,5,10,17]. Due to the prolonged exposure to adverse factors (hemodynamic overload, hypoxia, intoxication, inflammation), a dysfunction of endothelial lining develops with vasoconstriction, hypercoagulation, proliferation of the vascular elements and thrombosis with intravascular fibrin/fibrinogen deposition as the response to regular stimuli, resulting in disorders of blood microrheology, capillary-trophic insufficiency and ischemia [5,8]. That is, endothelial dysfunction (ED) is formed. ED in the modern sense is a complex system of disorders that starts on the molecular-genetic level, imbalance between vasodilator production, angioprotectors and antiproliferative factors, on the one hand, and vasoconstrictors, prothrombotic, proliferative factors, on the other hand [5,14,18].

Recent studies have confirmed that ED plays one of the main roles in renal disease development, it is already present in early stages of chronic kidney disease (CKD) in children, being one of the early markers and an important pathogenetic link in the progression of CKD [6,7,10,14]. Increasing structural changes lead to disturbance of SVE morphogenetic equilibrium, therewith changed SVE tends to maintain its pathological functioning [8].

To date, the concept of ED as a key link in CKD pathogenesis has been formulated, and the role of the endothelium, the impaired function of which has been demonstrated to be long before the structural changes development in the kidneys [9,12,15].

However, until now it remains unclear which markers of ED are the most significant in reducing renal functions in adults and children, and which their concentrations in the body can serve as predictors of CKD progression in childhood [3,15]. The modern concept of CKD which reflects the nature and rate of renal disease progression to the end stage of renal failure requires careful study of ED role, as a possible prognostically significant factor in the development of nephrosclerosis [1,5,7,10,15].

Aim

To study the peculiarities of vascular endothelium system functioning as a marker of the balance between endothelium-dependent vasodilation and endothelium-dependent vasoconstriction in children with acute and chronic pyelonephritis.

Materials and methods

We examined 76 children aged 11–17 years (31 boys and 45 girls) with pyelonephritis (PN), 39 of whom were with acute PN (APN) and 37 – with chronic PN (CPN). All the children received an inpatient treatment in the Nephrology Department of CI “Dnipropetrovsk Regional Children’s Clinical Hospital”, DRC. The control group consisted of 30 relatively healthy children undergoing examination for functional diseases of the gastrointestinal tract. The criteria for inclusion in the study were: the presence of a voluntary informed consent of the child and his/her parents for study participation; age of patients 11-17 years 11 months 29 days; presence of verified diagnoses of acute and chronic pyelonephritis; a period of 1 month after the last acute pyelonephritis; absence of clinical and laboratory signs of exacerbation of chronic pyelonephritis during the last 3 months. The criteria for exclusion of patients from the study were: refusal of the child or his/her parents to participate in the study; the presence of clinical and laboratory signs of chronic pyelonephritis exacerbation. The children were grouped according to the nosological principle.

Clinical-laboratory and instrumental examinations were carried out in the Clinical-Diagnostic Laboratory and the Department of Ultrasound Diagnostics of the CI “Dnipropetrovsk Region Children’s Clinical Hospital” DRC.

To assess the functional state of the endothelium, we used a reactive hyperemia test adapted to children (Patent No. 32359 “Method for diagnosing endothelium-dependent vasodilatation in children”, IPC (8):A61V8/00 of May 12, 2008, authors O. P. Volosovets, S. P. Kryvopustov, T. S. Moroz).

Measurement of flow-dependent dilatation of the brachial artery according to ultrasound data is currently considered as the «gold standard» for the endothelial function of vessels study [4,17,18,20]. The study method is high-tech and non-invasive, which greatly simplifies and accelerates the diagnosis of ED in children with various pathology [2,11,17,19].

Endothelium-dependent vasodilatation (EDVD) test was performed as follows: patients were examined in the supine position after a 10–15-minute rest, at least a 10-hour fast and abstention from coffee, tea, bad habits and exercise. All participants were requested to refrain from taking any vasoactive medications no less than 48 hours before the study.

A scan of the right brachial artery was performed on a Toshiba Xario (Japan) device, in areas 2 to 15 cm above the bend of elbow using a linear 7.5 MHz sensor, which allowed to estimate the diameter of the brachial artery (DBA) to within 0.1 mm to 0, 2 mm. After obtaining the initial data of arterial pressure (AP), diameter of the brachial artery (DBA₁) and linear blood flow rate (LBFR₁), the cuff was inflated for 1.5–2.0 min to 50 mm Hg plus systolic blood pressure of the patient. The time of occlusion depended on the appearance of pain, tingling, numbness of fingers. The diameter of the brachial artery (DBA₂) was measured again 30 seconds before deflation. 15 seconds following release of the occlusion cuff (in the phase of reactive hyperemia), the linear blood flow (LBFR₂) was recorded, and in 60 seconds, in the phase of maximal vasodilation – the diameter of the brachial artery (DBA₃).

EDVD was calculated as percentage change in brachial artery diameter from baseline by the formula:

$$\Delta d, \% = 100 \times (DBA_3 - DBA_1) / DBA_1.$$

Depending on DBA dynamics during the test, four types of reaction were identified: normoergic type – with the increase in DBA from 10 % to 20 %; hyperergic type – with the increase in DBA by 20–40 %; hypoergic type – with the increase in DBA less than 10 % or absence of reaction; paradoxical type – with the decrease in DBA in comparison with the baseline. ED was diagnosed in case of hypoergic or paradoxical types of reaction.

In addition, the quantitative angle-dependent indices were determined: the maximum blood flow rate in systole (Vmax, m/s), the minimum blood flow rate in diastole (Vmin, m/s). Parameters of the peripheral vascular resistance were estimated – resistance index, or Pourcelot index (RI). The RI was determined by the formula: $RI = (Vps - Ved) / Vps$, where RI – peripheral resistance index, Vps – peak systolic blood flow velocity, Ved – end-diastolic blood flow velocity.

The statistical processing of the obtained data was performed using the Microsoft Office 2010 applications integrated in Windows 7. The significant differences between average values were determined by Student's parametric criterion, chi-squared distribution and Fisher's criterion. Differences were considered significant in a P value < 0.05.

Results

In children with APN, DBA₁ index had a tendency to increase, statistically insignificantly differing from the norm – 3.40 ± 0.19 mm, $P > 0.05$ (Table 1).

By contrast, DBA₁ index was significantly lower (2.20 ± 0.12 mm, $P < 0.001$) in CPN patients as compared to both APN and the control group patients. The most pronounced changes were recorded in children with chronic renal inflammatory process due to congenital anomalies of the urinary tract system. Patients had AP level exceeding 95 percentile.

The dynamics of DBA by the DBA₂ index recorded during EDVD test 30 seconds before deflation significantly differed in APN children from the values in the control group: 2.30 ± 0.13 mm, $P < 0.001$. But herein analyzing the dynamics of this index within the group, one can say that DBA narrowing in CPN children was significant and DBA₁ index did not differ statistically from DBA₂ index.

In CPN patients, the dynamics of DBA₂ index was similar: there was a tendency to decrease as compared to baseline data in patients within the group, the value was significantly lower in comparison with both groups ($P < 0.001$).

During the test, after deflation, in the phase of maximal vasodilation, DPA₃ index was statistically significantly higher in APN patients than the norm (4.10 ± 0.15 mm, $P < 0.05$). That is, vasodilation prevailed.

As a result, the increase in DBA by Δd value was 2.2 times less in children with CPN than in healthy subjects (8.2 ± 0.2 %; $P < 0.001$). At the same time, in children with APN, the increase in DBA testified to the predominance of vasodilation (24.10 ± 0.53 %; $P < 0.001$) as compared to those with CPN. Distribution of the DBA response variants to EDVD in children with pyelonephritis was as follows (Table 2).

The overwhelming majority of children with APN had favorable (normal and hyperergic) types of response to test – a total of 82.1 %, which did not differ significantly from the control group. However, in APN children, in contrast to the control group, hyperergic variant dominated (53.9 %, $P < 0.05$), and normal one was registered less frequently (28.2 %, $P < 0.05$). Pathological types of reaction – hypoergic and paradoxical were recorded as a whole in 17.9 %, without a significant difference from those in the control group (12.8 and 5.1 %, respectively, $P > 0.05$).

In the group of children with CPN, only 37.8 % of patients had norm- and hyperergic types of reaction to the test. Thus, normoergic type was registered only in 13.5 % of patients ($P < 0.001$), hyperergic type – in 24.3 % ($P < 0.05$). The majority of patients had pathological variants of the reaction: hypoergic type was registered in the overwhelming majority – in 40.6 % of cases, which was significantly greater as compared to healthy children and patients with APN, paradoxical type – in 21.6 %, which was statistically significant in comparison with the same two groups. This confirmed serious disturbances of the SVE balancing vasoregulatory mechanisms in these patients, which had been detected earlier in the DBA findings registration.

LBFR₁ index was significantly lower in APN children in comparison with those of both the control and CPN groups (Table 3).

In children with CPN, the value of this index was statistically higher as compared to those of the other two groups (148.70 ± 0.14 cm/sec). LBFR₂ index in group of CPN patients was reduced remaining statistically increased in comparison with those of both the control and APN groups (142.60 ± 1.18 cm/sec, $P < 0.001$). At the same time, in children with APN, LBFR₂ index did not differ significantly from the norm but it was significantly lower than that in CPN patients.

The RI dynamics in patients with pyelonephritis in response to DBA and LBFR changes is shown in Table 4.

Thus, in APN patients, the value of RI at rest was evidently less than the physiologic values (0.70 ± 0.02 c.u.), while in CPN group – statistically higher in comparison with that of both the control and APN groups (0.92 ± 0.03 c.u.).

Table 1. Dynamics of brachial artery diameter during endothelium-dependent vasodilation test in children with pyelonephritis

Index		Control group, n = 30	APN group, n = 39	CPN group, n = 37
Diameter of brachial artery, mm	At rest, DBA ₁	3.10 ± 0.16	3.40 ± 0.19 P ₁ > 0.05	2.20 ± 0.12 P ₁ < 0.001 P ₂ < 0.001
	30 sec. before deflation, DBA ₂	2.30 ± 0.13	3.10 ± 0.11 P ₁ < 0.001	1.80 ± 0.14 P ₁ < 0.001 P ₂ < 0.001
	60 sec. after deflation, DBA ₃	3.70 ± 0.11	4.10 ± 0.15 P ₁ < 0.05	2.60 ± 0.17 P ₁ < 0.001 P ₂ < 0.001
Increase in DBA, Δd,%	18.40 ± 0.46	24.10 ± 0.53 P ₁ < 0.001	8.20 ± 0.20 P ₁ < 0.001 P ₂ < 0.001	

P₁: significant difference in comparison with the control group; P₂: significant difference in comparison with APN group.

Table 2. Distribution of response variants to endothelium-dependent vasodilation test in children with pyelonephritis

Variant of reaction	Control group, n = 30		Children with APN, n = 39		Children with CPN, n = 37	
Normoergic	76.7 %	23	28.2 % P ₁ < 0,05	10	24.3 % P ₁ < 0.05 P ₂ > 0.05	9
Hyperergic	23.3 %	7	53.9 % P ₁ < 0.05	21	13.5 % P ₁ > 0.05 P ₂ < 0.001	5
Hypoergic	–	–	12.8 % P ₁ < 0.05	5	40.6 % P ₁ < 0.05 P ₂ < 0.001	15
Paradoxical	–	–	5.1 % P ₁ > 0.05	2	21.6 % P ₁ < 0.05 P ₂ < 0.05	8

P₁: significant difference in comparison with the control group; P₂: significant difference in comparison with APN group.

Table 3. Dynamics of linear blood flow rate during endothelium-dependent vasodilation test in children with pyelonephritis

Rate		Control group, n = 30	APN group, n = 39	CPN group, n = 37
Linear blood flow rate cm/sec	At rest, LBFR ₁	137.40 ± 2.12	111.80 ± 0.17 P ₁ < 0.001	148.70 ± 0.14 P ₁ < 0.001 P ₂ < 0.001
	In 15 sec after deflation, LBFR ₂	105.20 ± 1.19	107.10 ± 0.26 P ₁ > 0.05	142.60 ± 1.18 P ₁ < 0.001 P ₂ < 0.001

P₁: significant difference in comparison with the control group; P₂: significant difference in comparison with APN group.

Table 4. Dynamics of the resistance index during endothelium-dependent vasodilation test in children with pyelonephritis

Rate		Control group, n = 30	APN group, n = 39	CPN group, n = 37
Resistance index(c.u.)	At rest, RI ₁	0.83 ± 0.03	0.70 ± 0.02 P ₁ < 0.001	0.92 ± 0.03 P ₁ < 0.05 P ₂ < 0.001
	After deflation, RI ₂	0.78 ± 0.01	0.64 ± 0.04 P ₁ < 0.05	0.88 ± 0.04 P ₁ < 0.05 P ₂ < 0.05

P₁: significant difference in comparison with the control group; P₂: significant difference in comparison with APN group.

After deflation, the value of RI was reduced and statistically differed between the all groups (0.64 ± 0.04 c.u. for APN patients and 0.88 ± 0.04 c.u. for CPN patients). Both groups of patients with PN in the process of EDVD test had a diverging LBFR dynamics compared with the control group, which confirmed the presence of vasomotor manifestations of ED in this category of patients.

Discussion

In APN patients, the dynamics of EDVD test, especially after deflation, in the phase of maximal vasodilation, demonstrated the vasodilation prevalence.

This may be due to the increase in the synthesis of nitric oxide in this group of patients. Such an imbalance in the SVE can be considered as a result of the compensatory reaction – the maximum level of nitric oxide contributes to the inhibition of endothelial dysfunction caused by endothelin-1 hyperproduction, being a favorable factor in these conditions [7].

In contrast, in CPN patients, as compared to APN and the control group patients, the dynamics of the EDVD test, beginning with DBA₁ index, was significantly lower. This shows an imbalance in the SVE towards predominance of factors resulting in endothelium-dependent vasoconstriction in CPN patients, and vice versa, – they suppress endothelium-dependent vasodilatation.

Such disorders can be explained by a combination of several mechanisms: in particular, sympathetic hyperactivity development from an early CKD stage directly or indirectly via stimulation of renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) leads to activation of endothelin-1 synthesis, a powerful vasoconstrictor. This, in turn, causes reduced vascular wall relaxation in response to vasodilating stimuli and accounts for systemic changes in microcirculation and perfusion violation as one of the key non-immune mechanisms of CKD progression [7]. In addition, the vascular endothelium has its own renin-angiotensin system, which supports vasoconstriction [8]. Another factor that may contribute to ED with vasoconstriction predominance is the reduction of nitric oxide (NO) production, which is closely associated with a decreased number of functioning nephrons due to kidney damage as one of the pathogenetic links of ED in CKD patients [7,8,10]. According to M. Carlstrom and M. F. Montenegro [12], a decrease in the bioavailability of NO is considered to be the main adverse consequence of free radical reactions in oxidative stress in CKD patients. All these factors could contribute to the vasomotor form of ED development in CPN patients.

The most pronounced changes were recorded in children with chronic renal inflammatory process due to congenital anomalies of the urinary tract system. Patients had AP values exceeding 95 percentile. From literary reviews published by N. D. Inozemtseva et al. [5], it is known that structural changes that disturb normal renal blood flow lead to similar ischemic damage that may occur in vasoconstriction of the vessels in the parenchyma caused by increased content of angiotensin II, endothelin-1 or reduced concentration of nitric oxide.

In the phase of maximal vasodilation in patients with CPN, DPA_3 index was insignificantly increased in comparison with the control group. This indicated a reduction in arterial compliance and viscoelastic properties of vessel walls deterioration due to activation of endothelial vasoconstrictors synthesis on the one hand and the violation of endothelium dependent vasodilation, on the other.

Inozemtseva N. D. et al. [5] also reported that a shift in balance between vasodilators and vasoconstrictors towards the latter results in vasospasm and makes a weighty contribution to CKD progression.

The obtained results can be explained by the elevated level of vascular endothelial growth factor, which increases with CPN progression in children earlier than decrease in glomerular filtration rate (GFR), which makes it possible to consider it as a prognostic indicator. It is known that this growth factor regulates the vascular wall tone supporting spastic processes, and with the increase in its concentration pathological vasospasm develops, promoting sclerotic process development and kidney disease progression [1]. In general, this can be considered as one of the mechanisms of kidney pathological process progression and chronization.

From literary reviews published by T. P. Makarova and others [7] it is known that in children with CKD, ED is observed from the first stage of the disease development, as the increase in endothelin-1 content, a powerful vasoconstrictor, was registered in patients, which was accompanied by the decrease in concentration of vasodilator NO as well as the decrease in NO / endothelin-1 ratio. The

association between biomarkers and multiple ED indicates the presence of several endothelial function disorders in CKD patients [13].

So, the dynamics of indices in the course of EDVD test in APN patients we considered as a compensatory reaction and in CKD children – as a variant of the SVE functioning decompensation.

Conclusions

1. Endothelial dysfunction is an important pathogenetic link in the development of acute and chronic pyelonephritis in children. The convalescence period in 17.9 % of acute pyelonephritis cases and remission period in 64.9 % of chronic pyelonephritis cases are accompanied by signs of endothelial dysfunction.

2. The risk factors for developing endothelial dysfunction are the presence of congenital anomalies of the urinary tract system and arterial hypertension.

3. Acute and chronic pyelonephritis in children differs by diverging paths of endothelial dysfunction: in case of acute pyelonephritis, endothelial dysfunction during convalescence period is characterized by predominant activity of vasodilatory agents and remission of chronic pyelonephritis – vasoconstrictor agents.

4. Endothelial dysfunction associated with chronic pyelonephritis has a risk of developing an unfavorable course of the disease, probably due to violations of renal tissue perfusion, which requires differential medicamentous therapy.

Prospects for further research. It is advisable to study further ED in CPN children with various management regimens.

Funding

The work was carried out within the framework of research study of the Department of Pediatrics 2, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine" "Development of methods for diagnosis and correction of disorders of hemodynamics of target organs in somatic diseases accompanied by cardiovascular complications in children" (State registration number 0116U004963).

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

Надійшла до редакції / Received: 03.09.2018
Після доопрацювання / Revised: 17.12.2018
Прийнято до друку / Accepted: 20.12.2018

Information about authors:

Abaturov O. Ye., MD, PhD, DSc, Professor,
Head of the Department of Pediatrics 1 and Medical Genetics,
SE "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry
of Ukraine", Dnipro.
ORCID ID: 0000-0001-6291-5386

Vakulenko L. I., MD, PhD, Associated Professor of the Department
of Pediatrics 2, SE "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health
Ministry of Ukraine", Dnipro.
ORCID ID: 0000-0003-3823-6134

Kunak O. V., MD, Physician of the Functional Diagnostics
Department, ME "Dnipropetrovsk Regional Children's Clinical
Hospital" DRC", Dnipro, Ukraine.

Відомості про авторів:

Абатуров О. Є., д-р мед. наук, професор, зав. каф. педіатрії 1 та медичної генетики, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Вакуленко Л. І., канд. мед. наук, доцент каф. педіатрії 2, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Кунак О. В., лікар відділення функціональної діагностики, КЗ «Обласна дитяча клінічна лікарня» ДОР, м. Дніпро, Україна.

Сведения об авторах:

Абатуров А. Е., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. педиатрии 1 и медицинской генетики, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

Вакуленко Л. И., канд. мед. наук, доцент каф. педиатрии 2, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро.

Кунак Е. В., врач отделения ультразвуковой диагностики, КУ «Областная детская клиническая больница» ДОС, г. Днепро, Украина.

References

- [1] Bazarny, V. V., & Averchenko, M. V. (2013). Diagnosticheskaya tsennost' opredeleniya koncentracii faktora rosta e'ndoteliiya sosudov pri khronicheskom pielonefrite u detej [Diagnostic value of vascular endothelial growth factor determination in chronic pyelonephritis in children]. *Kazanskij medicinskij zhurnal*, 94(5), 656–658. [in Russian].
- [2] Berezhny, V., & Romankevych, I. (2016). Vychennia funktsionalnoho stanu endoteliiu za dopomohoiu kompleksu pokaznykiv proby z reaktivnoiu hiperemiiu [The study of the functional state of the endothelium via a complex of markers with reactive hyperemia]. *Sovremennaya pediatriya*, 2(74), 112–116. doi: 10.15574/SP.2016.74.112 [in Ukrainian].
- [3] Zorin, I. V., Vyalkova, A. A., Gun'kova, E. V., & Plotnikova, S. V. (2017). Endotelial'naya disfunkciya – osnova progressirovaniya refluks-nefropatii u detej [Endothelial dysfunction as a basis of progression of reflux nephropathy in children]. *Lechaschij vrach*, 1, 36. [in Russian].
- [4] Ignatova, T. B. (2015). Stan endotelialnoi funktsii u zdorovykh ditei molodshoho shkilnoho viku za danyymi trypleksnoho ultrazvukovoho doslidzhennia [State of endothelial function within the healthy children of the younger school age according to data of triplex ultrasonic research]. *Sovremennaya pediatriya*, 8(72), 54–56. doi: 10.15574/SP.2015.72.54 [in Ukrainian].
- [5] Inozemceva, N. D., Zakharova, N. B., & Rossolovskij, A. N. (2015). Znachenie molekulyarnykh markerov v izuchenii e'ndotelial'noj disfunkcii u bol'nykh MKB (obzor literatury) [The importance of molecular markers in the study of endothelial dysfunction in ICD patients (literature review)]. *Byulleten' medicinskih internet-konferencij*, 5(6), 902–905. [in Russian].
- [6] Korenev, N. M., & Bessonova, I. N. (2014). Sostoyanie pochechnogo krovotoka i e'ndotelial'naya funkciya pochek u podrostkov s arterial'noj gipertenziej i giperurikemiej [Status of renal blood flow and renal endothelial function in adolescents with hypertension and hyperuricemia]. *Perinatologiya i pediatriya*, 2(58), 80–84. [in Russian].
- [7] Makarova, T. P., & Melnikova, Yu. S. (2014). Mekhanizmy razvitiya e'ndotelial'noj disfunkcii pri khronicheskoj bolezni pochek u detej [Mechanisms for the development of endothelial dysfunction in chronic kidney disease in children]. *Prakticheskaya medicina*, 9(85), 19–23. [in Russian].
- [8] Mel'nikova, Yu. S., & Makarova, T. P. (2015). E'ndotelial'naya disfunkciya kak central'noe zveno patogeneza khronicheskikh boleznej [Endothelial dysfunction as the key link of chronic diseases pathogenesis]. *Kazanskij medicinskij zhurnal*, 96(4), 659–665. [in Russian]. doi: 10.17750/KMJ.2015-659
- [9] Oksenyuk, O. S., Kalmykova, Yu. A., Smirnova, O. B., & Pasechnik, D. G. (2016). Rol' oksislitel'nogo stressa v razvitii khronicheskoi bolezni pochek i sposoby ego ocenki [The role of oxidative stress in the development of chronic kidney disease and methods of its evaluation]. *Zhurnal fundamental'noj medicyny i biologii*, 1, 15–24. [in Russian].
- [10] Smirnov, I. E., Kucherenko, A. G., & Komarova, O. V. (2014). Biomarkery formirovaniya nefroskleroza pri khronicheskoj bolezni pochek u detej [Biomarkers of the formation of nephrosclerosis in chronic kidney disease in children]. *Rossiiskij pediatricheskij zhurnal*, 17(6), 10–15. [in Russian].
- [11] Shabrov, A., Apresyan, A., Dobkes, A., Ermolov, S., Ermolova, T., Manasyan, S., & Serdyukov, S. (2016). Sovremennyye metody ocenki e'ndotelial'noj disfunkcii i vozmozhnosti ikh primeneniya v prakticheskoi medicyne [Current Methods of Endothelial Dysfunction Assessment and their Possible Use in the Practical Medicine]. *Racional'naya farmakoterapiya v kardiologii*, 12(6), 733–742. [in Russian].
- [12] Carlstrom, M., & Montenegro, M. F. (2019). Therapeutic value of stimulating the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway to attenuate oxidative stress and restore nitric oxide bioavailability in cardiorenal disease. *J. Intern. Med.*, 285(1), 2–18. doi: 10.1111/joim.12818
- [13] Chen, J., Hamm, L. L., Mohler, E. R., Hudaihed, A., Arora, R., Chen, C. S., et al. (2015). Interrelationship of Multiple Endothelial Dysfunction Biomarkers with Chronic Kidney Disease. *PLoS ONE*, 10(7), e0132047. doi: 10.1371/journal.pone.0132047
- [14] Drożdż, D., Łątka, M., Drożdż, T., Sztefko, K., & Kwinta, P. (2018). Thrombomodulin as a New Marker of Endothelial Dysfunction in Chronic Kidney Disease in Children. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2018, 1619293. doi: 10.1155/2018/1619293
- [15] Goligorsky, M. S. (2015). Pathogenesis of endothelial cell dysfunction in chronic kidney disease: a retrospective and what the future may hold. *Kidney Res. Clin. Pract.*, 34(2), 76–82. doi: 10.1016/j.krcp.2015.05.003
- [16] Guan, Z., Van Beursum, J. P., & Inscho, E. W. (2015). Endothelin and the renal microcirculation. *Semin. Nephrol.*, 35(2), 145–55. doi: 10.1016/j.semnephrol.2015.02.004
- [17] Higashi, Y. (2015). Assessment of endothelial function. History, methodological aspects, and clinical perspectives. *Int. Heart J.*, 56(2), 125–134. doi: 10.1536/ihj.14-385
- [18] Matsuzawa, Y., Kwon, T. G., Lennon, R. J., Lerman, L. O., & Lerman, A. (2015). Prognostic Value of Flow-Mediated Vasodilation in Brachial Artery and Fingertip Artery for Cardiovascular Events: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Am. Heart Assoc.*, 4(11), pii: e002270. doi: 10.1161/JAHA.115.002270
- [19] Si, D., Ni, L., Wang, Y., Liu, J., Yang, J., & Yang, P. (2018). A new method for the assessment of endothelial function with peripheral arterial volume. *BMC Cardiovasc Disord.*, 18(1), 81. doi: 10.1186/s12872-018-0821-5
- [20] Xu, Y., Arora, R. C., Hiebert, B. M., Lerner, B., Szwajcjer, A., McDonald, K., et al. (2014). Non-invasive endothelial function testing and the risk of adverse outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 5(7), 736–746. doi: 10.1093/ehjci/et256

Профілактика невиношування вагітності після індукції овуляції в жінок з ендокринним непліддям в анамнезі

Л. Б. Маркін^{A-C,E,F}, К. Л. Шатилович^{*A-D,F}, Г. Б. Семенова^{B,E,F}

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

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

Ключові слова:
індукція овуляції, гіперандрогенія, гіперпролактинемія, гіпоталамо-гіпофізарна система, невиношування вагітності.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 484–490

DOI:
10.14739/2310-1210.2019.4.173345

***E-mail:**
shatik2@ukr.net

Призначення скоригованої підтримувальної гормональної терапії в ранні терміни індукованої вагітності – один із найбільш ефективних засобів, що сприяють зниженню репродуктивних втрат.

Мета роботи – удосконалення підтримувальної гормональної терапії в ранні терміни індукованої вагітності в пацієнток з ендокринним непліддям різного ґенезу в анамнезі.

Матеріали та методи. У 44 жінок з індукованою одноплідною вагітністю та ановуляторним непліддям в анамнезі та у 20 здорових вагітних здійснювали ультразвуковий і гормональний моніторинг I триместру вагітності. Залежно від динаміки гормональних змін пацієнткам з індукованою вагітністю призначали коригувальну гормональну терапію. Основним критерієм ефективності лікувальних заходів вважали пролонгування вагітності до 12 тижнів. Статистичне опрацювання виконали, застосовуючи пакет програм StatSoft «Statistica» v.6.0, Microsoft Excel XP.

Результати. Незважаючи на екзогенне введення гестагенів, у групі жінок з ановуляторним непліддям в анамнезі встановлена висока частота загрози викидня (47,7 %), патології хоріона (29,5 %), переривання вагітності (27,3 %). У пацієнток із перерваною вагітністю з гіпоталамо-гіпофізарною недостатністю (ГН) гормональний моніторинг показав початково низький рівень β-субодиниці хоріонічного гонадотропіну (β-ХГ), нормальний рівень прогестерону (П), однак неадекватний приріст β-ХГ і П у динаміці; в пацієнток із гіперпролактинемією – надвисокі концентрації П, нормальний рівень β-ХГ у ранні терміни вагітності та поступове зниження їхнього рівня протягом I триместру; в пацієнток із гіперандрогенією (ГА) – надвисокі концентрації П на початку та прогресивне їхнє зниження протягом I триместру, недостатній приріст β-ХГ від початку дослідження, що поєднувалось із підвищеними рівнями андрогенів – дегідроепіандростерон-сульфату та/або вільного тестостерону.

Висновки. Під час спостереження за індукованою вагітністю в пацієнток з ендокринним непліддям в анамнезі від початку I триместру необхідно встановлювати концентрацію гормонів П і β-ХГ для призначення відповідної гормональної підтримки. Критичними для цих вагітних є перші тижні гестації (гіперконцентрації гормонів) і середина I триместру (регресія жовтого тіла). Адекватний приріст β-ХГ на тлі нормо- або гіперпрогестеронемії в жінок із ГА та ГПРЛ протягом перших тижнів вагітності є показанням для скасування екзогенного введення гестагенів із можливим продовженням терапії надалі після 6–7 тижня гестації під контролем рівня П і β-ХГ у динаміці. Пацієнтки з ГН повинні отримувати постійну гормональну підтримку гестагенами від початку вагітності у високих терапевтичних дозах.

Ключевые слова:
индукция овуляции, гиперандрогения, гиперпролактинемия, гипоталамо-гипофизарная система, беременность осложнения.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 484–490

Профілактика невынашивания беременности после индукции овуляции у женщин с эндокринным бесплодием в анамнезе

Л. Б. Маркин, Е. Л. Шатилович, Г. Б. Семенова

Назначение скорректированной поддерживающей гормональной терапии в ранние сроки индуцированной беременности – одно из наиболее эффективных средств, способствующих снижению репродуктивных потерь.

Цель работы – усовершенствование поддерживающей гормональной терапии в ранние сроки индуцированной беременности у пациенток с эндокринным бесплодием различного генеза в анамнезе.

Материалы и методы. У 44 женщин с индуцированной одноплодной беременностью и ановуляторным бесплодием в анамнезе и у 20 здоровых беременных проводили ультразвуковую и гормональный мониторинг I триместра беременности. В зависимости от динамики гормональных изменений пациенткам с индуцированной беременностью назначали корректирующую гормональную терапию. Основным критерием эффективности лечебных мероприятий считали пролонгирование беременности до 12 недель. Статистическую обработку проводили с применением пакета программ StatSoft «Statistica» v.6.0, Microsoft Excel XP.

Результаты. Несмотря на экзогенное введение гестагенов, в группе женщин с ановуляторным бесплодием в анамнезе установлена высокая частота угрозы выкидыша (47,7 %), патологии хоріона (29,5 %), прерывания беременности (27,3 %). У пациенток с прерванной беременностью с гипоталамо-гипофизарной недостаточностью (ГН) гормональный мониторинг показал изначально низкий уровень β-субъединицы хоріонического гонадотропина (β-ХГ), нормальный уровень прогестерона (П), однако неадекватный прирост β-ХГ и П в динамике; у пациенток с гиперпролактинемией (ГПРЛ) – сверхвысокие концентрации П, нормальный уровень β-ХГ в ранние сроки беременности и постепенное снижение их уровня в течение I триместра; у пациенток с гиперандрогенией (ГА) – сверхвысокие концентрации П в начале и прогрессирующее их снижение в течение I триместра, недостаточный прирост β-ХГ с начала исследования, сочетавшийся с повышенным уровнем андрогенов – дегідроепіандростерона сульфата и/или свободного тестостерона.

Висновки. При веденні індукованої вагітності у пацієнок з ендокринним бесплодієм в анамнезі в початку I триместра необхідно визначати концентрацію гормонів П і β-ХГ для підбору відповідної гормональної підтримки. Критичними для цих вагітних є перші тижні гестації (гіперконцентрації гормонів) і середина I триместра (регресія жовтого тіла). Адекватний приріст β-ХГ на фоні нормо- або гіперпрогестеронемії у жінок з ГА і ГПРЛ в перші тижні вагітності – показання до відміни екзогенного введення гестагенів з наступним можливим продовженням терапії після 6–7 тижнів гестації під контролем рівня П і β-ХГ в динаміці. Пацієнтки з ГГН повинні отримувати постійну гормональну підтримку гестагенами з початку вагітності в високих терапевтичних дозах.

Prevention of miscarriage following ovulation induction in women with endocrine infertility in anamnesis

L. B. Markin, K. L. Shatylovykh, H. B. Semenyna

Prescription of adjusted maintenance hormonal therapy during early stages of induced pregnancy is one of the most effective means of reducing reproductive losses.

Aim. To improve the maintenance hormonal therapy during early stages of induced pregnancy in patients with endocrine infertility of various genesis in anamnesis.

Materials and methods. In total, 44 women with induced singleton pregnancy and anovulatory infertility in anamnesis and 20 healthy pregnant women underwent ultrasound and hormonal monitoring during the first trimester of pregnancy. Depending on the dynamics of hormonal changes, corrective hormonal therapy was prescribed for patients with induced pregnancy. Prolongation of pregnancy up to 12 weeks was considered to be the main criterion for the evaluation of the therapeutic measures effectiveness. Statistical processing of data was performed using the programs StatSoft Statistica v.6.0, Microsoft Excel XP.

Results. Despite the exogenous administration of progestins in the group of women with anovulatory infertility in anamnesis, there were detected high risks of miscarriage (47.7 %), chorionic pathology (29.5 %), abortions (27.3 %). Hormonal monitoring in patients with termination of pregnancy and hypothalamic-pituitary insufficiency revealed an initially low level of β-hCG, normal level of progesterone but an inadequate their rise in dynamics; in patients with hyperprolactinemia – a very high concentration of progesterone, normal β-hCG level in early gestation and its gradual decrease during the first trimester; in patients with hyperandrogenemia – a very high concentration of progesterone at the beginning and progressive its decrease during the first trimester, inadequate rise of β-hCG from the beginning of the study combined with increased levels of androgens – dehydroepiandrosterone sulfate and/or free testosterone.

Conclusions. In order to select an appropriate maintenance hormonal therapy, the concentration of progesterone and β-hCG should be determined at the beginning of the first trimester in patients with induced pregnancy and endocrine infertility in anamnesis. The first weeks of gestation (hyperconcentration of hormones) and the middle of the first trimester (corpus luteum regression) are the critical periods for such pregnant women. An adequate rise of β-hCG with normal or increased level of progesterone in women with hyperandrogenism and hyperprolactinemia during the first weeks of pregnancy serves as a reason for withdrawal of exogenous progesterone administration with a possible prolonged therapy after 6–7 weeks of gestation under the dynamic control of progesterone and β-hCG levels. Patients with hypothalamic-pituitary insufficiency should receive constant maintenance hormonal therapy with progestins in high therapeutic doses at the beginning of pregnancy.

Key words:

induction of ovulation, hyperandrogenism, hyperprolactinemia, hypothalamic-pituitary insufficiency, miscarriage.

Zaporozhye medical journal
2019; 21 (4), 484–490

Нині у структурі жіночого непліддя ендокринна патологія становить 30–40 % [1]. Як відомо, основною причиною хронічної ановуляції та звичних ранніх втрат вагітності є гіпоталамо-гіпофізарна недостатність (ГГН), гіпоталамо-гіпофізарна дисфункція, представлена здебільшого синдромом полікістозних яєчників (СПКЯ) з гіперандрогенією (ГА), а також гіперпролактинемією (ГПРЛ). Враховуючи неповноцінність стероїдогенезу, ці стани супроводжуються недостатністю лютеїнової фази [6,9]. У зв'язку з запровадженням методів допоміжних репродуктивних технологій, а також успішнішим використанням сучасних стимуляторів овуляції під час лікування ендокринних форм непліддя важливого значення набуває проблема збереження індукованої вагітності [11,15].

У фаховій літературі дискутуються питання щодо призначення гормональної підтримки ранніх термінів індукованих вагітностей препаратами прогестагенової дії. У контексті дискусійних питань ряд авторів, спираючись на гіпотезу про недостатність функції жовтого тіла, вказують на необхідність екзогенного введення великих доз гестагенів [12,14], в інших публікаціях висвітлені рекомендації щодо обмеження приймання прогестероноподібних препаратів часом завершення лютеїнової

фази стимульованого циклу, обґрунтовуючи це негативним впливом високих концентрацій прогестерону на репродуктивну систему плода [13,16].

Подібна невизначеність, відсутність чітких рекомендацій, високе емоційне навантаження в пацієнтів (тривалість і вартість лікування непліддя, довгоочікувана вагітність) призводять до емпіричного, «на всякий випадок» призначення препаратів прогестеронової ряду в середньо- або мінімально-терапевтичних дозах.

Мета роботи

Удосконалити підтримувальну гормональну терапію в ранні терміни індукованої вагітності в пацієнок з ендокринним непліддям різного ґенезу в анамнезі.

Матеріали і методи дослідження

У групу спостереження включили 44 жінки віком 20–42 роки з індукованою одноплідною вагітністю в терміні від 2 до 12 тижнів, ановуляторним непліддям в анамнезі. Причиною хронічної ановуляції в 11 пацієнок була ГГН, у 19 – ГА (яєчникова ГА – в 9, наднирникова ГА – в 7,

Таблиця 1. Частота ускладнень перебігу першого триместру вагітності, n (%)

Ускладнення	ГГН (n = 11)	ГА (n = 19)	ГПРЛ (n = 14)
Загроза викидня	5 (45,5 %)	11 (57,8 %)*	5 (35,7 %)*
Патологія хоріона	3 (27,3 %)	6 (31,6 %)	4 (28,6 %)
Викидень	2 (18,2 %)	4 (21,1 %)	1 (7,1 %)*
Завмерла вагітність	1 (9,1 %)	3 (15,8 %)*	1 (7,1 %)

*: вірогідність різниці між підгрупами (p < 0,05).

змішана ГА – у 3 випадках), в 14 – ГПРЛ. Перед початком індукції овуляції здійснювали корекцію метаболічних та ендокринних порушень. Протягом кількох циклів пацієнтки з ГГН отримували циклічну естроген-гестагенну замісну терапію [4]. При СПКЯ для корекції ГА наднирничкового ґенезу призначали глюкокортикоїди (дексаметазон 0,125–0,500 мг/добу, преднізолон 2,5–10,0 мг/добу), змішаного ґенезу – глюкокортикоїди та гестагени (дидрогестерон 20 мг/добу з 14 до 25 день циклу), яєчникового ґенезу – комбіновані естроген-гестагенні препарати з антиандроґенною дією при циклічному контролі рівня гормонів [6]. За наявності метаболічного синдрому та СПКЯ терапію доповнювали заходами зі зниження маси тіла й подолання інсулінорезистентності (метформін 1000–1500 мг/добу) [10]. Для підготовки до вагітності жінкам із ГПРЛ призначали комплекс лікувально-профілактичних заходів із використанням двофазних контрацептивів, системної ензимотерапії, імуномодулювальних засобів; корекція гіперпролактинемії – агоністами дофаміну (достинекс 0,25–0,50 мг/тиждень) [9].

Вагітність у пацієнток досягнута за допомогою індукції овуляції кломіфеном цитратом, який вводили з 5 дня циклу, починаючи з 50–100 мг/добу протягом 5 днів. У кожному циклі стимуляції дозу збільшували на 50 мг/добу, максимум до 250 мг/добу. За наявності зрілого фолікула (18–22 мм), при товщині ендометрію \geq 8 мм, достатній кількості цервікального слизу вводили овуляторну дозу людського хоріонічного гонадотропіну (10000 OD). 9 пацієнткам із ГГН, резистентним до кломіфену цитрату, індукцію овуляції здійснювали рекомбінантним фолікулостимулюючим гормоном (пуреґоном) у дозі 100 МО/добу протягом 5–7 днів із наступною корекцією дози та тривалості введення препарату [4].

Відповідно до вимог клінічних протоколів № 787 «Порядок застосування допоміжних репродуктивних технологій в Україні» (2013 р.) та № 624 «Невиношування вагітності» (2008 р.), для підтримки функції жовтого тіла в лютеїнову фазу та у I триместрі індукованої вагітності вводили препарати прогестерону в середньотерапевтичних дозах (мікронізований прогестерон у дозі 200–400 мг, дидрогестерон – 10–20 мг щоденно) [7,8]. Залежно від динаміки гормональних змін пацієнткам призначали коригувальну гормональну терапію, основним критерієм ефективності вважали пролонгування вагітності до 12 тижнів.

Під час вагітності крім систематичного клінічного спостереження здійснювали ультразвуковий моніторинг, під час якого визначали наявність плідного яйця в матці, серцебиття ембріона, відповідність його розвитку гестаційному терміну, особливості розвитку хоріона, наявність/відсутність жовтих тіл в яєчниках (апарати

експертного класу Medison, SONOACE 8000 EX (prime) і Logic 2000).

Після підтвердження маткової одноплідної вагітності ультразвуковим методом у всіх пацієнток кожні 2 тижні в сироватці крові методом ECLIA (імунохімічний з електрохемілюмінесцентною детекцією) визначали концентрацію прогестерону (П), β -субодіниці хоріонічного гонадотропіну (β -ХГ); у пацієнток з ГА – додатково рівень вільного тестостерону (Т) і дегідроепіандростерон-сульфату (ДГЕА-С), із ГПРЛ – рівень пролактину (ПРЛ) [3,5].

Група контролю – 20 здорових жінок із фізіологічним перебігом спонтанної вагітності.

Усі пацієнтки дали згоду на обробку персональних даних, участь у клінічному дослідженні.

Статистичне опрацювання виконали за допомогою пакета програм Statistica for Windows 6.0 (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), Microsoft Excel XP. Кількісні ознаки в порівнюваних групах описані як середнє арифметичне значення (M) зі стандартною похибкою середньої величини (m). Якісні номінальні ознаки – як абсолютні та відносні частоти у відсотках. Порівняння кількісних величин у групах виконали за допомогою U-критерію Манна-Уїтні та Kruskal-Wallis ANOVA test, відносних величин – за критерієм χ^2 . Вірогідною вважали різницю при p < 0,05. Наведені графіки показують динаміку змін гормонів (M) залежно від терміну вагітності в пацієнток з ускладненим і фізіологічним її перебігом.

Результати

У жінок із фізіологічним перебігом вагітності концентрація прогестерону (П), β -ХГ у сироватці крові прогресивно зростала зі збільшенням терміну гестації (П – з $18,3 \pm 4,2$ до $51,2 \pm 9,6$ нг/мл; β -ХГ – з $320,0 \pm 63,6$ до $196000,0 \pm 6251,8$ мМО/мл відповідно, p < 0,05), рівень ДГЕА-С помірно знижувався з $132,3 \pm 29,6$ до $95,4 \pm 22,1$ мкг/дл, концентрація вільного Т залишалася відносно стабільною протягом I триместру ($3,6 \pm 0,4$ нмоль/л) (p > 0,05), рівень ПРЛ відповідав нормативним значенням для терміну 3–4 тижні ($37,6 \pm 12,4$ нг/мл), повторно його не визначали. У всіх пацієнток на 5–6 тижні вагітності УЗД показало наявність одноплідної вагітності, яка прогресує, в одному з яєчників візуалізувалося жовте тіло.

Аналіз особливостей перебігу та основних ускладнень індукованих вагітностей показав результати, що наведені в таблиці 1.

Незважаючи на екзогенне введення гестагенів, у групі жінок з індукованою вагітністю та ановуляторним непліддям в анамнезі встановлена висока частота загрози викидня (47,7%), патології хоріона (29,5%), переривання вагітності (27,3%). У підгрупах спостереження 71,4% вагітностей, що перервані на ранніх термінах, припадали на завмерлу вагітність, здебільшого ембріон припиняв розвиватися в терміні 6–8 тижнів.

На відміну від інших підгруп, гормональні дослідження в підгрупі ГГН показали від початку спостереження зниження порівняно з фізіологічною вагітністю рівня β -ХГ (в 1,8 раза) в пацієнток, вагітність яких перервалася (рис. 1). Концентрації П наближалися до нормальних значень, що забезпечувалось екзогенним введенням гестагенів (p > 0,05) (рис. 2). Так, початковий (3–4-тиж-

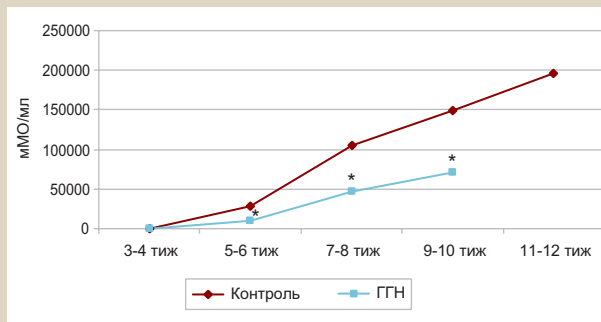


Рис. 1. Концентрація β -ХГ (мМО/мл) у пацієток підгрупи ГГН із невиношуванням і пацієток із фізіологічним перебігом вагітності.

*: вірогідність різниці з показниками групи контролю ($p < 0,05$).

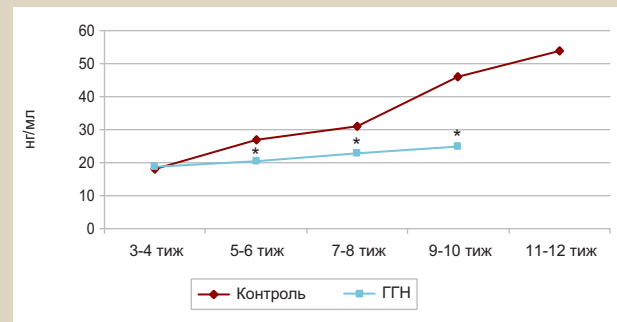


Рис. 2. Концентрація П (нг/мл) у пацієток підгрупи ГГН із невиношуванням і пацієток із фізіологічним перебігом вагітності.

*: вірогідність різниці з показниками групи контролю ($p < 0,05$).

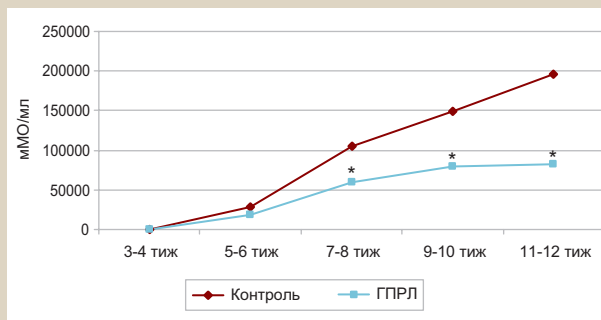


Рис. 3. Концентрація β -ХГ (мМО/мл) у пацієток підгрупи ГПРЛ із невиношуванням і пацієток із фізіологічним перебігом вагітності.

*: вірогідність різниці з показниками групи контролю ($p < 0,05$).

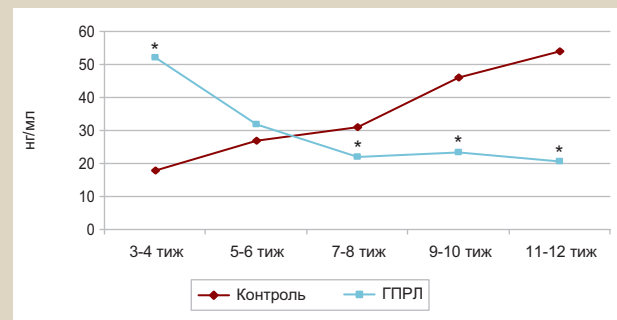


Рис. 4. Концентрація П (нг/мл) у пацієток підгрупи ГПРЛ із невиношуванням і пацієток із фізіологічним перебігом вагітності.

*: вірогідність різниці з показниками групи контролю ($p < 0,05$).

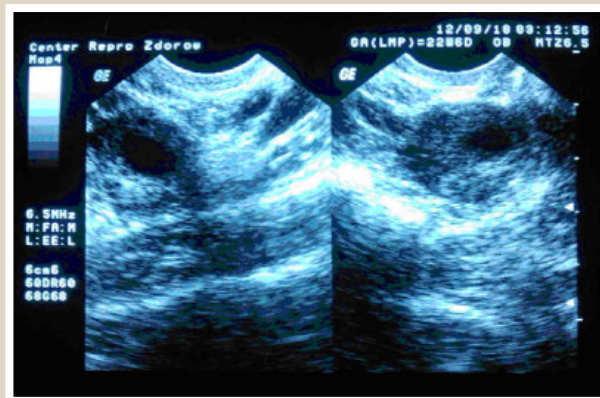


Рис. 5. Вагітність 3–4 тижнів. Візуалізація жовтих тіл в обох яєчниках.



Рис. 6. Вагітність 5–6 тижнів. Ретрохоріальна гематома.

невий) рівень β -ХГ становив $173,4 \pm 48,5$ мМО/мл, П – $18,6 \pm 1,3$ нг/мл. Для підтримки функції трофобласту в цих випадках додатково вводили хоріонічний гонадотролін у дозі 1500–3000 МО через кожні 2 дні. Повторне визначення П у сироватці крові в 5–6 тижнів показало відсутність ендogenous продукування П у 6 випадках (рівень П не перевищував цільовий терапевтичний рівень – 25 нг/мл). У цих випадках дозу екзогенного мікронізованого П збільшували до 800 мг/добу, дидрогестерону – до 40 мг/добу. Незважаючи на терапевтичні заходи, у 9,1 % випадків було завмирання вагітності, у 18,2 % – самовільний викидень.

Найнижча частота несприятливих результатів вагітності (14,2 %) встановлена в підгрупі з ГПРЛ.

Гормональний моніторинг показав: концентрація П у сироватці крові вагітних на початку вагітності (3–4 тижнів) перевищувала нормальні показники у 2,9 раза ($52,7 \pm 6,1$ нг/мл). Рівні ПРЛ і β -ХГ залишались у межах фізіологічного діапазону для цього терміну вагітності ($45,9 \pm 9,8$ нг/мл та $383,5 \pm 54,2$ мМО/мл відповідно). Враховуючи результати гормональних досліджень, введення гестагенів продовжили тільки в пацієток із клінічними симптомами загрози викидня, дозу препаратів не збільшували.

Заслугує на увагу поступове зниження рівня П до нормальних (у 5–6 тижнів вагітності) й нижче ($p > 0,05$) та вірогідно нижчий приріст β -ХГ ($p < 0,05$) у пацієток з ускладненим перебігом вагітності (рис. 3, 4).

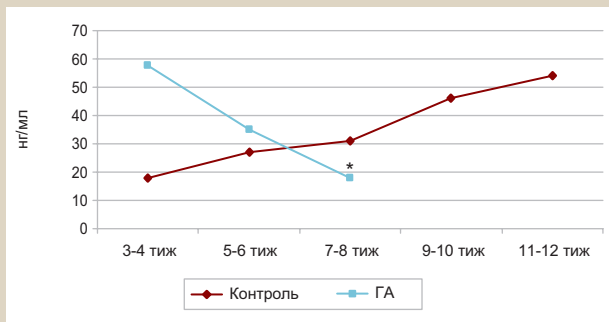


Рис. 7. Концентрація П (нг/мл) у пацієнок підгрупи ГА з невиношуванням і пацієнок із фізіологічним перебігом вагітності.

*: вірогідність різниці з показниками групи контролю ($p < 0,05$).

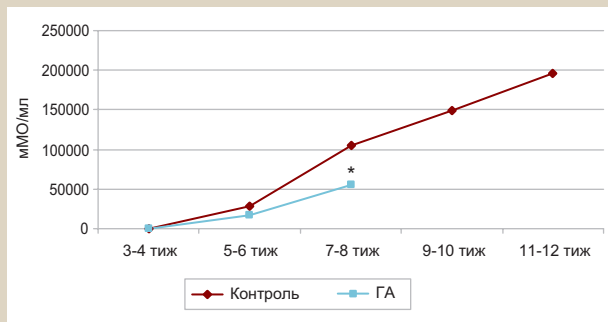


Рис. 8. Концентрація β-ХГ (мМО/мл) у пацієнок підгрупи ГА з невиношуванням і пацієнок із фізіологічним перебігом вагітності.

*: вірогідність різниці з показниками групи контролю ($p < 0,05$).

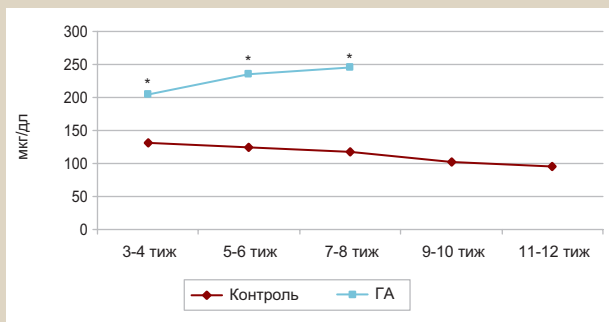


Рис. 9. Концентрація ДГЕА-С (мкг/дл) у пацієнок підгрупи ГА з невиношуванням і пацієнок із фізіологічним перебігом вагітності.

*: вірогідність різниці з показниками групи контролю ($p < 0,05$).

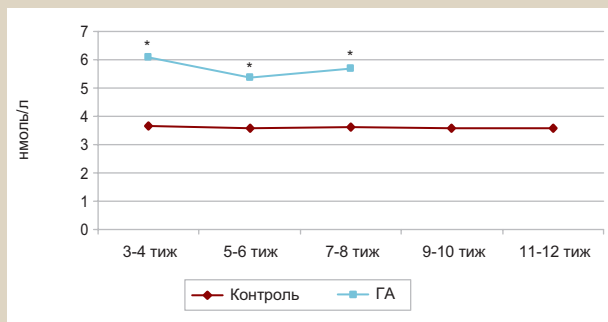


Рис. 10. Концентрація Т (нмоль/л) у пацієнок підгрупи ГА з невиношуванням і пацієнок із фізіологічним перебігом вагітності.

*: вірогідність різниці з показниками групи контролю ($p < 0,05$).

Дисбаланс між високим рівнем П і нормальним рівнем β-ХГ, який характеризує стан трофобласту, вказував на зниження його функції. Про ураження трофобласту свідчили й дані УЗД, що показали в 4 пацієнок цієї підгрупи патологію хоріона (гіпоплазію, низьке прикріплення або передлежання, ретрохоріальну гематому) (рис. 5). У більшості вагітних з ускладненим перебігом гестаційного процесу детальне ультразвукове обстеження яєчників показало наявність 2 і більше жовтих тіл (рис. 6).

У пацієнок із ГА спостерігали найбільшу серед інших підгруп частоту невиношування вагітності, патології хоріона за даними УЗД. Характерною також на початку вагітності була наявність 1–2 жовтих тіл в обох яєчниках. Гормональні дослідження показали гіперсекрецію П у терміни 3–4 тижні (рівень П перевищував нормальні для цього періоду вагітності величини у 3,2 раза ($58,5 \pm 9,6$ нг/мл, $p < 0,05$); після 6 тижня при ускладненому перебігу гестації його концентрація поступово знижувалася паралельно з регресією жовтих тіл (рис. 7). У пацієнок із невиношуванням встановлено вірогідно менший приріст β-ХГ від початку дослідження (рис. 8), що поєднувався з підвищеними порівняно зі здоровими вагітними рівнями андрогенів – ДГЕА-С ($205,7 \pm 48,3$ мкг/дл) та/або вільного Т ($5,71 \pm 0,36$ нмоль/л) ($p < 0,05$) (рис. 9, 10).

Вагітним із клінічними симптомами загрози раннього викидня та/або ехографічними ознаками патології хоріона й підвищеним рівнем Т (яєчниковий або змішаний ґенез ГА) продовжували введення гестагенів у попе-

редньому дозуванні, при високому рівні ДГЕА-С (наднирковий ґенез ГА) додатково призначали дексаметазон (0,125–0,500 мг/добу). У 36,9% пацієнок ці терапевтичні заходи результатів не дали; в усіх випадках переривання відбулось до 8 тижня вагітності.

Обговорення

Дані, які отримали в підгрупі ГГН, на нашу думку, зумовлені низьким вихідним рівнем ендогенних гонадотропних гормонів у пацієнок, вторинною яєчникомовою недостатністю і, як наслідок, неповноцінним і недостатнім стероїдогенезом у ранні терміни гестації, що потребує адекватної гормональної підтримки. Доволі висока частота випадків самовільного викидня в цій підгрупі зумовлена пізнім, уже після появи клінічних проявів загрози викидня, призначенням вищих доз гестагенів. Отже, пацієнтки з ГГН повинні отримувати постійну гормональну підтримку гестагенами від початку вагітності у високих терапевтичних дозах (600–800 мг мікронізованого прогестерону або 30–40 мг дидрогестерону).

Після запліднення секреція П відбувається в жовтому тілі та залежить від рівня секреції ХГ трофобластом: недостатній рівень ХГ призводить до недостатньої стимуляції секреції П жовтим тілом, і гіперпрогестеронемія за принципом зворотного зв'язку блокує вироблення трофобластом ХГ, знижуючи функціональну активність жовтого тіла. За даними різних авторів, у стимульованому циклі є період післядії індукції овуляції, коли стимуля-

ція яєчників у період введення індуктора призводить до підвищеної секреції статевих стероїдів, що зберігається і після скасування препаратів. Додатковим джерелом підвищеної концентрації стероїдних гормонів (П) у ранні терміни стимульованої вагітності є формування кількох жовтих тіл, регресія функції яких відбувається після 6–7 тижня [2, 16].

Отже, нашарування суперфізіологічних концентрацій стероїдних гормонів у ранні терміни індукованої вагітності в поєднанні з екзогенним введенням гестагенів створюють так зване «хибне коло», наслідком якого є порушення процесів гестаційної трансформації ендометрію, формування неповноцінного хоріона і створення передумов для невиношування вагітності, що і визначили в підгрупах із ГПРЛ і ГА.

Для розуміння такої високої частоти невдач у підгрупі з ГА варто пригадати, що андрогени, зокрема Т, утворюються з П за участю ферментів цитохрому Р 450. Так, холестерин метаболізується в прегненолон із послідовним утворенням надалі 17-ОН-прегненолона, дегідроепіандростерона і ДГЕА-С [5]. У здорових жінок із фізіологічним перебігом вагітності наявні механізми, що захищають організм матері та плода від вірилізації. Один із них – здатність додаткового П, що виробляється під час вагітності, завдяки слабкій спорідненості до 5-альфа-редуктази пригнічувати перетворення Т у біологічно активніший дегідротестостерон у тканинах-мішенях. Інший – це ароматизація андрогенів (андростендіолу і Т) ферментними системами плаценти та перетворення їх на естрогени (естрон та естрадіол) [10]. В умовах вихідної дисфункції ферментних систем (недостатність 21-гідроксилази), індукованої вагітності надвисокий рівень ендогенного та екзогенного П стає джерелом гіперпродукції андрогенів, а їхній порушений метаболізм (підвищена активність 5-альфа-редуктази) обтяжує вже наявну ГА – причину найвищої серед усіх підгруп частоти невиношування вагітності.

Отримані клінічні результати дають змогу зробити висновок щодо недоцільності призначення прогестеронової підтримки в ранні терміни І триместру індукованої вагітності в пацієнток із підвищеним рівнем П і нормальним рівнем β-ХГ.

Висновки

1. При веденні індукованої вагітності в пацієнток з ендокринним непліддям в анамнезі від початку І триместру необхідно визначати концентрацію пролактину і β-субодиниці хоріонічного гонадотропіну для призначення відповідної гормональної підтримки.

2. Критичними для пацієнток з індукованою вагітністю є перші її тижні (гіперконцентрація гормонів) та середина І триместру (регресія жовтого тіла).

3. Адекватний приріст β-субодиниці хоріонічного гонадотропіну на тлі нормо- або гіперпрогестеронемії в жінок із гіперандрогенією та гіперпролактинемією протягом перших тижнів вагітності є показанням для скасування екзогенного введення гестагенів із можливим продовженням терапії після 6–7 тижня під контролем рівня прогестерону та β-субодиниці хоріонічного гонадотропіну в динаміці.

4. Пацієнтки з гіпоталамо-гіпофізарною недостатністю повинні отримувати постійну гормональну

підтримку гестагенами від початку вагітності у високих терапевтичних дозах.

Перспективи подальших досліджень. Наступні дослідження впливу запропонованих схем профілактики невиношування вагітності на стан матково-плацентарно-плодової циркуляції у ІІ триместрі вагітності дадуть змогу поліпшити перинатальні результати.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Удосконалення оцінки стану функціональної системи мати – плацента – плід при ускладненнях гестаційного процесу» № держреєстрації 0110U006661 (2016–2020).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 17.10.2018

Після доопрацювання / Revised: 02.11.2018

Прийнято до друку / Accepted: 05.11.2018

Відомості про авторів:

Маркін Л. Б., д-р мед. наук, член-кор. НАМНУ, зав. каф. акушерства та гінекології, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.
Шатилевич К. Л., д-р мед. наук, доцент каф. акушерства та гінекології, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.
Семенина Г. Б., д-р мед. наук, доцент каф. акушерства та гінекології, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.

Сведения об авторах:

Маркин Л. Б., д-р мед. наук, член-корр. НАМНУ, зав. каф. акушерства и гинекологии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина.
Шатилевич К. Л., д-р мед. наук, доцент каф. акушерства и гинекологии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина.
Семенина Г. Б., д-р мед. наук, доцент каф. акушерства и гинекологии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Украина.

Information about authors:

Markin L. B., MD, PhD, DSc, Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Ukraine, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Lviv National Medical University named after Danylo Halatsky, Ukraine.
Shatylovych K. L., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Lviv National Medical University named after Danylo Halatsky, Ukraine.
Semenyna H. B., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Lviv National Medical University named after Danylo Halatsky, Ukraine.

Список літератури

- [1] Вольф М., Штутте П. Гинекологическая эндокринология и репродуктивная медицина : пер. с нем. Москва : МЕДпресс-информ, 2018. 512 с.
- [2] Воскресенский С. Л., Тришина В. Л. Содержание прогестерона в крови беременных в I и во II триместрах гестации при неблагоприятном завершении беременности. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2017. Т. 66. №44. С. 32–39. doi: 10.17816/JOWD66432-39
- [3] Гарднер Д., Шобек Д. Базисная и клиническая эндокринология : пер. с англ. Москва : БИНОМ, 2010. Кн. 1. 464 с.
- [4] Кулаков В. И. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. 784 с.

- [5] Лихачев В. К. Гормональная диагностика в практике акушера-гинеколога: Руководство для врачей. Киев, 2012. 166 с.
- [6] Нагорная В. Ф. Гиперандрогения как причина невынашивания беременности. *Акушерство. Гнекология. Генетика*. 2015. №2. С. 12–17.
- [7] Клінічний протокол «Невиношування вагітності»: наказ МОЗУ. 2008. №624.
- [8] Наказ МОЗУ «Про затвердження Порядку застосування допоміжних репродуктивних технологій в Україні». 2013. №787. 16 с.
- [9] Национальный консенсус щодо ведення пацієнтів із гіперпролактинемією (2016) / М. Д. Тронько, Ю. Г. Антипкін, В. В. Камінський та ін. *Репродуктивна ендокринологія*. 2016. №4(30). С. 8–18.
- [10] Рыкова О. В. Синдром поликистозных яичников: современные возможности лабораторной диагностики. Обзор руководства по диагностике и лечению синдрома поликистозных яичников. *Международный эндокринологический журнал*. 2015. №7(71). С. 69–75.
- [11] Сидельникова В. М. Привычная потеря беременности. Москва: Трида-Х, 2005. 304 с.
- [12] Kaur R., Gupta K. Endocrine dysfunction and recurrent spontaneous abortion: An overview. *Int. J. Appl. Basic. Med. Res.* 2016. Vol. 6. Issue 2. P. 79–83. doi: 10.4103/2229-516X.179024
- [13] Ke R. W. Endocrine basis for recurrent pregnancy loss. *Obstet. Gyn. Clin.* 2014. Vol. 41. Issue 1. P. 103–112. doi: 10.1016/j.ogc.2013.10.003
- [14] Supplementation with progestogens in the first trimester of pregnancy to prevent miscarriage: a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials / G. Saccone, C. Schoen, J. M. Franasiak et al. *Fertil. Steril.* 2017. Vol. 107. Issue 2. P. 430–438. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.10.031
- [15] Jeve Y. B., Davies W. Evidence-based management of recurrent miscarriages. *J. Hum. Reprod. Science*. 2014. Vol. 7. Issue 3. P. 159–169. doi: 10.4103/0974-1208.142475
- [16] Zhu X. X., Ye H., Fu Y. L. Use of Utrogestan during controlled ovarian hyperstimulation in normally ovulating women undergoing in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection treatments in combination with a “freeze all” strategy: a randomized controlled dose-finding study of 100 mg versus 200 mg. *Fertility and Sterility*. 2017. Vol. 107. P. 379–386. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.10.030

References

- [1] Vol'f, M., & Shtute, P. (2018) *Ginekologicheskaya e'ndokrinologiya i reproduktivnaya medicina. [Gynecological endocrinology and reproductive medicine]*. Moscow. [in Russian].
- [2] Voskresenskiy, S. L., & Trishina, V. L. (2017) Soderzhanie progesterona v krvi beremennykh v I i vo II trimestrah gestacii pri neblagopriyatnom zavershenii beremennosti [The contents of progesterone in the blood of pregnant in I and II trimesters of gestation with an unfavorable outcome of the pregnancy]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej*, 66(4), 32–39. doi: 10.17816/JOWD66432-39 [in Russian].
- [3] Gardner, D., & Shobek, D. (2010) *Bazisnaya i klinicheskaya e'ndokrinologiya. [Basic and clinical endocrinology]*. (Book 1). Moscow: BINOM. [in Russian].
- [4] Kulakov, V. I. (2010) *Besplodnyj brak. Sovremennye podkhody k diagnostike i lecheniyu [Infertile marriage. Modern approaches to diagnostics and treatment]*. Moscow: GE'OTAR-Media. [in Russian].
- [5] Likhachev, V. K. (2012) *Gormonal'naya diagnostika v praktike akushera-ginekologa: Rukovodstvo dlya vrachej [Hormonal diagnostics in the practice of obstetrician-gynecologist: A guide for doctors]*. Kyiv. [in Russian].
- [6] Nagornaya, V. F. (2015) Giperandrogeniya kak prichina nevyshivaniya beremennosti [Hyperandrogenism as the cause of miscarriage]. *Akusherstvo. Ginekologiya. Genetika*, 2, 12–17. [in Russian].
- [7] (2008) Klinichnyi protokol «Nevynoshuvannia vahitnosti» [The clinical protocol «Noncarrying of pregnancy»]. [in Ukrainian].
- [8] (2013) Nakaz MOZU «Pro zatverdzhennia Poriadku zastosuvannia dopomizhnykh reproductyvnykh tekhnolohii v Ukraini» №787 [The order of the Ministry of Health of Ukraine «On approval of the procedure for the use of assisted reproductive technologies in Ukraine» №787]. [in Ukrainian].
- [9] Tronko, M. D., Komisarenko, V. P., Antypkin, Y. G., Kaminskyi, V. V., Shupyk, P. L., & Tatarchuk, T. F. (2016) Natsionalnyi konsensus shchodo vedennia patsientiv iz hiperprolaktynemii (2016) [National consensus on the management of patients with hyperprolactinemia (2016)]. *Reproduktivna endokrynologiya*, 4(30), 8–18. [in Ukrainian].
- [10] Rykova, O. V. (2015) Sindrom polikistoznykh yaichnikov: sovremennye vozmozhnosti laboratornoj diagnostiki. Obzor rukovodstva po diagnostike i lecheniyu sindroma polikistoznykh yaichnikov [Polycystic ovary syndrome: current laboratory diagnostic capabilities. Review of guidelines for the diagnostics and treatment]. *Mezhdunarodnyj e'ndokrinologicheskij zhurnal*, 7(71), 69–75. [in Russian].
- [11] Sidel'nikova, V. M. (2005) *Privychnaya poterya beremennosti [Recurrent pregnancy loss]*. Moscow: Triad-X. [in Russian].
- [12] Kaur, R., & Gupta, K. (2016) Endocrine dysfunction and recurrent

Иммуногистохимические особенности экспрессии циклооксигеназы-2 при гиперплазии эндометрия без атипии

Н. Е. Горбань*^{B-D}, Т. Д. Задорожная^{A,C,F}, И. Б. Вовк^{A,C,E,F}, В. К. Кондратюк^{C,D,E},
С. Н. Килихевич^{B,C}

ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев

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

Гиперпластические процессы эндометрия без атипии долгое время являются актуальной проблемой во всем мире, учитывая современные позиции онконастороженности и нарушения репродуктивной функции.

Цель работы – иммуногистохимически изучить степени экспрессии нового биомаркера циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) при различных видах гиперплазии эндометрия без атипии в образцах измененной эндометриальной ткани 30 пациенток репродуктивного возраста (39,47 ± 1,10 года).

Материалы и методы. У 17 больных (56,7 %) определены проявления гиперплазии эндометрия в виде железистой формы, у 11 (36,7 %) – железисто-кистозной формы, по одному случаю (по 3,3 %) – в виде стромальной и кистозно-атрофической форм. Исследование проведено согласно стандартизированному протоколу фирмы-производителя первичных моноклональных антител ЦОГ-2 («Thermo scientific», кроличьи, рабочее разведение 1:50–1:100) с использованием системы визуализации UltraVision Quanto Detection System фирмы «Thermo scientific» в парафиновых срезах. Образцы доокрашивали метиленовым зеленым и фиксировали в канадский бальзам. Использованы методы обзорной светооптической микроскопии (Olympus BX 51, Япония). Отмечали локализацию окрашивания (железа/строма) и степень его выраженности по интенсивности окрашивания («0» – отсутствует; «1» – слабая; «2» – средняя; «3» – выраженная).

Результаты. Установлено наличие экспрессии ЦОГ-2 в стромальном компоненте образцов эндометриальной ткани большинства обследованных пациенток (в 24 случаях, 80,0 %), однако его уровни фиксировали только как слабоположительные. В железистых эндометриальных структурах при наличии гиперплазии эндометрия без атипии уровни экспрессии ЦОГ-2 отличались определенной вариабельностью и зависимостью от структурной локализации. Так, у 16 пациенток (66,7 %) установлена его слабоположительная экспрессия, у 7 обследованных (29,2 %) – средняя интенсивность окрашивания материала. В одном случае (4,1 %) определена выраженная экспрессия ЦОГ-2. В 6 образцах (20,0 %) экспрессия ЦОГ-2 в гиперплазированном эндометрии не установлена. Морфологические признаки хронического эндометрита отмечены в 9 исследованных образцах (30,0 %): лимфоплазмозитарная инфильтрация, нарушения псевдостратификации эпителия желез, лизис отдельных эпителиальных структур желез – и подтверждены иммуногистохимически (положительной экспрессией СД-138 в плазмозитах).

Выводы. Данные исследования могут служить одним из критериев дифференцированного подхода к выбору тактики лечения больных с гиперпролиферативной патологией эндометрия, в том числе в плане профилактики возможной злокачественной трансформации.

Ключевые слова:
гиперплазия эндометрия, циклооксигеназа-2, иммуногистохимия.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 491–498

DOI:
10.14739/2310-1210.
2019.4.173346

*E-mail:
ngorban@i.ua

Імуногістохімічні особливості експресії циклооксигенази-2 при гіперплазії ендометрія без атиpii

Н. Є. Горбань, Т. Д. Задорожна, І. Б. Вовк, В. К. Кондратюк, С. М. Кіліхевич

Тривалий час гіперпластичні процеси ендометрія без атиpii – актуальна проблема в усьому світі з огляду на сучасні позиції онконастороженості та порушення репродуктивної функції.

Мета роботи – імуногістохімічно вивчити ступені експресії нового біомаркера циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) при різних видах гіперплазії ендометрія без атиpii у зразках зміненої ендометриальної тканини 30 пацієток репродуктивного віку (39,47 ± 1,10 року).

Матеріали та методи. У 17 хворих (56,7 %) визначені прояви гіперплазії ендометрія як залозиста форма, в 11 (36,7 %) – залозисто-кістозна форма, по одному випадку (по 3,3 %) – як стромальна та кистозно-атрофічна форми. Дослідження виконали відповідно до стандартизованого протоколу фірми-виробника первинних моноклональних антитіл ЦОГ-2 («Thermo scientific», кролячі, робоче розведення 1:50–1:100), використовуючи систему візуалізації UltraVision Quanto Detection System фірми «Thermo scientific» у парафінових зрізах. Зразки дозabarвлювали метиленовим зеленим і фіксували в канадський бальзам. Використали методи оглядової світлооптичної мікроскопії (Olympus BX 51, Японія). Визначали локалізацію забарвлення (залоза/строма) та ступінь його вираженості за інтенсивністю забарвлення («0» – відсутня; «1» – слабка; «2» – середня; «3» – виражена).

Результати. Встановили наявність експресії ЦОГ-2 у стромальному компоненті зразків ендометриальної тканини більшості обстежених пацієток (у 24 випадках, 80,0 %), однак його рівні зафіксовані тільки як слабопозитивні. У залозистих ендометриальних структурах за наявності гіперплазії ендометрія без атиpii рівні експресії ЦОГ-2 відрізнялися певною варіабельністю та залежністю від структурної локалізації. Так, у 16 пацієток (66,7 %) виявлена його слабопозитивна експресія, в 7 обстежених

Ключові слова:
гіперплазія ендометрія, циклооксигеназа-2, імуногістохімія.

Запорожський медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 491–498

(29,2 %) – середня інтенсивність забарвлення матеріалу. В одному випадку (4,1 %) визначили виражену експресію ЦОГ-2. У 6 зразках (20,0 %) експресію ЦОГ-2 у гіперплазованому ендометрії не встановили. Морфологічні ознаки хронічного ендометриту визначили в 9 зразках (30,0 %): лімфоплазмозитарна інфільтрація, порушення псевдостратифікації епітелію залоз, лізис окремих епітеліальних структур залоз – і підтвердили імуногістохімічно (позитивною експресією CD-138 у плазмозитах).

Висновки. Результати дослідження можуть бути одним із критеріїв диференційованого підходу до вибору тактики лікування хворих із гіперпроліферативною патологією ендометрія, зокрема в аспекті профілактики можливої злоякісної трансформації.

Key words:
endometrial
hyperplasia,
cyclooxygenase-2,
immunohisto-
chemistry.

Zaporozhye
medical journal
2019; 21 (4), 491–498

Immunohistochemical features of cyclooxygenase-2 expression in endometrial hyperplasia without atypia

N. Ye. Horban, T. D. Zadorozhna, I. B. Vovk, V. K. Kondratiuk, S. M. Kilikeyevych

Hyperplastic processes of the endometrium without atypia have been an urgent problem for researchers around the world for a long time, given the current position of cancer alertness and violations of reproductive function.

Objective. To study immunohistochemically the expression level of the new biomarker – cyclooxygenase-2 (COX-2) in various types of endometrial hyperplasia without atypia in samples of altered endometrial tissue from 30 patients of reproductive age (39.47 ± 1.1 years).

Materials and methods. Endometrial hyperplasia manifested as glandular in 17 patients (56.7%), glandular-cystic – in 11 (36.7%), stromal and cystic-atrophic forms – in one case for each form (3.3 %). The study was carried out according to the standardized protocol of primary monoclonal antibodies COX-2 manufacturer (Thermo Scientific, rabbit, working dilution 1:50-1:100) using the visualization system “UltraVision Quanto Detection System” of the Thermo Scientific company in paraffin sections. Samples were stained with methylene green and mounted using Canadian balsam. In this work we used the methods of optical light microscopy (Olympus BX 51, Japan) and immunohistochemistry. Localization of staining (gland/stroma) and intensity score were determined by the stain intensity (0 – no staining, 1 – weak, 2 – moderate, 3 – strong).

Results. The presence of COX-2 expression in the stromal component of the endometrial tissue samples was found from the majority of the examined patients (in 24 cases, 80.0%), however, its levels were recorded only as weakly positive. In glandular endometrial structures, in the presence of endometrial hyperplasia without atypia, the levels of COX-2 expression were characterized by some variability and dependence on structural localization. Thus, in 16 patients (66.7 %) its weakly positive expression was revealed, in 7 examined persons (29.2 %) – moderately stained material. Intensive COX-2 expression was determined in one case (4.1%). COX-2 expression in the hyperplastic endometrium was not detected in 6 samples (20.0%). Morphological signs of chronic endometritis were revealed in 9 investigated samples (30.0 %) – lymphoplasmacytic infiltration, altered pseudostratification of glandular epithelium, lysis of individual epithelial gland structures which were confirmed immunohistochemically: positive expression of CD138 in plasma cells.

Conclusions. The study data can serve as one of the criteria for the differential approach to a choice of treatment tactics in patients with a hyperproliferative endometrial pathology including prevention of possible malignant transformation.

На протяжении многих лет актуальной остается проблема возникновения гиперпролиферативных процессов эндометрия как в аспекте нарушений репродукции, так и в связи с наличием онкологического потенциала [1]. Несмотря на использование прогрессивных технологий в диагностике гиперплазий и полипов эндометрия (ультразвуковое исследование органов малого таза, гистероскопия), известных «золотых стандартов» в верификации этих диагнозов (патогистологическое исследование, иммуногистохимия), важным аспектом остается поиск новых биологических маркеров, позволяющих производить анализ потенциала злокачественности, контролировать эффективность проводимого лечения и прогнозировать возникновение рецидивирования процесса.

Указанные аспекты обуславливают необходимость поиска инновационной технологии, сочетающей не только высокую чувствительность и специфичность, но и возможность широкого применения в практике: нами было принято решение в пользу важнейшего звена в возникновении и развитии воспалительной реакции циклооксигеназы (ЦОГ) – гемсодержащего фермента, связанного с клеточной мембраной, известного как простагландинэндопероксидсинтаза (соответственно классификации

«International Union of Biochemistry and Molecular Biology») и катализирующего реакцию превращения арахидоновой кислоты в простагландин H₂.

Цель работы

Имуногистохимически исследовать степени экспрессии ЦОГ-2 при различных видах гиперплазии эндометрия без атипии у женщин репродуктивного возраста.

Материалы и методы исследования

Имуногистохимически изучена степени экспрессии маркера ЦОГ-2 в образцах измененной эндометриальной ткани 30 пациенток репродуктивного возраста (39,47 ± 1,10 года) при различных видах гиперплазии без атипии (использована новая классификация гиперплазии эндометрия, предложенная ВОЗ в 2014 г., согласно которой гиперплазию разделяют на гиперплазию без атипии и гиперплазию с атипией). Исследование проведено согласно стандартизированному протоколу фирмы-производителя первичных моноклональных антител CD-138 («Thermo scientific», мышиные, рабочее разведение 1:10–1:20) и моноклональных антител ЦОГ-2 («Thermo scientific», кроличьи, рабочее разве-

дение 1:50–1:100) с использованием системы визуализации UltraVision Quanto Detection System фирмы «Thermo scientific» в парафиновых срезах. Образцы доокрашивали метиленовым зеленым и фиксировали в канадский бальзам. Использованы методы обзорной светооптической микроскопии (Olympus BX 51, Япония) и иммуногистохимии. Исследование проведено по стандартной методике на депарафинированных срезах. Отмечали локализацию окрашивания (железа/stroma). Полученный результат оценивали качественно по интенсивности окрашивания: «0» – отсутствует; «1» – слабая; «2» – средняя; «3» – выраженная. Математическую обработку данных проводили с использованием стандартных процедур с помощью Microsoft Excel.

Результаты

Гистологически у всех пациенток верифицирована гиперпластическая патология эндометриальной ткани

без наличия атипии (критерий включения), согласно последней классификации ВООЗ [2].

У 17 (56,7 %) больных определены проявления гиперплазии эндометрия в виде железистой формы без атипии; 11 (36,7 %) женщин имели заключение о железисто-кистозной форме гиперплазии эндометрия без атипии; по одному случаю (по 3,3 %) верифицированы стромальная и кистозно-атрофическая формы гиперплазии эндометрия без атипии соответственно.

При проведении исследования учитывали морфологические признаки хронического эндометрита, которые отмечали почти у трети пациенток – в 9 (30,0 %) образцах. Отмечены признаки лимфоплазмочитарной инфильтрации, нарушения псевдостратификации эпителия желез, лизиса отдельных эпителиальных структур желез (рис. 1–4), которые были подтверждены иммуногистохимически с помощью положительной экспрессии CD-138 в плазмочитах (рис. 5, 6).

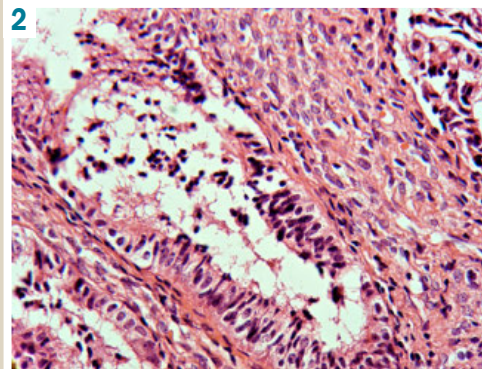
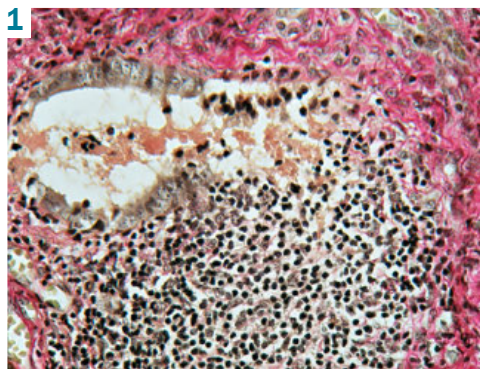


Рис. 1. Железистая гиперплазия эндометрия без атипии на фоне лимфоплазмочитарной инфильтрации. Окрашивание гематоксилин-эозином. Микрофотография. Ув. x200.

Рис. 2. Железистая гиперплазия эндометрия без атипии на фоне нарушения псевдостратификации и десквамации эпителия. Окрашивание гематоксилин-эозином. Микрофотография. Ув. x200.

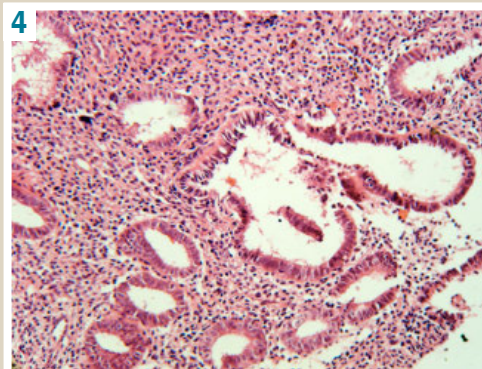
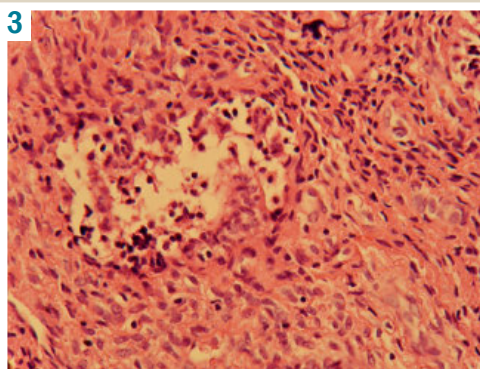


Рис. 3. Железистая гиперплазия эндометрия без атипии на фоне воспалительного процесса. Лизис структурных элементов эпителия желез. Окрашивание по ван Гизону. Микрофотография. Ув. x200.

Рис. 4. Участок железистой гиперплазии эндометрия без атипии с железисто-кистозными структурами на фоне воспалительного процесса. Окрашивание гематоксилин-эозином. Микрофотография. Ув. x100.

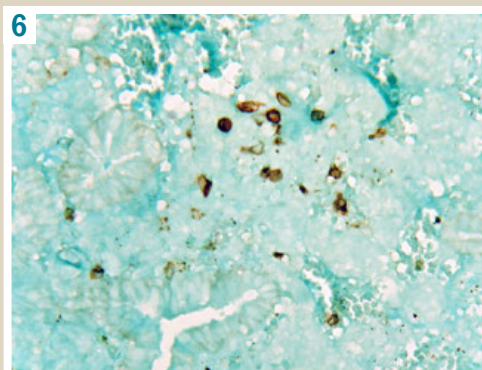
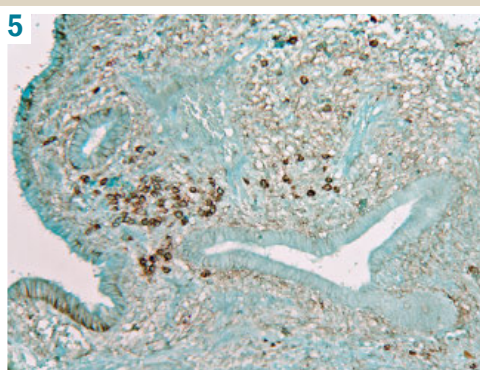


Рис. 5. Железисто-кистозная гиперплазия эндометрия без атипии на фоне воспалительного процесса. Положительная экспрессия CD-138 в плазматических клетках. Микрофотография. Ув. x100.

Рис. 6. Железистая гиперплазия эндометрия без атипии с очагом стромальной гиперплазии на фоне воспалительного процесса. Положительная экспрессия CD-138 в плазматических клетках. Микрофотография. Ув. x200.

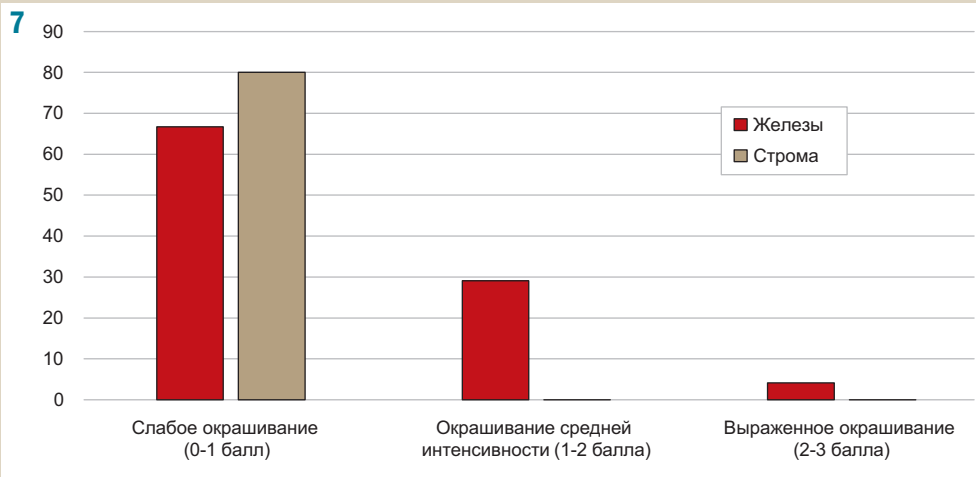


Рис. 7. Степень экспрессии ЦОГ-2 у пациенток репродуктивного возраста с гиперплазией эндометрия без атипии.

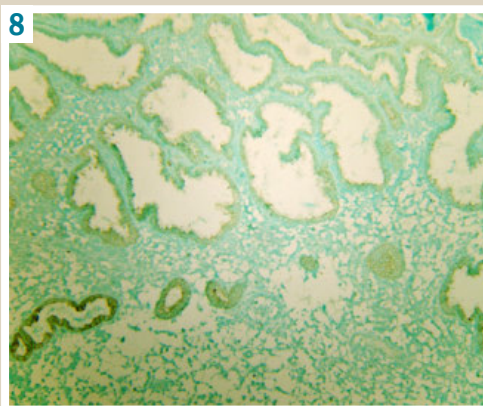


Рис. 8. Железистая гиперплазия эндометрия без атипии. Гетерогенная экспрессия ЦОГ-2 в строме (диффузно 0-1 балла) с микроочагом экспрессии ЦОГ-2 средней степени (2 балла). Микрофотография. Ув. x100.

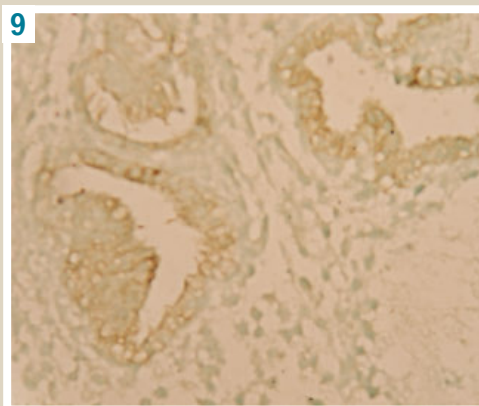


Рис. 9. Железисто-кистозная гиперплазия эндометрия без атипии. Слабо выраженная экспрессия ЦОГ-2 в строме (0-1 балл). Микрофотография. Ув. x200.

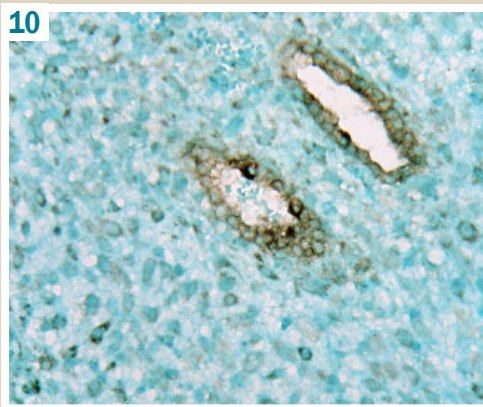


Рис. 10. Стромальная гиперплазия эндометрия без атипии. Очаги с единичными железами экспрессирования ЦОГ-2 (1-2 балла). Микрофотография. Ув. x200.

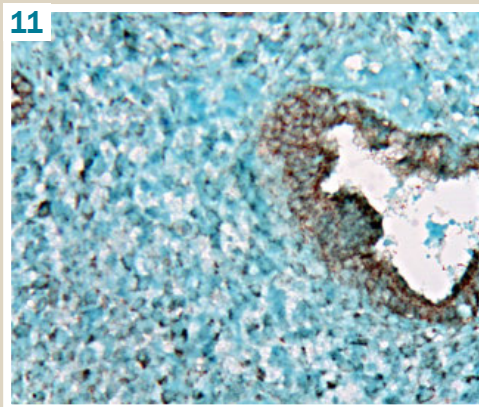


Рис. 11. Стромальная гиперплазия эндометрия без атипии. Экспрессия ЦОГ-2 в железе (1-2 балла). Микрофотография. Ув. x200.

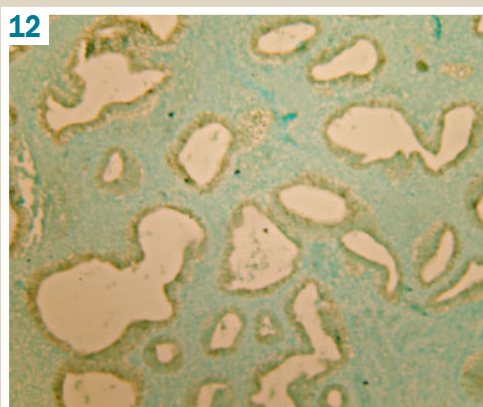


Рис. 12. Железисто-кистозная гиперплазия эндометрия без атипии. Экспрессия ЦОГ-2 в железе (1-2 балла). Микрофотография. Ув. x100.



Рис. 13. Очаг железистой гиперплазии эндометрия без атипии. Экспрессия ЦОГ-2 в железе (2 балла). Микрофотография. Ув. x100.

Анализ исследований экспрессии ЦОГ-2 показал экспрессию моноклональных антител в цитоплазме эпителия желез, а также стромы у большинства пациенток – в 24 (80 %) случаях, однако характеризовался определенной вариабельностью и зависимостью от структурной локализации (рис. 7).

Исходя из полученных результатов, в стромальном компоненте гиперплазированного эндометрия без атипии фиксировали только слабоположительные значения экспрессии ЦОГ-2 (0–1 балл), что может быть отражением его постоянного наличия в минимально значимой степени в измененной эндометриальной ткани у большинства таких пациенток (рис. 8, 9).

Что касается железистых эндометриальных структур, то спектр степеней интенсивности значений ЦОГ-2 в них был разнообразным: у 16 (66,7 %) пациенток его экспрессия определена как слабоположительная (рис. 10), у 7 (29,2 %) обследованных – средняя интенсивность окрашивания материала (рис. 11, 12), в одном случае (4,1 %) – выраженная экспрессия ЦОГ-2 (рис. 13).

У 6 (20,0 %) женщин экспрессия ЦОГ-2 в гиперплазированном эндометрии не обнаружена.

Обсуждение

Биологическая и прогностическая роль предопухолевой патологии, а именно ее пролиферативных форм, заключается в риске возникновения инвазивной карциномы, что требует более агрессивной лечебной стратегии (хирургического лечения или превентивной терапии). Это ставит на повестку дня вопрос о необходимости поиска молекулярно-биологических маркеров, обладающих предикторным и прогностическим значением для широкого круга пациенток с предопухолевыми заболеваниями [3].

Рак эндометрия в структуре женской онкологической заболеваемости занимает лидирующие позиции. За последнее десятилетие отмечен неуклонный рост этого заболевания, а также четко сформировавшаяся тенденция к омоложению патологического процесса. По данным современной научной литературы, проблему рака эндометрия для пациенток репродуктивного возраста нужно рассматривать в ином ключе – и с позиции этиологии и патогенеза, и с позиции лечения, реабилитации и профилактики [4–6].

В подавляющем проценте наблюдений рак эндометрия у молодых – это продолжение проблемы доброкачественной гиперпролиферативной патологии репродуктивной системы, в частности, ее несвоевременная диагностика и неадекватное лечение, без учета генетической и эпигенетической составляющих этиопатогенеза концепции гиперпролиферации и канцерогенеза репродуктивных органов [7].

При наличии детерминированных рисков гиперпролиферации на фоне хронического воспалительного процесса возникает локальное или системное снижение защитных механизмов, которое формирует среду для активации молекулярных провоспалительных факторов, стимуляции экспрессии матриксных металлопротеиназ и активации циклооксигеназы-2 – главного стимулятора синтеза простагландинов, которые, в свою очередь, стимулируют транскрипцию фактора роста эндотелия

Таблица 1. Сравнительная характеристика свойств ЦОГ-1 и ЦОГ-2

Циклооксигеназа-1	Циклооксигеназа-2
Непрерывный синтез в организме	В норме клетками не продуцируется
Не требует индукции для синтеза	Продукция стимулируется провоспалительными цитокинами и факторами роста
Может производиться почти всеми клетками организма	Вырабатывается только специфическими клетками
Концентрация ЦОГ-1 в организме стабильна	Начинает продуцироваться после стимуляции; концентрация нарастает вместе с активностью воспаления
Продуцирует простагландины для поддержания нормальных функций организма	Продуцирует простагландины, участвующие в реализации воспалительного ответа

сосудов и его рецепторов, активация у которых наблюдается при всех пролиферативных процессах, в том числе при неоангиогенезе. На этом фоне происходит искажение функционирования анти-апоптотических систем, что создает условия для неконтролируемого клеточного деления [8–10].

В организме человека существует 2 вида этого фермента. ЦОГ-1 является конститутивной – работает практически постоянно и выполняет физиологически важные функции биологического объекта. ЦОГ-2 – многогранна и индуцибельна, начинает функционировать при определенных ситуациях, например, при воспалительном процессе. ЦОГ-2 может быть применена как универсальный маркер воспалительного ответа организма наряду с обнаружением плазматических клеток или иных признаков воспаления. Иностранные авторы приводят убедительные данные об эффективном использовании этого фермента в ситуациях, где помимо результатов развития воспалительного процесса есть высокий онкологический потенциал клеток [11] (табл. 1).

В 2016 г. британские ученые установили, что ЦОГ-управляемая выработка простагландина-2 раковыми клетками стимулирует медиаторы воспалительного процесса в опухоли и способствует ее дальнейшему прогрессирующему росту. В то время, как специфическая раковая клетка, имеющая дефицит ЦОГ, изменяет воспалительный профиль на участке опухоли, увеличивая противоопухолевые медиаторы, позволяет запустить процесс иммунозависимого угнетения опухоли и может быть одним из ключевых моментов в перспективных подходах к комплексной терапии опухолевых процессов [12].

Что касается женской репродуктивной сферы, современные онкологи связывают ЦОГ-2 с воспалением и неопластической трансформацией высокодифференцированных клеток молочной железы, где его экспрессия ярко выражена и способствует развитию онкологического процесса [13].

В исследовании эстроген-позитивной линии опухолевых клеток аденокарциномы и инвазивной протоковой карциномы молочной железы идентифицирована связь ряда белков и уровней их экспрессии, ассоциированных с каскадом ЦОГ-2, биосинтезом и катаболизмом простагландина-2 с метастазированием рака молочной железы, что открывает новые молекулярные пути в терапии этого заболевания [14]. Подтверждением возможных стероид-ассоциированных связей изменений ЦОГ-2 в эндометрии также служит работа с культивированием стромальных клеток *in vitro*; обнаружено, что экспрессия ЦОГ-2 модулируется применением эстрадиола [15].

Если говорить о гиперпролиферативных заболеваниях матки, то недавнее американское исследование представило данные об общности генетического единства этиопатогенеза аденомиоза и эндометриоза, заключающееся в схожести аллельного полиморфизма в промоторном участке гена ЦОГ-2, что может быть диагностическим маркером в повышении риска развития этих заболеваний [16].

Обнаружено наличие экспрессии ЦОГ-2 в 72 % случаев эндометриозидных аденокарцином. Установлено, что единственным достоверным фактором, влияющим на снижение и безрецидивную выживаемость больных с эндометриозидной карциномой тела матки, является высокая экспрессия ЦОГ-2 в клетках опухоли [17], некоторые исследователи отметили корреляцию роста опухоли и степени ангиогенеза с наличием высокой степени экспрессии ЦОГ-2 и простагландинов в случаях аденокарциномы эндометрия [18].

Мы установили, что при наличии гиперплазии эндометрия без атипии у женщин репродуктивного возраста отмечается экспрессия ЦОГ-2 в 80 % случаев. Однако следует отметить ее вариабельность – в большинстве случаев – как очаговых проявлений клеточной экспрессии в единичных железах до средней степени экспрессии в незначительном количестве наблюдений. Повышенное содержание ЦОГ-2 в гиперплазированном эндометрии можно объяснить в первую очередь экспрессией цитокинов, которые могут инициировать синтез ЦОГ-2, а также влиянием эстрогенов через мРНК на образование ЦОГ-2 [19–21].

Ранняя манифестация неконтролируемого клеточного деления может проявляться в повышении экспрессии ЦОГ-2. Такие пациентки нуждаются в персонализированном обследовании в связи с возможным наличием гиперпролиферативных поражений в других органах-мишенях. Возможность оценки базисных основ индукции клеточного роста, особенно в условиях опухолевой трансформации клеток, – неотъемлемая часть грамотного подхода к управлению и мониторингованию клеточной активности, открывает новые перспективы в профилактике и лечении гиперпролиферативных процессов женской репродуктивной сферы.

Полученные результаты – подтверждение правильности функционального подхода в изучении гиперпластических процессов эндометрия, поскольку это позволяет перейти к патогенетически обоснованному пути в лечении и профилактике подобных изменений, направленных на нормализацию функционального и морфологического состояния эндометрия.

Выводы

1. У женщин репродуктивного возраста с гиперпластическими процессами эндометрия без атипии почти в трети (30,0 %) случаев гистологически отмечены признаки хронического эндометрита, что подтверждено иммуногистохимически позитивным CD-138 и является свидетельством участия воспалительного процесса в этиопатогенезе гиперпластических изменений.

2. Важным критерием гиперпластических изменений эндометриальной ткани без атипии является установление топографии экспрессии ЦОГ-2 – слабоположитель-

ная экспрессия (0–1 балл) в стромальном компоненте гиперплазированного эндометрия без атипии у 80 % пациенток. В железистых структурах гиперплазированного эндометрия без атипии отмечен весь спектр интенсивности значений ЦОГ-2: от слабовыраженной степени ее экспрессии (0–1 балл) у большинства пациенток – 66,7 %, средней интенсивности экспрессии – у 29,2 % больных до выраженной экспрессии ЦОГ-2 в одном случае (4,1 %).

3. Данные исследования по изучению молекулярных основ клеточного метаболизма, устанавливаемые иммуногистохимическим методом, могут служить достоверным критерием дифференцированного подхода к выбору тактики лечения больной и прогноза пролиферативной патологии эндометрия, требующего более тщательного наблюдения и активной тактики ведения случая при выраженной экспрессии ЦОГ-2 в эндометриальных клеточных структурах в плане профилактики возможной злокачественной трансформации.

Перспективы дальнейших научных исследований. Продолжаются исследования по сопоставлению гиперплазии эндометрия без атипии с гиперплазией эндометрия с проявлениями атипии для установления роли маркеров малигнизации.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Надійшла до редакції / Received: 13.06.2018

Після доопрацювання / Revised: 02.04.2019

Прийнято до друку / Accepted: 08.04.2019

Сведения об авторах:

Горбань Н. Е., канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения планирования семьи, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

ORCID ID: 0000-0001-8175-6579

Задорожная Т. Д., чл.-корр. НАМН Украины, профессор, д-р мед. наук, зав. лабораторией патоморфологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Вовк И. Б., д-р мед. наук, профессор, зав. отделением планирования семьи, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Кондратюк В. К., д-р мед. наук, главный научный сотрудник отделения планирования семьи, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Килихевич С. Н., канд. мед. наук, научный сотрудник лаборатории патоморфологии, ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е. М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев.

Відомості про авторів:

Горбань Н. Є., канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділення планування сім'ї, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

Задорожна Т. Д., чл.-кор. НАМН України, професор, д-р мед. наук, зав. лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

Вовк І. Б., д-р мед. наук, професор, зав. відділення планування сім'ї, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

Кондратюк В. К., д-р мед. наук, головний науковий співробітник відділення планування сім'ї ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

Киличевич С. М., канд. мед. наук, науковий співробітник лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О. М. Лук'янової НАМН України», м. Київ.

Information about authors:

Horban N. Ye., MD, PhD, Senior researcher of the Family Planning Department, SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, named after academician O. M. Lukianova of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine.

Zadorozhna T. D., MD, PhD, DSc, Corresponding member of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Professor, Head of the Laboratory of Pathomorphology, SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. M. Lukianova of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine.

Vovk I. B., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Family Planning Department, SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, named after academician O. M. Lukianova of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine.

Kondratiuk V. K., MD, PhD, DSc, Chief researcher of the Family Planning Department, SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, named after academician O. M. Lukianova of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine.

Kilichevych S. M., MD, PhD, Researcher of the Laboratory of Pathomorphology, SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, named after academician O. M. Lukianova of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, Ukraine.

Список литературы

- [1] Endometrial intraepithelial neoplasia. Committee Opinion / American College of Obstetricians and Gynecologists. *ACOG*. 2015. №631. 1272–1278.
- [2] New WHO Classification of Endometrial Hyperplasias / G. Emons, M. W. Beckmann, D. Schmidt, et al. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2015. Vol. 75. Issue 2. P. 135–136. doi: 10.1055/s-0034-1396256
- [3] Высокая И. В., Летягин В. П., Погодина Е. М. Молекулярные особенности предопухоловой патологии молочных желез. *Современная онкология*. 2017. Т. 19. №1. С. 5–8.
- [4] Moore K., Brewer M. A. Endometrial Cancer: Is This a New Disease? *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2017. Vol. 37. P. 435–442.
- [5] Suri V., Arora A. Management of Endometrial Cancer: A Review. *Reviews on Recent Clinical Trials*. 2015. Vol. 10. Issue 4. P. 309–16.
- [6] Janda M., McGrath S., Obermair A. Challenges and controversies in the conservative management of uterine and ovarian cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018. Vol. 55. 93–108. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2018.08.004
- [7] The role of biomarkers in endometrial cancer and hyperplasia: a literature review / S. Hutt, A. Taylor, P. Ellis et al. *Acta Oncol*. 2019. Vol. 58. Issue 3. P. 342–352. doi: 10.1080/0284186X.2018.1540886
- [8] Sunita B. S., Sen A., Suhag V. To evaluate immunoreactivity of cyclooxygenase-2 in cases of endometrial carcinoma and correlate it with expression of p53 and vascular endothelial growth factor. *J Cancer Res Ther*. 2018. Vol. 14. Issue 6. P. 1366–1372. doi: 10.4103/0973-1482.202890
- [9] MicroRNA-101 inhibits angiogenesis via COX-2 in endometrial carcinoma / Y. Liu, H. Li, C. Zhao, et al. *Mol Cell Biochem*. 2018. Vol. 448(1–2). P. 61–69. doi: 10.1007/s11010-018-3313-0
- [10] Clinical significance of COX-2, GLUT-1 and VEGF expressions in endometrial cancer tissues / X. Ma, Y. Hui, L. Lin et al. *Pak J Med Sci*. 2015. Vol. 31. Issue 2. P. 280–284. doi: 10.12669/pjms.312.6604
- [11] Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents / R. G. Kurumbail, A. M. Stevens, J. K. Gierse, et al. *Nature*. 1996. Vol. 384. Issue 6610. P. 644–648. doi: 10.1038/384644a0
- [12] Zelenay S., Reis E., Sousa C. Reducing prostaglandin E2 production to raise cancer immunogenicity. *Oncoimmunology*. 2016. Vol. 5. Issue 5. e1123370. doi: 10.1080/2162402X.2015.1123370
- [13] Cebola I., Peinado M. A. Epigenetic deregulation of the COX pathway in cancer. *Prog Lipid Res*. 2012. Vol. 51. Issue 4. P. 301–13. doi: 10.1016/j.plipres.2012.02.00
- [14] Анализ белков, ассоциированных с экспрессией циклооксигеназы-2 и биосинтезом PGE2 в клетках рака молочной железы с разным

метастатическим потенциалом / В. Е. Шевченко, М. А. Таипов, С. В. Ковалев и др. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2012. Т. 3–4. С. 19–28.

- [15] Expression of COX-1 and COX-2 in the endometrium of cyclic, pregnant and in a model of pseudopregnant rats and their regulation by sex steroids / I. St-Louis, M. Singh, K. Brasseur, et al. *Reprod Biol Endocrinol*. 2010. Vol. 8. P. 103. doi: 10.1186/1477-7827-8-103
- [16] Wang Y., Qu Y., Song W. Genetic variation in COX-2 -1195 and the risk of endometriosis and adenomyosis. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2015. Vol. 42. Issue 2. P. 168–72.
- [17] Иммуногистохимические маркеры в качестве прогностических критериев в онкогинекологии / К. М. Пожарийский, В. Л. Винокуров, Г. М. Жаринов и др. *Вопросы онкологии*. 2008. Т. 54. №4. С. 463–469.
- [18] Inflammatory events in endometrial adenocarcinoma / A. E. Wallace, D. A. Gibson, P. T. Saunders, et al. *J Endocrinol*. 2010. Vol. 206. Issue 2. P. 141–57. doi: 10.1677/JOE-10-0072
- [19] Increased expression of cyclooxygenase-2 in local lesions of endometriosis patients / F. Chishima, S. Hayakawa, K. Sugita et al. *Am. Journ. of reproductive immunology*. 2002. Vol. 48. Issue 1. P. 50–6.
- [20] Станоевич И. Влияние селективного ингибитора циклооксигеназы-2 целекоксиба на результативность гормональной терапии больных с гиперплазией эндометрия. *Врач*. 2009. №4. С. 47–49.
- [21] Estrogen and progesterone receptors and cyclooxygenase 2 expression in endometrial cancer, endometrial hyperplasia, and normal endometrium / F. J. Orejuela, L. M. Ramondetta, J. Smith. *Gynecol Oncol*. 2005. Vol. 97. Issue 2. P. 483–8. doi: 10.1016/j.ygyno.2005.02.010

References

- [1] American College of Obstetricians and Gynecologists (2015) Endometrial intraepithelial neoplasia. Committee Opinion. *ACOG*, 631, 1272–1278.
- [2] Emons, G., Beckmann, M. W., Schmidt D., & Mallmann, P. (2015) New WHO Classification of Endometrial Hyperplasias. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 75(2), 135–136. doi: 10.1055/s-0034-1396256
- [3] Vysotskaya, I. V., Letyagin, V. P., & Pogodina, E. M. (2017). Молекулярные особенности предопухоловой патологии молочных желез [Molecular characteristics of premalignant breast lesions]. *Sovremennaya Onkologiya*, 19(1), 5–8. [in Russian].
- [4] Moore, K., & Brewer, M. A. (2017). Endometrial Cancer: Is This a New Disease? *Am Soc Clin Oncol Educ Book*, 37, 435–442. doi: 10.14694/EDBK_175666
- [5] Suri, V., & Arora, A. (2015). Management of Endometrial Cancer: A Review. *Reviews on Recent Clinical Trials*, 10(4), 309–16. doi: 10.2174/1574887110666150923115228
- [6] Janda, M., McGrath, S., & Obermair, A. (2018). Challenges and controversies in the conservative management of uterine and ovarian cancer. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 55, 93–108. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2018.08.004
- [7] Hutt, S., Taylor, A., Ellis, P., Michael, A., Butler-Manuel, S., & Chatterjee, J. (2019). The role of biomarkers in endometrial cancer and hyperplasia: a literature review. *Acta Oncol*, 58(3), 342–352. doi: 10.1080/0284186X.2018.1540886
- [8] Sunita, B. S., Sen, A., & Suhag, V. (2018). To evaluate immunoreactivity of cyclooxygenase-2 in cases of endometrial carcinoma and correlate it with expression of p53 and vascular endothelial growth factor. *J Cancer Res Ther*, 14(6), 1366–1372. doi: 10.4103/0973-1482.202890
- [9] Liu, Y., Li, H., Zhao, C., & Jia, H. (2018). MicroRNA-101 inhibits angiogenesis via COX-2 in endometrial carcinoma. *Mol Cell Biochem*, 448(1–2), 61–69. doi: 10.1007/s11010-018-3313-0
- [10] Ma, X., Hui, Y., Lin, L., Wu, Y., Zhang, X., & Liu, P. (2015). Clinical significance of COX-2, GLUT-1 and VEGF expressions in endometrial cancer tissues. *Pak J Med Sci*, 31(2), 280–284. doi: 10.12669/pjms.312.6604
- [11] Kurumbail, R. G., Stevens, A. M., Gierse, J. K., McDonald, J. J., Stegeman, R. A., Pak, J. Y., et al. (1996). Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. *Nature*, 384(6610), 644–648. doi: 10.1038/384644a0
- [12] Zelenay, S., Reis, E., & Sousa, C. (2016). Reducing prostaglandin E2 production to raise cancer immunogenicity. *Oncoimmunology*, 5(5), e1123370. doi: 10.1080/2162402X.2015.1123370
- [13] Cebola, I., & Peinado, M. A. (2012). Epigenetic deregulation of the COX pathway in cancer. *Prog Lipid Res*, 51(4), 301–13. doi: 10.1016/j.plipres.2012.02.00
- [14] Шевченко, В. Е., Таипов, М. А., Ковалев, С. В., Арноцкая, Н. Е., Павлова, О. М., Кудрявцев, И. А., & Никифорова, З. Н. (2012). Анализ белков, ассоциированных с экспрессией циклооксигеназы-2 и биосинтезом PGE2 в клетках рака молочной железы с разным метастатическим потенциалом [Analysis of proteins associated with the expression of cyclooxygenase-2 and the biosynthesis of PGE2 in breast cancer cells with different metastatic potential]. *Опухоли женской репродуктивной системы*, 3–4, 19–28 [in Russian].

- [15] St-Louis, I., Singh, M., Brasseur, K., Leblanc, V., Parent, S., & Asselin, E. (2010). Expression of COX-1 and COX-2 in the endometrium of cyclic, pregnant and in a model of pseudopregnant rats and their regulation by sex steroids. *Reprod Biol Endocrinol*, 8, 103. doi: 10.1186/1477-7827-8-103
- [16] Wang, Y., Qu, Y., & Song, W. (2015). Genetic variation in COX-2-1195 and the risk of endometriosis and adenomyosis. *Clin Exp Obstet Gynecol.*, 42(2), 168–172.
- [17] Pozharisski, K. M., Vinokurov, V. L., Zharinov, G. M., Boldaryan, N. A., Kuznetsova, M. Ye., Gasparyan, N. A., & Samsonova, Ye. A. (2008). Immunogistokhimicheskie markery v kachestve prognosticheskikh kriteriev v onkoginekologii [Immunohistochemical markers as prognosticators in oncogynecology]. *Voprosy onkologii*, 54(4), 463–469. [in Russian].
- [18] Wallace, A. E., Gibson, D. A., Saunders, P. T., & Jabbour, H. N. (2010). Inflammatory events in endometrial adenocarcinoma. *J Endocrinol*, 206(2), 141–157. doi: 10.1677/JOE-10-0072
- [19] Chishima, F., Hayakawa, S., Sugita, K., Kinukawa, N., Aleemuzaman, S., Nemoto, N. et al. (2002). Increased expression of cyclooxygenase-2 in local lesions of endometriosis patients. *Am. Journ. of reproductive immunology*, 48(1), 50–56.
- [20] Stanoevich, I. (2009) Vliyaniye selektivnogo inhibitora ciklooksigenazy-2 celekoksiba na rezul'tativnost' gormonal'noy terapii bol'nykh s giperplaziej e'ndometriya [Effect of the selective cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib on the effectiveness of normal therapy in patients with endometrial hyperplasia]. *Vrach*, 4, 47–49. [in Russian].
- [21] Orejuela, F. J., Ramondetta, L. M., Smith, J., Brown, J., Lemos, L. B., Li, Y., & Hollier, L. M. (2005). Estrogen and progesterone receptors and cyclooxygenase 2 expression in endometrial cancer, endometrial hyperplasia, and normal endometrium. *Gynecol Oncol.*, 97(2), 483–488. doi: 10.1016/j.ygyno.2005.02.010

Dynamics of endothelial dysfunction indices before and after operation in patients with varicose disease of the lower extremities

D. Yu. Riazanov*^{A-F}, O. V. Mamunchak^{A-D}

SI "Zaporizhzhia Medical Academy of Postgraduate Education, MOH of Ukraine"

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

The aim of the study is to examine the correlation between the endothelial dysfunction indices and the clinical class of the disease before and after the operation in patients with varicose disease of the lower extremities.

Materials and methods. In total, 69 patients with varicose disease of the lower extremities were examined, with preoperative and long-term postoperative measurements of homocysteine, nitrotyrosine and eNOS by the immunoassay analysis.

Results. The results of dynamic changes in endothelial dysfunction indices in 69 patients with varicose disease of the lower extremities, examined before and after an operation, were analyzed. A significant correlation between the mean values of homocysteine, nitrotyrosine and eNOS with the clinical class of lower extremity varicose vein disease (LEVVD) has been determined.

Conclusions. A significant decrease in the indices of homocysteine, nitrotyrosine and increased eNOS was observed long term following operation compared to the initial values before it. It has been established that the homocysteine values were relatively stronger correlated with the patient's age than with the LEVVD clinical class, and nitrotyrosine and eNOS were relatively higher correlated with the LEVVD class than with the patients' age.

Key words:

lower extremity, varicose vein, endothelium vascular.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (4), 499–503

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.4.173349

*E-mail: riazanovzm@gmail.com

Динаміка показників ендотеліальної дисфункції до та після операції у хворих на варикозну хворобу нижніх кінцівок

Д. Ю. Рязанов, О. В. Мамунчак

Мета роботи – вивчити у хворих на варикозну хворобу нижніх кінцівок (ВХНК) взаємозв'язок показників ендотеліальної дисфункції з клінічним класом захворювання до та після операції.

Матеріали та методи. Обстежили 69 пацієнтів із варикозною хворобою нижніх кінцівок.

Методом імуноферментного аналізу визначили рівні гомоцистеїну, нітротирозину та eNOS до та у віддалені терміни після операції.

Результати. Вивчили динамічні зміни показників ендотеліальної дисфункції у хворих на варикозну хворобу нижніх кінцівок, яких обстежили до та після операції. Виявили вірогідний взаємозв'язок середніх значень показників гомоцистеїну, нітротирозину та eNOS із клінічним класом ВХНК.

Висновки. Встановили вірогідне зниження показників гомоцистеїну та нітротирозину, підвищення eNOS у віддалені терміни після операції порівняно з вихідними значеннями. Значення гомоцистеїну відносно вище корелює з віком пацієнта, ніж із клінічним класом ВХНК, а нітротирозину та eNOS – відносно вище корелюють із класом ВХНК, ніж із віком пацієнтів.

Ключові слова:

нижні кінцівки, варикозна хвороба, ендотелій судинний.

Запорізький медичний журнал – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 499–503

Динамика показателей эндотелиальной дисфункции до и после операции у больных варикозной болезнью нижних конечностей

Д. Ю. Рязанов, О. В. Мамунчак

Цель работы – изучить у больных варикозной болезнью нижних конечностей (ВБНК) взаимосвязь показателей эндотелиальной дисфункции с клиническим классом заболевания до и после операции.

Материалы и методы. Обследовали 69 больных варикозной болезнью нижних конечностей.

Методом иммуноферментного анализа определяли уровни гомоцистеина, нитротирозина и eNOS до и в отдаленные сроки после операции.

Результаты. Изучили динамические изменения показателей эндотелиальной дисфункции у 69 больных варикозной болезнью нижних конечностей, обследованных до и после операции. Определена достоверная взаимосвязь средних значений показателей гомоцистеина, нитротирозина и eNOS с клиническим классом ВБНК.

Выводы. Отмечено достоверное снижение показателей гомоцистеина и нитротирозина и повышение eNOS в отдаленные сроки после операции в сравнении с исходными значениями. Установлено, что значения гомоцистеина относительно выше коррелируют с возрастом пациента, чем с клиническим классом ВБНК, а нитротирозина и eNOS – относительно выше коррелируют с классом ВБНК, чем с возрастом пациентов.

Ключевые слова:

нижние конечности, варикозная болезнь, эндотелий сосудистый.

Запорожский медицинский журнал – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 499–503

A modern study of the venous system pathology has permitted to reconsider a number of provisions concerning aetiology and pathogenesis that may directly affect the diagnosis and therapeutic tactics and, in particular, the concept of endothelial dysfunction (ED) in patients with lower extremity varicose vein disease). In particular, the role of ED as a link of LEVVD pathogenesis has not yet been properly defined [1].

It is known that endothelial cells synthesize and secrete biologically active substances that are vasoconstrictors, vasodilators, involved in the processes of inflammation, thrombosis, proliferation and the vascular wall remodeling. ED is defined as an imbalance between relaxing and constrictive factors, between anti- and procoagulant mediators or growth factors and their inhibitors [2].

The method of assessing the ED severity is evaluation of these substances or endothelium-damaging factors blood content, levels of which are correlated with ED. [3].

Accurate mechanisms of ED development in chronic venous insufficiency of the lower extremities remain understudied and venous hypertension, stasis, ischemia / hypoxia of tissues and vascular walls, free radical damage, cytokine action, hyperhomocysteinemia, endogenous and exogenous intoxication are of key importance [4–6].

Of note, nitric oxide (NO) plays a key role in the mechanisms of ED. A decrease in NO concentration leads to vasoconstriction in veins, stimulation of platelet aggregation, platelet and leukocyte adhesion. [7]

NO is a product of the NO synthases (NOS), which convert L-arginine to NO and L-citrulline. In terms of effects on vascular venous dysfunction, the most important one is endothelial nitric oxide synthase (eNOS), which is an enzyme of endothelial cells and cardiomyocytes. Therefore, the role of eNOS is decisive in the pathophysiological effects of NO on the vascular bed, including the venous one [8,9].

One more significant biological marker of oxidative stress is 3-nitrotyrosine, which is identified as a marker of inflammation and NO production. Assessment of its plasma concentration is a marker of NO-dependent affections in vivo [10–12].

Possible pathogenetic mechanisms of the homocysteine influence on the vascular wall, including the venous one, are under discussion: disorder of the endothelium dependent vasodilatation, oxidative stress, contributing to proteins and lipids peroxidation due to increased superoxide dismutase production, as well as to the increased thrombogenesis and coagulation. It is generally recognized that homocysteine is an atherogenic factor that plays an important role in the early stages of atherogenesis: inhibition of endothelial cell growth, prooxidative effects, mitogenic effects on smooth muscle cells, stimulation of proteins accumulation and collagen biosynthesis.

The result of these processes is the development of ED, and then structural and geometric changes in the vascular wall [13]. However, the effect of homocysteine on the venous wall endothelium functional change in LEVVD is understudied.

These substances are involved in the biochemical processes occurring in the venous endothelium, and can be the trigger point of damage, resulting in endothelial and leukocyte activation, which is the starting point of venous inflammation. Repetitive episodes of inflammation in the en-

dothelium lead to chronic recurrent injury in the venous wall, which in its turn leads to the vein wall remodeling [14, 15].

The purpose

The purpose of the study is to examine the correlation between the endothelial dysfunction indices and the clinical class of the disease before and after the operation in patients with varicose disease of the lower extremities.

Material and methods

A total of 69 patients were examined. They were divided into three clinical groups:

- 1) 23 patients with C3 clinical class of the disease;
- 2) 23 patients with C4 clinical class of the disease;
- 3) 23 patients with C5–C6 clinical class of the disease.

Criteria for inclusion in the study: patients with primary LEVVD of C3–C6 clinical classes classified by CEAP, non-operated previously.

Exclusion criteria of the study: patients with primary LEVVD of C0–C2 clinical classes according to CEAP classification; patients with congenital, secondary or unidentified LEVVD etiology; previously operated patients.

Additionally, 15 clinically healthy persons were examined.

Examination of healthy persons and patients with LEVVD included preoperative and long-term postoperative measurements of homocysteine, nitrotyrosine and eNOS, by sandwich enzyme immunoassay technology following the manufacturer's instructions, using standard test systems and photometer "Sunrise TS" (Tecan, Austria) at the Department of Laboratory Diagnostics and General Pathology of SI "Zaporizhzhia Medical Academy of Postgraduate Education of the Ministry of Health of Ukraine".

For measuring these markers, blood plasma sampling was performed in patients using the following procedure: 1 ml of sodium citrate was collected into the test tube, added with 9 ml of whole blood on the wall of the test tube. Then it was shaken and mixed. The blood was centrifuged (no later than 30 minutes after the collection) at 3.000 rpm for 15 minutes. Plasma was drawn into two 1.5 ml eppendorf tubes and stored in a freezer at -20 °C.

Commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) system kit (Axis-Shield, Norway) was used to determine the total serum homocysteine concentration; nitrotyrosine was measured by ELISA using a kit "Hbt nitrotyrosine" (HyCult Biotechnology, Netherlands) and levels of eNOS – an ELISA Kit for Nitric Oxide Synthase 3 Endothelial (NOS3) (Cloud-Clone Corp., USA).

Statistical data processing was performed taking into account the principles of evidence-based medicine. The database was compiled by means of the Excel software, according to the original documentation with patients' medical records. Statistical calculations were performed using the Statgraphics Plus for Windows 7.0 software package for data statistical analysis.

To describe the selective normal distribution of quantitative characteristics, the mean values and the standard errors of the mean as $M \pm m$ were calculated.

Consistency of the values characterized by the normal distribution was verified. The results were considered sta-

Table 1. Results of endothelial dysfunction indices determination before surgery depending on the LEVVD clinical class

ED indices, units	Clinical group			
	Healthy individuals, n = 15	C3, n = 23	C4, n = 23	C5–C6, n = 23
Homocysteine, mmol/l	8.01 ± 0.28 ^{****}	21.28 ± 2.36 ^{vvv}	27.97 ± 1.90 ^{vvv}	36.47 ± 3.21
Nitrotyrosine, pg/ml	13.71 ± 0.82 ^{****}	34.07 ± 3.29 ^{vvv}	49.03 ± 2.43 ^{vvv}	80.85 ± 10.5
eNOS, ng/ml	96.4 ± 0.81 ^{****}	63.07 ± 7.04 ^{vvv}	41.51 ± 2.34 ^{vvv}	33.46 ± 2.91

*: the difference is statistically significant between the healthy individuals and the C3 clinical group patients, $P < 0.05$; **: the difference is statistically significant between the healthy individuals and the C4 clinical group patients, $P < 0.05$; ***: the difference is statistically significant between the healthy individuals and the C5–C6 clinical group patients, $P < 0.05$; †: the difference is statistically significant between the patients of the clinical groups C3 and C4, $P < 0.05$; ††: the difference is statistically significant between the patients of the clinical groups C3 and C5–C6, $P < 0.05$; †††: the difference is statistically significant between the patients of the clinical groups C4 and C5–C6, $P < 0.05$.

Table 2. Results of endothelial dysfunction indices determination in the long-term after the operation depending on the clinical class of LEVVD

ED indices, units	Clinical group			
	Healthy individuals, n=15	C3, n = 23	C4, n = 23	C5–C6, n = 23
Homocysteine, mmol/l	8.01 ± 0.28 ^{****}	15.24 ± 0.98 ^{vvv}	11.16 ± 1.21	10.01 ± 0.56
Nitrotyrosine, pg/ml	13.71 ± 0.82 ^{****}	28.56 ± 1.08 ^{vvv}	24.30 ± 0.71 ^{vvv}	18.30 ± 1.12
eNOS, ng/ml	96.4 ± 0.81 ^{****}	68.66 ± 1.23 ^{vvv}	79.14 ± 1.69 ^{vvv}	84.39 ± 0.92

*: the difference is statistically significant between the healthy individuals and the C3 clinical group patients, $P < 0.05$; **: the difference is statistically significant between the healthy individuals and the C4 clinical group patients, $P < 0.05$; ***: the difference is statistically significant between the healthy individuals and the C5–C6 clinical group patients, $P < 0.05$; †: the difference is statistically significant between the patients of the clinical groups C3 and C4, $P < 0.05$; ††: the difference is statistically significant between the patients of the clinical groups C3 and C5–C6, $P < 0.05$; †††: the difference is statistically significant between the patients of the clinical groups C4 and C5–C6, $P < 0.05$.

tistically significant, if the probability level of the test was lower than the predetermined significance level $P < 0.05$.

Data comparison for quantitative values was performed with the help of the lognormal approximation to a normal distribution (two-tailed T-student test) for small samples.

Results

The obtained results are presented in *Tables 1, 2*.

As it follows from *Table 1*, all the studied ED indices significantly differed between groups of healthy persons and LEVVD patients. It was found that the mean values of homocysteine in patients with class C3 of the disease were significantly higher as compared to those in healthy persons by 2.7 times ($t = 4.5$; $P < 0.05$), to patients with class C4 – by 3.5 times ($t = 8.4$; $P < 0.05$) and with class C5–C6 – by 4.6 times ($t = 7.1$; $P < 0.05$).

A similar dynamics of changes was observed when comparing the mean values of nitrotyrosine: its value was higher by 2.5 times ($t = 4.9$; $P < 0.05$) in patients with class C3, by 3.6 times ($t = 8.5$; $P < 0.05$) in patients with class C4 and 5.9 times ($t = 5.1$; $P < 0.05$) in patients with class C5–C6 than in healthy individuals. The mean eNOS values also significantly differed between the patients and the healthy individuals, but had the opposite correlation nature: values were higher in healthy persons than in patients with C3 by 1.5 times ($t = 3.8$; $P < 0.05$), with C4 – by 2.3 ($t = 18.4$; $P < 0.05$) and with C5–C6 – by 2.9 times ($t = 17.1$; $P < 0.05$).

A comparative analysis of mean values between groups of patients with different LEVVD classes also revealed significant differences differed reliably. Thus, the mean values of homocysteine between groups of patients with class C3 and C4 ($t = 2.2$; $P < 0.05$), as well as C3 and C5–C6 ($t = 3.8$; $P < 0.05$) significantly differed from the mean values of nitrotyrosine: C3 and C4 ($t = 3.6$; $P < 0.05$), as well as C3 and C5–C6 ($t = 4.2$; $P < 0.05$). The mean values of eNOS between groups of patients with class C3 and C4 ($t = 2.9$; $P < 0.05$), as well as C3 and C5–C6 ($t = 3.9$; $P < 0.05$) also differed significantly, but had opposite dynamics of changes. The difference between the groups of patients with class C4

and C5–C6 was: for homocysteine – $t = 2.3$; $P < 0.05$; for nitrotyrosine – $t = 2.9$; $P < 0.05$; for eNOS – $t = 2.2$; $P < 0.05$.

Consequently, the higher LEVVD clinical class was the higher mean values of homocysteine and nitrotyrosine and lower mean value of eNOS were.

In order to establish the nature and strength of the correlation between LEVVD clinical class, the age of patients and the studied substances concentrations, the correlation analysis was performed. It was found that there was a positive moderate correlation between the class of LEVVD and homocysteine ($r = 0.468$; $P < 0.05$) and nitrotyrosine ($r = 0.593$; $P < 0.05$), and a moderate negative correlation with eNOS ($r = -0.582$; $P < 0.05$).

The same correlation pattern was found for the factors of age and homocysteine ($r = 0.600$; $P < 0.05$), nitrotyrosine ($r = 0.511$; $P < 0.05$) and eNOS ($r = -0.329$; $P < 0.05$). Moreover, the stronger correlation was revealed for the studied values of “age – homocysteine” if compared to “LEVVD class – homocysteine” and the weaker correlation – for the values “age – nitrotyrosine” and “age – eNOS”, if compared to the values “LEVVD class – nitrotyrosine” and “LEVVD class – eNOS”, respectively.

After 12 months, the operated patients were re-examined (*Table 2*).

The analysis of the results showed that in the long term after the operation, the absolute values of homocysteine were reduced in 23 (100 %) of patients, nitrotyrosine – in 16 (69.5 %) and an increase in eNOS was noted in 21 (91.3 %) of the examined patient.

As shown in *table 2*, all the studied ED indices significantly differed between the groups of healthy persons and LEVVD patients. It was found that the mean values of homocysteine in patients with class C3 were significantly higher than those in healthy persons ($t = 5.8$; $P < 0.05$), as well as in patients with C4 ($t = 2.1$; $P < 0.05$) and C5–C6 classes ($t = 2.7$; $P < 0.05$). A similar dynamics of changes was observed when comparing the mean values of nitrotyrosine between healthy individuals and patients with C3 class ($t = 9.9$; $P < 0.05$) as well as between C4 ($t = 9.6$; $P < 0.05$) and C5–C6 classes ($t = 2.9$; $P < 0.05$). eNOS mean

values also significantly differed between the patients and the healthy persons, but had the opposite correlation: in patients with C3 ($t = 16.7$; $P < 0.05$), C4 ($t = 7.8$; $P < 0.05$) and C5–C6 ($t = 9.1$; $P < 0.05$).

A comparative analysis of the mean values between groups of patients with different LEVVD classes also demonstrated significant differences. Thus, the mean values of homocysteine between the groups of patients with classes C3 and C4 ($t = 2.6$; $P < 0.05$), as well as C3 and C5–C6 ($t = 4.6$; $P < 0.05$) significantly differed from the mean values of nitrotyrosine: C3 and C4 ($t = 3.3$; $P < 0.05$), as well as C3 and C5–C6 ($t = 6.5$; $P < 0.05$). The mean values of eNOS between the groups of patients with classes C3 and C4 ($t = 5.0$; $P < 0.05$), as well as C3 and C5–C6 ($t = 10.2$; $P < 0.05$) also differed significantly, but with opposite dynamics of changes. The difference between the groups of patients with classes C4 and C5–C6 was: for homocysteine – $t = 0.8$; $P > 0.05$, for nitrotyrosine – $t = 4.5$; $P < 0.05$, for eNOS – $t = 2.7$; $P < 0.05$.

Discussion

Consequently, in the long term after surgery, the higher the initial class of the disease was, the significantly lower mean values of homocysteine and nitrotyrosin were, while the mean eNOS values were higher.

Thus, in patients with LEVVD before surgery, there was the significant increase in the mean values of homocysteine and nitrotyrosine, as well as the reduction in eNOS with an increase in the clinical class of the disease. In the long term after the operation, an opposite correlation was noted: the decrease in the mean values of homocysteine and nitrotyrosine, and the increase in eNOS with the initial class of the disease increasing.

A comparative analysis of the changes dynamics of the studied ED indices before and after the operation, depending on the respective clinical class, showed a significant decrease in the mean values of homocysteine (for class C3, $t = 2.4$, $P < 0.05$, for C4 – $t = 7.5$, $P < 0.05$, for C5 $P = 0.05$, for C4 – $t = 9.8$, $P < 0.05$, for C5–C6 – $t = 5.9$; $P < 0.05$, for C4 – $t = 8.1$; $P < 0.05$) and nitrotyrosine (for class C3 – $t = 2.1$, $P < 0.05$, for C4 – $t = 9.8$, $P < 0.05$, for C5–C6 – $t = 5.9$; $P < 0.05$) as well as an increase in eNOS (for C4 – $t = 13.0$; $P < 0.05$; for C5–C6 – $t = 16.7$; $P < 0.05$), except for class C3 (for class C3 – $t = 0.78$; $P < 0.05$).

Comparison of the indices in the long-term after the operation with the values in healthy persons showed that the content of homocysteine and nitrotyrosine remained significantly 1.9 ($t = 5.8$; $P < 0.05$) and 2.1 times ($t = 9.9$; $P < 0.05$) higher in patients with the primary C3 class, respectively, while eNOS was 1.4 times ($t = 16.7$; $P < 0.05$) lower, for class C4 they were 1.4 ($t = 2.1$; $P < 0.05$) and 1.8 times ($t = 9.6$; $P < 0.05$) higher, respectively, while eNOS was 1.2 times ($t = 7.8$; $P < 0.05$) lower, and for class C6 these indicators were 1.2 ($t = 3.5$; $P < 0.05$) and 1.3 times ($t = 3.4$; $P < 0.05$) higher, respectively, but eNOS was 1.1 times ($t = 9.6$; $P < 0.05$) lower.

Thus, pronounced chronic ischemia (hypoxia) contributes to eNOS suppression and, consequently, reduction in NO concentration. However, the concentrations of homocysteine and nitrotyrosine are significantly increased. In the long term after the operation, more significant changes in the

reduction in homocysteine and nitrotyrosine concentrations as well as eNOS activity enhancement with the initial class of the disease increasing are due to a more pronounced reduction in chronic ischemia (hypoxia) compared with its initial severity.

Conclusions

1) Endothelial dysfunction in patients with LEVVD is characterized by a significant increase in the mean absolute values of homocysteine, nitrotyrosine and a decrease in eNOS values compared to healthy persons, and after the operation, a significant decrease in the mean absolute values of homocysteine, nitrotyrosine and an increase in eNOS values compared to the preoperative indices of the corresponding clinical class of the disease.

2) Patients with LEVVD before the operation demonstrated a significant increase in the mean values of homocysteine, nitrotyrosine and a decrease in eNOS with increasing in the clinical class of the disease. In the long term after the operation, it was found that the higher the initial clinical class of LEVVD was, the significantly lower the mean values of homocysteine and nitrotyrosine and higher the mean values of eNOS were.

3) In the long term after the operation, the mean values of homocysteine and nitrotyrosine remained significantly higher, while those of eNOS were lower than the same indices in healthy persons.

4) The absolute values of homocysteine are relatively stronger correlated with the patient's age than with the clinical class of LEVVD, while nitrotyrosine and eNOS are relatively stronger correlated with the LEVVD class than with the patients' age.

Funding

The study was carried out within the framework of the research work at the SI "Zaporizhzhia Medical Academy of Postgraduate Education Ministry of Health of Ukraine": "Perfecting instrumental methods of diagnosis and surgical treatment of varicose veins of the lower extremities" (state registration number 0116U005142).

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

Надійшла до редакції / Received: 09.11.2018

Після доопрацювання / Revised: 20.12.2018

Прийнято до друку / Accepted: 09.01.2019

Information about authors:

Ryazanov D. Yu., DM, PhD, DSc, Professor, Department of Surgery and Low-invasive Technologies, SI "Zaporizhzhia Medical Academy of Postgraduate Education, MOH of Ukraine".

Mamunchak O. V., MD, Postgraduate student, Department of Surgery and Low-invasive Technologies, SI "Zaporizhzhia Medical Academy of Postgraduate Education, MOH of Ukraine

Відомості про авторів:

Рязанов Д. Ю., д-р мед. наук, професор каф. хірургії та малоінвазивних технологій, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Мамунчак О. В., аспірант каф. хірургії та малоінвазивних технологій, ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Сведения об авторах:

Рязанов Д. Ю., д-р мед. наук, профессор каф. хирургии и малоинвазивных технологий, ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».
Мамунчак О. В., аспирант каф. хирургии и малоинвазивных технологий, ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины».

leoperacionnogo perioda [Nitrotyrosine and its role in assessing the severity of oxidative stress and predicting the incidence of early postoperative complications]. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya*, 21(2), 77–84 [in Russian]. doi: 10.21688-1681-3472-2017-2-77-84

References

- [1] Shevchenko, Y. L., Stoyko, Y. M., Gudymovich, C. G., & Nikitina A. M. (2014). Disfunkcij e'ndotelija v razvitii varikoznoj bolezni ven nizhnih konechnostej i vozmozhnosti eyo korrekcii [Endothelial dysfunction in development of varicose veins of lower extremities and possibilities of its correction]. *Medicinskij vestnik Yuga Rossii*, 4, 113–119. [in Russian]. <https://doi.org/10.21886/2219-8075-2014-4-113-119>
- [2] Bulayeva, N. I., & Golukhova, E. Z. (2013) E'ndotelial'naya disfunkcija i oksidantnyj stress: rol' v razvitii kardiovaskulyarnoj patologii [Endothelial dysfunction and oxidant stress: the role in cardiovascular pathology]. *Kreativnaya kardiologiya*, 1, 14–22. [in Russian].
- [3] Kravchun, N. A., & Chernyavskaya, I. V. (2016) E'ndotelial'naya disfunkcija pri sakharnom diabete: teoreticheskie i prakticheskie aspekty [Endothelial dysfunction in diabetes mellitus: theoretical and practical aspects]. *Zdorov'ya Ukrainy*, 1(33), 15–17. [in Russian].
- [4] Balatsky, A. V., Andreenko, E. Yu., Samokhodskaya, L. M., Boitsov, S. A., & Tkachuk, V. A. (2013) Polimorfizm genov e'ndotelial'noj NO-sintazy i konneksina-37 kak faktor riska razvitiya infarkta miokarda u lic bez koronarnogo anamneza [Endothelial NO synthase and connexin 37 gene polymorphisms as a risk factor for myocardial infarction in subjects without a history of coronary artery disease]. *Terapevticheskij arkhiv*, 9, 18–22. [in Russian].
- [5] Simonova, O. G., Kolobova, O. I., & Leshchenko, V. A. (2014) Regionalnye ortostaticheskie mekhanizmy e'ndotelial'noj disfunkcii pri varikoznoj bolezni [The regional orthostatic mechanisms of endothelial dysfunction associated with primary varicose veins]. *Flebologiya*, 4, 25–28. [in Russian].
- [6] Malakhova, S. M. (2016). Klinichni aspekty polimorfizmu hena endotelialnoi NO-sintazy u profesiinykh sportsmeniv [Clinical aspects of endothelial NO-synthase gene polymorphism in professional sportsmen]. *Pathologia*, 2(37), 98–104. [in Ukrainian]. doi: 10.14739/2310-1237.2016.2.80896 [in Ukrainian].
- [7] Okrut, I. E., Shakerova, D. A., & Veselova, T. A. (2012) E'ndotelial'naya disfunkcija i marker sosudisto-trombocitarnogo gemostaza pri metabolicheskom sindrome [Endothelial dysfunction and markers of vascular-platelet hemostasis in the metabolic syndrome]. *Vestnik Nizhnegorodskogo universiteta im. N. I. Lobachevskogo*, 2(3), 216–221. [in Russian].
- [8] Nikitina, A. M. (2014) E'ndotelial'naya disfunkcija v razvitii varikoznoj bolezni venn nizhnih konechnostej i vozmozhnosti eyo korrekcii (Avtoref. dis...kand. med. nauk). [Endothelial dysfunction in the development of varicose veins of the lower extremities and the possibility of its correction] (Extended abstract of candidate's thesis). Moscow. [in Russian].
- [9] Pfenniger, A., Derouette, J. P., Verma, V., Lin, X., Foglia, B., Coombs, W., et al. (2010) Gap junction protein Cx37 interacts with endothelial nitric oxide synthase in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 30(4), 827–834. doi: 10.1161/ATVBAHA.109.200816
- [10] Azizova, G., Dadashova, A., & Amirova, M. (2014) Biomarkery oksidativnogo stressa i sostoyanie antioksidantnoj sistemy pri sakharnom diabete tipa 2 [Biomarkers of oxidative stress and the state of antioxidant system in the present of type 2 diabetes mellitus]. *Universum: Medicina i farmakologiya*, 6(7), 1–9. [in Russian].
- [11] Förstermann, U., & Sessa, W. C. (2012) Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur. Heart J.*, 33(7), 829–37. doi: 10.1093/eurheartj/ehr304
- [12] Okrut I. Ye., Dautova D. A. (2015) Oksid azota kak pokazatel' aktivnosti svobodnoradikal'nogo oksigeniya pri metabolicheskom sindrome. [Nitric oxide as an indicator of the activity of free radical oxidation in metabolic syndrome]. *Innovacionnaya nauka*, 8–2(8), 132–135. [in Russian].
- [13] Skvortsov, Yu. I., & Korolkova, A. S. (2011) Gomocistein kak faktor riska razvitiya IBS [Homocysteine as a risk factor of ischemic heart disease development (review)]. *Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal*, 7(3), 619–624. [in Russian].
- [14] Lazuko, S. S. (2016) *Disfunkcija e'ndotelija: e'ksperimental'nye i klinicheskie issledovaniya*. Proceedings of the 9th International Scientific and Practical Conference. Vitebsk. [in Russian].
- [15] Grebenchikov, O. A., Philippovskaya, Zh. S., Zabelina, T. S., Skripkin, Y. V., Ulitkina, O. N., & Likhvantsev, V. V. (2017) Opredeleniye nitrotirozina ne pozvolyaet ocenit' stepen' vyrazhennosti oksidantnogo stressa i prognozirovat' veroyatnost' razvitiya rannikh oslozhnenij pos-

Staphylococcal proliferation and biofilm formation *in vitro* under the influence of cell-free extracts of probiotic origin

O. V. Knysh*^{A-D}, O. Yu. Isaienko^{E,F}, Ye. M. Babych^{E,F}, M. M. Popov^{E,F}

State Institution "Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv

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

Key words:

cell-free system, cell proliferation, biofilm, probiotic, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus reuteri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (4), 504–510

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.4.173350

*E-mail: knysh_oksana@ukr.net

The paper presents the results of the study on proliferation and biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* under the influence of cell-free extracts obtained by the author's method and containing derivatives of probiotic strains *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus reuteri*.

The aim of this work was to study the ability of cell-free extracts containing derivatives of probiotics *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus reuteri* to influence proliferation and biofilm formation by staphylococci *in vitro*, to evaluate the prospects of their use for the correction of microecological disorders and adjuvant therapy of staphylococcal infection.

Materials and methods. Cell-free extracts were obtained from commercial strains *B. bifidum* and *L. reuteri* by the authors' method. Reference strain of *S. aureus* ATCC 25923 and clinical isolate of *S. epidermidis* were used as a test cultures. The investigation of the proliferation and biofilm formation by staphylococci was carried out by spectrophotometric method using a microtiter-plate reader "Lisa Scan EM" (Erba Lachema s.r.o., Czech Republic).

Results. It has been established that the effect of cell-free extract on proliferation and biofilm formation depends on the type of extract and on the species of staphylococcus. Among the five studied extracts, only one significantly inhibits the proliferation and biofilm formation of both staphylococci species. It is the cell-free extract, obtained from *L. reuteri* culture, grown in its own disintegrate supplemented with glycerol and glucose. The proliferative activity of *S. aureus* is sensitive to the *L. reuteri* derivatives while the proliferative activity of *S. epidermidis* is sensitive to the *B. bifidum* derivatives. The filtrates of disintegrates have stimulatory effect, while the filtrates of cultures have inhibitory effect on the staphylococcal proliferation. The biofilm formation by *S. aureus* is significantly inhibited by *B. bifidum* derivatives and is stimulated by *L. reuteri* derivatives. The biofilm formation by *S. epidermidis* is stimulated by derivatives of bifidobacteria and does not change in the presence of derivatives of lactobacteria in the growth medium.

Conclusions. Obtained results indicate a high bioregulatory potential of cell-free extracts of probiotic origin and the possibility of drugs development for microecological disorders correction on their basis. They also confirm that the method of obtaining probiotic derivatives with bacteriotropic activity through precursor-directed biosynthesis is promising. Cell-free extract, obtained from *L. reuteri* culture, grown in its own disintegrate supplemented with glycerol and glucose, exhibits pronounced anti-staphylococcal activity *in vitro*. After confirming efficacy *in vivo*, it can be recommended for the adjuvant therapy of staphylococcal infections.

Ключові слова:

безклітинні екстракти, проліферація, біоплівкоутворення, деривати пробіотиків, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus reuteri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 504–510

Проліферація та біоплівкоутворення стафілококів *in vitro* під впливом безклітинних екстрактів пробіотичного походження

О. В. Книш, О. Ю. Ісаєнко, Є. М. Бабич, М. М. Попов

Мета роботи – дослідити здатність безклітинних екстрактів, що містять деривати пробіотиків *Bifidobacterium bifidum* і *Lactobacillus reuteri*, впливати на проліферацію, біоплівкоутворення стафілококів *in vitro*, оцінити перспективність їхнього застосування для корекції мікроекологічних порушень та ад'ювантної терапії стафілококових інфекцій.

Матеріали та методи. Безклітинні екстракти отримували з комерційних штамів *B. bifidum* і *L. reuteri* за розробленим авторами методом. Як тестові культури використовували референс-штам *S. aureus* ATCC 25923 і клінічний ізолят *S. epidermidis*. Проліферацію, біоплівкоутворення стафілококів досліджували спектрофотометричним методом, використовуючи мікропланшетний аналізатор «Lisa Scan EM» («Erba Lachema s.r.o.», Чеська Республіка).

Результати. Встановили, що ефект безклітинного екстракту на проліферацію та біоплівкоутворення залежить від виду екстракту й виду стафілокока. Серед 5 екстрактів, котрі дослідили, тільки один істотно пригнічує проліферацію та біоплівкоутворення обох видів стафілококів. Це безклітинний екстракт, що отриманий із культури *L. reuteri*, яка вирощена у власному дезінтеграті з додаванням гліцерину, глюкози. Проліферативна активність *S. aureus* чутлива до впливу похідних *L. reuteri*, а проліферативна активність *S. epidermidis* – до впливу похідних *B. bifidum*. Фільтрати дезінтегратів мають стимуляторну, а фільтрати культур – інгібіторну дію на проліферацію стафілококів. Біоплівкоутворення *S. aureus* суттєво пригнічується під дією дериватів *B. bifidum* і посилюється під впливом дериватів *L. reuteri*. Біоплівкоутворення *S. epidermidis* стимулюється дериватами біфідобактерій і не змінюється за наявності в ростовому середовищі дериватів лактобактерій.

Висновки. Результати свідчать про високий біорегуляторний потенціал безклітинних екстрактів пробіотичного походження та можливість створення на їхній основі препаратів для корекції мікроекологічних порушень. Вони також підтверджують перспективність методу одержання дериватів пробіотиків із бактеріотропною активністю шляхом керованого прекурсорами біосинтезу. Безклітинний екстракт, отриманий з культури *L. reuteri*, яка вирощена у власному дезінтеграті з додаванням гліцерину та глюкози, продемонстрував виражену протистафілококову активність *in vitro*. Після підтвердження ефективності *in vivo* він може бути рекомендований для ад'ювантної терапії стафілококових інфекцій.

Пролиферация и биопленкообразование стафилококков *in vitro* под влиянием бесклеточных экстрактов пробиотического происхождения

О. В. Кныш, Е. Ю. Исаенко, Е. М. Бабич, Н. Н. Попов

Цель работы – исследовать способность бесклеточных экстрактов, содержащих дериваты пробиотиков *Bifidobacterium bifidum* и *Lactobacillus reuteri*, влиять на пролиферацию и биопленкообразование стафилококков *in vitro*, оценить перспективность их применения для коррекции микробиологических нарушений и адьювантной терапии стафилококковых инфекций.

Материалы и методы. Бесклеточные экстракты получали из коммерческих штаммов *B. bifidum* и *L. reuteri* разработанным авторами методом. В качестве тестовых культур использовали референс-штамм *S. aureus* ATCC 25923 и клинический изолят *S. epidermidis*. Исследование пролиферации и биопленкообразования стафилококков проводили спектрофотометрическим методом с использованием микропланшетного анализатора «Lisa Scan EM» («Erba Lachema s.r.o.», Чешская Республика).

Результаты. Установлено, что эффект бесклеточного экстракта на пролиферацию и биопленкообразование зависит от вида экстракта и вида стафилококка. Среди исследованных 5 экстрактов только один значительно подавляет пролиферацию и биопленкообразование обоих видов стафилококков. Это бесклеточный экстракт, полученный из культуры *L. reuteri*, выращенной в собственном дезинтеграте с добавлением глицерина и глюкозы. Пролиферативная активность *S. aureus* чувствительна к воздействию производных *L. reuteri*, а пролиферативная активность *S. epidermidis* – к воздействию производных *B. bifidum*. Фильтраты дезинтегратов обладают стимулирующим, а фильтраты культур – угнетающим действием на пролиферацию стафилококков. Биопленкообразование *S. aureus* значительно подавляется под влиянием дериватов *B. bifidum* и усиливается под влиянием дериватов *L. reuteri*. Биопленкообразование *S. epidermidis* стимулируется дериватами бифидобактерий и не изменяется в присутствии дериватов лактобактерий в ростовой среде.

Выводы. Результаты свидетельствуют о высоком биорегуляторном потенциале бесклеточных экстрактов пробиотического происхождения и возможности создания на их основе препаратов для коррекции микробиологических нарушений. Они также подтверждают перспективность метода получения дериватов пробиотиков с бактериотропной активностью путем управляемого прекурсорами биосинтеза. Бесклеточный экстракт, полученный из культуры *L. reuteri*, выращенной в собственном дезинтеграте с добавлением глицерина и глюкозы, продемонстрировал выраженную противостафилококковую активность *in vitro*. После подтверждения эффективности *in vivo* он может быть рекомендован для адьювантной терапии стафилококковых инфекций.

Ключевые слова:

бесклеточные экстракты, пролиферация, биопленкообразование, дериваты пробиотиков, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus reuteri*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 504–510

Among the more than 70 species of the genus *Staphylococcus*, the most pathogenic for humans is *Staphylococcus aureus*. It persistently colonizes approximately 20 % of the human adult population. The main biotopes that *S. aureus* colonizes: the anterior nares and skin. It is considered the main causative agent of nosocomial and community-acquired infections [1,2]. There are many known factors of *S. aureus* virulence and pathogenicity: degradative enzymes, pore-forming toxins, superantigens, immunostimulatory exo-proteins and others [3]. *S. aureus* can cause both acute and chronic infectious processes. Acute infections are generally caused by planktonic cells. In this case, the production of secreted toxins and exo-enzymes is the main pathogenicity factor. In contrast, chronic infections are associated with the ability of *S. aureus* to attach to host tissues or implanted medical devices, to form a biofilm and persist in this state for a long time [2–4].

Traditionally considered, that *Staphylococcus epidermidis* is a harmless commensal that lives on human skin. By preventing the attachment of pathogenic staphylococci, it provides colonization resistance of mucous membranes and skin. But *S. epidermidis* can cause an infectious process in newborns, immuno-compromised patients or patients undergoing surgery, with multiorgan pathology. The widespread use of medical devices has made *S. epidermidis* the most clinically important opportunistic agent that often causes nosocomial infections [4,5]. The main pathogenicity factor of *S. epidermidis* is the ability to biofilm formation [5,6].

Today, quite a lot of work has been devoted to the study of biofilm formation by bacteria of *S. aureus* and *S. epidermidis* species [1–3,7]. Biofilm formation protects microbial cells from antimicrobial agents, the host's immune system and makes them more difficult to eliminate [2]. The resis-

tance of bacteria in the composition of a biofilm can be in tens of thousands of times greater than the resistance of the same microorganisms in planktonic form [8]. In recent years, an active search for substances and compounds with anti-biofilm activity has been conducted. It was found out that cationic antimicrobial peptides varnerin and hominin can not only prevent biofilm formation by coagulase-negative staphylococci, but also actively destroy the formed biofilm [9]. Bacteriocins also had an inhibitory effect on biofilm formation *in vitro* [10]. It has been shown that enzymes can have different effects on biofilm formation: while DNase can inhibit, α -galactosidase can stimulate this process [11]. The enzyme oligoribonuclease effectively suppresses the exchange of chemical signals between individual bacterial cells. It can be used to stop or prevent the biofilm formation by bacteria [8].

The development of new effective drugs with antimicrobial and anti-biofilm activity is one of the priorities of the modern pharmacological industry [8,9,17]. The ability of some species of staphylococci to inhibit biofilm formation and destroy the biofilms formed by other species of staphylococci suggests the promise of finding effective regulators of this process among natural microbial antagonists [7]. Recently, *in vitro* studies and clinical trials have accumulated much evidence of the effect of probiotics on infectious agents through a competition and counteraction. However, data on the use of probiotics as tools to prevent the formation or destruction of preformed biofilms is not enough [12,13,20,21]. Considering the natural antagonism of probiotics in relation to conditionally pathogenic and pathogenic microorganisms, it seems logical to search for antimicrobial and anti-biofilm substances among probiotic derivatives.

The aim

The aim of this work was to study the ability of cell-free extracts containing derivatives of probiotics *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus reuteri* to influence proliferation and biofilm formation by staphylococci *in vitro*, to evaluate the prospects of their use for the correction of microecological disorders and adjuvant therapy of staphylococcal infection.

Materials and methods

Two commercial probiotic strains were used as sources of biologically active structural components and as producers of metabolites. These were *B. bifidum* No 1 (from medical product "Bifidumbacterin-Biopharma", JSC "Biopharma", Ukraine) and *L. reuteri* DSM 17938 (from medical product "BioGaia", BioGaia AB, Sweden). Five types of cell-free extracts have been studied: L – filtrate of *L. reuteri* disintegrate; ML – filtrate of *L. reuteri* culture, grown in *L. reuteri* disintegrate; MLG – filtrate of *L. reuteri* culture, grown in *L. reuteri* disintegrate supplemented with 0,8 M (73.7 g/l) glycerol and 0.4 M (72.1 g/l) glucose; B – filtrate of *B. bifidum* disintegrate; MB – filtrate of *B. bifidum* culture, grown in *B. bifidum* disintegrate.

Test samples were obtained by the authors' method [14]. Disintegrates were obtained by physical method of disintegration. It was a multiple freezing-thawing of the microbial mass. To obtain the disintegrate, cell suspension in physiological saline with optical density of 10.0 units according to the McFarland scale measured using the Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema, Czech Republic) was exposed to 10 cycles of freeze-thawing according to the following regimen: freezing – passive cooling in freezing chamber of Samsung RB29FSRNSA refrigerator down to -23 ± 1 °C, heating – in water bath at 37 ± 1 °C up to complete thawing.

Cultures were obtained by cultivating of probiotic microorganisms in their own disintegrates. To this end the probiotic suspension in physiological saline of turbidity 10.0 units on the McFarland scale was added into disintegrate in 1:9 ratio and cultured at 37 ± 1 °C for 72 hours in anaerobic conditions.

Disintegrates and probiotic cultures grown in their own disintegrates were centrifuged at 3000 g for 10 minutes in order to remove remained cells and cellular debris. Supernatant was passed through sterile membrane filters with pore diameter of 0.2 micron (Vladipor, Russian Federation).

Coagulase-positive reference strain *S. aureus* ATCC 25923 (from the Museum of Microorganisms of IMI NAMS, Kharkiv) and coagulase-negative clinical isolate *S. epidermidis* № 558 (from the Collection of Microorganisms of the Laboratory of Respiratory Infections Prevention of IMI NAMS, Kharkiv) were used as a test cultures. The test cultures were cultivated overnight aerobically at 37°C on appropriate solid nutrient medium. It was blood agar.

Preparation of the inoculum: after verifying the purity of the culture, few colonies from the overnight incubated agar medium were emulsified in a physiological saline for obtaining a suspension of turbidity 0.5 on the McFarland scale.

Assessment of biofilm formation by staphylococci. Staphylococcal biofilms were obtained in sterile 96-well polystyrene microtiter plates (JSC "Eximcargotrade", Ukraine) by modified S. Stepanovic's microtiter-plate technique [15]. The tryptone soya broth (TSB; HiMedia, India) supplemented with 1% glucose aseptically was added into all wells of the microtiter plate. Cell-free derivative-containing extracts were added into the test wells to achieve a final concentration 20 % vol. Physiological saline was added to the positive control wells (PC) in the same volume. The inoculum was vortexed and then inoculated into a test and positive control wells of the microtiter plate. The final concentration of cells in the incubation medium was $\sim 10^7$ CFU/ml. The negative control wells (NC) contained TSB supplemented with 1 % glucose and physiological saline instead of cell-free extracts and inoculum. The plates were covered with lids and incubated aerobically for 24 hours at 35–37 °C in static conditions. After incubation, the contents of the wells have been removed. Each well was washed three times with sterile 0.1 M phosphate-buffered saline (PBS; pH 7.2). Remaining attached biofilms were fixed by exposing them to hot air at 60 °C for 60 min; they were stained by 1% crystal violet for 15 min. After that, wells were washed ten times with distilled water. Ethanol was gently added and thereafter the microtiter plate covered with the lid. It was left at room temperature for 30 min. The optical density (OD) of the test and control wells was measured at 630 nm by using a microtiter-plate reader "Lisa Scan EM" (Erba Lachema s.r.o., Czech Republic). Based on the OD values obtained for NC and test samples, biofilm formation was defined as:

weak ($OD_{NC} < OD \leq 2 \times OD_{NC}$);

moderate ($2 \times OD_{NC} < OD \leq 4 \times OD_{NC}$);

strong ($4 \times OD_{NC} < OD$);

no biofilm formation ($OD \leq OD_{NC}$), according to In Lee S. et al. [16].

The inhibition (or stimulation) index was calculated by the formula: $InhI (StI) = (OD - OD_{PC}) \div OD_{PC} \times 100\%$, where OD_{PC} and OD were optical density of the control and test samples, respectively.

Assessment of staphylococcal proliferation. The study of the effect of cell-free extracts on the proliferation of staphylococci was performed by modified Gladisheva's method [17]. Cell-free extracts and diluted 10 times inoculums were added into the test wells in the ratio of 9:1. Physiological saline and inoculums were added into the positive control wells (PC) in the same ratio. The negative control wells (NC) contained only physiological saline. The plates were covered with lids and incubated aerobically for 1 hour at 35–37 °C in static conditions. After incubation, pepted meat broth (PMB; HiMedia, India) supplemented with 1 % glucose aseptically was added into all wells of the microtiter plate in volume exceeding the total volume of cell-free extract and inoculum by 2 times. The final concentration of microbial cells in the incubation medium was $\sim 10^5$ CFU/ml. The optical density (OD) of the wells was measured at 578 nm using a microtiter-plate reader "Lisa Scan EM" (Erba Lachema s.r.o., Czech Republic) immediately after adding PMB and after incubation of plates aerobically for 24 hours at 35–37 °C in static conditions. The inhibition (or stimulation) index was calculated by the formula: $InhI (StI) = (\Delta OD - \Delta OD_{PC}) \div \Delta OD_{PC} \times 100\%$, where ΔOD and

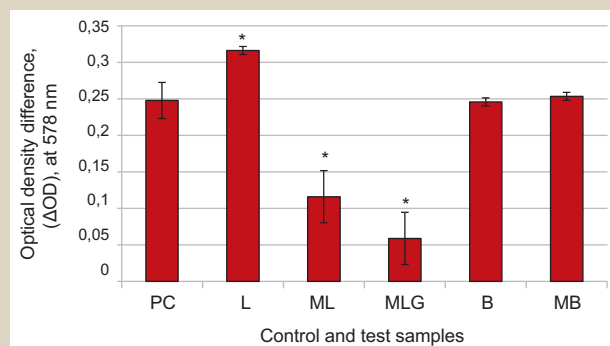


Fig. 1. The effect of cell-free extracts on the proliferation of *S. aureus*. Data are presented as average Δ OD (optical density changes within 24 hours) of the test and control samples.

*: the differences are significant compared to the positive control sample (PC), $P < 0.05$.

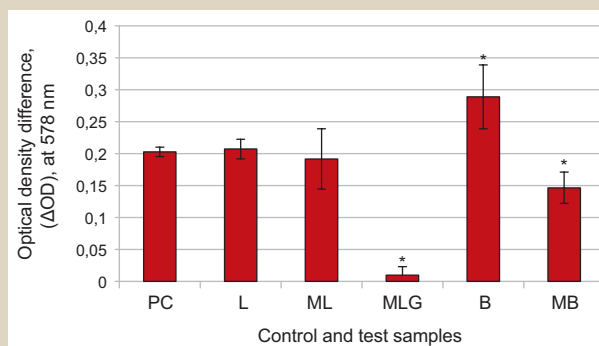


Fig. 2. The effect of cell-free extracts on the proliferation of *S. epidermidis*. Data are presented as average Δ OD (optical density changes within 24 hours) of the test and control samples.

*: the differences are significant compared to the positive control sample (PC), $P < 0.05$.

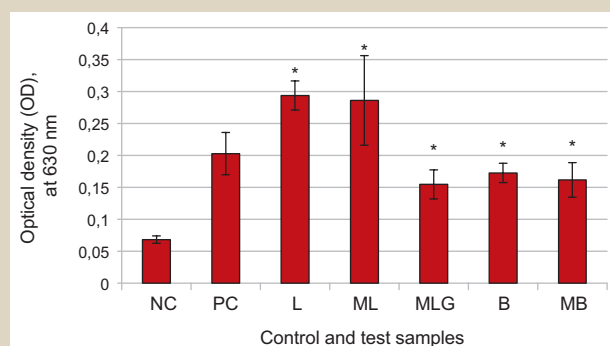


Fig. 3. The effect of cell-free extracts on the biofilm formation by *S. aureus*. Data are presented as average OD of the test and control samples.

*: the differences are significant compared to the positive control sample (PC), $P < 0.05$.

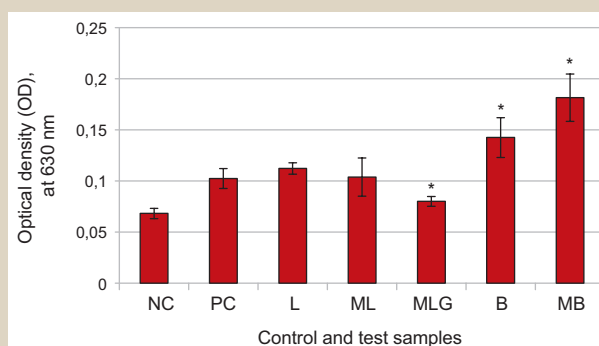


Fig. 4. The effect of cell-free extracts on the biofilm formation by *S. epidermidis*. Data are presented as average OD of the test and control samples.

*: the differences are significant compared to the positive control sample (PC), $P < 0.05$.

Δ OD_{PC} were the changes in the optical density of the control and test samples within 24 hours.

All experiments were performed three times. Each sample was tested in triplicate. Obtained data were statistically processed with Excel 2010 software (Microsoft, USA). Average values of obtained indices with standard deviations were determined. The significance of the difference between the obtained indices of the test and control groups was determined by Student's t-test. Differences were considered significant at $P < 0.05$.

Results

As shown in Fig. 1, extract L had a significant stimulatory effect on proliferation of *S. aureus* (StI – 27.6 %, $P < 0.04$). Pronounced inhibition of staphylococcal proliferation was observed under the influence of extracts ML (InI – 53.2 %, $P < 0.009$) and MLG (InI – 76.2 %, $P < 0.003$). Taking into account InI, the filtrate of *L. reuteri* culture, grown in *L. reuteri* disintegrate supplemented with glycerol and glucose (MLG), causes more pronounced inhibition of *S. aureus* proliferation, than filtrate of *L. reuteri* culture grown in its own disintegrate without additives (ML). Extracts B and MB had no significant effect on the proliferation of this test culture.

Fig. 2 shows, that extract B exerted a significant stimulatory effect on the proliferation of *S. epidermidis* (StI – 42.5 %, $P < 0.03$). Introduction into the growth medium of MLG and MB extracts resulted in inhibition of staphylococcal

proliferation by 95.2 % ($P < 0.0002$) and 27.7 % ($P < 0.05$), respectively. It should be noted that MLG filtrate, obtained from *L. reuteri* culture, grown in *L. reuteri* disintegrate supplemented with glycerol and glucose, has a significantly more pronounced inhibitory effect on the proliferation of *S. epidermidis* than MB extract, obtained from *B. bifidum* culture, grown in *B. bifidum* disintegrate. Extracts L and ML did not affect proliferative activity of *S. epidermidis*.

Fig. 3 shows the ability of the *S. aureus* to produce biofilm in the polystyrene microplate. Based on a comparison of the mean value OD_{PC} with the mean value of OD_{NC}, the culture was classified as moderate biofilm-producer. A significant stimulation of biofilm formation by this culture occurred under the influence of extracts L and ML. StI were 44.8 % ($P < 0.00001$) and 41 % ($P < 0.009$), respectively. Extracts MLG, B, MB in the growth medium, on the contrary, inhibited biofilm formation by *S. aureus*. InI were 23.7 % ($P \leq 0.003$); 15 % ($P < 0.03$) and 20.3 % ($P < 0.02$), respectively.

S. epidermidis showed weak ability to produce biofilms on polystyrene microplates within 24 hours (Fig. 4). Introduction into the growth medium of L and ML extracts did not have a significant effect on the biofilm formation by this test-culture. The presence in the growth medium of extract MLG resulted in a significant inhibition of biofilm formation by staphylococcus, the InI was 21.8 % ($P < 0.00006$). Cell-free extracts, containing derivatives of *B. bifidum* (B and MB), had a powerful stimulating effect on biofilm formation by *S. epidermidis*. StI were 43.7 % ($P < 0.0002$) and 77.2 % ($P < 0.000002$), respectively.

Discussion

In the work, the slow disintegration by the freezing-warming method was used. This method does not provide for the rapid and complete destruction of bacterial cells to obtain a set of structural components. A distinctive feature of this method is the creation of shock conditions for microbial cells. They are exposed to thermal, osmotic, thermomechanical, dehydration and rehydration shock. In created conditions under the influence of a complex of damaging factors there are sublethal, lethal injuries and diversity of metabolic changes in response to stress occur in cells. Bacteria specifically respond to an abrupt decrease in temperature. The cold shock response (CSR) is a cascade of cellular reactions, accompanied by a high level of temporarily expression of cold-induced proteins (CIPs). CIPs have pleiotropic functions, such as the regulation of transcription, translation, and splicing. They have the ability to orchestrate multiple cellular processes, including proliferation and differentiation [18].

Thus, disintegrate obtained by repeated freezing-thawing of a bacterial suspension contains not only the structural components of bacterial cells (microbe-associated molecular patterns, MAMPs), but also bacterial cold shock proteins (damage-associated molecular patterns, DAMPs), which possess powerful bioregulatory potential. In addition, disintegrate also contains a set of substances suitable for nutrition of microorganisms. We used this property of disintegrate, applying it as a nutrient medium in the cultivation of probiotics.

It is known that a change in cultivation conditions has a significant effect on metabolic processes in microbial cells, and hence on the composition of metabolites. Live, growing, proliferating lactic acid bacteria release into the environment a large number of metabolites – organic acids, hydrogen peroxide, ethyl alcohol, bacteriocins, and other biologically active compounds. They have antimicrobial, antiviral, immunomodulatory, anti-inflammatory, antitumor and other types of activity. Cell-free filtrates have a complex composition. The directionality and intensity of the filtrates' effects on the biological processes are the result of the summation of its components effects. The determination of each component's effect is possible after fractionation of the cell-free filtrate. At present, we are studying the biochemical composition of disintegrates and cultures, grown in their own disintegrates. The content of some important biologically active components (protein, peptides, amino acids, nucleic acids, teichoic acids, etc.) has been determined. A separate article will be devoted to the coverage of the results.

The results of the experimental study demonstrate the different directionality of the effects of cell-free extracts, introduced into the growth medium, on proliferation and biofilm formation by staphylococci and revealed some regularity. The direction of the effect depends on the species of staphylococcus and the type of cell-free extract. Cell-free extracts have a different composition depending on the source and method of their obtaining. Extract *L*, containing products of disintegration of *L. reuteri*, stimulate proliferation and biofilm formation by *S. aureus*, but does not have a significant effect on proliferation and biofilm formation by *S. epidermidis*. Extract *B*, containing products of disintegration of *B. bifidum*, has a stimulatory effect on proliferation and biofilm formation by *S. epidermidis*. It does

not have a significant effect on proliferation, but inhibits biofilm formation by *S. aureus*. Obtained results confirm the existence of a mechanism of influence on the ability to form biofilms, which does not involve growth inhibition [7,19,20]. Recent studies in this area demonstrate that inhibition of biofilm formation without affecting the growth is possible due to the inhibition of *ica*-operon expression by metabolites or lipoteichoic acid (LTA) of probiotics [19,20]. *Ica*-operon responsible for the production of poly-N-acetylglucosamine (a key molecule required for *S. aureus* biofilm development) [19,20]. Remarkably, whereas metabolites of *L. fermentum* inhibit the biofilm formation by *S. aureus*, metabolites of *L. plantarum* do not appear such ability [19]. LTA without D-alanine moieties do not inhibit biofilm formation by *S. aureus* [20].

The introduction into the growth medium of *ML* extract, which contains products of disintegration and metabolic products of *L. reuteri*, leads to the inhibition of proliferation and stimulation of biofilm formation by *S. aureus*, but does not affect the indicated abilities of *S. epidermidis*. Inhibitory effect of *ML* extract on proliferation can be explained by the antimicrobial activity of *L. reuteri* metabolites against *S. aureus*. The introduction into the growth medium of *MB* extract, containing the products of disintegration and metabolic products of *B. bifidum*, causes inhibition of proliferation and stimulation of biofilm formation by *S. epidermidis*. It does not affect proliferation and inhibits biofilm formation by *S. aureus*. Inhibitory effect of *MB* extract on proliferation can be explained by the antimicrobial activity of *B. bifidum* metabolites against *S. epidermidis*. Our data is only partially consistent with the results of studies by other authors, who showed that exometabolites of *B. bifidum* had a pronounced inhibitory effect on the proliferative activity and biofilm formation of staphylococci [13]. The difference in the results indicates the importance of the method for obtaining probiotic derivatives, which predetermines the composition of the final product. Extract *MLG* demonstrated a significant inhibitory effect on the proliferation and biofilm formation by both species of staphylococci. It contains products of disintegration and metabolic products of *L. reuteri* obtained by cultivation in its own disintegrate supplemented with glycerol and glucose. It is known that *L. reuteri* can convert glycerol into the antimicrobial compound reuterin [21]. We suggest that inhibitory effect of *MLG* extract on the proliferation and biofilm formation by staphylococci is due to reuterin.

Conclusions

1. Obtained results have a practical importance. They indicate a high bioregulatory potential of cell-free extracts of probiotic origin and the possibility of drugs development for microecological disorders correction on their basis.
2. The results also confirm that the method of obtaining probiotics' derivatives with bacteriotropic activity through precursor-directed biosynthesis is promising.
3. Cell-free extract obtained from *L. reuteri* culture grown in its own disintegrate supplemented with glycerol and glucose, exhibits pronounced anti-staphylococcal activity *in vitro*. After confirming efficacy *in vivo*, it can be recommended for the adjuvant therapy of staphylococcal infections.

Prospects for further research. Obtained results will be used in the planning and conducting further experimental studies towards the development of new metabiotics based on *B. bifidum* and *L. reuteri* derivatives.

Funding

The study is a fragment of the research project of the Laboratory of Respiratory Infections Prevention, State Institution "Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", "Microbiological characteristic of new structural and metabolic complexes of lacto- and bifido-probiotics" (State registration No. 0119U100686).

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

Надійшла до редакції / Received: 29.10.2018
Після доопрацювання / Revised: 08.01.2019
Прийнято до друку / Accepted: 09.01.2019

Information about authors:

Knysh O. V., MD, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Respiratory Infections Prevention, State Institution "Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine.
ORCID ID: 0000-0002-4105-1299

Isaienko O. Yu., MD, PhD, Leading Researcher of the Laboratory of Respiratory Infections Prevention, State Institution "Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine.
ORCID ID: 0000-0002-5575-1296

Babych Ye. M., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Respiratory Infections Prevention, State Institution "Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine.
ORCID ID: 0000-0002-9382-584X

Popov M. M., MD, PhD, DSc, Professor, Director of State Institution "Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine.
ORCID ID: 0000-0002-6875-3071

Відомості про авторів:

Книш О. В., канд. мед. наук, ст. науковий співробітник лабораторії профілактики краплинних інфекцій, ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

Ісаєнко О. Ю., канд. мед. наук, провідний науковий співробітник лабораторії профілактики краплинних інфекцій, ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

Бабич Є. М., д-р мед. наук, професор, зав. лабораторії профілактики краплинних інфекцій, ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

Попов М. М., д-р мед. наук, професор, директор ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

Сведения об авторах:

Кныш О. В., канд. мед. наук, ст. научный сотрудник лаборатории профилактики каплевых инфекций, ГУ «Институт микробиологии и иммунологии имени И. И. Мечникова НАМН Украины», г. Харьков.

Исаенко О. Ю., канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики каплевых инфекций, ГУ «Институт микробиологии и иммунологии имени И. И. Мечникова НАМН Украины», г. Харьков.

Бабич Е. М., д-р мед. наук, профессор, зав. лаборатории профилактики каплевых инфекций, ГУ «Институт микробиологии и иммунологии имени И. И. Мечникова НАМН Украины», г. Харьков.

Попов Н. Н., д-р мед. наук, профессор, директор ГУ «Институт микробиологии и иммунологии имени И. И. Мечникова НАМН Украины», г. Харьков.

References

- [1] Kornienko, M. A., Kopyltsov, V. N., Ilna, E. N., Shevlyagina, N. V., Didenko, L. V., Lyubasovskaya, L. A., & Pripitnevich, T. V. (2016). Sposobnost' stafilokokkov razlichnykh vidov k obrazovaniyu bioplenok i ikh vozdejstvie na kletki cheloveka [The ability of various strains of Staphylococcus to create biofilms and their effect on cells of the human body]. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*, 34(1), 18–25. [in Russian].
- [2] Lister, J. L., & Horswill, A. R. (2014). Staphylococcus aureus biofilms: recent developments in biofilm dispersal. *Frontiers In Cellular And Infection Microbiology*, 4, 178. doi: 10.3389/fcimb.2014.00178
- [3] Kavanaugh, J., & Horswill, A. R. (2016). Impact of Environmental Cues on Staphylococcal Quorum Sensing and Biofilm Development. *Journal of Biological Chemistry*, 291(24), 12556–12564. doi: 10.1074/jbc.r116.722710
- [4] Paharik, A. E., & Horswill, A. R. (2016). The staphylococcal biofilm: adhesins, regulation, and host response. *Microbiology Spectrum*, 4(2). doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0022-2015
- [5] Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014). Coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 870–926. doi: 10.1128/cmr.00109-13
- [6] Otto, M. (2013). Staphylococcus epidermidis pathogenesis. *Methods in Molecular Biology*, 1106, 17–31. doi: 10.1007/978-1-62703-736-5_2
- [7] Goetz, C., Tremblay, Y., Lamarche, D., Blondeau, A., Gaudreau, A., Labrie, J., et al. (2017). Coagulase-negative staphylococci species affect biofilm formation of other coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci. *Journal of Dairy Science*, 100(8), 6454–6464. doi: 10.3168/jds.2017-12629
- [8] Orr, M., Donaldson, G., Severin, G., Wang, J., Sintim, H., Waters, C., et al. (2015). Oligoribonuclease is the primary degradative enzyme for pGpG in *Pseudomonas aeruginosa* that is required for cyclic-di-GMP turnover. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 112(36), E5048–E5057. doi: 10.1073/pnas.1507245112
- [9] Korobov, V. P., Lemkina, L. M., & Polyudova, T. V. (2015). Destrukciya bioplenok koagulazonegativnykh stafilokokkov pod dejstviem bakteri-al'nykh kationnykh peptidov [Destruction biofilms of coagulase-negative staphylococci by bacterial cationic peptides]. *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya*, 3, 233–239. [in Russian].
- [10] Rybalchenko, O. V., Bondarenko, V. M., & Orlova, O. G. (2013). Struktura i funktsii bakteri-al'nykh bioplenok simbioticheskikh i uslovno-patogennykh bakterij [Structure and functions of bacterial biofilms of symbiotic and opportunistic bacteria]. *Verhnevolzhskij medicinskij zhurnal*, 11(4), 37–42. [in Russian].
- [11] Terenteva, N. A., Timchenko, N. F., & Rasskazov, V. A. (2014). Issledovanie vliyaniya biologicheskii aktivnykh veshchestv na formirovaniye bakteri-al'nykh bioplenok [Study of biological active substances on the bacterial biofilm formation]. *Zdorov'e. Medicinskaya e kologiya. Nauka*, 3(57), 54–55. [in Russian].
- [12] Vuotto, C., Longo, F., & Donelli, G. (2014). Probiotics to counteract biofilm-associated infections: promising and conflicting data. *International Journal of Oral Science*, 6(4), 189–194. doi: 10.1038/ijos.2014.52
- [13] Markov, A. A., Timokhina, T. Kh., Perunova, N. B., & Paromova, Ya. I. (2018). Vozmozhnost' primeneniya e'kzometabolitov *Bifidobacterium bifidum* v travmatologii i ortopedii dlya predotvrascheniya pervichnoj kontaminacii i bioplenkoobrazovaniya na poverkhnosti implantatov s sinteticheskimi bioaktivnymi kalcij-fosfatnym mineral'nym pokrytiem [The possibility of using bifidobacterium bifidum exometabolites in traumatology and orthopedics to prevent primary contamination and biofilm formation on the surface of implants with synthetic bioactive calcium-phosphate mineral coating]. *Medicinskij al'manakh*, 3(54), 128–130. doi: 10.21145/2499-9954-2018-3-128-130 [in Russian].
- [14] Knysh, O. V., Isaienko, O. Yu., Babych, Ye. M., Polianska, V. P., Zachepylo, S. V., Kompaniets, A. M., Horbach, T. V. (2018). Patent Ukrainy 122859. МПК C12N 1/20, A61K 35/74, C12R 1/25. Sposib oderzhannia biologichno aktyvnykh deryvativ bakterii probiotychnykh shtamiv [Patent of Ukraine 122859, МПК C12N 1/20, A61K 35/74, C12R 1/25. Method for obtaining biologically active derivatives of probiotic strains bacteria]. *Biuletyn*, 2. [in Ukrainian].
- [15] Stepanović, S., Vuković, D., Hla, V., Bonaventura, G., Djukić, S., Čirković, I., & Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, 115(8), 891–899. doi: 10.1111/j.1600-0463.2007.apm.630.x
- [16] In Lee, S., Barancelli, G., de Camargo, T. M., Corassin, C. H., Rosim, R. E., da Cruz, A., et al. (2017). Biofilm-producing ability of *Listeria monocytogenes* isolates from Brazilian cheese processing plants. *Food Research International*, 91, 88–91. doi: 10.1016/j.foodres.2016.11.039

- [17] Gladysheva, I. V. (2014). Antagonisticheskaya aktivnost' korinebakterij [Antagonistic activity of corynebacteria]. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*, 13(174), 16–19. [in Russian].
- [18] Lindquist, J. A., & Mertens, P. R. (2018). Cold shock proteins: from cellular mechanisms to pathophysiology and disease. *Cell Communication and Signaling*, 16(1), 63. doi: 10.1186/s12964-018-0274-6
- [19] Melo, T. A., dos Santos, T. F., de Almeida, M. E., Junior, L. A., G. F., Andrade, E. F., Rezende, R. P., et al. (2016). Inhibition of *Staphylococcus aureus* biofilm by *Lactobacillus* isolated from fine cocoa. *BMC microbiology*, 16, 250. doi: 10.1186/s12866-016-0871-8
- [20] Ahn, K. B., Baik, J. E., Yun, C-H., & Han, S. H. (2018). Lipoteichoic acid inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *Frontiers In Microbiology*, 9, 327. doi: 10.3389/fmicb.2018.00327
- [21] Spinler, J. K., Auchtung, J., Brown, A., Boonma, P., Oezguen, N., Ross, C. L., et al. (2017). Next-generation probiotics targeting *Clostridium difficile* through precursor-directed antimicrobial biosynthesis. *Infection And Immunity*, 85(10). doi: 10.1128/iai.00303-17

Забезпечення права ув'язнених на належну медичну допомогу

Ю. О. Волошин^{*1,A-E}, Н. І. Карпачова^{2,A-E}, А. Ю. Замула^{1,A-E}

¹Національний авіаційний університет, м. Київ, Україна, ²Київський університет права Національної академії наук України, м. Київ

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

Мета роботи – дослідження та аналіз ключових нормативно-правових актів, якими регулюється право на медичну допомогу осіб, яких позбавили волі, та з'ясування проблем, що виникають під час реалізації цього права.

Методи дослідження – історичний, соціологічний, процесуальний та інституційний аналіз, біхевіористський і синергетичний підходи, цивільно-правовий метод.

Результати. Проаналізували нормативно-правову базу, що регулює питання права на медичну допомогу та порядок його реалізації. Теоретично обґрунтовано, що від того, наскільки якісно є юридична система захисту прав людини у сфері охорони здоров'я, наскільки кожна людина може скористатися наданими їй правами, багато в чому залежить успішний і динамічний розвиток як медичного права зокрема, так і держави в цілому. При цьому правові норми у сфері охорони здоров'я не повинні залишатися тільки деклараціями, тобто нормами, що не супроводжуються створенням системи їхньої реалізації, охорони й захисту.

Висновок. Необхідно зосередити більше уваги на вдосконаленні правової системи та фактичному використанні законодавчих положень, що стосуються розслідування скарг стосовно жорстокого поводження та приниження гідності, ненадання або неналежного надання медичної допомоги, неналежних умов тримання під вартою осіб позбавлених волі.

Ключові слова:

право на медичну допомогу, хворого права, охорона здоров'я, заарештовані.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 511–516

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.4.173351

*E-mail: voloshinua@ukr.net

Обеспечение права заключенных на надлежащую медицинскую помощь

Ю. А. Волошин, Н. И. Карпачева, А. Ю. Замула

В статье рассматривается проблема обеспечения права заключенных на надлежащую медицинскую помощь.

Целью работы – исследование и анализ ключевых нормативно-правовых актов, регулирующих право на медицинскую помощь лиц, лишенных свободы, и выяснения проблем, возникающих при реализации этого права.

Методы исследования – исторический, социологический, процессуальный и институциональный анализ, библиографический и синергетический подходы, гражданско-правовой метод.

Результаты. Проведен анализ нормативно-правовой базы, регулирующей вопросы права на медицинскую помощь и порядок его реализации. Теоретически обосновано, что от того, насколько качественной является юридическая система защиты прав человека в сфере здравоохранения, насколько каждый человек может воспользоваться данными ему правами, во многом зависит успешное и динамическое развитие как медицинского права в частности, так и государства в целом. При этом правовые нормы в сфере здравоохранения не должны оставаться лишь декларациями, то есть нормами, которые не сопровождаются созданием системы их реализации, охраны и защиты.

Вывод. Необходимо сосредоточить больше внимания на совершенствовании правовой системы и фактическом использовании законодательных положений, касающихся расследования жалоб относительно жестокого обращения и унижения достоинства, непредоставления или ненадлежащего оказания медицинской помощи, ненадлежащих условий содержания под стражей лиц, лишенных свободы.

Ключевые слова:

право на медицинскую помощь, больного права, здравоохранение, заключенные.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 511–516

Ensuring the right of prisoners to appropriate medical care

Yu. O. Voloshyn, N. I. Karpachova, A. Yu. Zamula

The article addresses the problem of providing the right of prisoners to proper medical care.

Aim. To study and analyze the key regulatory legal acts regulating the right to medical care of persons deprived of their liberty and to find out the problems that arise in implementing this right.

Methods: historical, procedural and institutional analysis, behavioral and synergetic approaches, civil law method.

Results. The analysis of a normative and legal basis that regulates issues of right to medical care and its implementation has been conducted. It has been theoretically justified, that successful and dynamic development of both medical law in particular and the State as a whole depends largely on the system of legal protection for human rights quality in the field of health care and to what extent everybody can enjoy the rights given. At the same time, the legal norms in the field of health care must not remain declarations only – standards unaccompanied by creation of a system for their realization, protection and defence.

Conclusions. A greater focus needs to be placed on the legal framework improvement and actual use of the legislative provisions relating to the investigation of complaints concerning ill-treatment and violation of human dignity, a failure to provide or inappropriate medical care, inadequate custody of persons deprived of their liberty.

Key words:

the right to medical care, patient rights, health care, prisoners.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (4), 511–516

З-поміж гарантованих прав людини та основних свобод ключове місце посідає право на охорону здоров'я. Це право потребує чи не найбільшого захисту. На сучасному етапі надзвичайної актуальності набуває проблема правового регулювання відносин у сфері охорони здоров'я. Дається взнаки недостатність ґрунтовних наукових досліджень, які охопили б весь спектр правового регулювання прав людини у сфері охорони здоров'я, а також розробили б нові підходи до визначення, зокрема прав ув'язнених, їх нормативного закріплення та шляхів розв'язання проблеми реалізації, захисту цих прав. Адже, коли особа опиняється під вартою, вона фактично стає ізольованою не тільки від суспільства, а й від можливості реалізувати свої конституційні права. Опинившись у таких складних життєвих умовах, виникає особлива потреба своєчасного отримання медичної допомоги. Проблемам забезпечення права ув'язнених на належну медичну допомогу присвячували свої дослідження В. Акопов, Н. Болотіна, С. Булеца, А. Бущенко, В. Галай, А. Гель, З. Гладун, А. Гук, В. Глуховський, Є. Захаров, А. Діденко, С. Стеценко, І. Сенюта, Р. Хобор, С. Шевчук та інші.

Мета роботи

Дослідження та аналіз ключових нормативно-правових актів, якими регулюється право на медичну допомогу осіб, яких позбавили волі, та з'ясування проблем, котрі виникають під час реалізації цього права.

Методи дослідження

Застосували історичний метод для визначення етапів розвитку медичного права та соціологічний метод для аналізу статистичних даних, що опубліковані Державною кримінально-виконавчою службою. Процесуальний та інституційний аналіз зумовив розгляд нормативно визначеної діяльності основних суб'єктів медичного права. Елементи біхевіористського та синергетичного підходів для поглибленого розуміння багатфакторної природи медичного права. Цивільно-правовий метод регулювання правових відносин між пацієнтом і лікарем при наданні медичної допомоги для виявлення рівності суб'єктів правовідносин і можливості самостійного визначення своєї поведінки.

Результати

Права людини завжди залишатимуться найактуальнішою та найважливішою проблемою історичного, соціально-економічного, культурного розвитку людства. Питання правової регламентації та забезпечення прав людини постійно перебувають у центрі уваги політичної, правової, філософської, етичної та суспільної думки. Право на медичну допомогу є визначальним у системі конституційних прав громадян. Попри це організація медичного обслуговування є здебільшого незадовільною, особливо гостро це проявляється у наданні медичної допомоги особам, які позбавлені волі. Нагальні питання, на які варто звернути увагу вже сьогодні: вкрай низький рівень медичних послуг, що надаються особам, яких позбавили волі; медичні працівники не є незалежними

від керівництва місць позбавлення волі, вони – працівники відомства й нерідко нехтують професійною сумлінністю на користь вимог керівництва в'язниці. До того ж не можна оминати увагою низку нерегульованих проблем щодо використання медпрепаратів медичними структурами відомства.

Нині актуальним для України залишається питання щодо приведення законодавства про охорону здоров'я у відповідність зі світовими стандартами. Сьогодні ЄС вимагає враховувати інтереси пацієнтів у всьому, що стосується медичного обслуговування. Окрім цього, медичний персонал зобов'язаний надавати високоякісні послуги, що відповідають міжнародним стандартам [1].

Науковцями запропоновано класифікацію прав громадян у сфері охорони здоров'я та прав пацієнтів залежно від нормативно-правового закріплення в чинному законодавстві: права громадян у сфері охорони здоров'я, що містили права, котрі закріплені, зокрема в нормах Конституції України: права, які безпосередньо належать до сфери охорони здоров'я (право на життя; право на охорону здоров'я; право на медичну допомогу; право на медичне страхування); права громадян, що опосередковано стосуються охорони здоров'я (правовий захист від будь-яких незаконних форм дискримінації, пов'язаних зі станом здоров'я; оскарження неправомірних рішень і дій працівників, закладів та органів охорони здоров'я; право на відшкодування як матеріальної, так і моральної шкоди, що завдана життю та здоров'ю; право на захист у суді у випадку порушення прав громадян у галузі охорони здоров'я та прав пацієнтів тощо); загальні права пацієнтів: право на вибір методів лікування; право на вибір лікаря (зокрема, проведення консилиуму лікарів) і лікувального закладу; право на згоду або відмову від лікування; право на відкриту та конфіденційну інформацію про стан здоров'я (зокрема, право на дотримання лікарської таємниці); право на медичну експертизу; права пацієнта, який перебуває на стаціонарному лікуванні; право на забезпечення лікарськими (зокрема, імунобіологічними препаратами) та протезними засобами; спеціальні права пацієнтів: залежно від напряму медичної діяльності (права пацієнтів при трансплантації органів та інших біологічних матеріалів людини; права пацієнтів-донорів крові та її компонентів; права пацієнтів при стерилізації; права пацієнтів при проведенні штучного запліднення та імплантації ембріона тощо); залежно від особливостей хвороби пацієнта (права психічно хворих; права ВІЛ-інфікованих і хворих на СНІД; права хворих на туберкульоз; права онкологічних хворих; права хворих на діабет та ін.); залежно від особливостей окремих груп пацієнтів (права вагітних жінок і матерів; права дітей; права інвалідів; права членів сім'ї пацієнта; права військовослужбовців; права людей похилого віку; *права затриманих, ув'язнених і засуджених*; права недієздатних тощо) [5].

Отже, права осіб, яких позбавили волі, – це окрема ланка з-поміж інших прав пацієнтів у галузі охорони здоров'я. Зокрема, як вважає Н. Болотіна [2], спеціальними є права пацієнтів, що виникли під час отримання окремого виду медичної допомоги (наприклад, при штучному заплідненні), а також виділяє права неповнолітніх, ув'язнених тощо у групу «права окремих категорій пацієнтів».

Право на соціальну та медичну допомогу також закріплено у ст. 13 Європейської соціальної хартії [5]. Дотримуючись цієї норми, Україна взяла на себе зобов'язання забезпечити, щоб будь-якій особі, яка не може власними зусиллями отримати достатніх коштів або з інших джерел (допомога із соціального забезпечення), надавалась належна допомога, а в разі захворювання забезпечувалися догляд та увага, яких вимагає стан її здоров'я. Така міжнародна норма має чималий вплив на формування національних гарантій, що покликані забезпечити кожній людині в Україні отримання медичної допомоги належної якості, вона відтворена у ст. 49 Основного Закону, що розкриває право кожного на охорону здоров'я, медичну допомогу та медичне страхування. Крім Конституції України, право на медичну допомогу закріплено в Цивільному кодексі України (ст. 284 «Право на медичну допомогу»), Основах законодавства України про охорону здоров'я (п. (д) ст. 6) [6], Законі України «Про попереднє ув'язнення» тощо [10]. Що стосується підзаконних нормативно-правових актів, то слід назвати Указ Президента України «Про додаткові заходи щодо поліпшення медичної допомоги населенню України», постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження міжгалузевої комплексної програми «Здоров'я нації на 2002–2011 роки», «Про схвалення Концепції загальнодержавної програми «Здоров'я 2020: український вимір», а також «Про заходи щодо удосконалення надання екстреної медичної допомоги» тощо. Кожен представлений нормативно-правовий акт має вичерпний перелік відповідних прав, що гарантуються пацієнтам державою та реалізуються залежно від виникнення певної правової ситуації.

Додатковою правовою гарантією доступу до медичної допомоги особам, які взяті під варту, стало ухвалення спільного наказу Міністерства юстиції України та Міністерства охорони здоров'я України «Про затвердження Порядку взаємодії закладів охорони здоров'я Державної кримінально-виконавчої служби України з закладами охорони здоров'я з питань надання медичної допомоги особам, узятим під варту» від 10 лютого 2012 р. (далі – наказ) [8]. Наказ передбачає:

- 1) проходження первинного огляду всіх осіб, які прибули до слідчого ізолятора (СІЗО);
- 2) проходження медичного огляду з проведенням флюорографічного обстеження осіб, які прямують транзитом, та всіх осіб, які вибувають із СІЗО;
- 3) поточне медичне обстеження осіб, яких взяли під варту, у разі їхнього звернення зі скаргою на стан здоров'я за ініціативою лікаря медичної частини СІЗО або адміністрації СІЗО;
- 4) можливість направлення хворого до обраного закладу охорони здоров'я з орієнтовного переліку або залучення відповідного лікаря-фахівця закладу охорони здоров'я у випадках, коли лікарі медичної частини СІЗО не можуть самостійно встановити діагноз;
- 5) вільне обрання лікаря;
- 6) проведення додаткових лабораторних обстежень на базі закладів охорони здоров'я з орієнтовного переліку, які не можуть бути здійснені в медичних частинах СІЗО;
- 7) своєчасне направлення особи, яку взяли під варту, на обстеження до обраного лікарем медичної частини СІЗО закладу охорони здоров'я з орієнтовного переліку;

8) лікування в закладах охорони здоров'я, якщо за результатами огляду чи обстеження особи, яку взяли під варту, встановлено, що вона потребує надання медичної допомоги в закладі охорони здоров'я з орієнтовного переліку. Незважаючи на доволі регламентований порядок надання медичної допомоги особам, яких узяли під варту, адвокатська практика свідчить, що ці норми є декларативними та переважно непридатними до реалізації [8].

Розглядаючи проблематику доступу до медичної допомоги в умовах, коли особа перебуває під вартою, необхідно звернути увагу на попереднє зауваження Європейського комітету з питань запобігання катуванням чи нелюдському або такому, що принижує гідність, поводженню чи покаранню під час візиту комітету до України [7]. Важливо відзначити, що порушення права на медичну допомогу осіб, яких узяли під варту, необхідно розцінювати не як просте порушення прав людини, а як катування чи нелюдське або таке, що принижує гідність, поводження. При цьому для того, щоб поводження було визнане «нелюдським» або «таким, що принижує гідність», страждання або приниження, пов'язані з ними, повинні так чи інакше являти собою щось більше, ніж неминучий елемент страждань або принижень, пов'язаний з тією або іншою формою законного покарання [11].

Подібний висновок ґрунтується на третій Загальній Доповіді (СРТ/Inf (93)12) Комітету з питань запобігання катуванням чи нелюдському або такому, що принижує гідність, поводженню чи покаранню, де вказується, що критерієм при визнанні застосування до людини катування чи нелюдського або такого, що принижує гідність, поводження чи покарання є [13]:

- a. доступ до лікаря;
 - b. неупереджене медичне обслуговування;
 - c. згода пацієнта та конфіденційність;
 - d. профілактика захворювань;
 - e. гуманітарна допомога;
 - f. професійна незалежність;
 - g. професійна компетентність.
- Прикладом успішного подолання подібних проблем є рішення Європейського суду з прав людини, як-от: *Dankevich v. Ukraine* (judgment of 29 April 2003), *Naumenko v. Ukraine*, *Kucheruk v. Ukraine* (judgment of 6 September 2007), *Melnik v. Ukraine* (judgment of 26 March 2006), *Yakovenko v. Ukraine* (judgment of 25 October 2007) [12].

Основні вимоги щодо медичного забезпечення ув'язнених і засуджених регламентовані Європейськими в'язничними правилами та національним законодавством України. Відповідно до вимог Європейських в'язничних правил організація медичного обслуговування в пенітенціарних закладах повинна здійснюватися з урахуванням низки приписів, зокрема: медичні служби у пенітенціарних установах повинні тісно співпрацювати з загальною адміністрацією охорони здоров'я національного або місцевого рівня; хворі в'язні, які потребують допомоги спеціаліста, госпіталізуються у спеціалізовані установи або звичайні лікарні. Якщо установа має власне лікувальне відділення, його обладнання та ліки мають бути достатніми для забезпечення медичного обслуговування та лікування хворих в'язнів; в'язні не повинні використовуватись для експериментів, що можуть призвести до фізичної або моральної шкоди; коли це практично можливо – слід вживати заходи для того, щоб пологи приймалися не

у в'язниці, а у звичайній лікарні. В іншому випадку пенітенціарна установа повинна мати персонал та обладнання, що необхідні для прийняття пологів та післяпологового догляду. Медичний і санітарний персонал: кожний пенітенціарний заклад повинен мати не менше одного лікаря загальної медичної практики, який має відповідну кваліфікацію; вживати заходи щодо забезпечення у випадках термінової необхідності невідкладної допомоги лікарем, який має відповідну кваліфікацію; кожна пенітенціарна установа повинна мати персонал із належною медичною підготовкою; послуги кваліфікованих дантистів та окулістів повинні бути доступні кожному ув'язненому [3]. На лікаря покладається ряд обов'язків: лікар або кваліфікована медична сестра обстежує кожного ув'язненого за першої нагоди; лікар або кваліфікована медична сестра обстежує ув'язненого на його прохання, а також оглядає всіх ув'язнених, якщо буде необхідність [4].

З вище наведеного зробимо висновок: рівень забезпечення в нашій державі права на медичну допомогу особам, яких позбавили волі, – вкрай низький. Даються взнаки проблеми щодо недостатнього фінансування з боку держави, відсутність необхідної кількості кваліфікованих медичних працівників і невідповідність медичних препаратів встановленим нормам і стандартам. Не варто забувати у цій ситуації і про людський фактор. Адже самі медичні працівники та інші особи, які працюють в установах виконання покарань, дуже часто порушують права засуджених, нехтують нормами права та моралі. Подібні випадки є неприпустимими й потребують постійного посиленого контролю з боку держави.

Урядом схвалено Концепцію реформування (розвитку) пенітенціарної системи України, метою якої є дальше реформування пенітенціарної системи задля беззаперечного дотримання прав людини та громадянина й гуманізації кримінально-виконавчого механізму. Результати проведення аналізу наповненості установ виконання покарань і слідчих ізоляторів свідчать: протягом тільки 2015 року – I кварталу 2017 року чисельність осіб, які відбували покарання в установах виконання покарань, зменшилася в 1,4 раза, а чисельність осіб, які утримувалися у слідчих ізоляторах, навпаки збільшилася в 1,2 раза. Внаслідок зменшення чисельності засуджених, яке відбулося протягом останнього часу, установи виконання покарань стали напівпорожніми, а деякі з них – майже порожніми. Так, протягом 2016 року – I кварталу 2017 року чисельність засуджених, які відбували покарання у восьми установах виконання покарань Вінницької області, зменшилась на 452 особи, а штатна чисельність персоналу залишилась незмінною. Отже, на одного штатного представника колонії в середньому припадало 1,75 відсотка засуджених [9]. Статистичні дані показують нестабільну ситуацію щодо своєчасності та належного рівня надання медичної допомоги особам, яких позбавили волі, оскільки захворюваність та смертність такої окремої групи населення не зменшується.

Окремо слід звернути увагу на групу справ, у яких Європейським Судом із прав людини (далі – ЄСПЛ) встановлено нелюдське поводження, пов'язане з недостатнім і несвоєчасним наданням медичної допомоги особам, які перебувають під вартою або засуджені.

Наприклад, у справі «Текін проти Туреччини» (Tekin v. Turkey) від 9 червня 1998 р. Суд визнав поводження нелюдським і таким, що принижує гідність щодо заявника, який мав тільки одну нирку, але при цьому утримувався протягом чотирьох днів у камері без їжі, води, ліжка та теплої ковдри при температурі нижче нуля [15]. У справі «Істратій та інші проти Молдови» (Istratii and Others v. Moldova) від 27 березня 2007 р. нелюдське і таке, що принижує гідність, поводження встановлено Судом щодо заявника, який перебував у СІЗО, та якому, по-перше, несвоєчасно була надана невідкладна медична допомога в надзвичайній для його здоров'я ситуації, а, по-друге, його примусово та всупереч проханням лікарів одразу після операції перевезли до тюремної лікарні, де не було відповідного догляду [14].

Також, як приклад, наведемо справу Рамірез Санчез проти Франції. Заявник оскаржував умови ув'язнення, але Європейським судом скарга не була задоволена. Рамірез Санчез, який відомий під кличкою «шакал», був причетний до кількох терористичних актів у Франції у 70-х роках. Перебуваючи під слідством за підозрою в терористичній діяльності і будучи довільно ув'язненим за вбивство двох поліцейських, він певний період часу відбував покарання в одиночному ув'язненні. Режим одиночного ув'язнення означав, що заявник відбував покарання один у камері площею 6,84 м², за його словами, напівзруйнованій і погано ізольованій. Він не мав права контактувати з іншими ув'язненими та тюремними наглядачами; міг тільки мати вдень двогодинну прогулянку на самоті. У ЄСПЛ Рамірез Санчез оскаржував умови та тривалість такого ув'язнення, жалючись на повну ізоляцію та посилюючись на ст. 3 Європейської конвенції про захист прав людини та основоположних свобод. Страсбурзький суд не визнав порушення ст. 3 в цьому випадку, констатуючи, що заявник перебував у камері, яка була достатньо великою для одного заявника, містила ліжко, стіл, місце для вмивання і туалет, а також вікно, через яке потрапляло до камери денне світло. Суд підкреслив, що в заявника був доступ до газет, книг і телевізора, а також йому надавали щоденну двогодинну прогулянку та можливість займатися у тренажерному залі протягом години на день. Суд далі відзначив, що двічі на тиждень до заявника навідувався лікар, один раз у місяць – священник, а також дуже часто один або кілька з його захисників, включаючи його дружину, яка також представляла його інтереси в суді. Сім'я заявника ніколи не обмежувалася у відвідинах ув'язненого, який жодного разу не просив про такий візит. Тільки у двох клопотаннях щодо візитів журналістів йому було відмовлено. За таких обставин ЄСПЛ визнав: заявник був не в абсолютній повній ізоляції, а в частковій, що відповідає його покаранню.

Висновки

1. Сьогодні однією з невирішених проблем залишається забезпечення права ув'язнених на належну медичну допомогу. Необхідно зосередити більше уваги на вдосконаленні правової системи та фактичному використанні законодавчих положень, котрі стосуються розслідування скарг стосовно жорстокого поводження

та приниження гідності, ненадання або неналежного надання медичної допомоги, неналежних умов тримання під вартою осіб, які позбавлені волі.

2. Залишається актуальним питання забезпечення системою медико-санітарних та оздоровчо-профілактичних заходів, а також поєднання безоплатних і платних форм медичної допомоги для осіб, які відбувають покарання.

3. Для нашої країни на сучасному етапі важливо досягти максимального вдосконалення законодавчої бази та збільшення рівня державного контролю за пенітенціарними установами.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з вивченням рівня готовності керівників закладів охорони здоров'я використовувати набуті знання з медичного права у практичній діяльності.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 08.02.2019

Після доопрацювання / Revised: 11.03.2019

Прийнято до друку / Accepted: 02.04.2019

Відомості про авторів:

Волошин Ю. О., д-р юрид. наук, професор, декан факультету міжнародних відносин, Національний авіаційний університет, заслужений юрист України, м. Київ.

Карпачова Н. І., канд. юрид. наук, професор, Київський університет права НАН України, заслужений юрист України, м. Київ.

Замула А. Ю., канд. юрид. наук, доцент каф. міжнародного права, Національний авіаційний університет, м. Київ, Україна.

Сведения об авторах:

Волошин Ю. А., д-р юрид. наук, профессор, декан факультета международных отношений, Национальный авиационный университет, заслуженный юрист Украины, г. Киев.

Карпачева Н. И., канд. юрид. наук, профессор, Киевский университет права НАН Украины, заслуженный юрист Украины, г. Киев.

Замула А. Ю., канд. юрид. наук, доцент каф. международного права, Национальный авиационный университет, г. Киев, Украина.

Information about authors:

Voloshyn Yu. O., DSc, Professor, Dean of the Faculty of International Relations, National Aviation University, Honored Lawyer of Ukraine, Kyiv, Ukraine.

Karpachova N. I., PhD, Professor, Kyiv University of Law of the National Academy of Sciences of Ukraine, Honored Lawyer of Ukraine, Kyiv, Ukraine.

Zamula A. Yu., PhD, Associate Professor of the Department of International Law, National Aviation University, Kyiv, Ukraine.

Список літератури

- [1] Застосування в Україні європейських стандартів протидії жорсткому поводженню і безкарності. Науково-практичний посібник для суддів / Н. М. Ахтирська, В. В. Касько, Б. А. Маланчук та ін. Київ : К.І.С., 2011. 321 с.
- [2] Болотіна Н. Б. Пациент: поняття, права та обов'язки. *Правова держава*. 2003. №14. С. 305–308.
- [3] Гладун З. С. Законодавство України про охорону здоров'я: поняття, зміст, проблеми і перспективи. *Законодавство України про охорону здоров'я: збірник нормативних актів*. Київ : Юрінком Інтер, 2011. С. 8–16.
- [4] Європейські в'язничні правила 1987 р. №994_032 (редакція від 11.01.2006 р.) *Офіційний вісник України*. 2006. №32. Ст. 270.

- [5] Європейська соціальна хартія від 3 травня 1996 р. №994_062 (редакція від 07.09.2016 р.) URL.: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/994_062
- [6] Основи законодавства України про охорону здоров'я від 19 листопада 1991 р. №2801-XII (редакція від 01.01.2019 р.) URL.: <http://zakon1.rada.gov.ua/laws/show/2801-12>
- [7] Попереднє зауваження Європейського комітету з питань запобігання катуванням чи нелюдському або такому, що принижує гідність, поводженню чи покаранню (Заява пана Латіфа Хусейнова, голови делегації ЄКПТ, від 6 грудня 2011 р. за результатами офіційного візиту Європейського комітету проти тортур (ЄКПТ) до України (у період з 29 листопада до 6 грудня 2011 р.). URL.: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/994_a64/
- [8] Про затвердження Порядку взаємодії закладів охорони здоров'я Державної кримінально-виконавчої служби України із закладами охорони здоров'я з питань надання медичної допомоги особам, узятим під варту : наказ Міністерства юстиції України та Міністерства охорони здоров'я України від 10 лютого 2012 р. URL.: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/z2012-12/>
- [9] Про схвалення Концепції реформування (розвитку) пенітенціарної системи України від 2017 р. URL.: <http://zakon.rada.gov.ua/laws/show/654-2017-%D1%80>
- [10] Про попереднє ув'язнення : Закон України від 30 червня 1993 р. №3352-XII (редакція від 04.11.2018 р.) URL.: <http://zakon1.rada.gov.ua/laws/show/3352-12/>
- [11] Шевчук С. Судовий захист прав людини: Практика Європейського Суду з прав людини у контексті західної правової традиції. Київ : Реферат, 2017. С. 155.
- [12] Dankevich v. Ukraine judgment of 29 April 2003, Naumenko v. Ukraine, Kucheruk v. Ukraine judgment of 6 September 2007, Melnik v. Ukraine judgment of 26 March 2006, Yakovenko v. Ukraine judgment of 25 October 2007. URL.: <http://www.echr.coe.int/ECHR/AlphabeticalIndex.aspx>
- [13] European Committee for the Prevention of Torture and Inhuman or Degrading Treatment or Punishment. URL.: <https://www.coe.int/en/web/cpt>
- [14] Istratii and Others v. Moldova від 27.03.2007. European Court of Human Rights; 2019. URL.: <http://hudok.echr.coe.int/eng?i=001-79910>
- [15] Tekin v Turkey від 09.06.1998. European Court of Human Rights; 2019. URL.: <http://hudok.echr.coe.int/eng?i=001-58196>

References

- [1] Akhtyrskaya, N. M., Kasko, V. V., Malanchuk, B. A., Melikian, A., Poshva, B. M., Fulei, T. I., & Shuklina, N. H. (2011). *Zastosuvannia v Ukraini evropeiskykh standartiv protydiv zhorstokomu povodzhenniu i bezkarnosti. Naukovo-praktychnyi posibnyk dlia suddiv [Application in Ukraine of European standards for combating ill-treatment and impunity. Scientific and practical manual for judges]*. Kyiv: K. I. S. [in Ukrainian].
- [2] Bolotina, N. B. Patsient: poniattia, prava ta oboviazky (2003) Patsient: poniattia, prava ta oboviazky [Patient: concept, rights and responsibilities]. *Pravova derzhava*, 14, 305–308. [in Ukrainian].
- [3] Hladun, Z. S. (2011). *Zakonodavstvo Ukrainy pro okhoronu zdorovia: poniattia, zmist, problemy i perspektivy [Legislation of Ukraine on health care: concept, content, problems and prospects]. Legislation of Ukraine on health care, (P. 8–16)*. Kyiv: Yurinkom Inter. [in Ukrainian].
- [4] (2006) Yevropeiski viaznychni pravyla 1987. №994_032 (redaktsia vid 11.01.2006 r.) [European Prison Rules from 1987, №994_032 (from January 11, 2006)]. *Ofitsiinyi visnyk Ukrainy*, 32, 270. [in Ukrainian].
- [5] Evropeiska sotsialna khartiia vid 3 travnia 1996 r. №994_062 (redaktsia vid 07.09.2016). [European Social Charter from May 3, 1996 №994_062 (from September 7, 2016)]. Retrieved from http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/994_062 [in Ukrainian].
- [6] Osnovy zakonodavstva Ukrainy pro okhoronu zdorovia vid 19 lystopada 1991 r. №2801-XII vid 01.01.2019 [Bases of the legislation of Ukraine on health care from November 19, 1991 №2801-XII (from January 1, 2019)]. Retrieved from <http://zakon1.rada.gov.ua/laws/show/2801-12> [in Ukrainian].
- [7] Poperednie zauvazhennia Evropeiskoho komitetu z pytan zapobihannia katuvanniam chy neljudskomu abo takomu, shcho prynyzhue hidnist, povodzhenniu chy pokaranniu (Zaiava pana Latifa Khuseinova, holovi delehatsii EKPT, vid 6 hrudnia 2011 r. za rezultatamy ofitsiinoho vyzytu Evropeiskoho komitetu proty tortur (EKPT) do Ukrainy (u period z 29 lystopada po 6 hrudnia 2011 r.)). [Preliminary remark by the European Committee for the Prevention of Torture and Inhuman or Degrading Treatment or Punishment (Statement by Mr. Latifa Husseinova, Head of the CPT delegation, dated December 6, 2011, following the official visit of the European Committee against Torture (CPT) to Ukraine (from November 29 to December 6, 2011)]. Retrieved from http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/994_a64/ [in Ukrainian].
- [8] Pro zatverdzhennia Poriadku vzajemodii zakladiv okhorony zdorovia Derzhavnoi kryminalno-vykonavchoi sluzhby Ukrainy iz zakladamy okhorony zdorovia z pytan nadannia medychnoi dopomohi osobam,

- uziatym pid vartu: nakaz Ministerstva yustytzii Ukrainy ta Ministerstva okhorony zdorovia Ukrainy vid 10 liutoho 2012 r. [Order of the Ministry of Justice of Ukraine and the Ministry of Health of Ukraine On Approval of the Procedure for the Interaction of Health Care Institutions of the State Criminal Execution Service of Ukraine with Health Care Institutions on the Issues of Medical Assistance to Persons in Detention from February 10, 2012.]. Retrieved from <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/z0212-12/> [in Ukrainian].
- [9] Pro skhvalennia Kontseptsii reformuvannia (rozvytku) penitentsiarnoi systemy Ukrainy vid 2017 r. [On approval of the Concept of reforming (development) of the penitentiary system of Ukraine from 2017]. Retrieved from <http://zakon.rada.gov.ua/laws/show/654-2017-%D1%80> [in Ukrainian].
- [10] Pro poperednie uviaznennia: Zakon Ukrainy vid 30 chervnia 1993 r. №3352-XII (redaktsia vid vid 04.11.2018 p.) [On pre-trial detention: Law of Ukraine from 30 June, 1993 №3352-XII (from November 4, 2018)]. Retrieved from <http://zakon1.rada.gov.ua/laws/show/3352-12/> [in Ukrainian].
- [11] Shevchuk, S. (2017) *Sudovyi zakhyst prav liudyny: Praktyka Evropeiskoho Sudu z prav liudyny u konteksti zakhidnoi pravovoi tradytzii [Judicial protection of human rights: The practice of the European Court of Human Rights in the context of the Western legal tradition]*. Kyiv: Referat. [in Ukrainian].
- [12] Dankevich v. Ukraine judgment of 29 April 2003, Naumenko v. Ukraine, Kucheruk v. Ukraine judgment of 6 September 2007, Melnik v. Ukraine judgment of 26 March 2006, Yakovenko v. Ukraine judgment of 25 October 2007. Retrieved from <http://www.echr.coe.int/ECHR/AlphabeticalIndex.aspx>
- [13] European Committee for the Prevention of Torture and Inhuman or Degrading Treatment or Punishment. Retrieved from <https://www.coe.int/en/web/cpt>
- [14] Istratii and Others v. Moldova vid 27.03.2007. European Court of Human Rights; 2019. Retrieved from <http://hudok.echr.coe.int/eng?i=001-79910>
- [15] Tekin v Turkey vid 09.06. 1998. European Court of Human Rights; 2019. Retrieved from <http://hudok.echr.coe.int/eng?i=001-58196>

Quantitative determination of 0.05 % chlorhexidine solution by capillary electrophoresis

A. M. Sampiev*^{1,A,E,F}, N. A. Davitavian^{1,A-D}, Ye. B. Nikiforova^{1,A-D}, Yu. F. Yakuba^{2,C,E}

¹Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation, ²North Caucasian Federal Scientific Centre of Horticulture, Viticulture, Winemaking, Krasnodar, Russian Federation

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

The aim of the work was to estimate the quantitative content of 0.05 % chlorhexidine solution by capillary electrophoresis.

Materials and methods. The object of the study was the drug 0.05 % solution of chlorhexidine for local and external use of pharmacopoeia quality. The study was carried out on a Kapel-104T device, equipped with an ultraviolet photometric detector and personal computer with the Multichrom software. Electrophoretic determination of the quantitative content of chlorhexidine was carried out in the UV region of the spectrum at a wavelength of 254 nm with a positive voltage on a capillary of 16 kV and a recommended capillary thermostating from 20 °C to 30 °C. The sample was introduced in pneumatical mode in the 30 mbar for 5 seconds. The analysis time was 5 minutes. As the leading electrolyte an aqueous solution consisting of 0.6 % solution of imidazole, 0.6 % solution of sodium tetraborate and 0.5 % solution of tartaric acid were used. The determination of chlorhexidine in the test solution was carried out in the UV spectral region at a wavelength of 254 nm, since at this wavelength one of the absorption maxima of the indicated drug was observed.

Results. The validation analysis showed that the technique is characterized by specificity, linearity in the concentration range from 100 µg/ml to 700 µg/ml ($y = 0.3438x - 12.4789$; $r = 0.9913$), accuracy for chlorhexidine levels of 80–120 % ($R = 98.82-100.44$ %), precision ($S_r = 0.44-0.61$ %). The relative error of the result of separate determination of chlorhexidine in 0.05 % solution using capillary electrophoresis was 1.28 %.

Conclusions. Quantitative determination of 0.05 % chlorhexidine solution by capillary electrophoresis was carried out and the parameters of the validation of the electrophoretic technique were established. The proposed electrophoretic conditions can serve as the basis for the development of methods for the quantitative determination of chlorhexidine bigluconate as part of this drug.

Key words: chlorhexidine, capillary zone electrophoresis, biguanides, amidines, antiseptics.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (4), 517–521

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.4.173352

*E-mail: sampiev_abdul@mail.ru

Кількісне визначення 0,05 % розчину хлоргексидину методом капілярного електрофорезу

A. M. Сампів, Н. А. Давітавян, О. Б. Нікіфорова, Ю. Ф. Якуба

Мета роботи – оцінювання кількісного вмісту 0,05 % розчину хлоргексидину методом капілярного електрофорезу.

Матеріали та методи. Об'єкт дослідження – лікарський препарат 0,05 % розчин хлоргексидину для місцевого та зовнішнього застосування фармакопейної якості. Дослідження виконали на приладі Капель-104Т, що обладнаний ультрафіолетовим фотометричним детектором, який працює при довжині хвилі 254 нм, а також кварцевим капіляром завдовжки 0,5 м до детектора, з внутрішнім діаметром 75 мкм, джерелом високої напруги позитивної полярності з регульованою напругою від 1 кВ до 25 кВ і персональним комп'ютером із програмним забезпеченням Мультіхром. Електрофоретичне визначення кількісного вмісту хлоргексидину в 0,05 % розчині для місцевого та зовнішнього застосування виконали при позитивній напрузі на капілярі 16 кВ і рекомендованому термостатуванні капіляра від 20 °C до 30 °C. Введення проб здійснювали пневматично в режимі 30 мБар протягом 5 секунд. Час аналізу – 5 хвилин. Як провідний електроліт застосовували водний розчин, що складається з 0,6 % розчину імідазолу, 0,6 % розчину натрію тетраборату та 0,5 % розчину кислоти винної. Визначення хлоргексидину в розчині, що вивчали, виконали в УФ-області спектра при довжині хвилі 254 нм, оскільки при цій довжині хвилі спостерігали один із максимумів поглинання цього лікарського препарату.

Результати. Валідаційний аналіз показав, що методика характеризується специфічністю, лінійністю в діапазоні концентрації від 100 мкг/мл до 700 мкг/мл ($y = 0,3438x - 12,4789$; $r = 0,9913$), правильністю для вмісту хлоргексидину 80–120 % ($R = 98,82-100,44$ %), прецизійністю ($S_r = 0,44-0,61$ %). Відносна похибка результатів окремого визначення хлоргексидину в 0,05 % розчину з використанням капілярного електрофорезу становила 1,28 %.

Висновки. Виконали кількісне визначення 0,05 % розчину хлоргексидину методом капілярного електрофорезу. Запропонували електрофоретичні умови, котрі можуть бути основою для розроблення методики кількісного визначення хлоргексидину біглюконату у складі цього лікарського препарату.

Ключові слова: хлоргексидин, капілярний електрофорез, бігуанідини, амідини, антисептичний засіб.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 517–521

Количественное определение 0,05 % раствора хлоргексидина методом капиллярного электрофореза

A. M. Сампиев, Н. А. Давитавян, Е. Б. Никифорова, Ю. Ф. Якуба

Цель работы – оценка количественного содержания 0,05 % раствора хлоргексидина методом капиллярного электрофореза.

Материалы и методы. Объект исследования – лекарственный препарат 0,05 % раствор хлоргексидина для местного и наружного применения фармакопейного качества. Исследование проводили на оборудовании Капель-104Т, оснащённом ультрафиолетовым фотометрическим детектором, работающим при длине волны 254 нм, а также кварцевым

Ключевые слова: хлоргексидин, капиллярный электрофорез, бигуанидины, амидины, антисептическое средство.

капилляром длиной 0,5 м до детектора, внутренним диаметром 75 мкм, источником высокого напряжения положительной полярности с регулируемым напряжением от 1 кВ до 25 кВ и персональным компьютером с программным обеспечением Мультихром. Электрофоретическое определение количественного содержания хлоргексидина в 0,05 % растворе для местного и наружного применения проводили при положительном напряжении на капилляре 16 кВ и рекомендуемом термостатировании капилляра от 20 °С до 30 °С. Ввод пробы осуществляли пневматически в режиме 30 мБар в течение 5 секунд. Время анализа – 5 минут. В качестве ведущего электролита использовали водный раствор, состоящий из 0,6 % раствора имидазола, 0,6 % раствора натрия тетрабората и 0,5 % раствора кислоты винной. Определение хлоргексидина в изучаемом растворе проводили в УФ-области спектра при длине волны 254 нм, так как при этой длине волны наблюдали один из максимумов поглощения указанного лекарственного препарата.

Результаты. Валидационный анализ показал, что методика характеризуется специфичностью, линейностью в диапазоне концентраций от 100 мкг/мл до 700 мкг/мл ($y = 0,3438x - 12,4789$; $r = 0,9913$), правильностью для уровней содержания хлоргексидина 80–120 % ($R = 98,82-100,44$ %), прецизионностью ($S_r = 0,44-0,61$ %). Относительная ошибка результата отдельного определения хлоргексидина в 0,05 % растворе с использованием капиллярного электрофореза составила 1,28 %.

Выводы. Проведено количественное определение 0,05 % раствора хлоргексидина методом капиллярного электрофореза и установлены параметры валидации электрофоретической методики. Предложенные электрофоретические условия могут быть основой для разработки методики количественного определения хлоргексидина биглюконата в составе данного лекарственного препарата.

Introduction

Chlorhexidine is one of the leading antiseptics of a wide spectrum of action, represented on the Russian pharmaceutical market. In its chemical structure, chlorhexidine refers to the derivatives of biguanidine and amidine and is N,N'-bis(4-chlorophenyl)-3,12-diimino-2,4,11,13-tetraazatetradecanediiimidamide, available as acetate, dihydrochloride and di-D-gluconate [1].

Chlorhexidine, which has been used for more than half a century as a curative and therapeutic-prophylactic antiseptic and disinfectant for various infections. It is now widely used in disinfectological, surgical, obstetric-gynecological, dental, dermatologereal and urological practices [1–3].

The undoubted advantages of this drug are the high pharmacological activity against a wide range of microorganisms and the lack of resistance to it, low degree of absorption through undamaged skin, and its availability in terms of value [4,5]. It should be noted that the assortment list of drugs containing chlorhexidine as an active ingredient is quite diverse. This drug is presented in the form of liquid, solid and soft dosage forms. At the same time, the most popular and affordable for the consumer is 0.05 % solution of chlorhexidine for local and external use [6–9]. The latter is listed in the list of vital and essential medicines for medical use for 2018 and is characterized by fairly large share of the presence in the pharmacy nomenclature.

The wide prevalence of 0.05 % solution of chlorhexidine in the pharmaceutical market makes it necessary to carefully monitor its quality. In this regard, special attention of researchers is focused on the introduction of modern and rapid methods of pharmaceutical analysis of drugs containing chlorhexidine.

At present, both physical-chemical and chemical methods of pharmaceutical analysis are used to evaluate the quantitative content of chlorhexidine in solution [10–12]. In this case, UV-spectrophotometry serves as a reference method in the domestic practice of quality control of given drug [11]. At the same time, foreign sources of scientific information contain data on the possibility of analyzing chlorhexidine in various drugs by acid-base titration in protogenic solvent medium, as well as using HPLC and capillary electrophoresis [10,12–14]. Among these methods, capillary electrophoresis is the most promising in controlling the quality of drugs containing chlorhexidine, and its advantages are well known and described in numerous scientific works [15–18].

The purpose

The purpose of this work was to assess the quantitative content of 0.05 % chlorhexidine solution by capillary electrophoresis.

Materials and methods

The object of the study was the drug 0.05 % solution of chlorhexidine for local and external use of pharmacopoeia quality. The standard sample (SS) of solution of chlorhexidine (20 %, Sigma), imidazole (95 %, Sigma), sodium tetraborate (99.5 %, Sigma), tartaric acid (99.5 %, Sigma), hydrochloric acid (puriss., Vecton), sodium hydroxide (puriss., Vecton) were also used in the work. Purified water used for analysis was obtained by distillation on a DE-4 distiller.

The study was performed using capillary ion electrophoretic analyzer (capillary electrophoresis device Kapel-104T, OJSC RPC Lumex, Russia) equipped with an ultraviolet photometric detector operating at a wavelength of 254 nm, and a quartz capillary 0.5 m long to the detector, internal diameter of 75 micrometers, a source of high voltage of positive polarity with adjustable voltage from 1 kV to 25 kV and a personal computer with the software Multichrome.

To evaluate the quantitative content of 0.05 % solution of chlorhexidine by means of capillary electrophoresis, the drug was not diluted. To prepare a solution of SS of chlorhexidine, 0.5 ml of a 20 % solution of chlorhexidine was placed in a 200 ml volumetric flask, the volume of the solution was adjusted to the mark with water and mixed. The analyzed samples of the test and standard solutions with a volume of 1 nl were dosed into the device at least three times and electrophoretograms were recorded.

Electrophoretic determination of the quantitative content of chlorhexidine in 0.05 % solution for local and external use was performed with a positive voltage on 16 kV capillary and recommended capillary thermostating from 20 °C to 30 °C. The sample was introduced in pneumatical mode in the 30 mbar for 5 seconds. The analysis time was 5 minutes. As the leading electrolyte we used an aqueous solution consisting of 0.6 % solution of imidazole, 0.6 % solution of sodium tetraborate and 0.5 % solution of tartaric acid. The prepared solution was used during the working day. Between the tests, the capillary was successively rinsed for 2 minutes with each reagent. Initially, washed with a 1 M solution of hydrochloric acid, then purified water, 1 M solution

of sodium hydroxide and again purified water, and then with a leading electrolyte. The determination of chlorhexidine in the solution was carried out in the UV region of the spectrum at a wavelength of 254 nm, since at this wavelength one of the absorption maxima of the indicated drug was observed.

The content of chlorhexidine bigluconate in 1 ml of the drug in micrograms (X) was calculated by the formula:

$$X = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot P}{S_0 \cdot 200}$$

S_0 : is the peak area on the electrochromatogram of the solution of SS of chlorhexidine bigluconate; S_1 : is the peak area of chlorhexidine bigluconate on the chromatogram of the drug; a_0 : is a sample of SS of chlorhexidine bigluconate, ml; a_1 : is a sample of SS of chlorhexidine bigluconate, ml; P: is a content of chlorhexidine bigluconate in SS of chlorhexidine bigluconate, %.

The content of chlorhexidine bigluconate in 1ml of 0.05 % solution of the drug should be from 450 μ g to 550 μ g.

To test the suitability of the electrophoretic system, at least 3 electrophoregrams of the solution of SS of chlorhexidine were obtained. Established criteria related to the reliability of determining the beginning and end of the peak of the analyte, as well as criteria that characterize the separation ability of the system and the reproducibility of measurement results (Table 1).

An electrophoretic system is considered suitable if, during electrophotometry of a chlorhexidine SS solution, the number of theoretical plates are not less than 10000, the tailing factor of a peak is not more than 2, the resolution between two peaks must be at least 3.0; relative standard deviation of the peak area is not more than 2 %.

Thus, according to the data reflected in table 1, it is clear that the suitability of the electrophoretic system

meets the requirements of domestic and international documents.

The validation of the electrophoretic technique for the quantitative determination of chlorhexidine bigluconate in 0.05 % solution was carried out in accordance with the requirements of domestic and international standards for the following parameters: Specificity, Linearity, Accuracy and Precision [19–21].

Results

Determination of the specificity of the electrophoretic technique was carried out by comparative analysis of electrophoregrams of SS chlorhexidine (Fig. 1) with 0.05 % solution of chlorhexidine for local and external application (Fig. 2), which revealed the coincidence of chlorhexidine peaks in the test and standard solutions by migration time.

In addition, as seen in Fig. 2, the peak of chlorhexidine is distinctly separated from related impurities. Thus, the above electrophoretic conditions for the analysis of 0.05 % solution of chlorhexidine are useful for the quantitative determination of chlorhexidine by the method of capillary electrophoresis.

A further stage of the study was confirmation of the linearity of the electrophoretic technique (Fig. 3).

The linear dependence of the photometric signal on the concentration of chlorhexidine observed in the concentration range from 100 μ g/ml to 700 μ g/ml was approximated by the method of least squares by the linear equation: $y = 0.3438x - 12.4789$. The correlation coefficient was 0.9913, which meets the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIII edition ($r \geq 0.99$).

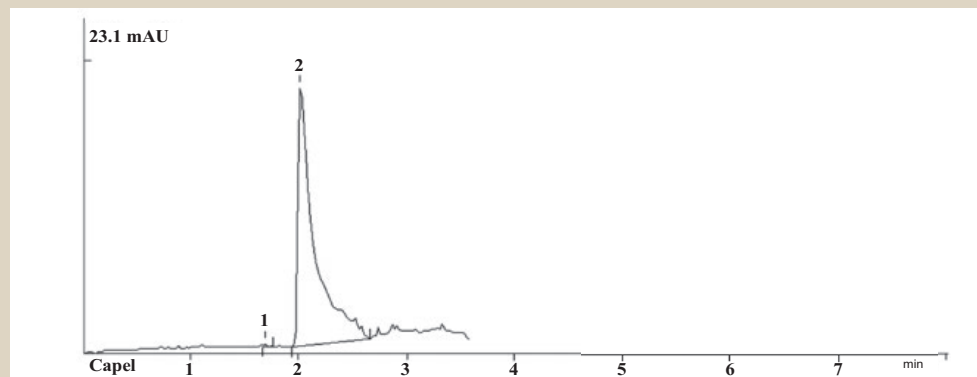


Fig. 1. Electrophoregram of the solution of SS of chlorhexidine (peak 2 – chlorhexidine).

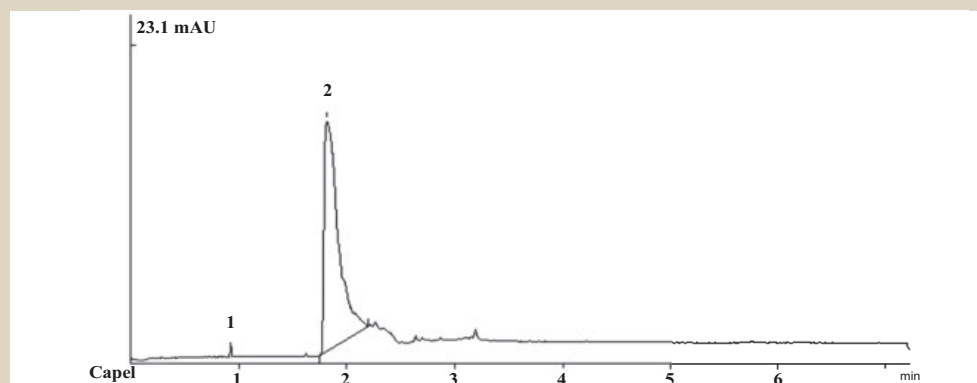


Fig. 2. Electrophoregram of 0.05% chlorhexidine solution (peak 2 – chlorhexidine).

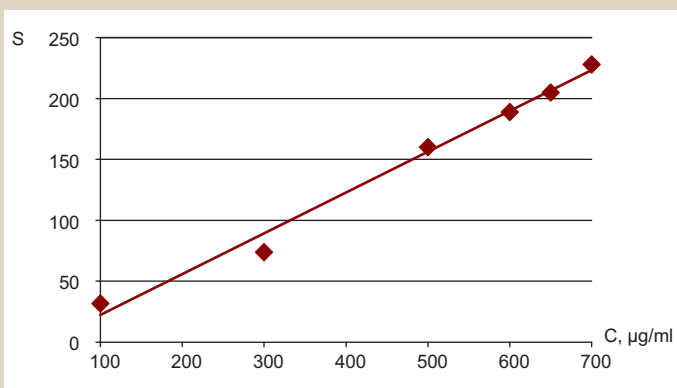


Fig. 3. Calibration graph of the peak area dependence on the chlorhexidine concentration in the solution.

Table 1. The results of determining the basic parameters of the suitability of the electrophoretic system

Suitability parameter	Installed value	Eligibility criteria [20,21]
Tailing factor (T)	1.80 ± 0.02	T ≤ 2
Number of theoretical plates (N)	11025 ± 832	N ≥ 2000
Resolution (Rs)	3.50 ± 0.18	Rs ≥ 1.5
Relative standard deviation (RSD)	1.50 ± 0.12	RSD ≤ 2.0 %

Table 2. Results of quantitative determination of chlorhexidine in model mixtures

Content chlorhexidine in a 0.05 % solution, µg/ml	The concentration (µg/ml) of the introduced solution of SS of chlorhexidine	Expected content of chlorhexidine in the model mixture (µg/ml)	The sum of the peak areas of the test solution with a standard additive	Found (µg/ml)	Found (µg/ml), average value	Recovery (R), in %	Mean recovery (R), in %
533	400	933	306	925	926	99.14	99.25
533	400	933	307	930		99.68	
533	400	933	305	922		98.82	
533	500	1033	342	1032	1032	99.90	99.90
533	500	1033	343	1035		100.19	
533	500	1033	342	1030		99.71	
533	600	1133	376	1129	1134	99.64	100.09
533	600	1133	379	1138		100.44	
533	600	1133	378	1136		100.26	

Table 3. Results of validation of the electrophoretic technique in the parameter Precision (intermediate precision) in model mixtures

Sample number	The content of chlorhexidine, µg/ml (day 1)	Metrological characteristics	The content of chlorhexidine, µg/ml (day 2)	Metrological characteristics
1	534	$\bar{X} = 531$	527	$\bar{X} = 528$
2	529	S = 2.3238	531	S = 3.2249
3	528	$S_x = 0.9485$	526	$S_x = 1.3163$
4	532	$S_r = 0.44$	530	$S_r = 0.61$
5	533	$\Delta\bar{X} = 5.97$	533	$\Delta\bar{X} = 7.90$
6	531	$\Delta\bar{X} = 2.43$	525	$\Delta\bar{X} = 3.38$

Table 4. Results of statistical processing of the method for quantitative determination of 0.05 % solution of chlorhexidine (n = 6, P = 95 %) in real samples

Metrological characteristics						
\bar{X} , µg/ml	f	S	S_x	T (P,f)	ΔX	ϵ
529	5	2.6458	1.0801	2.57	6.79	1.28

Thus, the calibration graph illustrated in Fig. 3, the linear regression equation and the correlation coefficient allow us to conclude that the proposed technique has a linear dependence.

Determination of the validity of the electrophoretic technique according to the parameter Accuracy was carried out using an additive method. For this purpose, model mixtures were prepared at three levels of concentrations (80 %, 100 %, 120 %) consisting of an aqueous solution of the drug with an established chlorhexidine content and a known concentration of the solution of chlorhexidine SS introduced therein (Table 2).

As can be seen from the data presented in Table 2, the recovery in the determination of content of chlorhexidine in model mixtures ranged from 98.82 % to 100.44 %, which is consistent with the recommended interval for USP (100.0 ± 2.0 %) for the methods of the first category.

The next step in the validation of the technique was the determination of the precision parameter (intermediate precision) (Table 3).

The results presented in Table 3 demonstrate that when studying the intermediate precision parameter, the relative standard deviation was 0.44 % and 0.61 %. The data obtained do not exceed the recommended value (2.0 %) according to the USP.

According to the totality of the studies conducted, it can be concluded that the capillary electrophoresis tech-

nique proposed to evaluate the quantitative content of 0.05 % solution of chlorhexidine showed the compliance of the validation parameters (specificity, linearity, accuracy and precision) requirements of domestic and international regulatory documents.

Subsequent tests were devoted to the quantitative determination of chlorhexidine in real samples of its 0.05 % solution (Table 4).

Conclusions

Quantitative determination of 0.05 % chlorhexidine solution by capillary electrophoresis was carried out and the parameters of the validation of the electrophoretic technique were established. The proposed electrophoretic conditions can serve as the basis for the development of methods for the quantitative determination of chlorhexidine bigluconate as part of this drug.

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

Надійшла до редакції / Received: 05.09.2018
Після доопрацювання / Revised: 15.01.2019
Прийнято до друку / Accepted: 21.01.2019

Information about authors:

Sampliev A. M., Dr.hab., Professor, Head of the Department of Pharmacy, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation.

Davitavian N. A., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacy, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation.

Nikiforova E. B., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacy, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russian Federation.

Yakuba Yu. F., Dr.hab., Head of Center for the Collective Use of High-Tech Equipment, North Caucasian Federal Scientific Centre of Horticulture, Viticulture, Winemaking, Krasnodar, Russian Federation.

Відомості про авторів:

Самп'єв А. М., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. фармації, Кубанський державний медичний університет, м. Краснодар, Російська Федерація.

Давітавян Н. А., канд. фарм. наук, доцент каф. фармації, Кубанський державний медичний університет, м. Краснодар, Російська Федерація.

Нікіфорова О. Б., канд. фарм. наук, доцент каф. фармації, Кубанський державний медичний університет, м. Краснодар, Російська Федерація.

Якуба Ю. Ф., д-р хім. наук, зав. Центру колективного користування високотехнологічним обладнанням, Північно-Кавказький федеральний науковий центр садівництва, виноградарства, виноробства, м. Краснодар, Російська Федерація.

Сведения об авторах:

Сампиев А. М., д-р фарм. наук, профессор, зав. каф. фармации, Кубанский государственный медицинский университет, г. Краснодар, Российская Федерация.

Давитавян Н. А., канд. фарм. наук, доцент каф. фармации, Кубанский государственный медицинский университет, г. Краснодар, Российская Федерация.

Никифорова Е. Б., канд. фарм. наук, доцент каф. фармации, Кубанский государственный медицинский университет, г. Краснодар, Российская Федерация.

Якуба Ю. Ф., д-р хим. наук, зав. Центром коллективного пользования высокотехнологичным оборудованием, Северо-

Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, г. Краснодар, Российская Федерация.

References

- [1] Zverkov, A. V., & Zouzova, A. P. (2013) Khlorgeksidin: nastoyashchee i budushchee odnogo iz osnovnykh antiseptikov [Chlorhexidine: Past, Present, and Future of the Famous Antiseptic Agent]. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*, 15(4), 279–285. [in Russian].
- [2] Gerke, A. N. (2015) Osnovnye principy mestnoj antimikrobnoj terapii v dermatologii [The basis of topical antimicrobial therapy in dermatology]. *VetPharma*, 1(23), 66–75. [in Russian].
- [3] Kasikhina, E. I. (2013) Hlorgeksidin: obzor lechebnykh vozmozhnostej i potencial'nykh klinicheskikh pokazanij v praktike akushera-ginekologa i venerologa [Chlorhexidine: a review of treatment options and potential clinical indications in the practice of an obstetrician/gynecologist and a venereologist]. *Akurshestvo i ginekologiya*, 4, 4–9. [in Russian].
- [4] Pogosyan, M. A. (2015) Hlorgeksidin – antiseptik, ne privodyashchij k bakterioresistentnosti [Chlorhexidine is an antiseptic that does not lead to bacterioresistance]. *Byulleten' medicinskih internet-konferencij*, 5(10), 1234–1235. [in Russian].
- [5] Kouzmina, E., Lapatina, A., & Smirnova, T. (2014) Opolaskivateli polosti rta s khlorgeksidinom: effektivnost' i bezopasnost' primeneniya (obzor literatury) [Efficacy and safety of chlorhexidine mouthrinses (literature review)]. *Dental Forum*, 2(53), 34–39. [in Russian].
- [6] Kvashnina, D. V., & Kovalishena, O. V. (2016) Ocenka primeneniya khlorgeksidina kak antisepticheskogo sredstva [Evaluation of chlorhexidine application as an antiseptic]. *Medicinskij al'manakh*, 3(43), 62–66. [in Russian].
- [7] Dounar, H. G., & Rzhetskij, S. E. (2017) Antimikrobnaya aktivnost' gelya hlorgeksidina biglyukonata, prednaznachennogo dlya lecheniya kandidoza polosti rta [Antimicrobial activity of the gel with chlorhexidine digluconate intended for the treatment of oral candidiasis]. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*, 16(3), 91–97. [in Russian].
- [8] Lin, S.-C., Huang, C.-F., Shen, L.-J., Wang, H.-J., Lin, Ch.-Y., et al. (2015) Formulation and stability of an extemporaneous 0.02% chlorhexidine digluconate ophthalmic solution. *J. Formos. Med. Assoc.*, 114, 1162–1169. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2014.08.003>
- [9] George, J., Kiika, A. K., & Higuera, C. A. (2017) Use of Chlorhexidine Preparations in Total Joint Arthroplasty. *J. Bone Jt Infect.*, 2(1), 15–22. doi: 10.7150/bjii.16934
- [10] Fiorentino, F. A. M., Corrêa, M. A. & Salgado, H. R. N. (2010) Analytical Methods for the Determination of Chlorhexidine: A Review. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 40, 89–101. doi: 10.1080/10408340903232020
- [11] Tyzhigirova, V. V., & Timofeeva, O. N. (2017) Analiz lekarstvennykh preparatov khlorgeksidina biglyukonata i miramistina metodami UF-spektrofotometrii i tonkoslojnoj khromatografii [Analysis of drugs chlorhexidine bigluconate and miramistine by UV-spectrophotometry and thin-layer chromatography]. *Innovacionnye tekhnologii v farmacii* Proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation, (P. 115–121). Sumy: IGMU. [in Russian].
- [12] Mubeen, R. S., Mantri, A. P., Singh, S. K., et al. (2016) Simultaneous estimation of chlorhexidine digluconate and miconazole nitrate by RP–HPLC. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical sciences*, 3, 617–620.
- [13] Mohamme, T. G., & Abdel Aziz, E. M. (2017) Development and validation of a simple, fast, isocratic stability indicating RP–HPLC–UV method for the determination of chlorhexidine and its impurity para-chloroaniline in bulk and finished product. *Journal of Pharmacy*, 7, 01–08. doi: 10.9790/3013-0706010108
- [14] Bogdanovska, L., Saliu, S., Popovska, M., Dimitrovska, A., Ugrinova, L., & Petkovska, R. (2014) Development and validation of RP–HPLC assay of chlorhexidine in gingival crevicular fluid. *Arh. farm.*, 64, 69–82. doi: 10.5937/arharm1402069B
- [15] Siddiqui, M. R., AlOthman, Z. A., & Rahman, N. (2017) Analytical techniques in pharmaceutical analysis: A review. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(1), 1409–1421. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.04.016>
- [16] Kumar, M., Bhatia, R., & Rawal, R. K. (2018) Applications of various analytical techniques in quality control of pharmaceutical excipients. *J. Pharm Biomed Anal.*, 157, 122–136. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.05.023>
- [17] Ma, H., Bai, Y., Li, J., & Chang, Y. X. (2018) Screening bioactive compounds from natural product and its preparations using capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 39(1), 260–274. doi: 10.1002/elps.201700239
- [18] Hamdan, I. I. (2017) Capillary electrophoresis in the analysis of pharmaceuticals in environmental water: A critical review. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 40, 111–125. doi: 10.1080/10826076.2017.1293550
- [19] Abramova, E., Alekseeva, N., & Egorov, A. (2012) Attestaciya/kvalifikaciya (validaciya) oborudovaniya i analiticheskikh metodov v farmaceuticheskom proizvodstve [Instrumentation and Analytical Methods Attestation/Qualification (Validation) when Carrying out Pharmaceutical Production]. *Analitika*, 1, 60–62. [in Russian].
- [20] (2015) *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii [State Pharmacopoeia of the Russian Federation]* Retrieved from <http://femb.ru/feml/>. [in Russian].
- [21] (2017). *USP39-NF34*. Rockville. Retrieved from http://www.usp.org/sites/default/files/usp_pdf/EN/products/usp39-nf34-index-supplement1.pdf

Хірургічна тактика при гострому панкреатиті, що ускладнений асцит-перитонітом

В. В. Кас'ян*^{A-E}, О. Ю. Черкун^{B,C}, Д. А. Ситнік^{B,C}, В. Д. Шейко^{A,E,F}

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава, Україна

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

Ключові слова:

панкреатит, асцит, перитоніт, дренажування, черевна порожнина.

Запорізький медичний журнал.

– 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 522–527

DOI:

10.14739/2310-1210.2019.4.173353

*E-mail:

kasianv88@gmail.com

Ключевые слова:

панкреатит, асцит, перитонит, дренирование, брюшная полость.

Запорожский медицинский журнал.

– 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 522–527

Key words:

pancreatitis, ascites, peritonitis, drainage, peritoneal.

Zaporozhye medical journal

2019; 21 (4), 522–527

Накопичення рідини в перипанкреатичній області та віддалених ділянках черевної порожнини поширене на ранній стадії гострого тяжкого панкреатиту. Рідина найчастіше є геморагічним асцитом, багата активованими ліполітичними і протеолітичними ферментами, вазоактивними речовинами та запальними цитокинами, на початку захворювання асептична. Евакуація з черевної порожнини рідини, багатої на потенційно токсичні медіатори, в низці публікацій описана як раціональний захід для полегшення страждань хворих у критичному стані.

Мета роботи – проаналізувати публікації останніх років щодо хірургічної тактики при ферментативному асцит-перитоніті та її впливу на перебіг гострого тяжкого панкреатиту.

Висновки. Рандомізовані клінічні дослідження і публікації демонструють суперечливі дані щодо ефективності хірургічних утручань при гострому панкреатиті, що ускладнений асцит-перитонітом. Міжнародні рекомендації мають низький рівень доказовості щодо ефективності дренажування, лаважу та відеолaparоскопічної санації, який пов'язаний із залученням в окремі дослідження пацієнтів із нетяжким панкреатитом. Оптимізація хірургічної тактики в пацієнтів з асцит-перитонітом при тяжкому панкреатиті може бути пов'язана з визначенням тяжкості стану пацієнта з асцит-перитонітом, вираженості парапанкреатиту, рівня токсичності асцит-перитоніту, показань та оптимального часу дренажування/лаважу. Для розв'язання цих питань необхідно продовжити проспективні дослідження.

Хирургическая тактика при остром панкреатите, осложненном асцит-перитонитом

В. В. Касьян, О. Ю. Черкун, Д. А. Сытник, В. Д. Шейко

Накопление жидкости в перипанкреатической области и отдаленных участках брюшной полости широко распространено на ранней стадии острого тяжелого панкреатита. Жидкость в основном представляет собой геморрагический асцит, богатая активированными липолитическими и протеолитическими ферментами, вазоактивными веществами и воспалительными цитокинами и не обязательно инфицирована. Эвакуация из брюшной полости жидкости, богатой потенциально токсичными медиаторами, поддерживается в ряде публикаций как рациональное мероприятие для облегчения бремени болезни у больных в критическом состоянии.

Цель работы – проанализировать публикации последних лет о хирургической тактике при ферментативном асцит-перитоните и ее влиянии на течение острого тяжелого панкреатита.

Выводы. Рандомизированные клинические исследования и публикации демонстрируют противоречивые данные об эффективности хирургических вмешательств при остром панкреатите, осложненном асцит-перитонитом. Международные рекомендации имеют низкий уровень доказательности в отношении эффективности дренирования, лаважа и видеолaparоскопической санации, связанный с включением в отдельные исследования пациентов с нетяжелым панкреатитом. Оптимизация хирургической тактики у пациентов с асцит-перитонитом при тяжелом панкреатите может быть связана с определением тяжести состояния пациента с асцит-перитонитом, выраженности парапанкреатита, уровня токсичности асцит-перитонита, показаний и оптимального времени дренирования/лаважа. Для решения этих вопросов существует потребность в дальнейших проспективных исследованиях.

Surgical tactics with acute pancreatitis complicated ascites-peritonitis

V. V. Kasian, O. Yu. Cherkun, D. A. Sytnik, V. D. Sheiko

Fluid accumulation in the peri-pancreatic region and the distal areas of the abdominal cavity is widespread in the early stage of acute severe pancreatitis. The fluid is mainly hemorrhagic ascites, rich in activated lipolytic and proteolytic enzymes, vasoactive substances and inflammatory cytokines, and is aseptic at the onset of the disease. Evacuation of a fluid rich in potentially toxic mediators from the abdominal cavity is supported in a number of publications as a rational measure to alleviate the burden of disease in critically ill patients.

The purpose of the study was to analyze recent publications on surgical tactics for enzymatic peritonitis and its impact on acute severe pancreatitis.

A thorough analysis of the literature made it possible to draw the following **conclusions** related to the state of this problem. To date, randomized clinical trials and publications show controversial data on the efficacy of surgical interventions for acute pancreatitis complicated by ascites-peritonitis. International recommendations have a low level of evidence regarding the effectiveness of drainage, lavage and video-laparoscopic rehabilitation due to inclusion of patients with non-severe pancreatitis into individual

studies. Optimization of surgical tactics in patients with ascites-peritonitis in severe pancreatitis may be associated with the definition of: the severity of the condition in patient with ascites-peritonitis, parapancreatitis severity, toxicity level of ascites-peritonitis, indications and optimal drainage / lavage time. To address these issues, there is a need for further prospective studies.

За останнє десятиліття терапевтичний і хірургічний підходи до важкого гострого панкреатиту (ГП) зазнав фундаментальних змін, що спричинені кращим розумінням патофізіології ГП і доказами клінічних досліджень [31]. Незважаючи на позитивні зрушення в діагностиці та лікуванні гострого панкреатиту, котрі досягнуті останніми роками, це захворювання залишається складною проблемою для хірурга. Летальність при деструктивних формах за відсутності інфікування становить 15–30 %, при інфекційних ускладненнях – 30–50 %, у випадку «блискавичного» перебігу може становити 100 % [2,4,10]. Суспільну значущість проблеми зумовлює те, що найвищі показники захворюваності саме серед людей працездатного віку – 30–50 років [1,3]. Асцит-перитоніт при ГП є доволі частим ускладненням раннього періоду захворювання. Рідина найчастіше є геморагічним асцитом, багата активованими ліполітичними, протеолітичними ферментами, вазоактивними речовинами та запальними цитокінами, на початку захворювання асептична. Евакуація з черевної порожнини рідини, багатой на потенційно токсичні медіатори, в низці публікацій [9,28] описана як раціональний захід для полегшення страждань хворих у критичному стані. На підставі обмежених клінічних даних щодо застосування черезшкірного дренажу черевної порожнини в пацієнтів зі стерильним панкреонекрозом, L. Zhu, J. Lu, J. Yang [35] порівнюють ефективність цієї процедури з дренажуванням парапанкреатичних гострих некротичних скупчень у хворих з інфікованим некрозом [22]. Клінічна користь дренажування та перитонеального лаважу при гострому панкреатиті залишається суперечливою, оскільки опубліковані рандомізовані контрольовані випробування з приводу їхньої ефективності дають різні результати [13,34].

Мета роботи

Проаналізувати публікації останніх років щодо хірургічної тактики при ферментативному асцит-перитоніті та її впливу на перебіг гострого тяжкого панкреатиту.

Матеріали і методи дослідження

Здійснили пошук та аналіз фахової літератури в базі «Medline» за ключовими словами: acute pancreatitis, pancreatic ascites, peritoneal lavage. Глибина пошуку – публікації в рецензованих фахових виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз, за останні 5 років.

При гострому аліментарному панкреатиті спостерігають виражену запальну реакцію навколо підшлункової залози з сусідніми структурами як шлунка, так і попереочно-ободової кишки з утворенням рідинних скупчень. Останні можуть поширюватися в черевну порожнину або середостіння та плевральну порожнину, згодом з утворенням асциту та/або плеврального випоту відповідно. Деякі дослідники [8,27] вказують на наявність плеврального випоту в понад 50 % пацієнтів із панкреатичним асцитом. Діагноз зазвичай підтверджується даними

ультразвукового дослідження, спіральної комп'ютерної томографії, магнітно-резонансної панкреатографії [25], аналізом асцитичної рідини, що характеризується високим вмістом білка >3 г/дл і високою амілазою >1000 МО/мл, співвідношення амілази асцитичної рідини до амілази сироватки становить приблизно 6,0 [20]. Аналіз асцитичної рідини також роблять, аби виключити інші захворювання – цироз печінки або злякисне метастазування.

Накопичення рідини в перипанкреатичній ділянці та віддалених ділянках черевної порожнини, що спостерігають на комп'ютерній томографії (КТ), поширене на ранній стадії гострого тяжкого панкреатиту (ГТП).

Гострий тяжкий панкреатит характеризується ратовим і важким виникненням зі швидким погіршенням стану надалі. Ускладнення: поліорганна недостатність (ПОН), шок і підвищення внутрішньочеревного тиску – можуть виникати на ранній стадії ГТП і корелюють із гіршими показниками тяжкості скорингових систем, що свідчить про несприятливий прогноз із високою смертністю [24]. У цей період лікувальні заходи, як-от агресивна підтримувальна інтенсивна терапія, інфузійна терапія, ентеральне харчування, що спрямовані на зниження системної запальної відповіді та ПОН. Хірургічні втручання, які виконують на ранній стадії ГТП, можуть бути «другим ударом» до системної запальної відповіді, який згодом збільшує навантаження на організм і викликає погіршення надалі [6,19]. Тому рекомендують неінвазивну стратегію та затримувати хірургічного втручання [21].

У роботах D. Segal et al. [22], M. Navalho et al. [18], J. D. Wig et al. [30] повідомляється, що під навігацією ультразвуку або комп'ютерної томографії внутрішньочеревне і заочеревинне черезшкірне дренажування катетером і промивання можуть бути використані для зниження високого внутрішньочеревного тиску і лікування на ранній стадії інфекційних ускладнень панкреонекрозу (ПН) та/або для уникнення чи відтермінування операції в окремих пацієнтів із ГТП. Але, за чинними рекомендаціями щодо лікування гострого панкреатиту, процедура дренажування має бути відтермінована (оптимально – протягом 4 тижнів) у стабільних пацієнтів з інфікованим некрозом, аби забезпечити розвиток стінки навколо ділянки некрозу [26]. Але чи це корисно для виконання перитонеального дренажу на ранній стадії ГТП у пацієнтів без ознак інфекції, залишається не ясним.

Експериментальні дослідження впливу застосування дренажування черевної порожнини (ДЧП) на ранній стадії ГТП, що змодельований на щурах, показали: оскільки зміни рівнів цитокинів в асцитичній рідині були вираженішими, ніж у сироватці, є ймовірність, що черевна порожнина може бути основним джерелом запальних чинників. Хоча виробництво цитокинів, яке спостерігають у випадку ГТП, має кілька джерел, дослідження показало: перитонеальні макрофаги, що продукують цитокіни при стимуляції трипсином, можуть відігравати важливу роль у патогенезі ГТП [16], раннє видалення цього токсичного асциту може поліпшити прогноз ГТП.

У клінічній практиці ДЧП не є ефективним для всіх пацієнтів, можливо, через проміжок часу, що проходить між початком захворювання і часом, коли пацієнту встановлюють діагноз і проводять дренування після госпіталізації. Оцінювання за APACHE II, ступінь інтрапанкреатичного некрозу – принципові чинники, що визначають ефективність ДЧП [23]; це дає змогу припустити поліпшення результатів лікування при ранішому застосуванні ДЧП.

Механізми, що лежать в основі підвищення рівня ІЛ-10, індукованого шляхом перитонеального дренажу та промивання, досі не повністю зрозумілі. Xu W. et al. [32] припустили, що спеціальний підвид макрофагів – макрофаги 2 типу з протизапальними властивостями – активується під час перитонеального дренажу. Як наслідок, дренування і промивання в ранній фазі можуть допомогти відновити баланс між прозапальними і протизапальними чинниками; це може зумовити поліпшення прогнозу.

Виявлено, що мікроскопічні патологічні зміни в підшлунковій залозі є менш суттєвими у групах із раннім дренуванням і промиванням, ніж у контрольній групі спостереження, що корелює з відносно вищими показниками виживаності щурів у цих експериментальних групах. Коли результати проаналізували в аспекті часу до проведення дренування, тяжкість інтоксикації та порушення функції підшлункової залози були більшими у групі, де дренування було більш відтермінованим. Слід відзначити, що під час мікроскопічного дослідження патологічних змін у 3, 6 і 24 год після початку дренування та їхнього порівняння тенденція прогресування ураження залишилася. Це свідчить, що після того, як ГТП був ініційований, простого перитонеального дренування на ранній фазі та промивання недостатньо для послаблення прогресування захворювання. Ці результати можуть пояснити загибель кількох щурів групи із раннім дренуванням. Порівняно з контрольною групою пошкодження, які спостерігали, були істотно меншими у групі, де дренування виконували до 24 годин від початку захворювання. Ґрунтуючись на цьому L. Zhu, J. Lu, J. Yang et al. [35] роблять висновок: дренування на початковій фазі захворювання може зменшити місцевий і системний токсичний вплив до прийнятого рівня, а це згодом може затримати швидкість появи симптомів і прогресування хвороби. Порівняно з перитонеальним лаважем із використанням інгібіторів ферментів підшлункової залози або високих доз протизапальних цитокінів, як-от ІЛ-10, використання тільки раннього дренування та промивання в цьому дослідженні показало сприятливий результат із погляду прогнозу ГТП у щурів. Отже, можна очікувати зв'язок між зниженням перитонеального інтоксикації, змінами у продукції та балансі цитокінів і самовідновленням підшлункової залози. Однак у цьому дослідженні спостерігали тільки вплив дренування та лаважу до 24 год після появи ГТП. Отже, спостереження протягом тривалого проміжку часу необхідне для глибшого розуміння наслідків дренування, промивання на ранній фазі розвитку захворювання [35].

Опубліковано дослідження [15], в яких абдомінальний пункційний дренаж (АПД) використали на ранній стадії лікування хворих із ГТП. У ретроспективному дослідженні клінічної когорти з'ясували, що пацієнти

з АПД мали нижчий рівень смертності, менші прояви органної недостатності та зниження запальних чинників, ніж пацієнти без дренування. Крім того, протягом проспективного дослідження вивчили безпечність АПД і підтвердили, що не було збільшення швидкості інфікування, пов'язаного з процедурою АПД [15]. Ці дослідження показують: АПД може бути корисним під час лікування пацієнтів із ГТП і не є додатковим ризиком інфікування [28]. Однак основні механізми цієї ефективності, на думку E. J. Foglio, F. Gorelick [9], недостатньо вивчені.

Можливі механізми ефективності АПД при асцит-перитоніті можуть бути зумовлені усуненням токсичних речовин, головним чином медіаторів запалення, протеаз і ліпідних метаболітів, у панкреатит-асоційованій асцитичній рідині. Серед цих речовин – ліпідні метаболіти, продукти реакції некрозу жирових клітин, що були залучені в розвиток і прогресування панкреатиту [11].

Місця пункції при асцит-перитоніті – це, як правило, зони правої та лівої біляободових борозен. АПД виконують для видалення рідинних скупчень із черевної або тазової порожнини, а отже зменшення запалення та органної травми на ранній стадії захворювання, щоразу, коли є велика кількість рідини (понад 50–100 мл) і досяжний шлях, котрий виявлений за допомогою візуалізації (зазвичай УЗД). Ефективність АПД має чітку кореляцію зі зменшенням вільних жирних кислот (ВЖК) у плазмі. Ці результати дають нове розуміння показань для АПД. Група, де виконували дренування черевної порожнини, показала нижчу середню тривалість ПОН та інтенсивної терапії з меншою частотою рецидивів ПОН порівняно з групою без дренування. Це дає можливість припустити, що АПД має ефект профілактики поліорганної недостатності. Сироваткові рівні запальних чинників також значно зменшилися в групі з дренуванням черевної порожнини порівняно з групою без дренування, а отже АПД може полегшити системне запалення. Група пацієнтів, котрим виконували дренування асцит-перитоніту, мала кращі показники тяжкості після лікування порівняно з групою без дренажів. Крім того, необхідність у додатковому втручанні – пункційному дренуванні заочеревинного простору (ПДЗП) – відкладена, а частота ПДЗП була меншою у групі, в якій виконували дренування черевної порожнини. Ці результати вказують, що АПД може ефективно лікувати ГТП, який супроводжується підвищенням у сироватці крові тригліцеридів (ТГ) і ВЖК, поліпшуючи його клінічні результати й уникаючи при цьому додаткового інфікування. АПД сприятливо впливає на пацієнтів із ГТП шляхом зниження внутрішньочеревного тиску (ВЧТ) [28]. Лікування АПД може різко знизити сироваткові рівні ТГ і ВЖК, які можуть відігравати важливу роль у поліпшенні клінічних результатів хворих на ГТП із підвищенням ТГ [11]. Незважаючи на те, що деякі автори рекомендують АПД як оптимальну терапію для пацієнтів із ГТП на ранній стадії захворювання, є потреба у проспективних дослідженнях для визначення показань до АПД.

Перитонеальний лаваж має тривалу історію та практикується, бо вважають, що він знижує токсичність гострого панкреатиту й інтенсивність болю [7]. Через токсичність ексудату підшлункової залози в черевній порожнині було кілька спроб визначення: чи є перитонеальний лаваж ефективним у зниженні за-

хворюваності та смертності від гострого панкреатиту? Жодна з нещодавно опублікованих клінічних настанов не дає позитивних рекомендацій для використання перитонеального лаважу в лікуванні хворих на гострий панкреатит. Незважаючи на це, як і раніше надходять повідомлення про клінічні переваги перитонеального лаважу при цій патології [5,33].

Результати 12 рандомізованих контрольованих досліджень і один метааналіз не надали будь-яких доказів, які б підтверджували ефективність перитонеального лаважу (ПЛ) при гострому панкреатиті, хоча оцінювання важкості та процедура ПЛ були різними [13,34]. Команда розробників японського національного керівництва 2015 S. Isaji, T. Takada et al. [13] здійснили новий метааналіз впливу перитонеального лаважу на смертність і частоту основних ускладнень, використовуючи 4 рандомізовані контрольовані дослідження [12,17], де процедура ПЛ була майже ідентична. У результаті зробили висновок, що ПЛ не впливає на виживання, частоту ускладнень і тривалість перебування у стаціонарі, а отже не рекомендований для лікування гострого панкреатиту [13,34]. Цей систематичний огляд не вказує на позитивні клінічні результати лікування з використанням перитонеального лаважу з погляду смертності, захворюваності та тривалості перебування у стаціонарі порівняно з консервативним лікуванням пацієнтів із важким гострим панкреатитом. Крім того, додавання антипротеаз до перитонеального лаважу не показало наочну клінічну користь [7].

Є низка методологічних обмежень метааналізів. По-перше, вони охоплюють дослідження, які включали пацієнтів і з легким, і середньої тяжкості гострим панкреатитом, хоча перші навряд чи виграють від перитонеального лаважу. Друге обмеження полягає в тому, що втручання (перитонеальний лаваж) було вільно визначено та включало постнекректомічні промивання порожнини та перитонеальний діаліз. По-третє, види промивної рідини не розглядали [7].

Використання перитонеального лаважу у хворих на гострий панкреатит залишається суперечливим. Хоча останні рекомендації не дають схвальні відгуки його використання, як і раніше надходять повідомлення про клінічні переваги від перитонеального лаважу при цій патології [7].

Li Z., Xia C. et al. [14] у статті «Перитонеальний лаваж під час важкого гострого панкреатиту: метааналіз і систематичний огляд» здійснили пошук будь-яких рандомізованих контрольованих досліджень, які порівнювали б перитонеальний лаваж із тільки консервативним лікуванням важкого гострого панкреатиту, оцінили смертність, частоту ускладнень, частку потреби в оперативному лікуванні, тривалість перебування у стаціонарі, а також витрати на медичне обслуговування. Зробили висновки: перитонеальний лаваж показує сприятливий ефект у пацієнтів із важким гострим панкреатитом у систематичному огляді. Але результати слід інтерпретувати з обережністю у зв'язку із загальним високим ризиком помилки в залучених дослідженнях [14].

Опубліковані статті про позитивні результати ранньої лапароскопічної хірургії при важкому гострому панкреатиті. Одним із найбільш важливих факторів у лікуванні ГТП є визначення точки, коли консервативне лікування не допомагає, і пацієнт має отримати хірургічне лікування.

Показники невдачі консервативного лікування включають швидке погіршення та серйозні ускладнення (шок, гострий респіраторний дистрес-синдром і ПОН) [29]. Watanabe J., Kushihata F. et al. [29] рекомендують, щоб пацієнтам із ГТП визначали необхідність у лапароскопічній хірургії після того, як 1–2 дні консервативного лікування не мали позитивного результату. Лапароскопічні операції, на їхню думку, призводять до ранньої ліквідації черевних ферментативних ексудатів і до зміни сироваткових значень цитокінів. У післяопераційному періоді безперервний лаваж ефективно усуває токсичні ферментативні ексудати з черевної порожнини і запобігає їхній циркуляції. Шляхом зменшення самоперетравлювального ефекту черевного ексудату лапароскопічна процедура сприяє поліпшенню стану пацієнта. Післяопераційне безперервне промивання призводить до ранньої ліквідації черевних ферментативних ексудатів і до певної зміни сироваткових значень цитокінів і зменшення системного запалення [29].

Висновки

1. Рандомізовані клінічні дослідження та публікації демонструють суперечливі дані щодо ефективності хірургічних втручань при гострому панкреатиті, що ускладнений асцит-перитонітом. Міжнародні рекомендації мають низький рівень доказовості щодо ефективності дренажу, лаважу черевної порожнини та відеолапароскопічної санації, що пов'язаний із залученням в окремі дослідження пацієнтів із нетяжким панкреатитом.

2. Оптимізація хірургічної тактики в пацієнтів з асцит-перитонітом при тяжкому панкреатиті може бути пов'язана з визначенням тяжкості стану пацієнта з асцит-перитонітом, вираженості парапанкреатиту, рівня токсичності асцит-перитоніту, показань та оптимального часу дренажу/лаважу.

3. Для розв'язання цих питань необхідні дальші проспективні дослідження.

Фінансування

Робота є фрагментом НДР «Диференційована хірургічна тактика при парапанкреатичних інфекційно-септичних ускладненнях деструктивного панкреатиту» (№ державної реєстрації 0116U005439).

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 23.10.2018

Після доопрацювання / Revised: 14.11.2018

Прийнято до друку / Accepted: 05.12.2018

Відомості про авторів:

Кас'ян В. В., аспірант каф. хірургії № 2, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-2933-041X

Черкун О. Ю., аспірант каф. хірургії № 2, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-1147-6146

Ситнік Д. А., канд. мед. наук, асистент каф. хірургії № 2, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-4885-334X

Шейко В. Д., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. хірургії № 2, Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава, Україна.
ORCID ID: 0000-0001-9862-6543

Сведения об авторах:

Касьян В. В., аспирант каф. хирургии № 2, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава, Украина.

Черкун А. Ю., аспирант каф. хирургии № 2, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава, Украина.

Сытник Д. А., канд. мед. наук, ассистент каф. хирургии № 2, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава, Украина.

Шейко В. Д., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. хирургии № 2, Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава, Украина.

Information about authors:

Kasian V. V., MD, Postgraduate Student, Department of Surgery No 2, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava, Ukraine.

Cherkun O. Yu., MD, Postgraduate Student, Department of Surgery No 2, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava, Ukraine.

Sytnik D. A., MD, PhD, Assistant, Department of Surgery No 2, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava, Ukraine.

Sheiko V. D., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Surgery No 2, Ukrainian Medical Stomatological Academy, Poltava, Ukraine.

Список літератури

- [1] Лобанова О. М. Ультразвукова некректомія в хірургічному лікуванні хворих на інфікований некротичний панкреатит / автореф. дис. ... к.мед.н. : 14.01.03 / Нац. мед. ун-т ім. О.О.Богомольця. Київ, 2010. 21 р.
- [2] Мішалов В. Г., Маркулан Л. Ю., Матвеев Р. М. Результати лікування пацієнтів з гострим панкреатитом. *Хірургія України*. 2015. Vol. 1. P. 84–89.
- [3] Прогнозування етапних хірургічних втручань при інфекційно-септичних ускладненнях деструктивного панкреатиту / О. Ю. Черкун, В. В. Кас'ян, А. С. Калюжка та ін. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2017. Т. 17. Вип. 3. С. 315–318.
- [4] Acute pancreatitis – costs for healthcare and loss of production / B. Andersson, B. Appelgren, V. Sjödin et al. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2013. Vol. 48. Issue 12. P. 1459–1465. doi: 10.31019/00365521.2013.843201
- [5] Clinical effects of laparotomy with perioperative continuous peritoneal lavage and postoperative hemofiltration in patients with severe acute pancreatitis / R. Caronna, M. Benedetti, A. Morelli et al. *World Journal of Emergency Surgery*. 2009. Vol. 4. P. 45. doi: 10.1186/1749-7922-4-45
- [6] Perioperative factors determine outcome after surgery for severe acute pancreatitis / J. J. De Waele, E. Hoste, S. I. Blot et al. *Critical Care December*. 2004. Vol. 8. Issue 6. R504–R511. doi: 10.1186/cc2991
- [7] Peritoneal lavage for severe acute pancreatitis: a systematic review of randomised trials / Z. Dong, M. S. Petrov, J. Xu et al. *World Journal of Surgery*. 2010. Vol. 34. Issue 9. P. 2103–2108. doi: 10.1007/s00268-010-0665-3
- [8] Pancreatic ascites / L. Fernandes-Cruz, E. Margarona, J. Llovera et al. *Hepatogastroenterology*. 1993. Vol. 40. P. 150–154.
- [9] Foglio E. J., Gorelick F. Abdominal paracentesis drainage: which patients with severe acute pancreatitis will benefit? *Journal of clinical gastroenterology*. 2015. Vol. 49. Issue 9. P. 717–719. doi: 10.1097/MCG.0000000000000387
- [10] Interventions for necrotizing pancreatitis summary of a multidisciplinary consensus conference and an international multidisciplinary panel of speakers and moderators / M. L. Freeman, J. Werner, H. C. Van Santvoort et al. *Pancreas*. 2012. Vol. 41. Issue 8. P. 1176–1194. doi: 10.1097/MPA.0b013e318269c660
- [11] Oxidised lipids present in ascitic fluid interfere with the regulation of the macrophages during acute pancreatitis, promoting an exacerbation of the inflammatory response / P. T. Gutierrez, E. Folch-Puy, O. Bulbena et al. *Gut*. 2008. Vol. 57. Issue 5. P. 642–648. doi: 10.1136/gut.2007.127472
- [12] Influence of peritoneal lavage on objective prognostic signs in acute pancreatitis / I. Ihse, A. Evander, I. Gustafson et al. *Annals of surgery*. 1986. Vol. 204. Issue 2. P. 122–7. doi: 10.1097/0000658-198608000-00004
- [13] Revised Japanese guidelines for the management of acute pancreatitis 2015: revised concepts and updated points / S. Isaji, T. Takada, T. Mayumi et al. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences*. 2015. Vol. 22. Issue 6. P. 433–445. doi: 10.1002/jhbp.260
- [14] Peritoneal lavage for severe acute pancreatitis: a meta-analysis and systematic review / Z. Li, C. Xia, L. Zhang et al. *Pancreas*. 2016. Vol. 45. Issue 6. P. 806–13. doi: 10.1097/MPA.0000000000000530
- [15] Abdominal paracentesis drainage does not increase infection in severe acute pancreatitis / L. Liu, H. Yan, W. Liu et al. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2015. Vol. 49. Issue 9. P. 757–763. doi: 10.1097/MCG.0000000000000358
- [16] Trypsin stimulates production of cytokines from peritoneal macrophages in vitro and in vivo / A. H. Lundberg, J. W. Eubanks, J. Henry et al. *Pancreas*. 2000. Vol. 21. Issue 1. P. 41–51. doi: 10.1097/00006676-200007000-00050
- [17] Controlled clinical trial of peritoneal lavage for the treatment of severe acute pancreatitis / W. Mayer, M. J. McMahon, A. P. Corfield et al. *New England Journal of Medicine*. 1985. Vol. 312. Issue 7. P. 399–404. doi: 10.1056/NEJM198502143120703
- [18] Percutaneous drainage of infected pancreatic fluid collections in critically ill patients: correlation with c-reactive protein values / M. Navalho, F. Pires, A. Duarte et al. *Clinical Imaging*. 2006. Vol. 30. Issue 2. P. 114–119. doi: 10.1016/j.clinimag.2005.09.026
- [19] Rau B., Bothe A., Beger H. G. Surgical treatment of necrotizing pancreatitis by necrosectomy and closed lavage: changing patient characteristics and outcome in a 19-year, single-center series. *Surgery*. 2005. Vol. 138. Issue 1. P. 28–39. doi: 10.1016/j.surg.2005.03.010
- [20] Runyon B. Amylase levels in ascitic fluid. *J Clin Gastroenterol*. 1987. Vol. 9. Issue 2. P. 171–174.
- [21] Severe acute pancreatitis: nonsurgical treatment of infected necroses / M. Runzi, W. Niebel, H. Goebel et al. *Pancreas*. 2005. Vol. 30. Issue 3. P. 195–199. doi: 10.1097/01.mpa.0000153613.17643.b3
- [22] Acute necrotizing pancreatitis: role of ct-guided percutaneous catheter drainage / D. Segal, K. J. Mortele, P. A. Banks et al. *Abdominal Imaging*. 2007. Vol. 32. Issue 3. P. 351–361. doi: 10.1007/s00261-007-9221-5
- [23] The role of image guided percutaneous drainage in multidisciplinary management of necrotizing pancreatitis / R. Solanki, N. B. Thumma, R. A. Sastry, N. Bheerappa. *Tropical gastroenterology*. 2013. Vol. 34. Issue 1. P. 25–30. doi: http://dx.doi.org/10.7869/tg.2012.87
- [24] A modified gastrointestinal failure score for patients with severe acute pancreatitis / J. Sun, W. Li, H. Ni et al. *Surgery Today*. 2013. Vol. 43. Issue 5. P. 506–513. doi: 10.1007/s00595-013-0496-6
- [25] Tang J. C. F. Acute pancreatitis. *Nejm*. 2017. URL.: https://emedicine.medscape.com/article/181364-treatment
- [26] American college of gastroenterology guideline: management of acute pancreatitis / S. Tenner, J. Baillie, J. DeWitt et al. *The American Journal of Gastroenterology*. 2013. Vol. 108. Issue 9. P. 1400–1415. doi: 10.1038/ajg.2013.218
- [27] Pancreatic ascites – a collected review of 37 cases in Japan / T. Uchiyama, T. Yamamoto, E. Mizuta et al. *Hepatogastroenterology*. 1989. Vol. 36. P. 244.
- [28] Intra-abdominal pressure reduction after percutaneous catheter drainage is a protective factor for severe pancreatitis / T. Wang, L. Liu, H. Luo et al. *Pancreas*. 2016. Vol. 45. Issue 1. P. 127–133. doi: 10.1097/MPA.0000000000000420
- [29] The usefulness of early laparoscopic surgery for determining a medical treatment plan in severe acute pancreatitis / J. Watanabe, F. Kushihata, K. Honda et al. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery*. 2005. Vol. 12. Issue 5. P. 422–425. doi: 10.1007/s00534-005-1007-y
- [30] The role of non-operative strategies in the management of severe acute pancreatitis / J. D. Wig, V. Gupta, R. Kochhar et al. *JOP: Journal of the pancreas*. 2010. Vol. 11. Issue 6. P. 553–9.
- [31] Wu B. U., Banks P. A. Clinical management of patients with acute pancreatitis. *Gastroenterology*. 2013. Vol. 144. Issue 6. P. 1272–1281. doi: 10.1053/j.gastro.2013.01.075
- [32] Human peritoneal macrophages show functional characteristics of m-csf-driven anti-inflammatory type 2 macrophages / W. Xu, N. Schlagwein, A. Roos et al. *European Journal of Immunology*. 2007. Vol. 37. Issue 6. P. 1594–1599. doi: 10.1002/eji.200737042
- [33] Combination of hemofiltration and peritoneal dialysis in the treatment of severe acute pancreatitis / C. Yang, F. Guanghua, Z. Wei et al. *Pancreas*. 2010. Vol. 39. Issue 1. P. 16–9. doi: 10.1097/MPA.0b013e3181bab38b
- [34] Japanese guidelines for the management of acute pancreatitis: Japanese guidelines 2015 / M. Yokoe, T. Takada, T. Mayumi et al. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences*. 2015. Vol. 22. Issue 6. P. 405–432. doi: 10.1002/jhbp.259
- [35] Early-phase peritoneal drainage and lavage in a rat model of severe acute pancreatitis / L. Zhu, J. Lu, J. Yang et al. *Surgery Today*. 2016. Vol. 46. Issue 3. P. 371–378. doi: 10.1007/s00595-015-1172-9

References

- [1] Lobanova, O. M. (2010). *Ultrazvukova nekrektomiia v khirurgichnomu likuvanni khvorykh na infikovanyi nekrotychnyi pankreatyt* (Avtoref. dis...kand. med. nauk). [Ultrasound necrectomy in surgical treatment of patients with infected necrotic pancreatitis]. (Extended abstract of candidate's thesis). Kyiv. [in Ukrainian].
- [2] Mishalov, V. G., Markulan, L. Yu., & Matveyev, R. M. (2015). Rezultaty likuvannia patsientiv z hostryim pankreatytom [Treatment results of patients with acute pancreatitis]. *Khirurgiia Ukrainy*, 1, 84–89. [in Ukrainian].
- [3] Cherkun, O. Yu., Kasyan, V. V., Kalyuzhka, A. S., & Sheiko, V. D. (2017). Prohnozuvannia etapnykh khirurgichnykh vtruchan pry infektsiino-septychnykh uskladnenniakh destruktivnoho pankreatytu [Prediction of staged surgical interventions in septic complications of destructive pancreatitis]. *Aktualni problemy suchasnoi medytyny*, 17(3), 315–318. [in Ukrainian].
- [4] Andersson, B., Appelgren, B., Sjödin, V., Ansari, D., Nilsson, J., Persson, U., et al. (2013). Acute pancreatitis – costs for healthcare and loss of production. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 48(12), 1459–65. doi: 10.3109/00365521.2013.843201
- [5] Caronna, R., Benedetti, M., Morelli, A., Rocco, M., Diana, L., Prezioso, G., et al. (2009). Clinical effects of laparotomy with perioperative continuous peritoneal lavage and postoperative hemofiltration in patients with severe acute pancreatitis. *World Journal of Emergency Surgery*, 4, 45. doi: 10.1186/1749-7922-4-45
- [6] De Waele, J. J., Hoste, E., Blot, S. I., Hesse, U., Pattyn, P., De Hempinne, B., et al. (2004). Perioperative factors determine outcome after surgery for severe acute pancreatitis. *Critical Care December*, 8(6), R504–R511. doi: 10.1186/cc2991
- [7] Dong, Z., Petrov, M. S., Xu, J., Shanbhag, S., Windsor, J. A., & Pang, S. (2010). Peritoneal lavage for severe acute pancreatitis: A systematic review of randomised trials. *World Journal of Surgery*, 34(9), 2103–2108. doi: 10.1007/s00268-010-0665-3
- [8] Fernandes-Cruz, L., Margaron, E., & Llovera, J. (1993). Pancreatic ascites. *Hepatogastroenterology*, 40, 150–154.
- [9] Foglio, E. J., & Gorelick, F. (2015). Abdominal paracentesis drainage: which patients with severe acute pancreatitis will benefit? *Journal of clinical gastroenterology*, 49(9), 717–719. doi: 10.1097/MCG.0000000000000387
- [10] Freeman, M. L., Werner, J., Van Santvoort, H. C., Baron, T. H., Besselink, M. G., & Windsor, J. A. (2012). Interventions for necrotizing pancreatitis summary of a multidisciplinary consensus conference and an international multidisciplinary panel of speakers and moderators. *Pancreas*, 41(8), 1176–94. doi: 10.1097/MPA.0b013e318269c660
- [11] Gutierrez, P. T., Folch-Puy, E., Bulbena, O., & Closa, D. (2008). Oxidised lipids present in ascitic fluid interfere with the regulation of the macrophages during acute pancreatitis, promoting an exacerbation of the inflammatory response. *Gut*, 57(5), 642–648. doi: 10.1136/gut.2007.127472
- [12] Ihse, I., Evander, A., Gustafson, I., & Holmberg, J. T. (1986). Influence of peritoneal lavage on objective prognostic signs in acute pancreatitis. *Annals of surgery*, 204(2), 122–127. doi: 10.1097/0000658-198608000-00004
- [13] Isaji, S., Takada, T., Mayumi, T., Yoshida, M., Wada, K., Yokoe, M., et al. (2015). Revised Japanese guidelines for the management of acute pancreatitis 2015: revised concepts and updated points. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences*, 22(6), 433–445. doi: 10.1002/jhbp.260
- [14] Li, Z., Xia, C., Zhang, L., Zhang, Y., Liu, Z., & Qiu, F. (2016). Peritoneal lavage for severe acute pancreatitis: a meta-analysis and systematic review. *Pancreas*, 45(6), 806–813. doi: 10.1097/MPA.0000000000000530
- [15] Liu, L., Yan, H., Liu, W., Cui, J., Wang, T., Dai, R. et al. (2015). Abdominal paracentesis drainage does not increase infection in severe acute pancreatitis: a prospective study. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 49(9), 757–763. doi: 10.1097/MCG.0000000000000358
- [16] Lundberg, A. H., Eubanks, J. W., Henry, J., Sabek, O., Kotb, M., Gaber, L. et al. (2000). Trypsin stimulates production of cytokines from peritoneal macrophages in vitro and in vivo. *Pancreas*, 21(1), 41–51. doi: 10.1097/00006676-200007000-00050
- [17] Mayer, A. D., McMahon, M. J., Corfield, A. P., Cooper, M. J., Williamson, R. C., Dickson, A. P., et al. (1985). Controlled clinical trial of peritoneal lavage for the treatment of severe acute pancreatitis. *New England Journal of Medicine*, 312(7), 399–404. doi: 10.1056/NEJM198502143120703
- [18] Navalho, M., Pires, F., Duarte, A., Gonçalves, A., Alexandrino, P., & Távora, I. (2006). Percutaneous drainage of infected pancreatic fluid collections in critically ill patients: Correlation with C-reactive protein values. *Clinical Imaging*, 30(2), 114–119. doi: 10.1016/j.clinimag.2005.09.026
- [19] Rau, B., Bothe, A., & Beger, H. G. (2005). Surgical treatment of necrotizing pancreatitis by necrosectomy and closed lavage: Changing patient characteristics and outcome in a 19-year, single-center series. *Surgery*, 138(1), 28–39. doi: 10.1016/j.surg.2005.03.010
- [20] Runyon, B. (1987). Amylase levels in ascitic fluid. *J Clin Gastroenterol*, 9(2), 171–174.
- [21] Runzi, M., Niebel, W., Goebell, H., Gerken, G., & Layer, P. (2005). Severe acute pancreatitis: Nonsurgical treatment of infected necroses. *Pancreas*, 30(3), 195–199. doi: 10.1097/01.mpa.0000153613.17643.b3
- [22] Segal, D., Morteale, K. J., Banks, P. A., & Silverman, S. G. (2007). Acute necrotizing pancreatitis: Role of CT-guided percutaneous catheter drainage. *Abdominal Imaging*, 32(3), 351–361. doi: 10.1007/s00261-007-9221-5
- [23] Solanki, R., Thumma, V., Sastry, R. A., & Bheerappa, N. (2013). The role of image guided percutaneous drainage in multidisciplinary management of necrotizing pancreatitis. *Tropical gastroenterology*, 34(1), 25–30. doi: http://dx.doi.org/10.7869/tg.2012.87
- [24] Sun, J., Li, W., Ni, H., Ke, L., Tong, Z., Li, N., & Li, J. (2013). A modified gastrointestinal failure score for patients with severe acute pancreatitis. *Surgery Today*, 43(5), 506–513. doi: 10.1007/s00595-013-0496-6
- [25] Tang, J. C. F. (2017) Acute pancreatitis. *Nejm*. Retrieved from https://emedicine.medscape.com/article/181364-treatment
- [26] Tenner, S., Baillie, J., DeWitt, J., & Vege, S. S. (2013). American College of Gastroenterology Guideline: Management of Acute Pancreatitis. *The American Journal of Gastroenterology*, 108(9), 1400–1415. doi: 10.1038/ajg.2013.218
- [27] Uchiyama, T., Yamamoto, T., Mizuta, E., & Suzuki, T. (1989). Pancreatic ascites – a collected review of 37 cases in Japan. *Hepatogastroenterology*, 36, 244.
- [28] Wang, T., Liu, L., Luo, H., Dai, R., Liang, H., Chen, T., et al. (2016). Intra-abdominal pressure reduction after percutaneous catheter drainage is a protective factor for severe pancreatitis. *Pancreas*, 45(1), 127–133. doi: 10.1097/MPA.0000000000000420
- [29] Watanabe, J., Kushihata, F., Honda, K., & Kobayashi, N. (2005). The usefulness of early laparoscopic surgery for determining a medical treatment plan in severe acute pancreatitis. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery*, 12(5), 422–425. doi: 10.1007/s00534-005-1007-y
- [30] Wig, J. D., Gupta, V., Kochhar, R., Doley, R. P., Yadav, T. D., & Poornachandra, K. S. (2010). The role of non-operative strategies in the management of severe acute pancreatitis. *JOP: Journal of the pancreas*, 11(6), 553–559.
- [31] Wu, B. U., & Banks, P. A. (2013). Clinical management of patients with acute pancreatitis. *Gastroenterology*, 144(6), 1272–1281. doi: 10.1053/j.gastro.2013.01.075
- [32] Xu, W., Schlagwein, N., Roos, A., van den Berg, T. K., Daha, M. R., & van Kooten, C. (2007). Human peritoneal macrophages show functional characteristics of M-CSF-driven anti-inflammatory type 2 macrophages. *European Journal of Immunology*, 37(6), 1594–1599. doi: 10.1002/eji.200737042
- [33] Yang, C., Guanghua, F., Wei, Z., Zhong, J., Penghui, J., Xin, F., & Xiping, Z. (2010). Combination of hemofiltration and peritoneal dialysis in the treatment of severe acute pancreatitis. *Pancreas*, 39(1), 16–19. doi: 10.1097/MPA.0b013e3181bab38b
- [34] Yokoe, M., Takada, T., Mayumi, T., Yoshida, M., Isaji, S., Wada, K., et al. (2015). Japanese guidelines for the management of acute pancreatitis: Japanese Guidelines 2015. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences*, 22(6), 405–432. doi: 10.1002/jhbp.259
- [35] Zhu, L., Lu, J., Yang, J., & Sun, P. (2016). Early-phase peritoneal drainage and lavage in a rat model of severe acute pancreatitis. *Surgery Today*, 46(3), 371–378. doi: 10.1007/s00595-015-1172-9

Возможности фармакологической защиты миокарда при синдроме ишемии-реперфузии в эксперименте и клинической практике

С. Н. Кожухов*^{A-E}, А. Н. Пархоменко^{C,F}

ГУ «Национальный научный центр «Институт кардиологии имени академика Н. Д. Стражеско НАМН Украины», г. Киев

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

Ключевые слова:
инфаркт миокарда,
реперфузия,
фармакологические
вмешательства.

**Запорожский
медицинский
журнал. – 2019. –
Т. 21, № 4(115). –
С. 528–537**

DOI:
10.14739/2310-1210.
2019.4.173356

***E-mail:**
s.kozhukhov@i.ua

Ранняя реперфузия инфаркт-зависимой коронарной артерии способствует ограничению зоны некроза, улучшает насосную функцию сердца и положительно влияет на исход заболевания. Внедрение фармакологической и механической реперфузии (тромболитической терапии и перкутанных вмешательств) в клиническую практику значительно улучшило лечение пациентов с острым инфарктом миокарда. Однако эта терапия часто осложняется реперфузионным повреждением (феноменом no reflow), которое в дополнение к значительной гибели кардиомиоцитов включает желудочковые нарушения ритма сердца, оглушение миокарда, микрососудистую дисфункцию, а также другими нарушениями. Наиболее важные составляющие реперфузионного повреждения: избыточная продукция реактивных форм кислорода, внутриклеточная перегрузка кальцием, воспалительная клеточная инфильтрация и др. Некоторые из этих механизмов взаимосвязаны. Исходя из этой концепции, существуют теоретические предпосылки использования фармакологических вмешательств для предупреждения осложнений реперфузии. Эту гипотезу в основном изучали в экспериментальных исследованиях, получены убедительные данные по защите миокарда.

Цель работы – рассмотреть различные фармакологические вмешательства для лечения реперфузионного повреждения миокарда, включая антиоксидантные флавоноиды, терапию глюкозо – инсулин – калиевой смесью, аденозином, мелатонином, метопрололом, никорандилом, фосфокреатином, триметазидином, циклоспорином А и др.

Выводы. Влияя на процессы, связанные с реперфузионным повреждением, можно улучшить результаты лечения инфаркта миокарда. К сожалению, до сих пор эта цель не достигнута в реальной клинической практике. Тем не менее, при изучении в экспериментальных и клинических исследованиях новых молекул получены важные данные, которые могут быть положены в основу новых исследований и внедрение кардиопротекции в клиническую практику.

Ключові слова:
інфаркт міокарда,
реперфузія,
фармакологічні
втручання.

**Запорізький
медицинський
журнал. – 2019. –
Т. 21, № 4(115). –
С. 528–537**

Можливості фармакологічного захисту міокарда при синдромі ішемії-реперфузії в експерименті та клінічній практиці

С. М. Кожухов, О. М. Пархоменко

Рання реперфузія інфаркт-залежної коронарної артерії сприяє обмеженню зони некрозу, поліпшує насосну функцію серця та позитивно впливає на наслідки захворювання. Впровадження фармакологічної та механічної реперфузії (тромболітичної терапії та перкутаних втручань) у клінічну практику суттєво поліпшило лікування пацієнтів із гострим інфарктом міокарда. Однак ця терапія часто ускладнюється реперфузійним пошкодженням (феноменом no reflow), що на додаток до чималої загибелі кардіоцитів включає шлуночкові порушення ритму серця, оглушення міокарда, микросудинну дисфункцію, а також інші порушення. Найважливіші складові реперфузійного пошкодження: надлишкова продукція реактивних форм кисню, внутрішньоклітинне перевантаження кальцієм, запальна клітинна інфільтрація тощо. Деякі з цих механізмів взаємопов'язані. Виходячи з цієї концепції, наявні теоретичні передумови використання фармакологічних втручань для запобігання ускладненням реперфузії. Цю гіпотезу в основному вивчали в експериментальних дослідженнях, отримали переконливі дані щодо захисту міокарда.

Мета роботи – розглянути різні фармакологічні втручання для лікування реперфузійного пошкодження міокарда, включаючи антиоксидантні флавоноїди, терапію глюкозо – інсулін – калієвою сумішшю, аденозином, мелатоніном, метопрололом, нікорандилом, фосфокреатином, триметазидином, циклоспорином А тощо.

Висновки. Впливаючи на процеси, що пов'язані з реперфузійним пошкодженням, можна поліпшити результати лікування інфаркту міокарда. На жаль, досі ця ціль не досягнута в реальній клінічній практиці. Але під час вивчення в експериментальних і клінічних дослідженнях нових молекул отримали важливі дані, які можуть бути покладені в основу нових досліджень і впровадження кардіопротекції у клінічну практику.

Key words:
myocardial
infarction,
reperfusion,
drug therapy.

**Zaporozhye
medical journal
2019; 21 (4), 528–537**

Pharmacological approaches to the prevention of myocardial ischemia-reperfusion injury in experimental study and clinical practice

S. M. Kozhukhov, O. M. Parkhomenko

Early reperfusion of the infarct related coronary artery is essential for the preservation of myocardial tissue and improve clinical outcome. The establishment of pharmacological and mechanical reperfusion treatment was a major improvement in the management of patients with myocardial infarction. However, this therapy is often complicated by reperfusion injury including ventricular arrhythmias, myocardial stunning and micro-vascular dysfunction, in addition to significant cardiomyocyte death. The

most important factors which contribute to the reperfusion injury are an overproduction of reactive oxygen species, intracellular calcium overload and inflammatory cell infiltration. Some of these mechanisms may be interrelated. From considerations of their nature, an attractive hypothesis has been that some or several of these harmful effects may be counteracted by pharmacological interventions. This hypothesis has mainly been studied in the experimental setting.

Objective – in this review, various pharmacological interventions to treat myocardial reperfusion injury including the antioxidant flavonols, glucose – insulin – potassium therapy, adenosine, melatonin, phosphocreatine and cyclosporin A etc.

Conclusions. The processes involved in reperfusion injury might provide targets for improved outcomes after myocardial infarction but that aim has thus far not been met in the clinic. By studying new molecules in different experimental settings and protocols, insight has been gained about important factors for possible future clinical applications of drugs with cardioprotective properties.

Реперфузия миокарда у пациентов с острым инфарктом миокарда (ОИМ) с элевацией сегмента ST на ЕКГ – наиболее эффективное вмешательство для ограничения размера инфаркта миокарда (ИМ), сохранения систолической функции левого желудочка (ЛЖ) и снижения частоты сердечной недостаточности (СН). С другой стороны, восстановление кровотока (реперфузия) может приводить к дополнительному повреждению миокарда, так называемому ишемическому/реперфузионному (И/Р) повреждению. И/Р характеризуется обратимой механической дисфункцией, называемой «оглушением миокарда», и микрососудистой обструкцией – «по-reflow phenomenon», что представляет собой повреждение капилляров, отек эндотелиальных клеток, внутрипросветный тромбоз и повреждение кардиомиоцитов.

Поэтому понимание патофизиологических механизмов, лежащих в основе И/Р повреждения привело к изучению в экспериментальных и клинических исследованиях перспективных фармакотерапевтических стратегий для снижения тяжести И/Р повреждения миокарда. Многие из изучаемых молекул продемонстрировали в пилотных исследованиях хорошую клиническую эффективность, особенно в экспериментальных исследованиях. В дальнейшем в более крупных исследованиях одни препараты подтвердили свою эффективность, другие – нет.

Цель работы

Рассмотреть различные фармакологические вмешательства для лечения реперфузионного повреждения миокарда, включая антиоксидантные флавоноиды, терапию глюкозо – инсулин – калиевой смесью, аденозином, мелатонином, метопрололом, никорандилом, фосфокреатином, триметазидином, циклоспорином А и др.

Патофизиологические механизмы реперфузионного повреждения

Реперфузия миокарда может существенно повлиять на исход развивающегося ИМ. При своевременной реперфузии можно предотвратить трансмуральное повреждение и существенно уменьшить зону некроза. Особенно рискованной зоной повреждения является пограничная зона между некрозом и здоровым миокардом [1]. Своевременная реперфузия миокарда, так называемый «золотой час», с использованием либо тромболитической терапии (ТЛТ), либо первичного чрескожного вмешательства в стационаре составляет от 6 % до 14 % [2]. Поэтому остается актуальным вопрос своевременной реперфузии, а при длительной И/Р происходят более глубокие нарушения в миокарде.

После реперфузии восстановленный миокард определенное время пребывает в оглушенном со-

стоянии, т. е. сократительная функция миокарда снижена – это одно из проявлений реперфузионного повреждения. Чем раньше проводится реперфузия, тем меньше финальный размер некроза (как обусловленный ишемией миокарда, так и за счет реперфузионного повреждения), тем раньше восстанавливается сократительная функция (после кратковременного оглушения). Реперфузия может быть менее эффективной из-за микрососудистого повреждения и обструкции – отсутствие восстановления кровотока на микроциркуляторном уровне [3].

Существует много патофизиологических механизмов, связанных с реперфузией миокарда: изменение порога митохондриальной проницаемости, внутриклеточная перегрузка кальцием, изменение рН, активация анаэробного метаболизма, дисфункция АТФ-зависимых ионных транспортных механизмов, клеточный отек и, как результат, гибель клетки. С другой стороны, после И/Р происходит увеличение свободных радикалов кислорода, инфильтрация тканей нейтрофилами и провоспалительными цитокинами с парадоксальным ухудшением ишемического повреждения.

В последнее время обратили внимание и на другие факторы, играющие важную роль в патогенезе реперфузионного повреждения: тромбоциты, система ренин-ангиотензина и активация комплемента [4].

Система комплемента активируется во время реперфузионного вмешательства. Это способствует образованию анафилактоксинов С3а, С4а и С5а, а также комплекса концевых комплементов, т. н. комплекса мембранной атаки. Факторы комплемента индуцируют прямое повреждение клеток путем увеличения проницаемости клеток и высвобождения фактора активации гистамина и тромбоцитов. Кроме того, факторы комплемента, особенно С5а – мощные стимуляторы адгезии нейтрофилов и продукции супероксидных радикалов [5,6].

Нейтрофилы являются важным компонентом реперфузионного повреждения. Они выделяют свободные радикалы кислорода, протеазы и провоспалительные медиаторы, которые дополнительно усиливают инфильтрацию нейтрофилов в поврежденный миокард. Кроме того, нейтрофилы способствуют улавливанию лейкоцитов в капиллярах, что приводит к закупорке микрососудов [7].

Местная агрегация и адгезия тромбоцитов, а также микроэмболизация – одно из звеньев реперфузионного повреждения, которое можно назвать микрососудистой дисфункцией. И/Р повреждение вызывает активацию тромбоцитов, что усугубляет повреждение миокарда за счет усугубления микроциркуляторного спазма, стаза, тромбоза и ухудшения коронарного кровотока [8].

Ключевым продуктом ренин-ангиотензиновой системы, ангиотензина II, является повышение содержания внутриклеточного кальция в кардиомиоцитах и гладкомышечных клетках, что приводит к положительному инотропизму, нарушению диастолической функции и коронарной вазоконстрикции. При патофизиологических уровнях ангиотензин II кардиотоксичен и индуцирует некроз кардиомиоцитов [9]. Клинически реперфузионное повреждение связано с остаточным большим размером инфаркта, сниженной фракцией выброса левого желудочка, желудочковыми аритмиями и плохим прогнозом.

Потенциальные фармакологические средства для предупреждения реперфузионного повреждения

Прогресс в понимании основ патофизиологии ишемической болезни сердца привел к многолетним исследованиям, направленным на разработку фармакологических подходов к ограничению ишемического повреждения миокарда. Как показала практика, не все лекарственные средства продемонстрировали эффективность в спланированных клинических исследованиях (КИ) [10]. Подробно анализировали причины, почему экспериментальные исследования не транслируются в реальную клиническую практику [11].

Ряд РКИ направлен именно на предотвращение И/Р повреждения миокарда при проведении реперфузии у пациентов с ОИМ с элевацией сегмента ST, многие результаты были в значительной степени разочаровывающими. Тем не менее, с теоретической точки зрения вопросы кардиопротекции у больных с ОИМ при проведении реперфузии миокарда являются актуальными, продолжается тестирование новых молекул [12].

Для исключения заангажированности информацию расположили в алфавитном порядке.

Абциксимаб. В исследовании INFUSE-AMI 452 пациентам с ОИМ в течение 4 ч в проксимальную или среднюю левую переднюю нисходящую коронарную артерию после ЧКВ вводили ингибитор тромбоцитарных рецепторов IIb/IIIa абциксимаб, другой части пациентов проводили аспирационную тромбэктомии. [13]. Результаты исследования показали, что внутрикоронарное введение абциксимаба способствовало уменьшению размера ИМ, а использование аспирационной тромбэктомии при выполнении первичного ЧКВ не влияло на размер инфаркта.

Однако не все клинические испытания с абциксимабом были положительными. Так, в крупном открытом многоцентровом исследовании у пациентов с ОИМ с элевацией сегмента ST сравнивали интракоронарное введение абциксимаба после ЧКВ с внутривенным болюсом. Первичная комбинированная конечная точка на протяжении 90 дней (смерть от всех причин, повторный ИМ или застойная сердечная недостаточность (СН)) была сходной во внутрикоронарной группе по сравнению с внутривенной группой. Единственным положительным моментом было то, что при внутрикоронарном введении абциксимаба реже развивалась застойная СН. Вторичные конечные точки в этом исследовании, включая размер ИМ, по данным вымывания кардиоспецифических ферментов, были отрицательными [14].

Аденозин. Два крупных многоцентровых исследования AMISTAD 1 и AMISTAD 2 показали, что 3-часовая внутривенная инфузия аденозина, начатая до проведе-

ния ЧКВ, значительно уменьшала размер ИМ передней стенки, измеренный по данным МРТ [15]. Однако другие исследования не подтвердили эту эффективность.

Еще одно исследование, в котором 112 пациентов с ОИМ с элевацией сегмента ST были рандомизированы в группу интракоронарного введения аденозина или плацебо, не получили положительное влияние аденозина на размер ИМ, где также зона некроза оценивали по данным МРТ через 4 мес. [16]. В другом исследовании изучали влияние высоких интракоронарных доз аденозина на размер ИМ и показатели реперфузии миокарда. 448 пациентов с ОИМ были рандомизированы в группу плацебо или 2 болюсных введения аденозина. И в этом случае аденозин не уменьшал размер ИМ [17].

Таким образом, эффективность использования аденозина у больных с ОИМ остается недоказанной и требует дальнейших исследований.

Глюкозо-инсулин-калиевая смесь. Из всех лекарственных средств (ЛС), которые были протестированы для уменьшения размера ИМ или влияния на клинический исход ОИМ, возможно, ни один не являлся более спорным, чем режим использования глюкозо-инсулин-калиевой смеси (ГИК).

Вопрос целесообразности применения ГИК смеси (поляризующей смеси) при ОИМ активно обсуждается более 20 лет. Основная предпосылка применения данного раствора – теоретическая возможность улучшения метаболизма кардиомиоцитов, профилактики нарушений ритма в условиях И/Р, что может привести к снижению смертности на 28–40 % в зависимости от состава и времени назначения поляризующей смеси [18]. Впоследствии эта гипотеза подтверждена R. Diaz et al. по результатам многоцентрового исследования ECLA, где оценивали эффективность концентрированного и неконцентрированного растворов ГИК смеси [19]. В исследование включено 407 больных ОИМ в первые 24 ч от момента развития ИМ, 288 из них получали поляризующую смесь. Реперфузионная терапия проведена у 252 больных. Результаты показали, что у пациентов, которые получали поляризующую смесь, отмечена тенденция к снижению общей летальности, а среди больных, которым проводилась реперфузионная терапия, общий показатель летальности снижался с 15,2 % в контрольной группе, до 5,1 % у пациентов, которым вводили ГИК ($p = 0,01$). Т. е. данное исследование показало преимущество назначения ГИК смеси только у пациентов с ТЛТ или ЧКВ. Многие исследователи скептически отнеслись к результатам этой работы ввиду недостатков дизайна (позднее назначение смеси, высокая смертность в контрольной группе на фоне реперфузионной терапии, а также позднее начало ее проведения).

Такие результаты использования ГИК смеси не подтвердились в польском многоцентровом РКИ POL-GIK. Более того, исследование прекращено досрочно из-за достоверного увеличения общей смертности на протяжении 35 дней и 6 месяцев в группе больных, которым вводили поляризующую смесь. Так, через 35 дней общая летальность составила 8,9 % в группе больных, которые получали ГИК, по сравнению с 4,8 % у пациентов, которым вводили плацебо. Летальность от сердечно-сосудистой патологии составила соответ-

ственно 6,5 % и 4,6 %. Следует отметить, что в польском исследовании ГИК применяли в меньших дозах, чем в аргентинском и в виде коротких периодов инфузии.

Результаты исследования DIGAMI продемонстрировали достоверное снижение общей смертности как на протяжении 1 года, так и через 3,4 года наблюдения [20]. Через 1 год от начала наблюдения общая смертность в группе больных, которым вводили ГИК-смесь, снизилась на 30 % и составила 19 % (по сравнению с 26 % в контрольной группе, $p = 0,027$). За весь период наблюдения общая смертность снизилась на 28 %, что составляло соответственно 33 % и 44 % ($p = 0,011$). Однако такое выраженное улучшение клинических исходов ОИМ необходимо правильно интерпретировать, поскольку дизайн исследования подразумевал тщательный контроль глюкозы крови каждые 2 часа и поддержание ее в пределах 7–10 ммоль/л. В дальнейшем всем больным для поддержания нормального уровня глюкозы крови назначали подкожно инсулин 4 раза в сутки по меньшей мере на протяжении 3 мес.

По данным мета-анализа ГИК-исследований, включающих 1928 больных, показано снижение госпитальной летальности на 28 %, а число сохраненных жизней может достичь 49 на 1000 пролеченных [21].

Недавно опубликовано исследование IMMEDIATE. В этом испытании внутривенная инфузия ГИК в течение 12 ч начата до реперфузии паракардиальными в скорой помощи. Совокупность таких конечных точек, как остановки сердца и госпитальная летальность была ниже у пациентов с ГИК – 4,4 % по сравнению с 8,7 % у пациентов с плацебо ($p = 0,01$) [22].

Таким образом, клинические данные остаются противоречивыми, использование ГИК у пациентов с ОИМ спорно и требует дальнейших исследований.

Кверцетин – натуральное полифенольное вещество с доказанной антиоксидантной, антиапоптотической, противовоспалительной и антиоксидантной активностью. В экспериментальных и клинических исследованиях показано, что кверцетин снижает АД [23], уменьшает повреждение, вызванное не только И/Р сердца, но и почек [24], мозга [25] и печени [26].

Установлено, что лекарственные формы кверцетина уменьшают реперфузионные нарушения коллатерального кровообращения в сердце, предупреждают феномен невосстановленного кровотока (no-reflow), улучшают гемодинамику, уменьшают размер ИМ и имеют противоаритмическое действие.

В Украине впервые в мире разработана внутривенная форма кверцетина. В ряде клинических исследований показано, что кверцетин у больных с ОИМ положительно влияет на биологически активные регуляторные вещества (оксид азота, лейкотриены), уменьшает прооксидантный стресс [27].

Кверцетин способствует быстрой стабилизации зоны некроза и ограничивает размер ИМ, уменьшает прогностически неблагоприятные процессы ранней дилатации полости левого желудочка (ЛЖ) и повышает общую сократительную способность миокарда [28].

Наиболее эффективно кверцетин влияет на величину зоны некроза и процессы ремоделирования полости ЛЖ у больных с открытой инфаркт-зависимой КА, на фоне ТЛТ, при наличии дисфункции миокарда

ЛЖ и у больных с высоким лейкоцитозом. Введение кверцетина до начала терапии фибринолитическим агентом позволяет преодолеть тромборезистентность и увеличить частоту реканализации инфаркт-зависимой коронарной артерии [29].

При длительном наблюдении кверцетин достоверно уменьшал частоту кардиоваскулярной смерти и нефатального ИМ в течение 5 лет [30].

Включение кверцетина в схему лечения больных ОИМ улучшает клиническое течение заболевания, приводит к уменьшению размера ИМ, повышает электрическую стабильность сердца, имеет противовоспалительное и антиоксидантное действие, что реализуется в улучшении отдаленного прогноза. Для подтверждения эффективности внутривенной формы кверцетина в современных условиях спланировано многоцентровое рандомизированное клиническое исследование у 150 пациентов с ОИМ в ранние сроки при проведении реперфузионной терапии. Результаты исследования представлены в 2018 г. на Европейском конгрессе кардиологов: кверцетин ограничивал размер зоны некроза на 18 % ($p = 0,05$), улучшал сократительную способность миокарда ЛЖ (по данным спекл-трекинг эхокардиографии) и уменьшал интрамиокардиальную геморрагию в зоне реперфузии (по данным МРТ сердца) [31].

Мелатонин – циркадный эндокринный продукт шишковидной железы, синтезируется и высвобождается преимущественно в ночное время. Мелатонин проявляет разнообразное функциональное влияние практически на все органы, включая сердце и сердечно-сосудистую систему в целом [32]. Мелатонин уменьшает И/Р повреждение миокарда преимущественно за счет уменьшения свободных радикалов кислорода и азотосодержащих реагентов мелатонина и его метаболитов [33]. Кроме того, мелатонин оказывает косвенное положительное влияние на активность основных антиоксидантных ферментов. Последние данные свидетельствуют, что защитные механизмы мелатонина включают ингибирование открытия порога митохондриальной проницаемости, за счет чего уменьшается перекисное окисление кардиолипина [34].

В ряде исследований продемонстрировано, что люди с сердечно-сосудистыми заболеваниями имеют более низкий уровень циркулирующего мелатонина, чем люди без такой патологии. Недавние исследования у пациентов с ОИМ с элевацией сегмента ST, перенесших первичное ЧКВ, подтвердили взаимосвязь между концентрациями мелатонина и ишемия-модифицированного альбумина, продукта N-терминального сывороточного альбумина, биомаркера ишемии миокарда. Это свидетельствует, что мелатонин может проявлять мощное антиоксидантное действие и тем самым уменьшать повреждение миокарда, вызванное И/Р.

Эти научные данные положены в основу многоцентрового рандомизированного контролируемого клинического испытания мелатонина MARIA. Основная цель испытания – установить, влияет ли внутривенное и внутрикоронарное введение мелатонина на размер зоны некроза у пациентов с ОИМ с элевацией сегмента ST при проведении ЧКВ. Результаты исследования показали, что мелатонин у пациентов с ОИМ имеет хорошую безопасность, но не уменьшает размер ИМ

и не имеет положительного влияния на объем ЛЖ и сократительную функцию миокарда [35].

Метопролол. Способность β -блокаторов уменьшать размер ИМ широко оценивали в дореперфузионную эру, и результаты были противоречивыми. В контексте реперфузии как способа лечения ОИМ β -блокаторы изучены недостаточно. Экспериментальные данные показали, что метопролол может уменьшать размер ИМ только при внутривенном введении перед реперфузией миокарда [36].

В 2013 г. в ходе исследования METOCARD-CNIC продемонстрированы кардиопротективные эффекты метопролола. Это первое РКИ, в котором проспективно оценено влияние ранней внутривенной β -блокады на размер ИМ в сочетании с первичной ЧКВ. В общей сложности 270 пациентов с предшествующим ОИМ с элевацией сегмента ST, с ЧКВ в течение 6 ч от начала симптомов были рандомизированы в группу внутривенного введения метопролола до реперфузии или в контрольную группу. Все пациенты получали пероральный метопролол в соответствии с клиническими рекомендациями (первую дозу назначали через 12–24 ч от начала ИМ). Размер инфаркта, оцененный с помощью МРТ и по вымыванию КФК, значительно уменьшился у пациентов в группе внутривенного введения метопролола, ФВ ЛЖ также у них была достоверно выше по сравнению с контролем [37]. Возможно, ограничение ИМ при использовании β -блокаторов носит классовый характер, однако это необходимо подтверждать в крупных РКИ.

Неотон. В клинической практике широко используют экзогенный креатинфосфат – синтетический аналог эндогенного макроэрга, играющего важную роль в энергообеспечении функций кардиомиоцитов. Внедрению препарата в клинику предшествовало углубленное изучение его кардиопротекторного действия в эксперименте. Внутривенная инфузия препарата уменьшала площадь ишемического повреждения сердечной мышцы, значительно сокращая зону относительной ишемии миокарда, приводила к ограничению размера некроза при моделировании ИМ. Установлена способность фосфокреатина оказывать защитное действие на ишемизированный миокард при реперфузии за счет увеличения коллатерального кровотока, улучшения состояния микроциркуляторного русла и реологических свойств эритроцитов, увеличение их пластичности. Фосфокреатин предотвращает быстрое образование малонового диальдегида, уменьшает выход КФК, МБ-МБ-КФК, лактатдегидрогеназы [38].

В ряде отечественных и зарубежных исследований подтверждена возможность использования фосфокреатина как эффективного лекарственного средства для лечения ИМ для ограничения зоны некроза миокарда, уменьшения частоты развития угрожающих жизни нарушений ритма, СН, разрывов сердца, с возможной тенденцией к уменьшению смертности. Основными проявлениями кардиопротекторного действия экзогенного фосфокреатина при ОИМ считалось уменьшение объема ишемического повреждения и повышение сократительной способности ЛЖ. Использование больших доз фосфокреатина (до 80 г в сутки) вызывало значительное улучшение клинического течения ОИМ, осложненного отеком легких и кардиогенным шоком. Данные много-

центровых итальянских исследований по применению фосфокреатина при ОИМ показали быструю нормализацию сегмента ST и значительное уменьшение выраженности желудочковых аритмий [39].

Приведенные данные указывают на перспективность использования фосфокреатина при ОИМ, однако доказательная база не дает оснований для отнесения препарата к стандартной терапии ОИМ. Необходимы дальнейшие исследования для определения места фосфокреатина среди других кардиопротекторных препаратов.

Никорандил. Определенный интерес представляют препараты из группы модуляторов (активаторов) калиевых каналов. Наиболее перспективный представитель – никорандил. Этот препарат наряду с активацией АТФ-зависимых каналов обладает еще и нитратоподобным действием. Ряд экспериментальных и КИ показали наличие вазодилаторных, антигипертензивных, антиангинальных и кардиопротекторных свойств никорандила. Препарат повышает доставку кислорода к сердцу без увеличения потребности в нем, не оказывает воздействие на ЧСС, проводящую систему сердца и сократительную способность миокарда. Действие никорандила не сопровождается активацией симпатoadренальной системы, изменениями диуреза, электролитного баланса, препарат не воздействует на липидный обмен и метаболизм глюкозы. Еще одно важное свойство препарата – к нему не развивается толерантность, а также перекрестная толерантность к нитратам.

В условиях экспериментального инфаркта миокарда при внутрикорономарном или системном введении никорандила в дозах, не вызывающих гипотензию, препарат значительно уменьшал зону некроза и предупреждал феномен «no reflow», что подтверждает наличие его кардиопротекторных свойств [40].

В небольшом исследовании изучали эффект внутрикорономарного введения никорандила при проведении фармакологической или механической реперфузии у больных с передней локализацией ОИМ. У пациентов, леченных никорандилом, быстрее восстанавливался кровоток в инфаркт-зависимой коронарной артерии, о котором судили по улучшению регионарной сократимости ЛЖ. Внутривенное введение никорандила в сочетании с коронарной ангиопластикой ассоциировалось с лучшим функциональным и клиническим исходом у пациентов с передним ИМ по сравнению с одной ангиопластикой [41,42].

Исследования последних лет показали, что никорандил имеет ряд положительных свойств по влиянию на сердечно-сосудистую систему, некоторые исследования сейчас продолжают или еще не опубликованы (NCT02449070, NCT02435797), тем не менее, никорандил не уменьшает риск сердечно-сосудистых заболеваний и не рекомендован к использованию у пациентов с ОИМ.

Предсердный натрийуретический пептид. Предсердный натрийуретический пептид – мощный эндогенный вазодилатор. Инфузия карперитида (аналога натрийуретического пептида) у пациентов с ОИМ в течение 72 ч после реперфузии приводила к уменьшению реперфузионного повреждения и, как

следствие, к уменьшению размера зоны некроза на 14,7 %, увеличивала ФВ ЛЖ на 5,1 %. Однако, как считают эксперты, результаты должны быть подтверждены в более крупном РКИ, т. е. уменьшение размера инфаркта и улучшение ФВ должны трансформироваться в клинические результаты [43].

Триметазидин. В середине 2000 годов получены экспериментальные данные об эффективности триметазидина – препарата, оказывающего прямое защитное действие на клетку без влияния на гемодинамику [44]. Препарат ускоряет восстановление энергетических запасов миокарда во время реперфузии, способствует сохранению нормального уровня АТФ, уменьшает вызванное кальциевой перегрузкой угнетение окислительного фосфорилирования АДФ путем влияния гидролитической формы митохондриальной АТФ-азы [45].

Основной механизм действия триметазидина – ингибирование фермента β-окисления жирных кислот (3 кетоацил-КоА-тиолазы), что облегчает течение аэробного окисления глюкозы и обеспечивает лучшее использование остаточного кислорода ишемизированной клеткой. Это способствует внутриклеточному поддержанию синтеза АТФ, улучшению обмена фосфолипидов клеточных мембран, уменьшению тканевого ацидоза, предупреждению кальциевой перегрузки и поддержанию сократительной функции миокарда.

Результаты экспериментальных исследований подтверждают теоретические обоснования необходимости применения триметазидина в клинической практике. Препарат широко исследовали при назначении у больных хронической ишемической болезнью сердца (ИБС), доказана его способность уменьшать количество приступов стенокардии, увеличивать толерантность к физической нагрузке [45].

В отличие от использования триметазидина у пациентов со стабильной ИБС, роль ТМЗ в лечении больных с ОИМ остается неясной. Число исследований, посвященных применению препарата в условиях острой И/Р миокарда, очень ограничено.

Одно из первых крупных исследований, в котором изучали роль триметазидина у пациентов с ОИМ, – исследование EMIP-FR, где сравнивали влияние триметазидина и плацебо на ближайший и отдаленный прогноз. В исследовании рандомизировано почти 20 000 пациентов с ОИМ. Внутривенный болюс триметазидина 40 мг вводили непосредственно перед или одновременно с ТЛТ с последующей непрерывной инфузией 60 мг в течение 48 ч. Результаты не подтвердили разницу между триметазидином и плацебо по влиянию на основную конечную точку – 35-дневную смертность. Авторы пришли к выводу, что лечение триметазидином не уменьшает смертность у пациентов, подвергнутых ТЛТ. Некоторый положительный эффект отмечен у пациентов без ТЛТ (смертность в группе триметазидина составила 13,3 % по сравнению с 15,1 % в группе плацебо; $p = 0,027$) [46].

Имеющиеся данные не дают основания для использования триметазидина у пациентов с ОИМ, поскольку большинство исследований пилотные, с малой выборкой, недостаточной статистической мощностью. Необходимы дальнейшие экспериментальные исследования и проведение больших РКИ.

Циклоспорин-А. Иммунодепрессант циклоспорин – хорошо известное ЛС, зарекомендовавшее себя при многих воспалительных состояниях и после трансплантации. Следуя экспериментальным данным, циклоспорин А ингибирует открытие митохондриальных пор. В небольшом пилотном исследовании (58 пациентов) показано, что циклоспорин, вводимый в виде внутривенного болюса во время ЧКВ, уменьшал размер ИМ по данным вымывания креатинфосфокиназы на 40 % по сравнению с плацебо. Меньшее поражение миокарда подтверждено и МРТ сердца [47,48]. Эти данные попытались подтвердить в исследовании CIRCUS – болюсное введение циклоспорина перед ЧКВ у пациентов с передним ИМ, направленное на уменьшение размера ИМ в результате реперфузионного повреждения и предотвращение кардиоваскулярных событий. К сожалению, терапия циклоспорином не привела к улучшению клинических результатов по сравнению с плацебо, не способствовала уменьшению массы некроза миокарда. Так, первичная конечная точка, включающая смертность от всех причин, ухудшение СН во время первоначальной госпитализации, повторные госпитализации по поводу СН и неблагоприятное ремоделирование ЛЖ через 1 год наблюдали у 59,0 % из 395 пациентов в группе циклоспорина и 58,1 % из 396 в группе плацебо (разница статистически не значима). На вопрос, почему циклоспорин не имел клинической пользы в исследовании CIRCUS, с одной стороны отсутствовали эхокардиографические показатели ЛЖ у 17 % пациентов, с другой, в исследовании CIRCUS использовали другую формулу циклоспорина, чем в предыдущих исследованиях, и это могло способствовать нейтральным результатам.

В 2016 г. опубликованы результаты многоцентрового исследования CYCLE ($n = 410$), которые показали, что циклоспорин А не влиял на резольюцию сегмента ST на 60 мин, на уровень сердечных биомаркеров, ремоделирование ЛЖ и клинические события на протяжении 6 мес. [49].

Еще одно РКИ с циклоспорином А при проведении ЧКВ у пациентов с ОИМ – CAPRI, завершилось в 2018 г. (NCT02390674), но результаты еще не опубликованы.

Вопрос о том, будет ли это направление когда-либо внедряться как терапевтический подход в клиническую практику, учитывая отсутствие влияния на размер ИМ и потенциальные побочные эффекты, остается открытым.

Эксенатид – синтетический аналог эксендина-4, глюкагоноподобный пептид-1 (GLP-1), гормон, снижающий уровень глюкозы в крови, стимулируя секрецию инсулина. В экспериментальных исследованиях на животных GLP-1 и его аналоги, такие как эксенатид, продемонстрировали кардиопротекторные свойства. Так, у пациентов с ОИМ при проведении ЧКВ с внутривенной инфузией эксенатида, начинающейся за 15 мин до коронарного вмешательства и продолжающейся в течение 6 ч, размер ИМ, оцененный на 90 сутки с помощью МРТ, был на 23 % меньше [50]. В другом исследовании на 58 пациентах с подкожным введением эксенатида также показано значительное уменьшение размера ИМ по данным МРТ ($26,4 \pm 11,6$ г в группе плацебо против $12,8 \pm 11,7$ г в группе эксенатида, $p < 0,01$) [51].

Еще одно исследование эксенатида у 198 больных с ОИМ – EMPRES (NCT01938235) в процессе обработки

результатов. Вопрос о том, будут ли эффекты эксенатида трансформироваться в улучшение клинических исходов у пациентов с ОИМ при проведении механической реперфузии остается открытым до проведения больших РКИ.

Эритропоэтин. В последнее десятилетие мощные кардиопротекторные свойства экзогенного рекомбинантного человеческого эритропоэтина продемонстрированы в многочисленных экспериментальных исследованиях при моделировании И/Р. Несмотря на положительные результаты на животных, результаты недавно закончившихся нескольких РКИ II фазы у людей были менее обнадеживающими.

Одно из больших РКИ REVEAL показало отсутствие уменьшения размера ИМ при использовании внутривенного болюса эпоэтина альфа у пациентов с ОИМ с элевацией сегмента ST, перенесших первичную или спасательную ЧКВ [52]. Более того, препарат приводил к увеличению частоты сердечно-сосудистых событий, а у пожилых пациентов приводил к увеличению размера ИМ.

В двух других исследованиях 2011 г. и 2012 г. также продемонстрирован отрицательный эффект по влиянию на размер ИМ [53,54]. Таким образом, по мнению авторов исследований, учитывая отсутствие эффекта по ограничению зоны некроза, увеличение частоты кардиоваскулярных осложнений, плохой профиль безопасности, данное направление, вероятно, не имеет будущего.

В данный обзор не включили такие препараты как липин, липофлавонол, милдронат, нуклеинат натрия, тиазидолизин и многие другие, так как доказательная база слишком мала, а результаты исследований, по данным PubMed, Medline и других баз, или не представлены, или ограничены.

С 1937 г., когда впервые в эксперименте получены данные об ограничении зоны инфаркта, протестировано очень много разных ЛС и стратегий. Только с 1975 г. опубликовано более 6400 работ по кардиопротекции у пациентов с ОИМ. В 2011 г. Национальным институтом сердца, легких и крови США создана группа Consortium for Preclinical Assessment of Cardioprotective Therapies (CAESAR), основанная на принципах доказательной медицины. Проведены испытания ряда предполагаемых кардиопротекторных молекул, но ни одна из них не оказалась эффективной в строгих экспериментальных условиях.

Несмотря на более чем 40 лет усилий и тысячи публикаций, те разочарования, что есть на сегодня, ни один из методов и ни одно ЛС не одобрено для ограничения размера ИМ, разрабатываются новые направления, в частности, изучают роль клеточной терапии и клеточного посткондиционирования. Определенный ренессанс получили роль воспаления и макрофагов у пациентов с ОИМ [55].

Защита миокарда от ишемического-реперфузионного повреждения является перспективной стратегией для уменьшения последствий ОИМ и улучшения прогноза. В последние годы ученые сосредоточены на изучении молекулярных механизмов гибели клеток при реперфузии миокарда и разработке новых методов лечения для профилактики гибели клеток.

Существует много факторов, которые необходимо учитывать при разработке КИ для уменьшения размера ИМ у пациентов с реперфузией миокарда. В экспери-

ментальных исследованиях получены убедительные данные, и все усилия направлены на трансформацию этих результатов в клиническую практику [56].

Выводы

Из приведенных данных, полученных в клинических исследованиях, можно сделать заключения:

1) в основе реперфузионного повреждения лежит сложный механизм, вероятно, многие его звенья не до конца изучены;

2) эта гипотеза подтверждается отсутствием трансформации результатов доклинических испытаний в клинические данные;

3) клинические испытания не могут быть отделены от экспериментальных исследований, анализа на клеточном уровне;

4) с патофизиологической точки зрения сложно выделить один или основной механизм, лежащий в основе ишемического-реперфузионного повреждения, поэтому объектом будущих исследований будет использование комбинированной кардиопротекторной терапии.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 06.12.2018

Після доопрацювання / Revised: 10.12.2018

Прийнято до друку / Accepted: 09.01.2019

Сведения об авторах:

Кожухов С. Н., д-р мед. наук, руководитель отдела клинической фармакологии и фармакотерапии, ГУ «Национальный научный центр «Институт кардиологии имени академика Н. Д. Стражеско НАМН Украины», г. Киев.

ORCID ID: 0000-0002-7973-7894

Пархоменко А. Н., д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. НАМН Украины, руководитель отдела реанимации и интенсивной терапии, ГУ «Национальный научный центр «Институт кардиологии имени академика Н. Д. Стражеско НАМН Украины», г. Киев.

Відомості про авторів:

Кожухов С. М., д-р мед. наук, керівник відділення клінічної фармакології та фармакотерапії, ДУ «Національний науковий центр «Інститут кардіології імені академіка М. Д. Стражеска НАМН України», м. Київ.

Пархоменко О. М., д-р мед. наук, професор, чл.-кор. НАМН України, керівник відділення реанімації та інтенсивної терапії, ДУ «Національний науковий центр «Інститут кардіології імені академіка М. Д. Стражеска НАМН України», м. Київ.

Information about authors:

Kozhukhov S. M., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Pharmacotherapy, SI "National Scientific Center "Strazhesko Institute of Cardiology of National Academy of Medical Science of Ukraine", Kyiv.

Parkhomenko O. M., MD, PhD, DSc, Head of the Department of Resuscitation and Intensive Care, SI "National Scientific Center "Strazhesko Institute of Cardiology of National Academy of Medical Science of Ukraine", Kyiv.

Список литературы

- Quantifying the area-at-risk of myocardial infarction in-vivo using arterial spin labeling cardiac magnetic resonance / R. Dongworth, A. Campbell-Washburn, H. Cabrera-Fuentes, et al. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7(1). 2271. doi: 10.1038/s41598-017-02544-z

- [2] Rentrop K., Feit F. Reperfusion therapy for acute myocardial infarction: Concepts and controversies from inception to acceptance. *American Heart Journal*. 2015. Vol. 170. Issue 5. P. 971–980. doi: 10.1016/j.ahj.2015.08.005
- [3] Bouleti C., Mewton N., Germain S. The no-reflow phenomenon: State of the art. *Archives of Cardiovascular Diseases*. 2015. Vol. 108. Issue 12. P. 661–674. doi: 10.1016/j.acvd.2015.09.006
- [4] Myocardial reperfusion injury: looking beyond primary PCI / G. Fröhlich, P. Meier, S. White, et al. *European Heart Journal*. 2013. Vol. 34. Issue 23. P. 1714–1722. doi: 10.1093/eurheartj/ehd090
- [5] van der Laan A., Nahrendorf M., Piek J. Healing and adverse remodelling after acute myocardial infarction: role of the cellular immune response. *Heart*. 2012. Vol. 98. Issue 18. P. 1384–1390. doi: 10.1136/heartjnl-2012-301623
- [6] Cytokine Profile of Mononuclear Cells in Patients with Acute Myocardial Infarction, Complicated by Heart Failure / T. Gavrilenko, A. Parkhomenko, N. Ryzhkova, et al. *International Journal of Physiology And Pathophysiology*. 2013. Vol. 4. Issue 3. P. 253–259. doi: 10.1615/intjphyspathophys.v4.i3.70
- [7] Neutrophils—a key component of ischemia-reperfusion injury / Z. Schofield, T. Woodruff, R. Halai. *Shock*. 2013. Vol. 40. Issue 6. P. 463–470. doi: 10.1097/shk.0000000000000044
- [8] Pries A., Kuebler W., Habazettl H. Coronary Microcirculation in Ischemic Heart Disease. *Current Pharmaceutical Design*. 2018. Vol. 24. Issue 25. P. 2893–2899. doi: 10.2174/1381612824666180625142341
- [9] Role of cardiac renin angiotensin system in ischemia reperfusion injury and preconditioning of heart / V. Agrawal, J. Gupta, S. Qureshi, et al. *Indian Heart Journal*. 2016. Vol. 68. Issue 6. P. 856–861. doi: 10.1016/j.ihj.2016.06.010
- [10] Kloner R. Current State of Clinical Translation of Cardioprotective Agents for Acute Myocardial Infarction. *Circulation Research*. 2013. Vol. 113. Issue 4. P. 451–463. doi: 10.1161/circresaha.112.300627
- [11] Heusch G. Cardioprotection: chances and challenges of its translation to the clinic. *The Lancet*. 2013. Vol. 381. Issue 9861. P. 166–175. doi: 10.1016/s0140-6736(12)60916-7
- [12] Spath N., Mills N., Cruden N. Novel cardioprotective and regenerative therapies in acute myocardial infarction: a review of recent and ongoing clinical trials. *Future Cardiology*. 2016. Vol. 12. Issue 6. P. 655–672. doi: 10.2217/fca-2016-0044
- [13] Intracoronary Abciximab and Aspiration Thrombectomy in Patients With Large Anterior Myocardial Infarction. The INFUSE-AMI Randomized / G. Trial Stone, A. Maehara, B. Witzensbichler, et al. *JAMA*. 2012. Vol. 307. Issue 17. P. 1817–26. doi: 10.1001/jama.2012.421
- [14] Intracoronary versus intravenous bolus abciximab during primary percutaneous coronary intervention in patients with acute ST-elevation myocardial infarction: a randomised trial / Thiele H., Wöhrle J., Hambrecht R., Rittger H., Birkemeyer R., Lauer B. et al. *The Lancet*. 2012. Vol. 379. Issue 9819. P. 923–931. doi: 10.1016/s0140-6736(11)61872-2
- [15] A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial of adenosine as an adjunct to reperfusion in the treatment of acute myocardial infarction (AMISTAD-II) / A. Ross, R. Gibbons, G. Stone, et al. *J Am Coll Cardiol*. 2005. Vol. 45. P. 1775–1780. doi: 10.1016/j.jacc.2005.02.061
- [16] High-dose intracoronary adenosine for myocardial salvage in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction / W. Desmet, J. Bogaert, C. Dubois, et al. *European Heart Journal*. 2010. Vol. 32. Issue 7. P. 867–877. doi: 10.1093/eurheartj/ehq492
- [17] Fokkema M., Vlaar P., Zijlstra F. Response to Letter Regarding Article “Effect of High-Dose Intracoronary Adenosine Administration During Primary Percutaneous Coronary Intervention in Acute Myocardial Infarction: A Randomized Controlled Trial”. *Circulation: Cardiovascular Interventions*. 2009. Vol. 2. Issue 6. e6. doi: 10.1161/circinterventions.109.915942
- [18] Fath-Ordoubadi F., Beatt K. Glucose-Insulin-Potassium Therapy for Treatment of Acute Myocardial Infarction. *Circulation*. 1997. Vol. 96. Issue 4. P. 1152–1156. doi: 10.1161/01.cir.96.4.1152
- [19] Metabolic Modulation of Acute Myocardial Infarction / R. Diaz, E. Paolasso, L. Piegas, et al. *Circulation*. 1998. Vol. 98. Issue 21. P. 2227–2234. doi: 10.1161/01.cir.98.21.2227
- [20] Randomized trial of insulin-glucose infusion followed by subcutaneous insulin treatment in diabetic patients with acute myocardial infarction (DIGAMI study): Effects on mortality at 1 year / K. Malmberg, L. Rydén, S. Efendic, et al. *Journal of The American College Of Cardiology*. 1995. Vol. 26. Issue 1. P. 57–65. doi: 10.1016/0735-1097(95)00126-k
- [21] Impaired Glucose Tolerance and Insulin Resistance in Heart Failure: Underrecognized and Undertreated? / M. Mamas, C. Deaton, M. Rutter et al. *Journal of Cardiac Failure*. 2010. Vol. 16. Issue 9. P. 761–768. doi: 10.1016/j.cardfail.2010.05.027
- [22] Out-of-hospital administration of intravenous glucose-insulin-potassium in patients with suspected acute coronary syndromes: the IMMEDIATE randomized controlled trial / H. P. Selker, J. R. Beshansky, P. R. Sheehan, et al. *JAMA*. 2012. Vol. 307. Issue 18. P. 1925–33.
- [23] Larson A., Symons J., Jalili T. Therapeutic Potential of Quercetin to Decrease Blood Pressure: Review of Efficacy and Mechanisms. *Advances In Nutrition*. 2012. Vol. 3. Issue 1. P. 39–46. doi: 10.3945/an.111.001271
- [24] Quercetin attenuates renal ischemia/reperfusion injury via an activation of AMP-activated protein kinase-regulated autophagy pathway / B. Chen, L. Wang, K. Huang, et al. *The Journal Of Nutritional Biochemistry*. 2014. Vol. 25. Issue 11. P. 1226–1234. doi: 10.1016/j.jnutbio.2014.05.013
- [25] Neuroprotective effects of quercetin in a mouse model of brain ischemic/reperfusion injury via anti-apoptotic mechanisms based on the Akt pathway / X. Lei, H. Chao, Z. Zhang, et al. *Molecular Medicine Reports*. 2015. Vol. 12. Issue 3. P. 3688–3696. doi: 10.3892/mmr.2015.3857
- [26] The Effects of Desferrioxamine and Quercetin on Liver Injury Induced by Hepatic Ischaemia-Reperfusion in Rats / Ç. Tokyol, S. Yilmaz, A. Kahraman et al. *Acta Chirurgica Belgica*. 2006. Vol. 106. Issue 1. P. 68–72. doi: 10.1080/00015458.2006.11679837
- [27] Parkhomenko A., Kozhukhov S., Gurjeva O. Clinical efficacy of intravenous lipoxigenase inhibitor quercetin in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction: results of a prospective randomized open-label trial. *Seminars in Cardiology*. 2005. Vol. 11. Issue 4. P. 154–158.
- [28] Первый опыт применения внутривенной формы ингибитора 5-липоксигеназы у больных с острым инфарктом миокарда: клинико-гемодинамические параллели, влияние препарата на размеры некроза / А. Н. Пархоменко, А. А. Мойбенко, С. Н. Кожухов и др. *Український кардіологічний журнал*. 2000. №1–2. С. 5–9.
- [29] Cardioprotective effects of 5-lipoxygenase inhibitor quercetin in thrombolysed patients with acute myocardial infarction / A. Parkhomenko, S. Kozhukhov, O. Irkin et al. *European Heart Journal*. 2000. Vol. 21. P. 476.
- [30] Kozhukhov S., Parkhomenko A. Does 5-lipoxygenase blockade impact future outcomes in patients with acute myocardial infarction? *European Heart Journal*. 2005. Vol. 26. P. 22.
- [31] Parkhomenko A., Kozhukhov S., Lutay Y. Multicenter randomized clinical trial of the efficacy and safety of intravenous quercetin in patients with ST-elevation acute myocardial infarction. *European Heart Journal*. 2018. P. 39(S1). P. 431. doi: 10.1093/eurheartj/ehy565.2152
- [32] Dominguez-Rodríguez A. Myocardial ischemia-reperfusion injury: Possible role of melatonin. *World Journal of Cardiology*. 2010. Vol. 2(8). P. 233. doi: 10.4330/wjcv.v2.i8.233
- [33] Galano A., Tan D., Reiter R. On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK. *Journal of Pineal Research*. 2012. Vol. 54. Issue 3. P. 245–257. doi: 10.1111/jpi.12010
- [34] Dominguez-Rodríguez A., Abreu-Gonzalez P., Avanzas P. The role of melatonin in acute myocardial infarction. *Frontiers in Bioscience*. 2012. Vol. 17. Issue 7. P. 2433–2441. doi: 10.2741/4063
- [35] Effect of intravenous and intracoronary melatonin as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention for acute ST-elevation myocardial infarction: Results of the Melatonin Adjunct in the acute myocardial infarction treated with Angioplasty trial / A. Dominguez-Rodríguez, P. Abreu-Gonzalez, J. de la Torre-Hernandez et al. *Journal of Pineal Research*. 2016. Vol. 62. Issue 1. e12374. doi: 10.1111/jpi.12374
- [36] The cardioprotection granted by metoprolol is restricted to its administration prior to coronary reperfusion / B. Ibanez, G. Cimmino, S. Prat-González et al. *International Journal of Cardiology*. 2011. Vol. 147. Issue 3. P. 428–432. doi: 10.1016/j.ijcard.2009.09.551
- [37] Khanal S., Vadivelu R. Effect of early metoprolol on infarct size in ST-segment elevation myocardial infarction patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: The effect of metoprolol in cardioprotection during an acute myocardial infarction (METOCARD-CNIC) trial. *Indian Heart Journal*. 2014. Vol. 66. Issue 1. P. 127–128. doi: 10.1016/j.ihj.2013.12.044
- [38] Cardiac protection with phosphocreatine: a meta-analysis / G. Landoni, A. Zangrillo, V. Lomivorotov et al. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*. 2016. Vol. 23. Issue 4. P. 637–646. doi: 10.1093/icvts/ivw171
- [39] Gaddi A., Galuppo P., Yang, J. Creatine Phosphate Administration in Cell Energy Impairment Conditions: A Summary of Past and Present Research. *Heart, Lung And Circulation*. 2017. Vol. 26. Issue 10. P. 1026–1035. doi: 10.1016/j.hlc.2016.12.020
- [40] Nicorandil in Patients with Acute Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention: A Systematic Review and Meta-Analysis / M. Wu, Z. Huang, H. Xie, et al. *Plos ONE*. 2013. Vol. 8. Issue 10. P. e78231. doi: 10.1371/journal.pone.0078231
- [41] Liu T., Feng L. Postconditioning effect of oral nicorandil treatment on patients with acute anterior myocardial infarction. *Heart*. 2012. Vol. 98(S2). E8.1–E8. doi: 10.1136/heartjnl-2012-302920a.16
- [42] Yu S., Li L., Zhang S. Clinical effect of intravenous thrombolysis combined with nicorandil therapy in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2016. Vol. 15. Issue 6. P. 1335. doi: 10.4314/tjpr.v15i6.29

- [43] Natriuretic peptide infusion reduces myocardial injury during acute ischemia/reperfusion / B. Kousholt, J. Rolighed Larsen, L. Bisgaard, et al. *Cardiovascular Endocrinology*. 2012. Vol. 1. Issue 1. P. 4–12. doi: 10.1097/xce.0b013e328356c67b
- [44] Ciapponi A., Pizarro R., Harrison J. Trimetazidine for stable angina. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2005. Vol. 4. doi: 10.1002/14651858.CD003614.pub2
- [45] McCarthy C., Mullins K., Kerins D. The role of trimetazidine in cardiovascular disease: beyond an anti-anginal agent. *European Heart Journal – Cardiovascular Pharmacotherapy*. 2015. Vol. 2. Issue 4. P. 266–272. doi: 10.1093/ehjcvp/pvv051
- [46] Effect of 48-h intravenous trimetazidine on short- and long-term outcomes of patients with acute myocardial infarction, with and without thrombolytic therapy. A double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *European Heart Journal*. 2000. Vol. 21. Issue 18. P. 1537–1546. doi: 10.1053/ehj.1999.2439
- [47] Cyclosporine before PCI in patients with acute myocardial infarction / T. Cung, O. Morel, G. Cayla, et al. *New England Journal of Medicine*. 2015. Vol. 373. Issue 11. P. 1021–1031. doi: 10.1056/NEJMoa1505489
- [48] Effect of Cyclosporine on Left Ventricular Remodeling After Reperfusion Myocardial Infarction / N. Mewton, P. Croisille, G. Gahide et al. *Journal of The American College of Cardiology*. 2010. Vol. 55. Issue 12. P. 1200–1205. doi: 10.1016/j.jacc.2009.10.052
- [49] Cyclosporine in Reperfusion Myocardial Infarction / F. Ottani, R. Latini, L. Staszewsky et al. *Journal of The American College of Cardiology*. 2016. Vol. 67. Issue 4. P. 365–374. doi: 10.1016/j.jacc.2015.10.081
- [50] Exenatide Reduces Final Infarct Size in Patients With ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction and Short-Duration of Ischemia / J. Lønberg, H. Kelbæk, N. Vejstrup et al. *Circulation: Cardiovascular Interventions*. 2012. Vol. 5. Issue 2. P. 288–295. doi: 10.1161/circinterventions.112.968388
- [51] Cardioprotective Effects of Exenatide In Patients with ST-segment Elevation Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention; Results of Exenatide Myocardial Protection in Revascularization (EMPIRE) Study / J. Woo, W. Kim, S. Ha et al. *The American Journal of Cardiology*. 2013. Vol. 111. Issue 7. P. 47B. doi: 10.1016/j.amjcard.2013.01.012
- [52] Najjar S. Intravenous Erythropoietin in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *JAMA*. 2011. Vol. 305. Issue 18. P. 1863. doi: 10.1001/jama.2011.592
- [53] The effect of intravenous administration of erythropoietin on the infarct size in primary percutaneous coronary intervention / J. Suh, W. Chung, Y. Kim et al. *International Journal of Cardiology*. 2011. Vol. 149. Issue 2. P. 216–220. doi: 10.1016/j.ijcard.2010.02.002
- [54] Effect of Erythropoietin in patients with acute myocardial infarction: five-year results of the REVIVAL-3 trial / B. Steppich, P. Groha, T. Ibrahim et al. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2017. Vol. 17. Issue 1. P. 38. doi: 10.1186/s12872-016-0464-3
- [55] Lefer D., Barbán E. Is Cardioprotection Dead? *Circulation*. 2017. Vol. 136. Issue 1. P. 98–109. doi: 10.1161/circulationaha.116.027039
- [56] Practical guidelines for rigor and reproducibility in preclinical and clinical studies on cardioprotection / H. E. Botker, D. Hausenloy, I. Andreadou et al. *Basic research in cardiology*. 2018. Vol. 113. Issue 5. P. 39. doi: 10.1007/s00395-018-0696-8
- [8] Pries, A., Kuebler, W., & Habazettl, H. (2018). Coronary Microcirculation in Ischemic Heart Disease. *Current Pharmaceutical Design*, 24(25), 2893–2899. doi: 10.2174/1381612824666180625142341
- [9] Agrawal, V., Gupta, J., Qureshi, S., & Vishwakarma, V. (2016). Role of cardiac renin angiotensin system in ischemia reperfusion injury and preconditioning of heart. *Indian Heart Journal*, 68(6), 856–861. doi: 10.1016/j.ihj.2016.06.010
- [10] Kloner, R. (2013). Current State of Clinical Translation of Cardioprotective Agents for Acute Myocardial Infarction. *Circulation Research*, 113(4), 451–463. doi: 10.1161/circresaha.112.300627
- [11] Heusch, G. (2013). Cardioprotection: chances and challenges of its translation to the clinic. *The Lancet*, 381(9861), 166–175. doi: 10.1016/s0140-6736(12)60916-7
- [12] Spath, N., Mills, N., & Cruden, N. (2016). Novel cardioprotective and regenerative therapies in acute myocardial infarction: a review of recent and ongoing clinical trials. *Future Cardiology*, 12(6), 655–672. doi: 10.2217/fca-2016-0044
- [13] Stone, G., Maehara, A., Witzentichler, B., Godlewski, J., Parise, H., Dambink, J., et al. (2012). Intracoronary Abciximab and Aspiration Thrombectomy in Patients With Large Anterior Myocardial Infarction—The INFUSE-AMI Randomized Trial. *JAMA*, 307(17), 1817–1826. doi: 10.1001/jama.2012.421
- [14] Thiele, H., Wöhrle, J., Hambrecht, R., Rittger, H., Birkemeyer, R., Lauer, B., et al. (2012). Intracoronary versus intravenous bolus abciximab during primary percutaneous coronary intervention in patients with acute ST-elevation myocardial infarction: a randomised trial. *The Lancet*, 379(9819), 923–931. doi: 10.1016/s0140-6736(11)61872-2
- [15] Ross, A., Gibbons, R., Stone, G., Kloner, R., & Alexander, R. (2005). A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial of adenosine as an adjunct to reperfusion in the treatment of acute myocardial infarction (AMISTAD-II). *J Am Coll Cardiol*, 45, 1775–1780. doi: 10.1016/j.jacc.2005.02.061
- [16] Desmet, W., Bogaert, J., Dubois, C., Sinnaeve, P., Adriaenssens, T., Pappas, C., et al. (2010). High-dose intracoronary adenosine for myocardial salvage in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction. *European Heart Journal*, 32(7), 867–877. doi: 10.1093/eurheartj/ehq492
- [17] Fokkema, M., Vlaar, P., & Zijlstra, F. (2009). Response to Letter Regarding Article “Effect of High-Dose Intracoronary Adenosine Administration During Primary Percutaneous Coronary Intervention in Acute Myocardial Infarction: A Randomized Controlled Trial”. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 2(6). e6 doi: 10.1161/circinterventions.109.915942
- [18] Fath-Ordoubadi, F., & Beatt, K. (1997). Glucose-Insulin-Potassium Therapy for Treatment of Acute Myocardial Infarction. *Circulation*, 96(4), 1152–1156. doi: 10.1161/01.cir.96.4.1152
- [19] Diaz, R., Paolasso, E., Piegas, L., Tajer, C., Moreno, M., Corvalán, R., et al. (1998). Metabolic Modulation of Acute Myocardial Infarction. *Circulation*, 98(21), 2227–2234. doi: 10.1161/01.cir.98.21.2227
- [20] Malmberg, K., Rydén, L., Efendic, S., Herlitz, J., Nicol, P., Waldenström, A., et al. (1995). Randomized trial of insulin-glucose infusion followed by subcutaneous insulin treatment in diabetic patients with acute myocardial infarction (DIGAMI study): Effects on mortality at 1 year. *Journal of The American College Of Cardiology*, 26(1), 57–65. doi: 10.1016/0735-1097(95)00126-k
- [21] Mamas, M., Deaton, C., Rutter, M., Yuille, M., Williams, S., Ray, S., et al. (2010). Impaired Glucose Tolerance and Insulin Resistance in Heart Failure: Underrecognized and Undertreated? *Journal of Cardiac Failure*, 16(9), 761–768. doi: 10.1016/j.cardfail.2010.05.027
- [22] Selker, H. P., Beshansky, J. R., Sheehan, P. R., Massaro, J. M., Griffith, J. L., D’Agostino, R. B., et al. (2012). Out-of-hospital administration of intravenous glucose-insulin-potassium in patients with suspected acute coronary syndromes: the IMMEDIATE randomized controlled trial. *JAMA*, 307(18), 1925–33.
- [23] Larson, A., Symons, J., & Jalili, T. (2012). Therapeutic Potential of Quercetin to Decrease Blood Pressure: Review of Efficacy and Mechanisms. *Advances in Nutrition*, 3(1), 39–46. doi: 10.3945/an.111.001271
- [24] Chen, B., Wang, L., Huang, K., Wang, C., Chiang, C., & Liu, S. (2014). Quercetin attenuates renal ischemia/reperfusion injury via an activation of AMP-activated protein kinase-regulated autophagy pathway. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(11), 1226–1234. doi: 10.1016/j.jnutbio.2014.05.013
- [25] Lei, X., Chao, H., Zhang, Z., Lv, J., Li, S., Wei, H., et al. (2015). Neuroprotective effects of quercetin in a mouse model of brain ischemic/reperfusion injury via anti-apoptotic mechanisms based on the Akt pathway. *Molecular Medicine Reports*, 12(3), 3688–3696. doi: 10.3892/mmr.2015.3857
- [26] Tokyol, Ç., Yilmaz, S., Kahraman, A., Çakar, H., & Polat, C. (2006). The Effects of Desferrioxamine and Quercetin on Liver Injury Induced by Hepatic Ischaemia-Reperfusion in Rats. *Acta Chirurgica Belgica*, 106(1), 68–72. doi: 10.1080/00015458.2006.11679837
- [27] Parkhomenko, A., Kozhukhov, S., Gurjeva, O. (2005). Clinical efficacy of intravenous lipoxigenase inhibitor quercetin in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction: results of a prospective randomized open-label trial. *Seminars in Cardiology*, 11(4), 154–158.

References

- [28] Parkhomenko, A., Mojbenko, A., Kozhukhov, S., Irkin, O., Maksutona, N., Shklyar, L., & Shalamaj, A. (2000). Pervyj opyt primeneniya vnutrivennyj formy ingibitora 5-lipoksigenazy u bol'nykh s ostrym infarktom miokarda: Kliniko-hemodinamicheskie paralleli, vliyaniye preparata na razmery nekroza [The first experience of the use of the intravenous form of the 5-lipoxygenase inhibitor in patients with acute myocardial infarction: clinical and hemodynamic parallels, the effect of the drug on the size of necrosis]. *Ukrainskyi kardiologichnyi zhurnal*, 1–2, 5–9. [in Russian].
- [29] Parkhomenko, A., Kozhukhov, S., Irkin, O., Bryl, Z. H., Skarzhovsky, A., Solarik, O., & Shumakov, A. V. (2000). Cardioprotective effects of 5-lipoxygenase inhibitor quercetin in thrombolysed patients with acute myocardial infarction. *European Heart Journal*, 21, 476.
- [30] Kozhukhov, S., & Parkhomenko, A. (2005). Does 5-lipoxygenase blockade impact future outcomes in patients with acute myocardial infarction? *European Heart Journal*, 26, 22.
- [31] Parkhomenko, A., Kozhukhov, S., & Lutay, Y. (2018). Multicenter randomized clinical trial of the efficacy and safety of intravenous quercetin in patients with ST-elevation acute myocardial infarction. *European Heart Journal*, 39(S1), 431. doi: 10.1093/eurheartj/ehy565.2152
- [32] Dominguez-Rodriguez, A. (2010). Myocardial ischemia-reperfusion injury: Possible role of melatonin. *World Journal of Cardiology*, 2(8), 233. doi: 10.4330/wjc.v2.i8.233
- [33] Galano, A., Tan, D., & Reiter, R. (2012). On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK. *Journal of Pineal Research*, 54(3), 245–257. doi: 10.1111/jpi.12010
- [34] Dominguez-Rodriguez, A., Abreu-Gonzalez, P., & Avanzas, P. (2012). The role of melatonin in acute myocardial infarction. *Frontiers In Bioscience*, 17(7), 2433–2441. doi: 10.2741/4063
- [35] Dominguez-Rodriguez, A., Abreu-Gonzalez, P., de la Torre-Hernandez, J., Gonzalez-Gonzalez, J., Garcia-Camarero, T., Consuegra-Sanchez, L. et al. (2016). Effect of intravenous and intracoronary melatonin as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention for acute ST-elevation myocardial infarction: Results of the Melatonin Adjunct in the acute myocardial infarction treated with Angioplasty trial. *Journal of Pineal Research*, 62(1), e12374. doi: 10.1111/jpi.12374
- [36] Ibanez, B., Cimmino, G., Prat-González, S., Vilahur, G., Hutter, R., Garcia, M., et al. (2011). The cardioprotection granted by metoprolol is restricted to its administration prior to coronary reperfusion. *International Journal of Cardiology*, 147(3), 428–432. doi: 10.1016/j.ijcard.2009.09.551
- [37] Khanal, S., & Vadivelu, R. (2014). Effect of early metoprolol on infarct size in ST-segment elevation myocardial infarction patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: The effect of metoprolol in cardioprotection during an acute myocardial infarction (METOCARD-CNIC) trial. *Indian Heart Journal*, 66(1), 127–128. doi: 10.1016/j.ihj.2013.12.044
- [38] Landoni, G., Zangrillo, A., Lomivorotov, V., Likhvantsev, V., Ma, J., De Simone, F., & Fominskiy, E. (2016). Cardiac protection with phosphocreatine: a meta-analysis. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*, 23(4), 637–646. doi: 10.1093/icvts/ivw171
- [39] Gaddi, A., Galuppo, P., & Yang, J. (2017). Creatine Phosphate Administration in Cell Energy Impairment Conditions: A Summary of Past and Present Research. *Heart, Lung And Circulation*, 26(10), 1026–1035. doi: 10.1016/j.hlc.2016.12.020
- [40] Wu, M., Huang, Z., Xie, H., & Zhou, Z. (2013). Nicorandil in Patients with Acute Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Plos ONE*, 8(10), e78231. doi: 10.1371/journal.pone.0078231
- [41] Liu, T., & Feng, L. (2012). Postconditioning effect of oral nicorandil treatment on patients with acute anterior myocardial infarction. *Heart*, 98(Suppl 2), E8.1–E8. doi: 10.1136/heartjnl-2012-302920a.16
- [42] Yu, S., Li, L., & Zhang, S. (2016). Clinical effect of intravenous thrombolysis combined with nicorandil therapy in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(6), 1335. doi: 10.4314/tjpr.v15i6.29
- [43] Kousholt, B., Rolighed Larsen, J., Bisgaard, L., Burnett, J., Hasenkam, J., & Goetze, J. (2012). Natriuretic peptide infusion reduces myocardial injury during acute ischemia/reperfusion. *Cardiovascular Endocrinology*, 1(1), 4–12. doi: 10.1097/xce.0b013e328356c67b
- [44] Ciapponi, A., Pizarro, R., & Harrison, J. (2005). Trimetazidine for stable angina. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4. doi: 10.1002/14651858.CD003614.pub2
- [45] McCarthy, C., Mullins, K., & Kerins, D. (2015). The role of trimetazidine in cardiovascular disease: beyond an anti-anginal agent. *European Heart Journal – Cardiovascular Pharmacotherapy*, 2(4), 266–272. doi: 10.1093/ehjcvp/pvv051
- [46] (2000). Effect of 48-h intravenous trimetazidine on short- and long-term outcomes of patients with acute myocardial infarction, with and without thrombolytic therapy. A double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *European Heart Journal*, 21(18), 1537–1546. doi: 10.1053/euhj.1999.2439
- [47] Cung, T. T., Morel, O., Cayla, G., Rioufol, G., Garcia-Dorado, D., Angoulvant, D., et al. (2015). Cyclosporine before PCI in patients with acute myocardial infarction. *New England Journal of Medicine*, 373(11), 1021–1031. doi: 10.1056/NEJMoa1505489
- [48] Mewton, N., Croisille, P., Gahide, G., Rioufol, G., Bonnefoy, E., Sanchez, I., et al. (2010). Effect of Cyclosporine on Left Ventricular Remodeling After Reperused Myocardial Infarction. *Journal of The American College of Cardiology*, 55(12), 1200–1205. doi: 10.1016/j.jacc.2009.10.052
- [49] Ottani, F., Latini, R., Staszewsky, L., La Vecchia, L., Locuratolo, N., Sicuro, M., et al. (2016). Cyclosporine A in Reperused Myocardial Infarction. *Journal of The American College of Cardiology*, 67(4), 365–374. doi: 10.1016/j.jacc.2015.10.081
- [50] Lønborg, J., Kelbæk, H., Vejstrup, N., Bøtker, H., Kim, W., Holmvang, L., et al. (2012). Exenatide Reduces Final Infarct Size in Patients With ST-Segment–Elevation Myocardial Infarction and Short-Duration of Ischemia. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 5(2), 288–295. doi: 10.1161/circinterventions.112.968388
- [51] Woo, J., Kim, W., Ha, S., Kim, J., Kim, S., Kim, W., et al. (2013). Cardioprotective Effects of Exenatide In Patients with ST-segment Elevation Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention; Results of Exenatide Myocardial Protection in Revascularization (EMPIRE) Study. *The American Journal of Cardiology*, 111(7), 47B. doi: 10.1016/j.amjcard.2013.01.012
- [52] Najjar, S. (2011). Intravenous Erythropoietin in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *JAMA*, 305(18), 1863. doi: 10.1001/jama.2011.592
- [53] Suh, J., Chung, W., Kim, Y., Kim, K., Jeon, E., Cho, Y., et al. (2011). The effect of intravenous administration of erythropoietin on the infarct size in primary percutaneous coronary intervention. *International Journal of Cardiology*, 149(2), 216–220. doi: 10.1016/j.ijcard.2010.02.002
- [54] Steppich, B., Groha, P., Ibrahim, T., Schunkert, H., Laugwitz, K., Hadamitzky, M., et al. (2017). Effect of Erythropoietin in patients with acute myocardial infarction: five-year results of the REVIVAL-3 trial. *BMC Cardiovascular Disorders*, 17(1). doi: 10.1186/s12872-016-0464-3
- [55] Lefer, D., & Marbán, E. (2017). Is Cardioprotection Dead? *Circulation*, 136(1), 98–109. doi: 10.1161/circulationaha.116.027039
- [56] Bøtker, H. E., Hausenloy, D., Andreadou, I., Antonucci, S., Boengler, K., Davidson, S. M., et al. (2018). Practical guidelines for rigor and reproducibility in preclinical and clinical studies on cardioprotection. *Basic research in cardiology*, 113(5), 39. doi: 10.1007/s00395-018-0696-8

Diastolic dysfunction: from the discovery to the latest updates

T. V. Ashcheulova^{*A-F}, H. V. Demydenko^{A-F}, N. M. Herasymchuk^{A-F}, Yu. K. Rezunenکو^{A,E},
O. A. Kochubiei^{A,E}, T. M. Ambrosova^{B,C}

Kharkiv National Medical University, Ukraine

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

Key words:
heart failure,
ventricular
dysfunction,
echocardiography,
diagnosis,
therapeutics,
prognosis.

Zaporozhye
medical journal
2019; 21 (4), 538–545

DOI:
10.14739/2310-1210.
2019.4.173358

***E-mail:**
tatiana.ashcheulova@
gmail.com

Over a long period, chronic heart failure was primarily associated with impaired contractility of the left ventricular myocardium, which is a manifestation of systolic dysfunction. Based on modern ideas about the pathophysiology of CHF syndrome, systolic dysfunction is considered as one of the etiological factors along with changes in wall tension and the structure of diastolic filling, i.e. everything that is included in the concept of "LV remodeling".

The objective is to present a review of the key parameters of chronic heart failure and left ventricular diastolic dysfunction according to the latest updates.

The role and significance of diastolic dysfunction as the cause of chronic heart failure syndrome have only been determined over the past three decades, which can be explained by the difficulty of early diagnostics of diastolic dysfunction. The article describes the historical evolution of heart failure and left ventricular diastolic dysfunction estimation. It is important to note the high prevalence of diastolic dysfunction. The signs of myocardial diastolic dysfunction are detected in people with almost any heart disease. The universal review of the most important parameters which determine this disorder has been presented. It has been shown that Doppler echocardiography is now the noninvasive "gold standard" for estimation of diastolic dysfunction.

We have presented methods of treatment for diastolic dysfunction according to the 2017 American College of Cardiology/American Heart Association updated Guidelines for the management of heart failure

Conclusions. The experimental studies demonstrate that the survival of HF patients with a preserved EF depends not so much on its indices, but on the severity of DD. DD is a more prognostic marker of mortality rate in patients with HF than EF, which requires further study for better therapeutic efficacy.

Ключові слова:
серцева
недостатність,
шлуночкова
дисфункція,
ехокардіографія,
діагностика,
лікування, прогноз.

Запорізький
медичний
журнал. – 2019. –
Т. 21, № 4(115). –
С. 538–545

Діастолічна дисфункція: від відкриття до останніх оновлень

Т. В. Ащеулова, Г. В. Демиденко, Н. М. Герасимчук, Ю. К. Резуненко, О. А. Кочубей, Т. М. Амбросова

Протягом тривалого часу хронічну серцеву недостатність пов'язували передусім із порушенням скорочувальної активності міокарда лівого шлуночка, що є проявом систолічної дисфункції. За сучасними уявленнями про патофізіологію синдрому хронічної серцевої недостатності, систолічну дисфункцію розглядають як один з етіологічних факторів разом зі змінами напруженості стінки та структури діастолічного наповнення, тобто всім тим, що входить у поняття «реконструкція лівого шлуночка».

Мета роботи – представити огляд ключових параметрів хронічної серцевої недостатності та діастолічної дисфункції лівого шлуночка відповідно до останніх оновлень.

У формуванні синдрому хронічної серцевої недостатності роль і значення діастолічної дисфункції визначають тільки протягом останніх трьох десятиріч, що може бути пояснено складністю ранньої діагностики діастолічної дисфункції. Показана історія розвитку серцевої недостатності та діастолічної дисфункції лівого шлуночка. Важливо відзначити високу поширеність діастолічної дисфункції. Ознаки діастолічної дисфункції міокарда виявляють в осіб майже з будь-яким захворюванням серця. Наведений огляд найбільш важливих параметрів, що визначають цей розлад. Нині неінвазивним «золотим стандартом» для оцінювання діастолічної дисфункції є доплерівська ехокардіографія.

Описано методи лікування діастолічної дисфункції, що засновані на оновлених рекомендаціях Американської колегії кардіологів/Американської асоціації серця в лікуванні пацієнтів із серцевою недостатністю 2017 р.

Висновки. Експериментальні дослідження показують: виживання хворих на серцеву недостатність зі збереженою фракцією викиду залежить не стільки від показників останньої, скільки від вираженості діастолічної дисфункції. Діастолічна дисфункція у хворих на серцеву недостатність є більш прогностичним показником смертності, ніж фракція викиду, яка потребує додаткових досліджень для кращого лікування.

Диастолическая дисфункция: от открытия до последних обновлений

Т. В. Ащеулова, А. В. Демиденко, Н. Н. Герасимчук, Ю. К. Резуненко, О. А. Кочубей, Т. Н. Амбросова

В течение длительного периода хроническая сердечная недостаточность связывали прежде всего с нарушением сократимости миокарда левого желудочка, что является проявлением систолической дисфункции. Исходя из современных представлений о патофизиологии синдрома хронической сердечной недостаточности, систолическую дисфункцию рассматривают как один из этиологических факторов наряду с изменением напряжения стенок и структуры диастолического наполнения, т. е. со всем тем, что включается в понятие «ремоделирования левого желудочка».

Цель работы – представить обзор основных параметров хронической сердечной недостаточности и диастолической дисфункции левого желудочка в соответствии с последними обновлениями.

В формировании синдрома хронической сердечной недостаточности роль и значение диастолической дисфункции стали определять лишь на протяжении последних трех десятилетий, что может быть объяснено трудностью ранней диагностики диастолической дисфункции. Показана история развития сердечной недостаточности и диастолической дисфункции левого желудочка. Важно отметить высокую распространенность диастолической дисфункции. Признаки диастолической дисфункции миокарда отмечают у лиц практически с любым заболеванием сердца. Представлен универсальный обзор наиболее важных параметров, определяющих это расстройство. Показано, что в настоящее время неинвазивным «золотым стандартом» для оценки диастолической дисфункции является доплеровская эхокардиография.

Представлены методы лечения диастолической дисфункции, основанные на обновленных рекомендациях Американской коллегии кардиологов/Американской ассоциации сердца в лечении пациентов с сердечной недостаточностью 2017 г.

Выводы. Экспериментальные исследования показывают, что выживаемость пациентов с сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса зависит не столько от показателей последней, сколько от выраженности диастолической дисфункции. Диастолическая дисфункция у пациентов с сердечной недостаточностью является более прогностическим показателем смертности, чем фракция выброса, которая нуждается в дальнейших исследованиях для лучшего лечения.

Ключевые слова:

сердечная недостаточность, желудочковая дисфункция, эхокардиография, диагностика, лечение, прогноз.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 538–545

Chronic heart failure (CHF) is a pathological condition when the heart, due to impairment of the pump function, can not provide the organs and tissues with the necessary amount of blood in accordance with the metabolic needs of the tissues. From a clinical point of view, CHF is a syndrome, the typical features of which are reduced tolerance to physical activity, fluid retention, progressive pattern and decreased life expectancy. Left ventricular (LV) diastolic dysfunction (DD) (LVDD) is characterized by alterations in LV diastolic filling / distension and is a strong predictor of cardiovascular events and heart failure (HF). Given the increased incidence, this pathology becomes one of the most serious problems of modern medicine with substantial financial costs [1,2].

Aim

The objective is to present a review of the key parameters of chronic heart failure and left ventricular diastolic dysfunction according to the latest updates.

Historical evolution of HF and LVDD evaluation

The studies of diastole and diseases that are associated with its changes started in 1877, when Francois-Franck concluded through studies that the maximal filling of the LF occurs during early diastole. In 1906, Henderson described three phases of diastole, and in 1921, Wiggers and Katz discovered that the left atrium (LA) had a significant influence in patients with altered LV. In 1927, Meek found in the experiment that the phase of active relaxation in diastole affects contractility of myocardium. In 1949, Wiggers almost completely described the basic state of myocardium in diastole – relaxation. In 1975, W. H. Gaasch found in a series of experimental and clinical studies the difference in diastole of healthy people and patients with cardiovascular pathology, using changes in LV pressure and volume. In 1983–1984, H. H. Echevernia, A. H. Doherty and R. Souter introduced the term “diastolic heart failure” into clinical practice [1–3].

Nowadays, the term “diastolic dysfunction” is in use. Diastole is disturbed also in systolic HF and considered to be more stressing with further worsening of exercise intolerance and determines the prognosis and systolic contraction disturbances, so HF is a common entity with both phenotypes [4,5]

The signs of myocardial DD are detected in people with almost any heart disease. Thus, in patients with arterial hypertension (AH), left ventricular diastolic dysfunction (LVDD) occurs in 50–90 % of cases and closely correlates

with the degree of increase in blood pressure (BP) and AH presence. The prevalence of LVDD in patients with type 2 diabetes mellitus (DM) without clinical manifestation of heart disease is found in 75 % of cases. The combination of type 2 DM with AH increases the frequency of LVDD signs detection. According to the results of a large epidemiological study, the presence of type 2 DM 5 times increases the risk of CHF in women and 2.6 times in men. Comorbid AH and obesity in patients with type 2 DM without ischemic heart disease (IHD) increase the probability of LVDD manifestation and left ventricle remodeling, which contributes to the development and progression of HF. In addition, type 2 DM is an independent predictor of CHF development. So, Borlaug B.A. and co-authors demonstrated in their study the presence of previously undiagnosed CHF in 28 % of patients with type 2 DM over 60 years of age [6,7].

Up to last year, 2016 Guidelines of the European Society of Cardiology and the Heart Failure Association for the diagnosis and treatment of acute heart failure (AHF) and CHF were in use. Patients with HF were previously divided into 3 major classes based on changes in the LV ejection fraction (EF): CHF with reduced (less than 40 %) EF (HFrEF), formerly called systolic heart failure; CHF with mid-range (40 % to 49 %) EF (HFmrEF), so-called “gray zone”; CHF with preserved (50 % or more) EF (HFpEF).

While the current updated version, proposed by a group of experts in 2017, is of great interest [8,9] due to significant changes. Based on these Guidelines, the 2013 update included only two categories of patients with cutoff value for EF of 40 % for the definition of HF with preserved or reduced EF.

The majority of patients with HF and preserved LVEF usually have diastolic dysfunction, which is considered as one of HF causes in such patients [9,10].

However, patients with a reduced LVEF may also have diastolic dysfunction, while mild systolic dysfunction (SD) is present in some patients with a preserved LVEF.

The incidence of diastolic myocardial dysfunction as a cause of CHF increases dramatically with age. The prevalence of preserved LV systolic function among patients with CHF of older age groups is widely represented in the medical literature. As a result of a clinical study conducted by I. A. Sharoshina it was found that LV systolic function is preserved in more than 60% of patients with CHF of 60 years old and older, and it occurs in 47 % of patients with CHF at the age of 66–75 years old and in 64 % – over 75

years old. Given the data of National Heart Failure Project, CHF with preserved systolic function of the left ventricle in the US is observed in 50 % of women over 65 years old and a third of men of the same age [12].

Approximately 1–2 % of the adult populations in developed countries have HF, with a prevailing risk >10 % among patients over the age of 70 years old. Among the people older than 65 years old with newly diagnosed exertional dyspnea, unrecognized HF (mainly HFpEF) is detected in one of the six. The risk of HF occurring at the age of 55 is 33 % for men and 28 % for women. The number of patients with HFpEF varies from 22 % to 73 %, depending on the age of detection, sex of the studied population, old myocardial infarction. Recent data based on examination of hospitalized patients suggest that the HF incidence is lower in HFrEF than in HFpEF. HFpEF, apparently, has other epidemiological and etiological reasons than HFrEF. Patients with HFpEF are older and women with concomitant hypertension and atrial fibrillation (AF) are more common among them, while MI occurs in a smaller percentage [11, 13–15].

LV diastolic function is the ability of the LV to be filled with the amount of blood that is necessary to maintain adequate cardiac output at an average venous pulmonary pressure of no more than 12 mm Hg. Diastolic filling of the heart is regulated by a variety of cardiac and extracardiac factors.

Filling of the ventricles with blood in a healthy person is typically divided into two phases: the phase of rapid (active) filling during early diastole and the phase of slow (passive) filling during late diastole ending with the atrial systole. Atrial systole is no more than 25 % in cardiac output in preserved diastolic relaxation and normosystole, which allows it to be considered as only an additional pump for ventricles filling. However, with the progression of CHF, the systole of the atria assumes a fundamentally important compensatory role [16, 17].

Relaxation of the myocytes causes a rapid isovolumic pressure drop in the blood remaining in the LV chamber, during the first phase of diastole known as isovolumic relaxation. When the pressure of the blood in the LV falls below the pressure of the LA, the mitral valve opens causing the LV chamber to fill with blood during early diastole. The latter depends on both the pressure in the atrium itself and the rate of ventricular myocardium relaxation, which leads to pressure equalization between the atrium and the ventricle. An increase in IVRT indicates a slowdown in energy-dependent cellular relaxation, and the decrease corresponds to an increase in the filling pressure. The rapid filling of the ventricle with blood is an integral part of relaxation, as the ventricle can not expand without the blood entering it. The active, energy-dependent part of the relaxation represented by the rate of actin-myosin dissociation and the passive one, non-energy-dependent part of the relaxation represented by stretching the elastic structures of the myocardium, compressed during systole, determine the process of relaxation. When the ventricle relaxes during the 1st phase, ionic fluxes and a new force arise, which moves the actin and myosin filaments in the opposite direction, providing the fibers elongation. Because of this, relaxation is as active process as one (hence the term "active relaxation"). It has been proved that with a gradual disruption of energy production, myocardial relaxation changes appears earlier than the indices of systolic function decrease. After the mitral

valve opening, the ventricle relaxation increasingly depends not on cellular active relaxation, but on the blood flow, which is regulated by the filling pressure and the atrioventricular valve orifice area.

The phase of passive filling consists of diastasis (the static equilibrium state of the LV during mid-diastole when the LV and LA are relaxed and static) and atrial systole [18].

Further changes in pressure and volume in late diastole occur passively, under the influence of the blood "pumping". During this period, the ventricle filling depends on the ventricle chamber stiffness, the pressure in the atrium and its contractility, as well as on the heart rate, pericardial conditions, preload and afterload. In its turn, the stiffness of the ventricular chamber myocardium depends on the mechanical properties of the cardiomyocytes, connective tissue stroma, bloodstream and the ventricle geometry (the walls volume to the chamber volume ratio). Passive properties of the myocardium begin to determine LV filling already in early diastole, but maximally affect the filling process in the phase of diastasis and atrial systole. Further the LV blood supply occurs by inertia, against the pressure gradient, i.e., with deceleration. Increased lengthening of early diastolic LV filling indicates a slowing of passive relaxation and a reduced lengthening indicates a high filling pressure. Approximately at mid-diastole, there is no atrioventricular pressure gradient (the phase of diastasis), and mitral inflow is practically absent until the systole of the atria. The value of the maximal atrial systolic velocity depends on the LA preload (LA filling by the moment of atrial contraction) and the stiffness of the left ventricular myocardium. It is difficult to affect the stiffness of the ventricle. Apparently, it is a question of such measures as a decrease in the degree of hypertrophy, surgical treatment of pericarditis, attempting to influence the degree of fibrosis severity [19].

If the active relaxation is entirely determined by the cardiomyocytes properties, then the stiffness of the myocardium largely depends on the state of interstitium. At the heart of increased myocardial stiffness there is an excessive deposition of fibrous tissue in the myocardium (processes of collagen synthesis predominate over its degradation) [20].

LVDD is the inability of myocardial muscle fibers to relax during diastole, resulting in insufficient blood in the LV. In order to compensate for the lack of blood in the ventricles and their weak work, LA at the same time begins to work with increased strain and tries to draw in as much blood as possible. As a result, this leads to an overload of the atrium and an increase in its volume. Proceeding from the latter, by LVDD is meant such damage to the heart muscle which requires an increased pressure in the pulmonary veins and the LA to adequately fill the LV cavity. In case of LVDD, the LV filling is slowed down, delayed or insufficient resulting in signs of pulmonary or systemic congestion development [21]. In its pure form, DD occurs in less than 20 % of all cases.

Disturbance of the diastolic properties of non-hypertrophied myocardium may be due to interstitial fibrosis development in it and is observed after 45 years old as a variant of the age norm. This type of diastole changes is common for the aging heart (even in the absence of any cardiovascular disease) due to the naturally occurring disorders caused by normal aging of distensibility, stiffness and compliance of the LV myocardium, because of changes

in tissues (primarily an increase in the content of collagen and osteopontin), a decreased receptor function, endothelial dysfunction, etc. [22].

Disorders of LV diastolic function due to ischemia and / or cardiosclerosis are now generally recognized in IHD patients including those without a history of myocardial infarction (MI). The inhibition of myocardial relaxation resulting from reduced blood supply to the myocardium, in turn, worsens myocardial ischemia. Reduction in the rate and completeness of active diastolic relaxation takes a leading role in DD pathogenesis. Therefore, myocardial fibrosis, its hypertrophy, ischemia, as well as the increase in afterload in AH are classified as the main pathogenetic factors that contribute to DD development. Myocardial hypertrophy is a consequence of such diseases as hypertrophic cardiomyopathy, hypertension; aortic valve stenosis. The result of the above factors interaction is an increase in calcium ions concentration in cardiomyocytes, decrease in the compliance of the LV myocardium, disorder of cardiac muscle relaxation, change in the normal ratio of early and late LV filling, increase in the end-diastolic volume (EDV). In addition, the causes of hemodynamic disorders can be such diseases as: constrictive pericarditis – a thickening of the pericardium resulting in heart chambers compression; primary amyloidosis – deposition of amyloid causes atrophy of muscle fibers and a decrease in myocardial elasticity; coronary vessels pathology leading to chronic coronary heart disease, and the development of myocardial rigidity (stiffness) due to cicatricle changes.

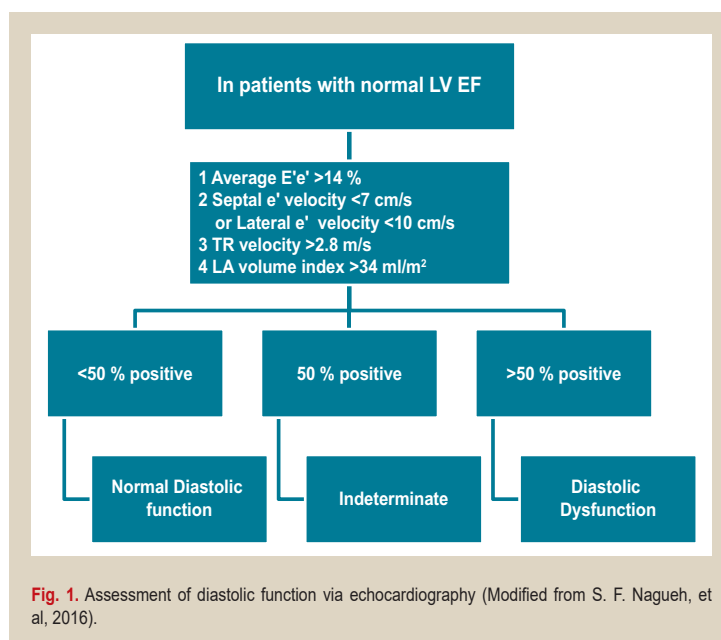
Due to compensatory pulmonary hypertension development, right heart preload is increased, DD of both ventricles is formed. The risk factors are such conditions as obesity and diabetes. Restrictive lesions of the myocardium (Loeffler's endocarditis and endomyocardial fibrosis or Davies disease), which can reduce the process of relaxation, or diastole. This muscle is adversely affected by harmful habits such as alcohol abuse and smoking, caffeine addiction also causes an additional heart load. The environment has a direct impact on this vital organ state.

So, the term "diastolic dysfunction" means clinically significant changes in LV filling. A classic standard for this pathology detection is an invasive intervention – heart catheterization [23].

Nowadays, the noninvasive "gold standard" for DD estimation is Doppler echocardiography [24]. Echocardiographic assessment of LV diastolic function is an integral part of the routine evaluation of patients presenting with symptoms of dyspnea or HF. Echocardiography is the most important diagnostic method in HF patients, as long as physical examination, electrocardiogram and X-ray do not give sufficient information to identify systolic or diastolic form of HF. Assessment of LV diastolic function is an integral element for the echocardiographic evaluation of each patient (Fig. 1).

Classification and Diagnostic criteria

There are three grades of LVDD: DD with impaired relaxation and normal LV filling pressures (grade I), pseudo-normalization (grade II) and DD occurs when LV relaxation is impaired along with markedly elevated LV filling pressures (grade III) (Table 1) [24,25]. These are stages of myocardial diastolic dysfunction progression. In the absence of appropriate medical and preventive measures, the first grade



of impairment goes to the second, and the second – to the third. It is particularly difficult for diagnosis the second grade of impairment – pseudonormalization. The first two grades may not be accompanied by symptoms, while the last grade corresponds to a severe degree of CHF with marked symptoms.

Grade I – LVDD is classified as mild. Now this grade of DD is usually called a delayed LV relaxation. This is the initial stage of pathological changes in the myocardium and it can be termed as hypertrophic, which is the most common type. It occurs absolutely asymptotically at the earliest stages of development and that is its insidiousness, since the patient does not presume a disorder in the heart work and does not seek medical help. The hypertrophic type is associated with slow ventricular relaxation in diastole and is characterized by a decrease in the ability to pump blood from the pulmonary artery into the ventricle in the filling stage. The main volume of blood in this case comes during the atria contraction. This is due to the lack of myocardial elasticity. We should note that the diastolic pressure in the LV can remain at normal level. With Type I there is no HF dysfunction, and this type is diagnosed only with the help of echocardiography.

One of the causes of LVDD is hypertension in which there is a disorder of active relaxation and compliance, increased myocardial mass and stiffness, an increase in ventricles weight due to their walls thickening. The factors leading to DD development worsen the process of relaxation, reduce the elasticity of the LV walls mainly due to hypertrophy (thickening) of myocardium development. In arterial hypertension, the disorder of relaxation is detected in 90 % of patients with LV hypertrophy and in 25 % without it. Significant DD is sometimes observed in patients with a very mild and focal thickening of the ventricular wall without obstruction.

Grade II – LVDD is characterized as moderate or pseudo normal. In grade II, due to insufficient relaxation of the LV and a reduced volume of blood flow from it, the LA takes on a compensatory role and begins to work hard enough for

Table 1. Doppler indices values for the grade of DD differentiation [24,25]

	Normal	Grade I	Grade II	Grade III
LV relaxation	Normal	Impaired	Impaired	Impaired
LAP (left atrial pressure)	Normal	Low or normal	Elevated	Elevated
Mitral E/A ratio	≥ 0.8	≤ 0.8	> 0.8 to < 2.0	> 2
Average E/e' ratio	< 10	< 10	10–14	> 14
Peak TR velocity (m/sec)	< 2.8	< 2.8	> 2.8	> 2.8
LA volume index	Normal	Normal or increased	Increased	Increased

two. Ventricles filling occur due to the difference in pressure. The second type of dysfunction can be characterized by clinical symptoms of HF and signs of pulmonary congestion.

Grade III, or restrictive type of dysfunction, is the terminal stage of DD formation. This is a serious disorder, which is characterized by a sharp decrease in the LV walls elasticity, its excessive stiffness, high pressure in the LA, a severe clinical course of congestive HF. In grade III, severe worsening resulting in pulmonary edema and cardiac asthma are common. And these conditions are seriously life threatening and often lead to death without proper emergency treatment. In a restrictive type of DD, LV remodeling reaches such a degree that the SD does not play the same basic role as at the initial stage. This type of diastolic LV filling disorder is an important predictor of cardiovascular mortality and cardiac transplantation.

In patients who experienced acute myocardial infarction (AMI), a feature of disadaptive LV remodeling is the tendency to develop a restrictive type of LV diastolic filling. It has been established that exercise tolerance and quality of life of CHF patients (functional class according to NYHA) are more correlated with restrictive DD than with SD. Therefore, restrictive type of DD detection, regardless of systolic LV function and other adaptive-compensatory mechanisms in CHF, indicates a more severe course of CHF. LVDD has the worst prognosis in CHF patients.

At the early, initial stages of LVDD development, a patient may not have any complaints. In 45 % of DD cases, an asymptomatic course is observed. It is not uncommon for cases of DD to be diagnosed by additional methods of examination like an accidental finding. At later stages of the disease, when clinical manifestations are caused by increased pressure in the LA cavity and pulmonary arteries, patients may experience the following complaints.

Dyspnea. Initially, this symptom is present only with physical exertion, but in progression of the disease, dyspnea may appear with a slight exertion and patients are breathless at rest.

Palpitation. An increase in heart rate is not common for this heart disorder. In many patients, the heart rate reaches submaximal values even at rest and increases significantly during work, walking and excitement. There are sensations of interruptions in the heart work, chest pain, accompanying heart rhythm disturbances, most often, atrial fibrillation. A common complaint among patients with this pathology is a feeling of chest compression, shortness of breath.

There is a dry cough worsened by lying supine and at night. Such patients are often treated for bacterial or viral infection month after month misdiagnosing as having bronchitis or another lung pathology. In fact, there is a disorder of diastolic function with manifestations of circulatory insufficiency.

Fatigability and the inability to perform previously well tolerated physical activity. Patients are surprised to note that easily tolerable earlier physical exertions are now heavy for them, accompanied by health deterioration and fatigue.

Lower extremity edema. As noted above, LVDD is a pathophysiological disorder underlying of HFpEF syndrome and therefore the evaluation of DD is of fundamental importance for the diagnosis. Taking into account the 2016 Guidelines of the European Society of Cardiology and the Heart Failure Association for the diagnosis and treatment of acute heart failure (AHF) and CHF, to improve the diagnosis of HF with a slight decrease in EF and preserved EF, a clinical diagnosis (history, symptoms, electrocardiographic changes) should be confirmed by the presence of cardiac dysfunction at rest or using stress testing. Electrocardiography (ECG) – is an aid in the diagnosis and allows identifying the signs of myocardial ischemia and myocardial hypertrophy. Abnormal ECG data increase the likelihood of having HF, but these data are not very specific, therefore ECG are recommended to exclude HF and not to confirm it. In case of CHF, the determination of natriuretic peptides (NUP) concentration is recommended. When the of brain natriuretic peptide NUP (BNP), N-terminal fragment of the NUP precursor (NT-pro-BNP) ≥ 125 pg/ml, echocardiography is indicated. If it is not possible to determine NUP in routine practice, an EchoCG is also recommended to confirm the diagnosis of HF. On average, the serum concentration of NUP is lower in HF patients with preserved LVEF than that in HF patients with reduced LVEF [25].

It is important to note that there is no single sufficiently accurate and reproducible EchoCG parameter that could be used to diagnose LVDD. Diagnosis of early LVDD helps prevent irreversible changes. Two-dimensional EchoCG in combination with Doppler-echocardiogram, which allows to obtain a real-time image of the myocardium and to estimate its hemodynamic functions, is applicable to accessible and informative methods for diagnosis verification. By investigating the characteristics of transmitral blood flow, the dynamics of LV filling are assessed to study its functional state. For this purpose, using the impulse Doppler EchoCG, the early peak velocity – V_e , the late peak velocity – V_a , the late diastolic filling velocity – A , and the peak early filling velocity – E are measured. The indices V_e/V_a and E/A are calculated. To determine the time of LV isovolumetric relaxation (IVRT) and deceleration half time of the early filling period (DTE), a continuous-wave Doppler ultrasound is used. These indices values in a healthy patient are: V_e/V_a – 0.9–1.5, E/A – 1.0–2.0, IVRT < 100 msec, DTE < 220 msec. Peak of diastolic waves corresponding to early (e') and late (a') filling of the LV is measured by pulsed wave tissue Doppler imaging. In early diagnosis of LVDD, the tissue Doppler-EchoCG method in pulse-wave mode is a good supplement to the conventional Doppler EchoCG of the transmitral flow in the absence of pronounced changes in its geometry, since the results obtained with the help of this method do not depend on hemodynamic conditions.

At young age (up to 45 years old), healthy individuals are characterized by relatively high values of these indices, often at the upper limits of the norm. As a rule, in persons over 45 years of age, the values of these indices are at the lower limit of the norm. Values of the V_e/V_a and E/A

indices for diastolic function disorders are usually reduced, and the IVRT is prolonged (transmitral blood flow type A, blood flow with atrial systole predominance). Patients with pseudo-normal transmitral blood flow (restrictive transmitral blood flow of type B), which indicates more significant disorders of LV function, constitute an exception. It is also characterized by high values of the V_e/V_a and E/A indices and IVRT shortening. In the clinic, this variant of DD is less common [9].

Radionuclide ventriculography and evaluation of active and passive diastolic properties of the myocardium during the catheterization of the ventricular cavity with the definition of its volume dynamics are the most informative. But these techniques have limitations inherent in all invasive procedures. With the help of new Doppler echocardiography methods of the heart echolocation (digital color kinesis), an assessment of focal diastolic function of myocardium, its individual segments, has become available, but it is also very expensive. Therefore, Doppler echocardiography remains available and the most common method.

Chest X-ray examination allows to determine the degree of cardiomegaly, if there is a hypertrophy and is used to detect signs of pulmonary hypertension.

MRI of the heart is not a routine method of examination, but it is more informative than heart ultrasound and is sometimes prescribed for controversial cases diagnosis.

Treatment modalities

The patient and the doctor need to be clearly aware that even asymptomatic ventricular myocardial dysfunction requires an administration of medications. Given the prevalence of heart DD, there has been an understanding of the need for its correction in patients with both cardiovascular diseases (eg, AF, hypertension, IHD, pulmonary hypertension) and other non-cardiovascular diseases (DM, chronic renal disease (CRD), iron deficiency anemia, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and obesity). The optimal directions of diastolic HF treatment have not yet been developed; there is no proven treatment for patients with HFpEF, which would reduce the morbidity and mortality of these patients. Since these people are usually elderly patients with severe symptoms, an important goal of management in such patients is to reduce symptoms and improve their quality of life.

According to the 2017 Guidelines of the experts of the European Society of Cardiology, diuretics should be prescribed to patients with congestive HF due to DD. Diuretics tend to reduce congestion, if there are any, but they should be used with caution, so as not to cause an excessive decrease in LV preload and a drop in cardiac output. It is proven that diuretics reduce the symptoms of HF, regardless of LVEF [9].

Dehydration therapy in the active phase (in the presence of congestive phenomena) is performed with the excess of the excreted urine over the water intake no more than 1.0–1.5 liters per day in order to avoid electrolyte, hormonal, arrhythmic and thrombotic complications.

Such diuretics as furosemide, torasemide, bumetanide cause a more intense but less prolonged diuresis than thiazide ones (bendroflumethiazide, hydrochlorothiazide, metolazone, indapamide), although they can act synergistically and their combination can be used for resistant edema treatment. However, due to adverse effects, these

combinations should be used with caution. Torasemide has advantages over furosemide in terms of the strength of action, degree of absorption (convenience of ingestion), duration of action (better tolerability, with a lower incidence of urination), a positive effect on neurohormones (less electrolyte disturbances, less progression of myocardial fibrosis and improved diastolic filling of the heart) and reliably reduces the risk of repeated hospitalizations due to CHF exacerbation. The goal of diuretics is to achieve and maintain euvolemia (the «dry weight» of the patient) with the lowest available doses. The dose of diuretics should be adjusted according to individual needs during the treatment process. After reaching euvolemia, diuretics are prescribed daily in minimum doses, allowing to maintain a balanced diuresis (torasemide or furosemide). To maintain the optimal acid-base balance, preservation of sensitivity to loop diuretics and normalization of renal blood flow, a 4–5-day course of carbonic anhydrase inhibitor acetazolamide (0.75/day) is recommended every 2 weeks. In patients with euvolemia / hypovolemia without symptoms, diuretics can be temporarily withdrawn [26].

LVDD, the treatment of which depends on the degree of disease, primarily affects the processes of hemodynamics. Therefore, the therapy plan is based on the correction of this process disorders. Theoretically, to improve the diastolic function we should use drugs that reduce LV hypertrophy, improve active relaxation and increase LV compliance. To the methods of hemodynamic disorders correction should include the following medical measures: control of BP; heart rate reduction; water-salt metabolism maintaining to reduce preload, as well as remodeling of cardiac geometry (reducing the thickening and returning the walls of its chambers to normal) [26].

In persons with LVDD, it is important to treat AH (predominantly systolic), as evidenced by indirect research data. In this regard diuretics, angiotensin-converting enzyme (i-ACE) inhibitors, angiotensin II receptor blockers (ARBs), mineralocorticoid receptor antagonists (ARM) are effective, but beta-blockers (BB) less effectively reduce systolic BP. In recent studies, it has been shown that ARBs (olmesartan) should not be administered to patients with HFpEF if they receive I-ACE and BB [9,25].

The optimal frequency of ventricular contraction (VCR) in patients with LVDD and concomitant AF has not been determined, moreover, excessive VCR control may be harmful. It is yet to be fully determined which drugs should be preferred: digoxin, BB or calcium channel blockers (CCB) lowering heart rate, or their combinations. Verapamil and diltiazem should not be combined with BB. The data available to date are not sufficient to recommend patients with HFpEF ablation of pulmonary veins or AV node.

Patients with angina pectoris should be managed in the same way as patients with HFpEF. In patients with LVDD, exercise tolerance is reduced, which, as a rule, is accompanied by an increase in BP in response to exercise and chronotropic insufficiency. Combined endurance-resistance training is safe for patients with HFpEF and exercise tolerance increasing (due to increased peak oxygen consumption), improves the score on the scale of physical functioning and diastolic function [9,25].

2017 American College of Cardiology/American Heart Association updated Guidelines for the management of patients with HF recommended using an angiotensin re-

septor–neprilysin inhibitor (ARNI) (valsartan/sacubitril) and a sinoatrial node modulator (ivabradine) [9].

Conclusions

Over the past decade, experimental studies have rejected the previous concept that the prognosis for HF patients with preserved LVEF is better than that for patients with reduced EF. Evidence shows that the survival rate of HF patients with preserved EF depends not so much on its indices, but on the severity of DD. DD is a more prognostic marker of mortality than EF in HF patients which requires further study for better therapeutic efficacy.

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

Надійшла до редакції / Received: 27.06.2018
Після доопрацювання / Revised: 21.11.2018
Прийнято до друку / Accepted: 10.12.2018

Information about authors:

Ashcheulova T. V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Fundamentals of Internal Medicine № 1, Fundamentals of Bioethics and Biosafety, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Demydenko H. V., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Fundamentals of Internal Medicine № 1, Fundamentals of Bioethics and Biosafety, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Herasymchuk N. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Fundamentals of Internal Medicine № 1, Fundamentals of Bioethics and Biosafety, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Rezunenکو Ю. К., MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Hygiene and Ecology № 1, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Kochubiei O. A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Fundamentals of Internal Medicine № 1, Fundamentals of Bioethics and Biosafety, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Ambrosova T. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Fundamentals of Internal Medicine № 1, Fundamentals of Bioethics and Biosafety, Kharkiv National Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Ащеулова Т. В., д-р мед. наук, професор, зав. каф. пропедевтики внутрішньої медицини № 1, основ біоетики та біобезпеки, Харківський національний медичний університет, Україна.

Демиденко Г. В., д-р мед. наук, професор каф. пропедевтики внутрішньої медицини № 1, основ біоетики та біобезпеки, Харківський національний медичний університет, Україна.

Герасимчук Н. М., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики внутрішньої медицини № 1, основ біоетики та біобезпеки, Харківський національний медичний університет, Україна.

Резуненко Ю. К., д-р мед. наук, доцент каф. гігієни та екології № 1, Харківський національний медичний університет, Україна.

Кочубей О. А., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики внутрішньої медицини № 1, основ біоетики та біобезпеки, Харківський національний медичний університет, Україна.

Амбросова Т. М., д-р мед. наук, професор каф. пропедевтики внутрішньої медицини № 1, основ біоетики та біобезпеки, Харківський національний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Ащеулова Т. В., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. пропедевтики внутренней медицины № 1, основ биоэтики и биобезопасности, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Демиденко А. В., д-р мед. наук, профессор каф. пропедевтики внутренней медицины № 1, основ биоэтики и биобезопасности, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Герасимчук Н. М., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики внутренней медицины № 1, основ биоэтики и биобезопасности, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Резуненко Ю. К., д-р мед. наук, доцент каф. гигиены и экологии № 1, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Кочубей О. А., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики внутренней медицины № 1, основ биоэтики и биобезопасности, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

Амбросова Т. М., д-р мед. наук, профессор каф. пропедевтики внутренней медицины № 1, основ биоэтики и биобезопасности, Харьковский национальный медицинский университет, Украина.

References

- [1] Tennøe, A. H., Murbræch, K., Andreassen, J. C., Fretheim, H., Garen, T., Gude, E., et al. (2018). Left Ventricular Diastolic Dysfunction Predicts Mortality in Patients With Systemic Sclerosis. *J Am Coll Cardiol*, 72(15), 1804–1813. doi: 10.1016/j.jacc.2018.07.068
- [2] Nagueh, S. F. (2018). Classification of Left Ventricular Diastolic Dysfunction and Heart Failure Diagnosis and Prognosis. *J Am Soc Echocardiogr*, 31(11), 1209–1211. doi: 10.1016/j.echo.2018.09.011
- [3] Komamura, K. (2013). Similarities and Differences between the Pathogenesis and Pathophysiology of Diastolic and Systolic Heart Failure. *Cardiology Research and Practice*, 2013, 824135. doi: 10.1155/2013/824135
- [4] Sanchis, L., Andrea, R., Falces, C., Poyatos, S., Vidal, B., & Stiges, M. (2018). Differential clinical implications of current recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*, 31(11), 1203–1208. doi: 10.1016/j.echo.2018.08.011
- [5] Mameri El Aouar, L. M., Meyerfreud, D., Magalhães, P., Rodrigues, S. L., Baldo, M. P., Aouar, S. M. E. L., et al. (2013). Relationship between left atrial volume and diastolic dysfunction in 500 Brazilian patients. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 101(1), 52–58. doi: 10.5935/abc.20130109
- [6] Borlaug, B. A., Olson, T. P., Lam, C. S., Flood, K. S., Lerman, A., Johnson, B. D., et al. (2014). Global cardiovascular reserve dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction. *Journal of the American College of Cardiology*, 56(11), 845–854. doi: 10.1016/j.jacc.2010.03.077
- [7] Andersen, M. J. & Borlaug, B. A. (2014). Heart failure with preserved ejection fraction: current understandings and challenges. *Current Cardiology Reports*, 16(7), 501. doi: 10.1007/s11886-014-0501-8
- [8] Prasad, S. B., Lin, A. K., Guppy-Coles, K. B., Stanton, T., Krishnasamy, R., Whalley, G. A. (2018). Diastolic dysfunction assessed using contemporary guidelines and prognosis following myocardial infarction. *J Am Soc Echocardiogr*, 31(10), 1127–1136. doi: 10.1016/j.echo.2018.05.016
- [9] Yancy, C. W., Jessup, M., Bozkurt, B., Butler, J., Casey, D. E., Colvin, M. M., et al. (2017). 2017 ACC/AHA/HFSA focused update of the 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Failure Society of America. *Circulation*, 136(6), e137–e161. doi: 10.1161/CIR.0000000000000509
- [10] Shah, A. M., Claggett, B., Kitzman, D., Biering-Sørensen, T., Jensen, J. S., Cheng, S., et al. (2017). Contemporary assessment of left ventricular diastolic function in older adults: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation*, 135(5), 426–439. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.116.024825
- [11] Lekavich, C. L., Barksdale, D. J., Neelon, V., & Wu, J. R. (2015). Heart failure preserved ejection fraction (HFpEF): an integrated and strategic review. *Heart Failure Reviews*, 20(6), 643–653. doi: 10.1007/s10741-015-9506-7
- [12] Phan, T. T., Shivu, G. N., Abozguia, K., Sanderson, J. E., & Frenneaux, M. (2012). The pathophysiology of heart failure with preserved ejection fraction: from molecular mechanisms to exercise haemodynamics. *International Journal of Cardiology*, 158(3), 337–343. doi: 10.1016/j.ijcard.2011.06.113
- [13] Ancona, R., Comenale Pinto, S., Caso, P., D'Andrea, A., Di Salvo, G., Arenga, F., et al. (2014). Left atrium by echocardiography in clinical practice: from conventional methods to new echocardiographic techniques. *The Scientific World Journal*, 2014, 451042. doi: 10.1155/2014/451042

- [14] Paulus, W. J., Tschöpe, C., Sanderson, J. E., Rusconi, C., Flachskampf, F. A., Rademakers, F. E., et al. (2007). How to diagnose diastolic heart failure: a consensus statement on the diagnosis of heart failure with normal left ventricular ejection fraction by the Heart Failure and Echocardiography Associations of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal*, 28(20), 2539–50. doi: 10.1093/eurheartj/ehm037
- [15] Lancellotti, P., Galderisi, M., Edvardsen, T., Donal, E., Goliasch, G., Cardim, N., et al. (2017). Echo-Doppler estimation of left ventricular filling pressure: results of the multicentre EACVI Euro-Filling study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 18(9), 961–968. doi: 10.1093/ehjci/ehx067
- [16] Balaney, B., Medvedofsky, D., Mediratta, A., Singh, A., Cizek, B., Kruse, E., et al. (2018). Invasive validation of the echocardiographic assessment of left ventricular filling pressures using the 2016 diastolic guidelines: head-to-head comparison with the 2009 guidelines. *J Am Soc Echocardiogr*, 31(1), 79–88. doi: 10.1016/j.echo.2017.09.002
- [17] Palau, P., Núñez, E., Domínguez, E., Sanchis, J., & Núñez, J. (2016). Physical therapy in heart failure with preserved ejection fraction: A systematic review. *European Journal of Preventive Cardiology*, 23(1), 4–13. doi: 10.1177/2047487314562740
- [18] Andersen, O. S., Smiseth, O. A., Dokainish, H., Abudiyab, M. M., Schutt, R. C., Kumar, A., et al. (2017). Estimating left ventricular filling pressure by echocardiography. *J Am Coll Cardiol*, 69(15), 1937–1948. doi: 10.1016/j.jacc.2017.01.058
- [19] Sharma, K., & Kass, D. A. (2014). Heart failure with preserved ejection fraction: mechanisms, clinical features, and therapies. *Circulation Research*, 115(1), 79–96. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.302922
- [20] Edelmann, F., Wachter, R., Schmidt, A. G., Kraigher-Krainer, E., Colantonio, C., Kamke, W., et al. (2013). Effect of spironolactone on diastolic function and exercise capacity in patients with heart failure with preserved ejection fraction: the Aldo-DHF randomized controlled trial. *Journal of the American Medical Association*, 309(8), 781–91. doi: 10.1001/jama.2013.905
- [21] Yamamoto, K., Origasa, H., & Hori, M. (2013). Effects of carvedilol on heart failure with preserved ejection fraction: the Japanese Diastolic Heart Failure Study (J-DHF). *European Journal of Heart Failure*, 15(1), 110–8. doi: 10.1093/eurjhf/hfs141
- [22] Metkus, T. S., Suarez-Pierre, A., Crawford, T. C., Lawton, J. S., Goeddel, L., Dodd-O, J., et al. (2018). Diastolic dysfunction is common and predicts outcome after cardiac surgery. *Journal of cardiothoracic surgery*, 13(1), 67. doi: 10.1186/s13019-018-0744-3
- [23] Velagaleti, R. S., Gona, P., Pencina, M. J., Aragam, J., Wang, T. J., Levy, D., et al. (2014). Left ventricular hypertrophy patterns and incidence of heart failure with preserved versus reduced ejection fraction. *The American Journal of Cardiology*, 113(1), 117–22. doi: 10.1016/j.amjcard.2013.09.028
- [24] Nagueh, S. F., Smiseth, O. A., Appleton, C. P., Byrd, B. F., 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
- [25] Yancy, C. W., Jessup, M., Bozkurt, B., Butler, J., Casey, D. E. Jr., Colvin, M. M., et al. (2016). ACC/AHA/HFSA focused update on new pharmacological therapy for heart failure: an update of the 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Failure Society of America. *Circulation*, 134(13), e282–93. doi: 10.1161/CIR.0000000000000435
- [26] Reddy, Y. N., & Borlaug, B. A. (2016). Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *Current Problems in Cardiology*, 41(4), 145–188. <https://doi.org/10.1016/j.cpcardiol.2015.12.002>

Аналіз сучасного стану проблеми післяопераційних легеневих ускладнень в абдомінальній хірургії

Т. С. Кузьменко*

Запорізький державний медичний університет, Україна

Ключові слова: післяопераційні ускладнення, вентиляція легень, профілактика розвитку легеневих ускладнень.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 546–553

DOI:
10.14739/2310-1210.2019.4.173360

***E-mail:**
tatianakuzmenko1212@gmail.com

Мета роботи – на підставі аналізу даних наукової літератури показати актуальність проблеми післяопераційних легеневих ускладнень (ПЛУ) в абдомінальній хірургії, а також розглянути причини та сучасні методи профілактики їхнього розвитку в пацієнтів зі здоровими легеньми.

Показники ПЛУ в абдомінальній хірургії коливаються в межах від 17 до 88 %, а їхній розвиток призводить до збільшення летальності, вартості лікування, а також тривалості перебування в лікувальному закладі. Штучна вентиляція легень (ШВЛ) – один з основних компонентів під час загального знеболення в абдомінальній хірургії, але вона досі залишається нефізіологічною та може викликати вентилятор-асоційовані пошкодження легень (ВАПЛ/VALI). Крім того, під час ШВЛ знижується активність діафрагми, зменшуються дихальні об'єми, що може призвести до розвитку раннього експіраторного закриття дихальних шляхів, ателектазування, порушення вентиляційно-перфузійного відношення, мукоциліарного кліренсу та підвищення бактеріальної колонізації. Названі фактори є визначальними в розвитку ПЛУ, призводять до збільшення рівня захворюваності та смертності в післяопераційному періоді. Великі відкриті абдомінальні операції, особливо втручання на верхньому поверсі черевної порожнини, збільшують ризик розвитку ПЛУ. Аналізуючи сучасні дослідження, спостерігали «зсув парадигми» від запобігання летальному результату та ускладнень при пошкодженні легень до профілактики самого розвитку дихальних ускладнень. Нині визначені фактори ризику та розроблені шкали, що дають змогу надійно та своєчасно прогнозувати розвиток ПЛУ, одна з них – шкала ARISCAT. Є різні заходи, що сприяють запобіганню розвитку VALI та ПЛУ. Основні з них: низький дихальний об'єм, використання позитивного тиску в кінці видиху, а також використання маневрів рекрутування альвеол. Поєднання цих заходів називають протективною вентиляцією.

Висновки. Інтраопераційна протективна ШВЛ під час оперативних втручань на органах черевної порожнини в пацієнтів зі здоровими легеньми дає змогу знизити ризик розвитку післяопераційних легеневих ускладнень.

Ключевые слова: послеоперационные осложнения, вентиляция легких, профилактика развития легочных осложнений.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 546–553

Анализ современного состояния проблемы послеоперационных легочных осложнений в абдоминальной хирургии

Т. С. Кузьменко

Цель работы – на основании анализа данных научной литературы показать актуальность проблемы послеоперационных легочных осложнений (ПЛО) в абдоминальной хирургии, а также рассмотреть причины и современные методы профилактики их развития у пациентов со здоровыми легкими.

Показатели ПЛО в абдоминальной хирургии колеблются в пределах от 17 до 88 %, а их развитие приводит к увеличению летальности, стоимости лечения, а также продолжительности пребывания в лечебном учреждении. Искусственная вентиляция легких (ИВЛ) – один из основных компонентов при проведении общего обезболивания в абдоминальной хирургии, однако она до сих пор остается нефизиологичной и может вызывать вентилятор-ассоциированные повреждения легких (ВАПЛ/VALI). Кроме того, при проведении ИВЛ снижается активность диафрагмы, уменьшаются дыхательные объемы, это может привести к развитию раннего экспираторного закрытия дыхательных путей, ателектазированию, нарушению вентиляционно-перфузионного отношения, мукоцилиарного клиренса и повышению бактериальной колонизации. Указанные факторы являются определяющими в развитии ПЛО и приводят к росту уровня заболеваемости и смертности в послеоперационном периоде. Объемные открытые абдоминальные операции, в особенности вмешательства на верхнем этаже брюшной полости, увеличивают риск развития ПЛО. При анализе современных исследований прослеживается четкий «сдвиг парадигмы» от предупреждения летального исхода и осложнений при повреждении легких к профилактике самого развития дыхательных осложнений. Сегодня определены факторы риска и разработаны шкалы, которые надежно и своевременно позволяют прогнозировать развитие ПЛО, одна из них – шкала ARISCAT. Существуют различные способы, способствующие предупреждению развития VALI и ПЛО, к основным из них относят низкий дыхательный объем, использование положительного давления в конце выдоха, а также использование маневров рекрутирования альвеол. Сочетание этих способов получило название протективная вентиляция.

Выводы. Интраоперационная протективная ИВЛ при оперативных вмешательствах на органах брюшной полости у пациентов со здоровыми легкими позволяет снизить риск развития ПЛО.

Key words: postoperative complications, mechanical ventilation, prevention of pulmonary complications.

Analysis of the current state of the postoperative pulmonary complications issue in abdominal surgery

T. S. Kuzmenko

Purpose. Based on the analysis of the scientific literature data, to determine the relevance of postoperative pulmonary complications (PPCs) issue in abdominal surgery, as well as to examine the causes and modern methods of their development prevention in patients with unaffected lungs.

Conclusions. Indicators of PPCs in abdominal surgery range from 17 % to 88 %, and their development leads to an increase in lethality, the cost of treatment, and the length of stay in a medical institution. Mechanical ventilation (MV) is non-physiological and can cause ventilator-associated lung injury (VALI), adversely affects the respiratory muscles, as well as non-respiratory lung function. The above factors are prominent in PPCs development causing an increase in morbidity and mortality in the postoperative period. Extensive open abdominal operations, especially upper abdominal surgical procedures, increase the risk of PPCs development. In the analysis of modern studies, there has been a clear “paradigm shift” from the prevention of death and complications of lung damage to the prevention of respiratory complications development itself. To date, the risk factors have been identified and scales have been developed that allow predicting PPCs development in a timely and reliable manner, one of which is the ARISCAT scale.

There are various measures to prevent VALI and PPCs development and the main ones include low respiratory volume, the use of positive end-expiratory pressure (PEEP) and alveolar recruitment maneuvers. The combination of these measures has been termed “protective ventilation”. It has been proved that protective MV during abdominal surgery in patients with unaffected lungs can reduce the risk of PPCs development.

Щороку у світі здійснюють понад 230 млн оперативних втручань на органах черевної порожнини, що потребують виконання загального знеболення з використанням механічної вентиляції легень [1]. Штучна вентиляція легень (ШВЛ) є одним з основних компонентів під час загального знеболення в абдомінальній хірургії, але ШВЛ може ініціювати пошкодження як легеневої тканини (вентилятор-асоційовані пошкодження легень, ВАПЛ/VALI), так і дихальної мускулатури. Легеневі ускладнення є важливими предикторами післяопераційної смертності, особливо серед пацієнтів похилого віку [2]. Показники післяопераційних легневих ускладнень (ПЛУ) в абдомінальній хірургії коливаються в межах від 17 до 88 %, їхній розвиток призводить до зростання захворюваності та смертності, збільшення тривалості перебування в лікувальному закладі, а також матеріальних витрат [3].

В останні роки прослідковується зміна акценту від запобігання летальному наслідку та ускладнень при пошкодженні легень на профілактику розвитку дихальних ускладнень.

Мета роботи

На підставі аналізу даних наукової літератури показати актуальність проблеми післяопераційних ускладнень (ПЛУ) в абдомінальній хірургії, а також розглянути причини та сучасні методи профілактики їхнього розвитку в пацієнтів з інтактними легеньми.

Післяопераційні легеневі ускладнення в абдомінальній хірургії

ПЛУ – відносно різноманітна група станів, що досі не має універсального визначення, але такими станами зазвичай вважають ускладнення, що пов'язані з анестезією та/або оперативним втручанням і розвиваються в перші 7 діб післяопераційного періоду. До найбільш важливих ПЛУ належать ателектази, пневмонія, дихальна недостатність і загострення супутніх хронічних захворювань легень [4]. Післяопераційну пневмонію діагностують із частотою до 20 %, вона є однією з основних інфекційних причин летальності в післяопераційному періоді. Найбільш частим ускладненням, хоча і менш клінічно вираженим, є формування ателектазів, котрі виникають безпосередньо після індукції в анестезію, що є причиною гіпоксемії в післяопераційному періоді й нерідко призводять до розвитку пневмонії. Список ПЛУ може бути розширено, якщо в нього включити гостру обструкцію верхніх дихальних шляхів, бронхоспазм, пневмоторакс, ускладнення обструктивного апное сну, плевральний

випіт, хімічний пневмоніт, набряк легень, гіпоксемію та гострий респіраторний дистрес-синдром.

Загальне знеболення та оперативні втручання на органах черевної порожнини негативно впливають на респіраторну систему. Резервний об'єм видиху знижується на 26 % після оперативних втручань на нижньому поверсі черевної порожнини та на 60 % після операцій на верхньому поверсі. Функціональна залишкова ємність легень (ФЗЄ) зменшується на 0,8–1,0 л шляхом зміни положення з вертикального на горизонтальне, внаслідок підвищення внутрішньочеревного тиску та зміщення діафрагми у краніальному напрямку. Загальне знеболення додатково знижує ФЗЄ на 0,4–0,5 через розслаблення діафрагми та міжреберних м'язів, що ще більше зміщує діафрагму вгору. Коли ФЗЄ наближається до об'єму закриття дихальних шляхів, відбувається закриття дрібних бронхіол, що призводить до розвитку ателектазів і, як наслідок, гіпоксії. Ателектази розвиваються в 90 % пацієнтів під час загального знеболення, в результаті збільшується альвеолярний мертвий простір унаслідок перфузії невентилюваних і погано вентилюваних ділянок легень. Загальна анестезія із ШВЛ збільшують шунт на 5 % унаслідок формування ателектазів і колапсу дихальних шляхів (ДШ). Певну роль відіграє також іммобілізація пацієнта під час оперативного втручання, що зумовлює утруднення евакуації секрету ДШ. Тому, враховуючи названі фактори негативного впливу загального знеболення та оперативного втручання на органах черевної порожнини на дихальну систему, вкрай важливим є вибір адекватної респіраторної підтримки.

Вентилятор-асоційовані пошкодження легень (VALI) та пов'язані з ними легеневі ускладнення

Завдяки суттєвому поглибленню знань про фізіологію та патофізіологію зовнішнього дихання, вдосконаленню апаратів і методологій ШВЛ у сучасних умовах протезування функції дихання виконують в умовах, що максимально наближені до фізіологічних. У другій половині ХХ сторіччя ШВЛ стали розглядати як фактор агресії щодо легеневої тканини, який здатен призвести до розвитку патологічних змін навіть у здорових легень, викликаючи їхнє пошкодження. Ashbaugh et al. назвали ці зміни респіраторним дистрес синдромом, хоча вже тоді деякі рецензенти висловлювали думку, що це новий синдром – прояв пошкоджувальної дії ШВЛ. Ретельніше вивчення цього питання призвело до того, що L. N. Tremblay et al. (1997) запропонували нову термінологію: VILI (ventilator-induced lung injury), тобто вентилятор-індуковані пошкодження легень – пошкодження легень,

яке викликане ШВЛ в експериментальних тварин. Під час продовження вивчення цієї теми запропонували термін, що показує негативні ефекти ШВЛ у людей із непошкодженими легенями – VALI.

Протягом багатьох років для профілактики гіпоксемії та ателектазування в пацієнтів під час анестезії рекомендували ШВЛ великими дихальними об'ємами (ДО) у межах 10–15 мл/кг. Такий підхід пояснювали необхідністю розкриття ателектазованої легеневої тканини, поліпшення вентиляційно-перфузійного відношення та відповідним зменшення потреби у високій фракції кисню. Безпечність великого ДО обґрунтували відносно коротким періодом ШВЛ під час оперативного втручання. Серія експериментальних робіт Tremblay et al., Gong et al. показала: механічна вентиляція з використанням високого пікового інспіраторного тиску та великих ДО призводить не тільки до перероздування альвеол, пошкодження їхньої стінки, але й до порушення функції сурфактанта [5]. У легенях пацієнтів, які потребували тривалої ШВЛ, виявляли виражені зміни (щільні клітинні інфільтрати, набряк і галінові мембрани).

VALI включає волюмотравму, баротравму, ателектотравму та біотравму. Механічний стрес і перерозтягнення альвеол є тригерами VALI.

Основна причина розвитку волюмотравми – використання великих дихальних об'ємів під час респіраторної підтримки пацієнтів, що призводить до перерозтягнення альвеол, пошкодження паренхіми альвеол, збільшення проникності та пошкодження ендотелію легеневих капілярів, активації медіаторів запалення. Ці процеси призводять до розвитку легеневої та прогресування системної запальної відповіді, стиснення легеневих капілярів із порушенням мікроциркуляції, порушення вентиляційно-перфузійного відношення, а також формування легеневої гіпертензії та підвищення навантаження на правий шлуночок серця.

Як баротравму класифікують пневмоторакс, пневмомедіастинум, формування мікрокіст у легеновому інтерстиції (інтерстиціальна емфізема), що може призводити до системної газової емболії, а також пневмоперитонеуму та підшкірної емфіземи. Пошкоджувальними факторами вважають піковий тиск у ДШ (P_{peak}) і тиск плато (P_{plat}). P_{peak} у ДШ відбиває їхній опір і податливість легеневої тканини, зі збільшенням опору визначають переважно збільшення P_{peak}, при зменшенні податливості легеневої тканини переважно зростає P_{plat}. При підвищеному опорі у ДШ і високому P_{peak} приріст тиску в альвеолах невеликий, а тому ймовірність баротравми незначна. Однак при збільшенні P_{plat} (тобто зменшенні податливості легеневої тканини) приріст тиску в альвеолах значний, а тому ймовірність баротравми різко зростає.

Останнім часом вважається, що ателектотравма є провідною під час розвитку VALI, що вперше описана Webb et al. [6] в експериментальній роботі. Ателектатична травма виникає при циклічному відкритті альвеол і дрібних ДШ на вдиху та колабуванні їх на видиху, внаслідок цього відбувається вичерпання запасів сурфактанта та збільшення сили поверхневого натягу. Вона викликає додаткове пошкодження альвеол, ендотелію капілярів зі збільшенням їхньої проникності та витисненням сурфактанта з альвеол до ДШ, що посилює колабування

альвеол. При злипанні пневмоцистів, що знаходяться на протилежних стінках альвеол, між оболонками цих клітин знаходиться тонкий шар рідини, при розправленні альвеоли між оболонками клітин виникає «місток» з альвеолярного секрету. Коли «місток» розривається, виникає пошкодження клітинної стінки, оголюється альвеолярна мембрана, підвищується проникність альвеоло-капілярної стінки та запускається механізм відповіді на пошкодження. Цей механізм полягає в залученні макрофагів і виділенні медіаторів запалення, тобто розвивається системна запальна відповідь. Метою запобігання ателектатичної травми є збільшення ФЗЄ легень понад об'єм закриття дрібних ДШ. Для збільшення ФЗЄ використовують позитивний тиск у кінці видиху (ПТКВ), його застосування дає змогу зменшити прояв ателектотравми та відновити функціональність альвеол.

Компонентами, що провокують розвиток біотравми, є баро-, волюмо- та ателектотравми. Кожен із цих компонентів призводить до місцевого вивільнення медіаторів запалення (ФНО- α , інтерлейкінів, лейкотрієнів, вазоактивних речовин, прокоагулантів, γ -інтерферону тощо) та виділенню їх у системний кровообіг із формуванням поліорганної дисфункції.

Велику увагу приділяють впливу ШВЛ на недихальні функції легень. Встановлено, що штучне дихання негативно впливає на дренажну функцію трахеобронхіального дерева (ТБД). У зв'язку з виключенням нормального кашльового механізму після інтубації трахеї, кашель, основний захисний рефлекс, що забезпечує санацію ТБД, є неможливим. Потрапляння у ДШ недостатньо зігрітого та зволоженого повітря, підвищений вміст кисню в газовій суміші порушують роботу війок бронхіального епітелію та місцевий імунітет дихальної системи. Затримка бронхіального секрету, зміна його реологічних властивостей викликають різке зниження альвеолярної вентиляції – закриваються пори Кона, що забезпечують можливість проникнення повітря з одної альвеоли в іншу. Внаслідок лімфостазу виникає звуження дрібних бронхів і бронхіол. Ці зміни призводять до порушення механічних властивостей легень, передусім до збільшення опору ДШ.

Внаслідок пошкоджувальної дії ШВЛ на слизову оболонку бронхіол і дренажну функцію ТБД, проникнення патогена в ДШ, його фіксація на поверхні слизової оболонки може призвести до розвитку вентилятор-асоційованої пневмонії.

Вентилятор-асоційована пневмонія (ВАП) – запально-інфекційне ураження легень, що розвивається не раніше ніж через 48 годин від моменту інтубації хворого та початку ШВЛ за відсутності ознак легеневої інфекції перед інтубацією. Частота розвитку ВАП прямо залежить від тривалості респіраторної підтримки.

Розвиток ВАП є незалежною прогностичною ознакою несприятливого результату у важкохворих, яким необхідна ШВЛ. ВАП збільшує тривалість перебування у відділенні інтенсивної терапії (ВІТ), що, відповідно, призводить до збільшення матеріальних витрат на лікування захворювання та його ускладнень.

Хворі на ВАП мають вищу летальність порівняно з іншими пацієнтами з нозокоміальними пневмоніями. Летальність хворих на ВАП в середньому становить 20–50 %, але може досягати 70 % і більше, коли інфекція

викликана полірезистентною флорою. ВАП збільшує летальність хворих із позалегеновою патологією в середньому на 30 %.

Особливу роль у розвитку ВАП посідає поширення інфікованого секрету з «надманжеткового» простору верхніх дихальних шляхів (ВДШ).

Предиктори післяопераційних легеневих ускладнень

Поширеність ПЛУ, їхній вплив на летальність, тривалість і вартість лікування підкреслюють важливість прогнозування їхнього розвитку. У роботах G. W. Smetana та V. A. Lawrence [7,8] визначено наявність предикторів ПЛУ. Розрізняють пацієнт-асоційовані фактори ризику; фактори, що пов'язані з хірургічним втручанням; фактори, що пов'язані з допоміжними методами дослідження.

До пацієнт-залежних факторів ризику належать вік, наявність хронічних захворювань легень, куріння, наявність застійної серцевої недостатності, рівень активності пацієнта, функціональний клас за шкалою ASA, ожиріння, наявність компартмент-синдрому.

У дослідженнях доведено, що похилий вік є важливим предиктором ПЛУ. Десять рандомізованих досліджень показали, що вік був другим серед найчастіше визначених факторів ризику. Відношення шансів становило 2,09 (ДІ від 1,70 до 2,58) для пацієнтів віком від 60 до 69 років та 3,04 (ДІ від 2,11 до 4,39) для тих, кому від 70 до 79 років, щодо молодих пацієнтів (молодше ніж 60 років) [7, 8].

У метааналізах [7,8] визначено, що хронічні обструктивні захворювання легень (ХОЗЛ) – фактори ризику розвитку ПЛУ, які визначали найчастіше, відношення шансів – 1,79 (ДІ від 1,44 до 2,22).

Встановлена вірогідна залежність між курінням і захворюванням легень. У курців зміни максимальної об'ємної швидкості потоку в середині видиху з'являються значно раніше, ніж клінічні симптоми ХОЗЛ. Результати свідчать, що куріння збільшує ризик розвитку ПЛУ, відношення шансів – 1,26 (ДІ від 1,01 до 1,56) [7,8].

Наявність застійної серцевої недостатності в анамнезі є важливим фактором ризику розвитку ПЛУ, відношення шансів – 2,93 (ДІ від 1,02 до 8,43) [7,8].

Рівень активності пацієнта – важливий предиктор розвитку ПЛУ. Визначають повну функціональну залежність – нездатність виконувати будь-які дії в повсякденному житті; часткову – коли для виконання деяких видів діяльності необхідне використання різних пристроїв чи обладнання або допомога іншої людини. Відношення шансів становило 2,51 (ДІ від 1,99 до 3,15) для повної залежності, 1,65 (ДІ від 1,36 до 2,01) – для часткової залежності [7,8].

Для визначення ризику виконання загального знеболення Американська асоціація анестезіологів (ASA) ухвалила класифікацію ступенів ризику загальної анестезії, що заснована на градаціях функціонального стану пацієнтів. Класифікація ASA спрямована на передбачення ймовірності післяопераційної смертності, але доведено, що з її допомогою можна визначити ризик розвитку післяопераційних легеневих і кардіальних ускладнень [9]. При першому ASA-класі кількість ПЛУ становить 1,2 %, при другому – 5,4 %, при третьому – 11,4 %, при четвертому – 10,9 %, при п'ятому – не визначена.

Зменшення легеневих об'ємів є однією з причин

розвитку ПЛУ. Ожиріння може додатково знизити об'єми легень. Але в питанні впливу ожиріння на розвиток ПЛУ думки дослідників нині розходяться. G. W. Smetana, V. A. Lawrence та Elke не встановили підвищений ризик розвитку ПЛУ навіть для пацієнтів із морбідним ожирінням [7,8]. Однак Mendonça вважає, що ожиріння – незалежний фактор розвитку ПЛУ, зокрема в абдомінальній хірургії [10].

Абдомінальний компартмент-синдром призводить до підвищення тиску у ДШ, розвитку гіпоксії та гіперкапнії. Зміщення діафрагми краніально призводить до зниження статичного та динамічного комплаєнсу. Збільшення інтраабдомінального тиску зменшує загальну ємність легень, ФЗС, залишковий об'єм. Це призводить до порушення вентиляційно-перфузійного відношення, гіповентиляції, ателектазування альвеол базальних відділів легень. Усе це робить свій внесок у розвиток ПЛУ.

Предиктори, що пов'язані з оперативним втручанням: ділянка оперативного втручання, його тривалість, вид анестезіологічного забезпечення, а також екстремність оперативного втручання.

Дослідження G. W. Smetana та V. A. Lawrence показали, що наступні оперативні втручання пов'язані з підвищеним ризиком розвитку ПЛУ: операції при аневризмі аорти, торакальні оперативні втручання, абдомінальна хірургія, особливо верхній поверх черевної порожнини.

Тривалість оперативного втручання понад 2 години збільшує ризик розвитку ПЛУ. Тривалість операції понад 3 години є незалежним предиктором розвитку ПЛУ, відношення шансів – 2,14 (ДІ від 1,33 до 3,46).

Загальне знеболення також має негативний вплив. Анестезія та анагетика можуть призводити до розвитку ПЛУ у зв'язку зі зниженням тону м'язової мускулатури та/або звуженням ДШ і ателектазуванням. Доведено, що загальне знеболення є предиктором розвитку легеневих ускладнень у післяопераційному періоді, відношення шансів – 1,83 (ДІ від 1,35 до 2,46) [7,8].

Важливим фактором є також екстремність оперативного втручання. Екстремна операція є предиктором розвитку ПЛУ, відношення шансів – 2,21 (ДІ від 1,57 до 3,11) [7,8].

Найбільш значущим предиктором, що пов'язаний із допоміжними методами дослідження, є рівень сироваткового альбуміну. У результаті метааналізу [7] виявлено: рівень сироваткового альбуміну менше ніж 35 г/л є одним із найпотужніших факторів ризику.

Для визначення загального ризику ПЛУ розроблено кілька моделей прогнозування, включаючи системи ARISCAT [11] та універсальний калькулятор ACSNSQIP, а також моделі A. Arozullah і співавт. [12] і Gupta et al. [13].

Так, проспективне багатоцентрове дослідження ARISCAT, в яке залучено майже 2500 хірургічних пацієнтів некардіохірургічного профілю, виявило низку факторів ризику, що істотно впливають на первинні точки дослідження – частоту ПЛУ (інфекція, гостра дихальна недостатність, ателектазування, бронхоспазм, плевральний випіт, пневмоторакс і аспіраційний пневмоніт). Як вторинні точки дослідження вивчали післяопераційні ліжко-дні, а також 30- та 90-денну летальність [11]. Найбільш значущими факторами ризику вважали вік, значення SpO₂ до втручання, концентрацію гемоглобіну, респіраторну інфекцію протягом останнього місяця, тип

доступу (верхня лапаротомія, торакотомія), тривалість та екстремність операції. Оцінка від 26 до 44 балів за шкалою ARISCAT визначає наявність помірного ризику розвитку ПЛУ, понад 44 бали – високого ризику.

Периопераційні вентиляційні стратегії, що запобігають розвитку післяопераційних легеневих ускладнень

Нині рівень летальності від VILI та ВАП є високим, а тому пошук технік респіраторної підтримки для їхньої профілактики є актуальною проблемою.

Є різні заходи, що запобігають розвитку VILI. Основні з них – низький ДО, використання ПТКВ, а також використання маневрів рекрутування альвеол. Поєднання цих заходів називають протективною вентиляцією. Використання низького ДО спрямоване для зменшення ефекту перерозтягнення альвеол. Маневр рекрутування необхідний для розправлення ателектазованих альвеол, а ПТКВ – для збільшення ФЗЄ та запобігання спадінню дихальних шляхів та альвеол на видиху [13].

Стратегія протективної вентиляції стала стандартом лікування пацієнтів із гострим респіраторним дистрес синдромом (ГРДС), а її переваги підтверджені багатьма дослідженнями. Аналіз даних ARDS network trial показав: в пацієнтів при зниженні ДО від 12 мл/кг до 6 мл/кг ідеальної маси тіла (ІдМТ) спостерігали поліпшення результатів лікування [14].

Опубліковані роботи, де показано необхідність застосування протективної ШВЛ в інтраопераційному періоді. Використання протективної вентиляції (ДО 6 мл/кг, ПТКВ 12 см вод. ст. і маневри рекрутування альвеол – поступове підвищення ПТКВ (у 3 етапи) до 20 см вод. ст.) у пацієнтів похилого віку під час великих відкритих абдомінальних операцій дало змогу поліпшити інтраопераційну артеріальну оксигенацію та легеневу механіку порівняно зі стандартною ШВЛ (ДО 10 мл/кг, ПТКВ 0 см вод. ст.) [15]. Виконання маневрів рекрутування альвеол і застосування ПТКВ поліпшували динамічний комплаєнс респіраторної системи в середньому на 36 % за відсутності впливу на гемодинаміку. Пацієнти досліджуваних груп не мали розбіжностей за частотою використання вазоактивних речовин під час оперативного втручання, а також за оксигенацією після операції.

У ретроспективному дослідженні Ladha et al. виявили зменшення ризику ПЛУ під час інтраопераційної протективної ШВЛ (ДО <10 мл/кг, ПТКВ >4 см вод.ст., Pplat <30 см вод. ст.) серед некардіохірургічних пацієнтів [16].

У дослідженні Futier et al. (IMPROVE) підкреслена перевага низького ДО з використанням ПТКВ і маневру рекрутування альвеол у пацієнтів із помірним і високим ризиком легеневих ускладнень під час тривалих оперативних втручань (лапаротомія у 80 % випадків). У цьому масштабному рандомізованому когортному дослідженні протективна ШВЛ (ДО 6–8 мл/кг, ПТКВ 6–8 см вод. ст. і маневри рекрутування альвеол) дала змогу зменшити тривалість госпіталізації та знизити частоту легеневих і позалегенових ускладнень від 27,5 % до 10,5 % у перший післяопераційний тиждень порівняно зі стандартною ШВЛ (ДО 10–12 мл/кг, без ПТКВ і маневрів рекрутування альвеол) [17].

Severgnini et al. виявили, що порівняно зі стандартною вентиляцією (ДО 9 мл/кг ІдМТ без ПТКВ), використання протективної вентиляції під час абдомінальних

операцій тривалістю понад 2 години (ДО 7 мл/кг ІдМТ ПТКВ 10 см вод. ст. і рекрутувального маневру) поліпшує легеневі показники в перші 5 днів післяопераційного періоду, знижує оцінку за модифікованою клінічною шкалою легеневих інфекцій (mCPIS), знижує рівень післяопераційних легеневих ускладнень та поліпшує оксигенацію [6]. Під час анестезії не виявили статистично значущу різницю між показниками артеріального тиску, частотою серцевих скорочень і насичення крові киснем.

Результати метааналізу [18] показали, що застосування інтраопераційної протективної ШВЛ (ДО 6 мл/кг, ПТКВ 6–12 см вод. ст. і маневрів рекрутування альвеол) у пацієнтів з інтактними легенями зменшує ризик розвитку ГРДС, легеневої інфекції та ателектазів, але не впливає на летальність. Схожі результати показав ще один метааналіз, який підтвердив, що протективна ШВЛ зменшує частоту ПЛУ, але не впливає на летальність і тривалість перебування у ВІТ і стаціонарі [19]. Метааналіз 2015 р. показав зменшення частоти післяопераційної легеневої інфекції, ателектазів, гострого ураження легень, а також тривалості госпіталізації при протективній ШВЛ порівняно зі стандартною [20].

Але ряд дослідників вважають, що саме низький ДО є основним компонентом протективної ШВЛ [21,22]. Це підтверджується в системному огляді та метааналізі, де вивчали незалежну роль компонентів протективної ШВЛ під час операції [19]. Кохранівський огляд 2015 р. також показав, що інтраопераційна ШВЛ з ДО <10 мл/кг зменшує частоту післяопераційної пневмонії та потреби в респіраторній підтримці, проте не впливає на летальність і тривалість госпіталізації [23].

Однак у дослідженні Treschan et al. з'ясовано, що використання ДО 6 мл/кг ІдМТ і ПТКВ 5 см вод. ст. під час великих оперативних втручань на органах черевної порожнини не покращує функцію легень у післяопераційному періоді порівняно з групою пацієнтів з ДО 12 мл/кг ІдМТ з аналогічним значенням ПТКВ [24].

Досі немає одностайної думки щодо застосування та величини ПТКВ у пацієнтів зі здоровими легенями. У багатоцентровому дослідженні використання високого ПТКВ під час відкритих абдомінальних оперативних втручань не призвело до зменшення частоти легеневих ускладнень у перші 5 післяопераційних діб [2]. В основній групі використовували ПТКВ 12 см вод. ст. і маневри рекрутування альвеол, в контрольній – ПТКВ 2 см вод. ст., в обох групах ДО становив 8 мл/кг. Використання високого ПТКВ супроводжувалося збільшенням частоти випадків інтраопераційної гіпотензії та потреби у вазоактивних препаратах. Дослідники зробили висновок, що інтраопераційна протективна вентиляція під час відкритих оперативних втручань в абдомінальній хірургії має складатися з низького ДО та низького ПТКВ без застосування маневрів рекрутування альвеол [2].

Дані метааналізу [19] показують, що пацієнти, які отримували низький ДО з високим чи низьким ПТКВ, не відрізнялися за кількістю ПЛУ, летальності та тривалості перебування у ВІТ і стаціонарі.

Нині опубліковано багато результатів різних досліджень, що підтверджують необхідність використання помірного чи високого ПТКВ. У пацієнтів без ГРДС відсутність ПТКВ і низький ДО призводили до зниження оксигенації крові та легеневого комплаєнсу [25]. ШВЛ з

низьким ДО (≤ 8 мл/кг) і високим ПТКВ (≥ 10 см вод. ст.) забезпечувала кращі показники оксигенації, а поєднання низького ДО та низького ПТКВ (< 10 см вод. ст.) характеризувалося зменшенням тривалості перебування у ВІТ.

У ретроспективному дослідженні проведення протективної інтраопераційної ШВЛ із низьким ДО (6–8 мл/кг) і помірним ПТКВ (4 см вод. ст.) призводило до збільшення 30-денної летальності та тривалості перебування в лікувальному закладі, на відміну від стандартної ШВЛ з ДО 8–10 мл/кг [26]. Levin M. A. et al. припустили, що низький ДО при протективній ШВЛ має переваги тільки в поєднанні з високим ПТКВ.

Результати ще одного великого дослідження підтвердили: використання ПТКВ > 5 см вод. ст. під час великих абдомінальних оперативних втручань призводить до зменшення кількості респіраторних ускладнень і тривалості госпіталізації [27].

Результати метааналізу 2016 р. показали, що інтраопераційна низькооб'ємна вентиляція в поєднанні з ПТКВ і проведенням маневрів рекрутування альвеол пов'язана зі зменшенням післяопераційної легеневої інфекції, ателектазів, ГРДС і тривалості госпіталізації в пацієнтів зі здоровими легенями [20].

Незважаючи на скорочення кількості ПЛУ під час інтраопераційної протективної вентиляції, їхній рівень залишається високим у пацієнтів із середнім і високим рівнем ризику їхнього розвитку [2,28]. Можна припустити, що це може бути пов'язано з тим, що одна стандартна захисна стратегія не може бути використана в усіх пацієнтів.

Автори Кохранівського огляду, що опублікований у 2014 р., зробили висновок про недостатній обсяг даних для обґрунтування впливу інтраопераційного ПТКВ на летальність і ПЛУ. Через неоднозначність наявних даних науковці активно працюють над питанням щодо індивідуалізованого підбору інтраопераційного ПТКВ [13]. Підбір індивідуальних параметрів вентиляції в основному використовується для пацієнтів із гострим респіраторним дистрес синдромом (ГРДС). Щодо використання індивідуалізованої респіраторної підтримки в пацієнтів з інтактними легенями під час операцій на органах черевної порожнини – нині здійснюють клінічні дослідження, але результатів поки що немає [29].

Невизначеність є також щодо маневрів рекрутування альвеол. У 2015 р. опубліковано 2 метааналізи, в одному з них частота ПЛУ не залежала від використання маневру рекрутування альвеол [19]. В іншому огляді автори рекомендують рутинне використання маневру рекрутування альвеол із ПТКВ під час оперативного втручання для зменшення кількості ПЛУ та поліпшення результатів лікування [30].

Протективна ШВЛ спрямована на поліпшення оксигенації крові, що дає змогу знизити фракцію кисню у вдихуваній суміші та зменшити негативні ефекти гіпероксії. Так, у пацієнтів під час планових та екстрених абдомінальних втручань підтримання фракції вдихуваного кисню 80 % під час операції та 2 годин післяопераційного періоду призводило до збільшення летальності порівняно з фракцією 30 % [31]. Дані метааналізу показали, що фракція кисню 80 % зменшує ризик місцевої хірургічної інфекції та не збільшує ризик розвитку ателектазів [32]. В іншому дослідженні доведено, що підвищення FiO_2

асоціюється зі зниженням ризику післяопераційної нудоти та блювання і, можливо, ішемії кишечника та ранової інфекції [33]. Відомо також, що гіпероксія посилює оксидантний стрес, викликає пошкодження легеневої тканини та активує системну запальну відповідь. Під час преоксигенації та підтримання анестезії гіпероксія призводить до розвитку абсорбційних ателектазів, що можуть бути стійкими до маневрів рекрутування. Загалом, нині недостатньо даних добре організованих досліджень про вплив високої фракції кисню під час оперативних втручань на розвиток ПЛУ в пацієнтів зі здоровими легенями.

Фізіотерапія грудної клітки відіграє важливу роль у профілактиці, лікуванні ПЛУ. Вона включає дихальні вправи, мобілізацію, постуральний дренаж, перкусію та вібрацію, що розроблені для поліпшення дренажу бронхів, а також застосування механічних дихальних апаратів, як-от спонкувальний спірометр. Спонкувальна спірометрія (СС) – метод розправлення легень, коли стимулюється максимальне зусилля на вдиху для найповнішого заповнення альвеол повітрям шляхом розвитку тривалого максимального вдиху. Але є суперечливі дані щодо ефективності застосування СС для профілактики ПЛУ в пацієнтів після оперативних втручань на верхньому поверсі черевної порожнини [34].

Важливою частиною патогенезу ПЛУ є інфузійно-трансфузійна терапія. Поширеною помилкою є агресивна інфузійна корекція гіпотензії, що викликана вазоплегічним ефектом загальних анестетиків та/або нейроаксіальних методів знеболювання, коли переважно показана вазопресорна підтримка. Рестриктивний підхід до інфузійної терапії та підтримання від'ємного гідробалансу в періопераційному періоді сприяють зниженню частоти ПЛУ [35].

Висновки

1. Легеневі ускладнення є доволі поширеними післяопераційними ускладненнями, які можуть суттєво збільшувати летальність, вартість лікування, а також тривалість перебування в лікувальному закладі.

2. Штучна вентиляція легень є нефізіологічною та може викликати вентилятор-асоційовані пошкодження легень, негативно впливає на дихальні м'язи, а також недихальні функції легень. Ці фактори призводять до збільшення рівня післяопераційних легневих ускладнень.

3. Великі відкриті абдомінальні операції, особливо втручання на верхньому поверсі черевної порожнини, збільшують ризик розвитку післяопераційних легневих ускладнень.

4. У дослідженнях визначили фактори ризику та розробили шкали, що дають змогу надійно та своєчасно прогнозувати розвиток легневих ускладнень у післяопераційному періоді, одна з них – шкала ARISCAT.

5. Інтраопераційна протективна ШВЛ під час оперативних втручань на органах черевної порожнини в пацієнтів зі здоровими легенями дає змогу знизити ризик розвитку ПЛУ.

Перспективи подальших досліджень. Немає сумніву щодо необхідності застосування низького ДО, але досі залишається дискусійним питання щодо

використання ПТКВ, особливо актуальним залишається індивідуалізація його рівня. Неоднозначною також є необхідність використання маневрів рекрутування альвеол. Запобігання ПЛУ є комплексним, але нині немає чітко сформульованої періопераційної тактики ведення пацієнтів зі здоровими легенями із помірним і високим ризиком розвитку ПЛУ. Ці питання залишаються відкритими та потребують продовження досліджень.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Надійшла до редакції / Received: 05.12.2018

Після доопрацювання / Revised: 28.02.2019

Прийнято до друку / Accepted: 14.03.2019

Відомості про автора:

Кузьменко Т. С., аспірант каф. хірургії та анестезіології факультету післядипломної освіти, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторе:

Кузьменко Т. С., аспирант каф. хирургии и анестезиологии факультета последипломного образования, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about author:

Kuzmenko T. S., MD, Postgraduate Student of the Department of Surgery and Anesthesiology of Postgraduate Education Faculty, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список літератури

- [1] Mortality after surgery in Europe: a 7 day cohort study / R. Pearse, R. Moreno, P. Bauer et al. *Lancet*. 2012. Vol. 380. Issue 9847. P. 1059–1065. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61148-9
- [2] High versus low positive end-expiratory pressure during general anaesthesia for open abdominal surgery (PROVHILO trial): a multicentre randomised controlled trial / S. N. Hemmes, M. Gama de Abreu, P. Pelosi, et al. *Lancet*. 2014. Vol. 384. Issue 9942. P. 495–503. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60416-5
- [3] Implementation of a guideline for physical therapy in the postoperative period of upper abdominal surgery reduces the incidence of atelectasis and length of hospital stay / S. Souza Possa, C. Braga Amador, A. Meira Costa et al. *Revista Portuguesa de Pneumologia (English Edition)*. 2014. Vol. 20. Issue 2. P. 69–77. doi: 10.1016/j.rppneu.2013.07.005
- [4] Protective Mechanical Ventilation During General Anesthesia for Open Abdominal Surgery Improves Postoperative Pulmonary Function. *Survey of Anesthesiology* / P. Severgnini, G. Selmo, C. Lanza et al. *Survey of Anesthesiology*. 2014. Vol. 58. Issue 1. P. 19–20. doi: 10.1097/01.SA.0000441004.73409.91
- [5] Polymorphism in the Surfactant Protein-B Gene, Gender, and the Risk of Direct Pulmonary Injury and ARDS / M. Gong, Z. Wei, L. Xu et al. *Chest*. 2004. Vol. 125. Issue 1. P. 203–211. doi: 10.1378/chest.125.1.203
- [6] Webb H., Tierney D. Experimental pulmonary edema due to positive pressure ventilation with high inflation pressures, protection by positive end-expiratory pressure. *The American review of respiratory disease*. 1974. Vol. 110. Issue 5. P. 556–565. doi: 10.1164/arrd.1974.110.5.556
- [7] Smetana G., Lawrence V., Cornell J. Preoperative pulmonary risk stratification for noncardiothoracic surgery: systematic review for the American College of Physicians. *Ann Intern Med*. 2006. Vol. 144. Issue 8. P. 581–595. doi: 10.7326/0003-4819-144-8-200604180-00009
- [8] Lawrence V., Cornell J., Smetana G. Strategies to reduce postoperative pulmonary complications after noncardiothoracic surgery: systematic review for the American College of Physicians. *Ann Intern Med*. 2006. Vol. 144. Issue 8. P. 596–608. doi: 10.7326/0003-4819-144-8-200604180-00011
- [9] Obesity – a risk factor for postoperative complications in general surgery? / E. Tjeertes, S. Hoeks, S. Beks. *BMC Anesthesiology*. 2015. Vol. 15. Issue 1. P. 112. doi: 10.1186/s12871-015-0096-7
- [10] Obese patients: Respiratory complications in the post-anesthesia care unit / J. Mendonça, H. Pereira, D. Xará et al. *Rev Port Pneumol*. 2014. Vol. 20. Issue 1. P. 12–19. doi: 10.1016/j.rppneu.2013.04.002
- [11] Prediction of Postoperative Pulmonary Complications in a Population-based Surgical Cohort / J. Canet, L. Gallart, C. Gomar et al. *Anesthesiology*. 2010. Vol. 113. Issue 6. P. 1338–1350. doi: 10.1097/ALN.0b013e3181fc6e0a
- [12] Multifactorial Risk Index for Predicting Postoperative Respiratory Failure in Men After Major Noncardiac Surgery / A. Arozullah, J. Daley, W. Henderson et al. *Annals of Surgery*. 2000. Vol. 232. Issue 2. P. 242–253. doi: 10.1097/0000658-200008000-00015
- [13] Development and Validation of a Risk Calculator Predicting Postoperative Respiratory Failure / H. Gupta, P. Gupta, X. Fang et al. *Chest*. 2011. Vol. 140. Issue 5. P. 1207–1215. doi: 10.1378/chest.11-0466
- [14] Ventilation with Lower Tidal Volumes as Compared with Traditional Tidal Volumes for Acute Lung Injury and the Acute Respiratory Distress Syndrome / R. G. Brower, M. A. Matthay, A. Morris, et al. *N Engl J Med*. 2000. Vol. 342. Issue 18. P. 1301–8. doi: 10.1056/NEJM200005043421801
- [15] Comparison of two ventilatory strategies in elderly patients undergoing major abdominal surgery / T. Weingarten, F. Whalen, D. Warner et al. *British Journal of Anaesthesia*. 2010. Vol. 104. Issue 1. P. 16–22. doi: 10.1093/bja/aep319
- [16] Intraoperative protective mechanical ventilation and risk of postoperative respiratory complications: hospital based registry study / K. Ladha, M. Vidal Melo, D. McLean et al. *BMJ*. 2015. Vol. 351. h3646. doi: 10.1136/bmj.h3646
- [17] A Trial of Intraoperative Low-Tidal-Volume Ventilation in Abdominal Surgery / E. Futier, J. Constantin, C. Paugam-Burtz et al. *Survey of Anesthesiology*. 2014. Vol. 58. Issue 4. P. 169–171. doi: 10.1097/01.sa.0000453220.13770.84
- [18] Sutherasan Y., Vargas M., Pelosi P. Protective mechanical ventilation in the non-injured lung: review and meta-analysis. *Critical Care*. 2014. Vol. 18. Issue 2. P. 211. doi: 10.1186/cc13778
- [19] Protective versus conventional ventilation for surgery: systematic review and individual patient data meta-analysis / A. Serpa Neto, S. Hemmes, C. Barbas et al. *Anesthesiology*. 2015. Vol. 123. Issue 1. P. 66–78. doi: 10.1097/ALN.0000000000000706
- [20] Meta-analysis of Intraoperative Ventilation Strategies to Prevent Pulmonary Complications / D. Yang, M. Grant, A. Stone et al. *Annals of Surgery*. 2016. Vol. 263. Issue 5. P. 881–887. doi: 10.1097/SLA.0000000000001443
- [21] Serpa Neto A., Schultz M., Slutsky A. Current concepts of protective ventilation during general anesthesia. *Swiss Medical Weekly*. 2015. Vol. 145. w14211. doi: 10.4414/SMW.2015.14211
- [22] Silva P., Negrini D., Rocco P. R. Mechanisms of ventilator-induced lung injury in healthy lungs. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2015. Vol. 29. Issue 3. P. 301–313. doi: 10.1016/j.bpa.2015.08.004
- [23] Guay J., Ochroch E. Intraoperative use of low volume ventilation to decrease postoperative mortality, mechanical ventilation, lengths of stay and lung injury in patients without acute lung injury. *Cochrane Database Systematic Reviews*. 2015. Vol. 12. CD011151. doi: 10.1002/14651858.CD011151
- [24] Ventilation With Low Tidal Volumes During Upper Abdominal Surgery Does Not Improve Postoperative Lung Function / T. Treschan, W. Kaisers, M. Schaefer et al. *Br J Anaesth*. 2012. Vol. 109. Issue 2. P. 263–71. doi: 10.1093/bja/aes140
- [25] Mechanical ventilation strategies for intensive care unit patients without acute lung injury or acute respiratory distress syndrome: a systematic review and network meta-analysis / L. Guo, W. Wang, N. Zhao et al. *Critical Care*. 2016. Vol. 20. Issue 1. P. 226. doi: 10.1186/s13054-016-1396-0
- [26] Low intraoperative tidal volume ventilation with minimal PEEP is associated with increased mortality / M. Levin, P. McCormick, H. Lin et al. *British Journal of Anaesthesia*. 2014. Vol. 113. Issue 1. P. 97–108. doi: 10.1093/bja/aeu054
- [27] Differential Effects of Intraoperative Positive End-expiratory Pressure (PEEP) on Respiratory Outcome in Major Abdominal Surgery Versus Craniotomy / M. de Jong, K. Ladha, M. Vidal Melo et al. *Annals Surgery*. 2016. Vol. 264. Issue 2. P. 362–369. doi: 10.1097/SLA.0000000000001499
- [28] Hemmes S., Serpa A., Neto M. Schultz Intraoperative ventilatory strategies to prevent postoperative pulmonary complications: a meta-analysis. *Current Opinion in Anesthesiology*. 2013. Vol. 26. Issue 2. P. 126–133. doi: 10.1097/ACO.0b013e3182835e1242
- [29] Clinicaltrials.gov. Individualized Perioperative Open Lung Ventilatory Strategy. – 2016. URL.: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02158923>
- [30] Hartland B., Newell T., Damico N. Alveolar recruitment maneuvers under general anesthesia: a systematic review of the literature. *Respiratory Care*. 2015. Vol. 60. Issue 4. P. 609–620. doi: 10.4187/respcare.03488
- [31] Increased long-term mortality after a high perioperative inspiratory oxygen fraction during abdominal surgery: follow-up of a randomized clinical trial / C. Meyhoff, L. Jorgensen, J. Wetterslev, et al. *Anesthesia & Analgesia*. 2012. Vol. 115. Issue 4. P. 849–854. doi: 10.1213/ANE.0b013e3182652a51

- [32] Effect of Intraoperative High Inspired Oxygen Fraction on Surgical Site Infection, Postoperative Nausea and Vomiting, and Pulmonary Function: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / F. Hovaguimian, C. Lysakowski, N. Elia et al. *Anesthesiology*, 2013. Vol. 119. Issue 2. P. 303–16. doi: 10.1097/ALN.0b013e31829aaff4
- [33] Clinicians' response to hyperoxia in ventilated patients in a Dutch ICU depends on the level of FiO₂ / A. de Graaff, D. Dongelmans, J. Binnekade et al. *Intensive Care Medicine*, 2011. Vol. 37. Issue 1. P. 46–51. doi: 10.1007/s00134-010-2025-z
- [34] Incentive spirometry for prevention of postoperative pulmonary complications in upper abdominal surgery / P. do Nascimento Junior, N. Módolo, S. Andrade et al. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2014. Vol. 2. CD006058. doi: 10.1002/14651858.CD006058.pub3
- [35] Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including The Pediatric Subgroup. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012 / R. Dellinger, M. Levy, A. Rhodes et al. *Intensive Care Medicine*, 2013. Vol. 41. Issue 2. P. 580–637. doi: 10.1097/CCM.0b013e31827e83af
- [16] Ladha, K., Vidal Melo, M., McLean, D., Wanderer, J., Grabitz, S., Kurth, T. & Eikermann, M. (2015). Intraoperative protective mechanical ventilation and risk of postoperative respiratory complications: hospital based registry study. *BMJ*, 351. h3646. doi: 10.1136/bmj.h3646
- [17] Futier, E., Constantin, J., Paugam-Burtz, C., Pascal, J., Eurin, M., Neuschwander, A., et al. (2014). A Trial of Intraoperative Low-Tidal-Volume Ventilation in Abdominal Surgery. *Survey of Anesthesiology*, 58(4), 169–171. doi: 10.1097/01.sa.0000453220.13770.84
- [18] Sutherasan, Y., Vargas, M., & Pelosi, P. (2014). Protective mechanical ventilation in the non-injured lung: review and meta-analysis. *Critical Care*, 18(2), 211. doi: 10.1186/cc13778
- [19] Serpa Neto, A., Hemmes, S. N., Barbas, C. S., Beiderlinden, M., Biehler, M., Binnekade, J. M., et al. (2014). Protocol for a systematic review and individual patient data meta-analysis of benefit of so-called lung-protective ventilation settings in patients under general anesthesia for surgery. *Systematic Reviews*, 3(1). doi: 10.1097/ALN.0000000000000706
- [20] Yang, D., Grant, M., Stone, A., Wu, C., & Wick, E. (2016). A Meta-analysis of Intraoperative Ventilation Strategies to Prevent Pulmonary Complications. *Annals of Surgery*, 263(5), 881–887. doi: 10.1097/SLA.0000000000001443
- [21] Serpa, N., Schultz, M., & Slutsky, A. (2015). Current concepts of protective ventilation during general anaesthesia. *Swiss Medical Weekly*, 145, w14211 doi: 10.4414/smw.2015.14211
- [22] Silva, P. L., Negri, D., & Rocco, P. R. (2015). Mechanisms of ventilator-induced lung injury in healthy lungs. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, 29(3), 301–313. doi: 10.1016/j.bpa.2015.08.004
- [23] Guay, J., & Ochroch, E. A. (2015). Intraoperative use of low volume ventilation to decrease postoperative mortality, mechanical ventilation, lengths of stay and lung injury in patients without acute lung injury. *Cochrane Database Systematic Reviews*, 12, CD011151. doi: 10.1002/14651858.CD011151
- [24] Treschan, T. A., Kaisers, W., Schaefer, M. S., Bastin, B., Schmalz, U., Wania, V., et al. (2012). Ventilation With Low Tidal Volumes During Upper Abdominal Surgery Does Not Improve Postoperative Lung Function. *Br J Anaesth*, 109(2), 263–71. doi: 10.1093/bja/aes140
- [25] Guo, L., Wang, W., Zhao, N., Guo, L., Chi, C., Hou, W., et al. (2016). Mechanical ventilation strategies for intensive care unit patients without acute lung injury or acute respiratory distress syndrome: a systematic review and network meta-analysis. *Critical Care*, 20(1), 226. doi: 10.1186/s13054-016-1396-0
- [26] Levin, M. A., McCormick, P. J., Lin, H. M., Hosseini, L., & Fischer, G. W. (2014). Low intraoperative tidal volume ventilation with minimal PEEP is associated with increased mortality. *British Journal of Anaesthesia*, 113(1), 97–108. doi: 10.1093/bja/aeu054
- [27] de Jong, M., Ladha, K., Vidal Melo, M., Staehr-Rye, A., Bitner, E., Kurth, T., & Eikermann, M. (2016). Differential Effects of Intraoperative Positive End-expiratory Pressure (PEEP) on Respiratory Outcome in Major Abdominal Surgery Versus Craniotomy. *Annals Surgery*, 264(2), 362–369. doi: 10.1097/SLA.0000000000001499
- [28] Hemmes, S. N., Serpa Neto, A., & Schultz, M. J. (2013). Intraoperative ventilatory strategies to prevent postoperative pulmonary complications: a meta-analysis. *Current Opinion in Anesthesiology*, 26(2), 126–33. doi: 10.1097/ACO.0b013e32835e1242
- [29] Clinicaltrials.gov. Individualized Perioperative Open Lung Ventilatory Strategy. – 2016. Retrieved from <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02158923>
- [30] Hartland, B. L., Newell, T. J., & Damico, N. (2015). Alveolar recruitment maneuvers under general anesthesia: a systematic review of the literature. *Respiratory Care*, 60(4), 609–620. doi: 10.4187/respcare.03488
- [31] Meyhoff, C. S., Jorgensen, L. N., Wetterslev, J., Christensen, K. B., & Rasmussen, L. S. (2012). Increased long-term mortality after a high perioperative inspiratory oxygen fraction during abdominal surgery: follow-up of a randomized clinical trial. *Anesthesia & Analgesia*, 115(4), 849–854. doi: 10.1213/ANE.0b013e3182652a51
- [32] Hovaguimian, F., Lysakowski, C., Elia, N., & Tramèr, M. (2013). Effect of Intraoperative High Inspired Oxygen Fraction on Surgical Site Infection, Postoperative Nausea and Vomiting, and Pulmonary Function. *Anesthesiology*, 119(2), 303–16. doi: 10.1097/ALN.0b013e31829aaff4
- [33] de Graaff, A. E., Dongelmans, D. A., Binnekade, J. M., & de Jonge, E. (2011). Clinicians' response to hyperoxia in ventilated patients in a Dutch ICU depends on the level of FiO₂. *Intensive Care Medicine*, 37(1), 46–51. doi: 10.1007/s00134-010-2025-z
- [34] do Nascimento Junior, P., Módolo, N., Andrade, S., Guimarães, M., Braz, L., & El Dib, R. (2014). Incentive spirometry for prevention of postoperative pulmonary complications in upper abdominal surgery. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2, CD006058. doi: 10.1002/14651858.CD006058.pub3
- [35] Dellinger, R., Levy, M., Rhodes, A., Annane, D., Gerlach, H., Opal, S. et al. (2013) Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including The Pediatric Subgroup. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Intensive Care Medicine*, 41(2), 580–637. doi: 10.1097/CCM.0b013e31827e83af

Экспериментальные модели патологии хрящевой ткани

Д. С. Носивец*

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро

Ключевые слова:

имитация
пациента,
остеоартроз.

Запорожский
медицинский
журнал. – 2019. –
Т. 21, № 4(115). –
С. 554–560

DOI:
10.14739/2310-1210.
2019.4.173362

*E-mail:
dsnosivets@ukr.net

На основании аналитического обзора данных специализированной литературы предпринята попытка обзора и систематизации способов формирования остеоартроза путем экспериментального моделирования патологии хрящевой ткани.

Остеоартроз – дегенеративно-дистрофическое заболевание синовиальных суставов человека и животных. У человека остеоартроз является распространенной и инвалидизирующей патологией опорно-двигательного аппарата, которая приводит к выраженному нарушению качества жизни и социальной дезадаптации. Современная концепция развития этой патологии характеризует заболевание как полиэтиологичное, на возникновение и развитие которого влияют как факторы внешней среды, так и особенности организма. Распространенность и последствия остеоартроза обусловили массовую заинтересованность этим заболеванием широкого круга специалистов различного профиля, исследования которых направлены на решение вопросов, связанных с оптимизацией лечебной тактики и повышением эффективности и безопасности, в том числе и медикаментозного лечения. Для изучения эффективности и безопасности лекарственных веществ, средств и препаратов, применяемых для лечения остеоартроза, широко используют экспериментальное моделирование на животных. Создание экспериментальной модели призвано воспроизвести патологический процесс, который по своим этиологическим и/или патогенетическим признакам идентичен заболеванию у человека. Рассмотрены основные разновидности экспериментальных моделей патологии хрящевой ткани, охарактеризованы различные виды экспериментальных животных, описаны некоторые экспериментальные модели, предпринята попытка систематизации и классификации экспериментальных моделей, описаны предпосылки для выбора рациональной модели. На основании аналитического изучения данных научной литературы установлено, что при выборе экспериментальной модели необходимо учитывать, какой тип остеоартроза нужно получить: первичный (остеоартроз, имеющий эндогенное – метаболическое нарушение) или вторичный (посттравматический). Кроме того, на выбор экспериментальной модели патологии хрящевой ткани влияет вид, возраст и физиологическое состояние животного, которое используется в эксперименте, что отражается на глубине и качестве воспроизводимости остеоартроза. Статья направлена на систематизацию существующих экспериментальных моделей патологии хрящевой ткани, а также на помощь в выборе оптимальной модели и вида экспериментального животного для воссоздания наиболее полной патологической картины при остеоартрозе.

Ключові слова:

експериментальна
модель,
остеоартроз.

Запорізький
медицинський
журнал. – 2019. –
Т. 21, № 4(115). –
С. 554–560

Експериментальні моделі патології хрящової тканини

Д. С. Носівець

На підставі аналітичного огляду даних фахової літератури зробили спробу огляду, систематизації способів формування остеоартрозу шляхом експериментального моделювання патології хрящової тканини.

Остеоартроз – дегенеративно-дистрофічне захворювання синовіальних суглобів людини та тварин. У людини остеоартроз є поширеною та інвалідизуючою патологією опорно-рухового апарату, що призводить до вираженого порушення якості життя та соціальної дезадаптації. Сучасна концепція розвитку цієї патології характеризує захворювання як поліетіологічне, на виникнення, розвиток якого впливають як фактори довкілля, так і особливості організму. Поширеність і наслідки остеоартрозу зумовили масову зацікавленість цим захворюванням широкого кола фахівців різного профілю, дослідження яких спрямовані на розв'язання питань, що пов'язані з оптимізацією лікувальної тактики та підвищення ефективності та безпеки, зокрема й медикаментозного лікування. Для вивчення ефективності й безпеки лікарських речовин, засобів і препаратів, які застосовують для лікування остеоартрозу, використовують експериментальне моделювання на тваринах. Створення експериментальної моделі покликане відтворити патологічний процес, який етіологічними та/або патогенетичними ознаками ідентичний захворюванню у людини. Розглянули основні різновиди експериментальних моделей патології хрящової тканини, схарактеризували різні види експериментальних тварин, описали деякі експериментальні моделі, зробили спробу систематизації та класифікації експериментальних моделей, описали передумови для вибору раціональної моделі. На підставі аналітичного вивчення даних фахової літератури встановили: обираючи експериментальну модель, необхідно враховувати, який тип остеоартрозу треба отримати: первинний (остеоартроз, що має ендегенне – метаболічне порушення) або вторинний (посттравматичний). Крім того, на вибір експериментальної моделі патології хрящової тканини впливає вид, вік і фізіологічний стан тварини, яку взято для експерименту, що відбивається на глибині та якості відтвореності остеоартрозу. Стаття спрямована на систематизацію наявних експериментальних моделей патології хрящової тканини, а також на допомогу у виборі оптимальної моделі та виду експериментальної тварини для відтворення якнайповнішої патологічної картини остеоартрозу.

Key words:

patient simulation,
osteoarthritis.

Zaporozhye
medical journal
2019; 21 (4), 554–560

Experimental models of cartilage tissue pathology

D. S. Nosivets

The author of the article, based on an analytical review of literature data, attempted to summarize and systematize the methods of osteoarthritis formation through experimental modeling of cartilage tissue pathology.

Osteoarthritis is a degenerative-dystrophic disease of the synovial joints in humans and animals. In humans, osteoarthritis is a common and disabling pathology of the musculoskeletal system, which leads to a serious violation of the quality of life and social

maladjustment. The modern concept of this pathology development characterizes this disease as a polyetiological, the appearance and development of which is influenced by both environmental factors and characteristics of an organism. The prevalence and consequences of osteoarthritis have raised a widespread interest in this disease among a wide range of specialists in various fields, whose studies in their entirety are aimed at resolving issues related to optimizing treatment tactics and improving efficiency and safety, including medical treatment. To study the efficacy and safety of medicinal substances, agents and drugs used to treat osteoarthritis, animal experimental models are widely used. The development of an experimental model is intended to reproduce the pathological process, which is identical to the disease in humans by its etiological and/or pathogenetic features. The article discusses the main types of experimental models of cartilage tissue pathology, describes various types of experimental animals and some experimental models, attempts to systematize and classify experimental models, characterises the reasons for choosing a rational model. Based on an analytical study of the literature data, the author of the article found that when choosing an experimental model, it is necessary to consider which type of osteoarthritis is to be obtained: primary (osteoarthritis, having endogenous – metabolic disturbance) or secondary (post-traumatic). In addition, the choice of the experimental model of the cartilage tissue pathology is influenced by the type, age and physiological condition of the animal used in the experiment, which affects the depth and quality of osteoarthritis reproducibility. In general, the content of the article does not claim to be complete and aims to systematize the existing experimental models of cartilage pathology, as well as to help in choosing the most optimal model and type of experimental animal to recreate the pathological process in osteoarthritis purely.

Остеоартроз (ОА) – дегенеративно-дистрофическое заболевание синовиальных суставов человека и животных. У человека ОА является распространенной и инвалидизирующей патологией опорно-двигательного аппарата, которая приводит к выраженному нарушению качества жизни и социальной дезадаптации [1]. Современная концепция развития данной патологии характеризует это заболевание как полиэтиологическое, на возникновение и развитие которого влияют как факторы внешней среды, так и особенности организма, но принципиально, в зависимости от этиологического фактора, ОА подразделяют на первичный (идиопатический) и вторичный (обусловленный травмой или сопутствующим заболеванием) [1,2]. Распространенность и последствия ОА обусловили массовую заинтересованность этим заболеванием широкого круга специалистов различного профиля, исследования которых направлены на решение вопросов, связанных с оптимизацией лечебной тактики и повышением эффективности и безопасности в том числе и медикаментозного лечения.

Для изучения эффективности и безопасности лекарственных веществ, средств и препаратов, применяемых для лечения ОА, широко используется экспериментальное моделирование на животных [1–6]. Создание экспериментальной модели призвано воспроизвести патологический процесс, который этиологическим и/или патогенетическим признакам идентичен заболеванию у человека. Однако зачастую при создании экспериментальной модели практически невозможно воспроизвести всю многогранность патологического процесса, и чем сложнее заболевание, тем с большими трудностями сталкивается исследователь. Еще одна проблема при выборе методики моделирования связана с наличием огромного количества экспериментальных моделей патологии хрящевой ткани. В связи с этим перед исследователем возникает закономерный вопрос о выборе оптимальной экспериментальной модели, которая будет максимально соответствовать цели и задачам исследования [1–3].

Существует большое количество методик моделирования дегенеративно-дистрофического процесса в суставном хряще и, к сожалению, универсальной модели, которая позволяет учесть всю многогранность и сложность патологического процесса в суставе при ОА, нет [2,4–6]. Изобилие методик экспериментального моделирования свидетельствует о постоянном поиске

наиболее универсальной и эффективной с точки зрения исследователя. Каждая экспериментальная модель позволяет воспроизвести отдельные компоненты этиопатогенеза ОА, что усложняет выбор оптимальной методики и создает определенные трудности на этапе планирования исследования [1–6].

Цель работы

По данным специализированной литературы изучить и проанализировать экспериментальные модели патологии хрящевой ткани для систематизации применяемых методик.

Материалы и методы исследования

На основании аналитического изучения данных отечественной и зарубежной специализированной литературы выполнена систематизация экспериментальных моделей патологии хрящевой ткани.

Результаты

Дегенеративно-дистрофический процесс в синовиальном суставе воспроизводится различными способами [7–11]. Индукция патологического процесса [12–16] достигается введением в полость сустава [17–21] химических веществ [22–27], воздействием на гиалиновый хрящ физических факторов [28], применением хирургических методик – нанесением механической травмы на костно-хрящевые структуры сустава [29–33], дестабилизацией сустава путем частичной или полной резекции связочного аппарата сустава [34–38] или удаления структур, обеспечивающих конгруэнтность сустава [39–43]. Также широко используют модели спонтанного ОА (генетически модифицированные трансгенные мыши, у которых наступает преждевременная дегенерация хряща вследствие генетической предрасположенности, возраста, дисплазии) (табл. 1) [44–48].

Для экспериментального моделирования используют крыс, мышей, морских свинок, кроликов, цыплят, собак, овец, приматов [49–53]. Выбор животного при создании экспериментальной модели основывается на особенностях применяемой методики, целесообразности воссоздания всего дегенеративно-дистрофического процесса или только каких-то его этапов, сопутству-

Таблица 1. Экспериментальные модели спонтанного остеоартроза у животных

Животные	Индуктирующий фактор / агент	Источник
Морские свинки	Возраст / избыточная масса тела	A. M. Bendele et al., 1989
Черные мыши C57	Генетическая предрасположенность	T. Okabe, 1989; R. Stabesky et al., 1993; A. Takahama, 1990; P. M. van der Kraan et al., 1990
Мыши STR/ORT, STR/INS	Генетическая предрасположенность	E. P. Das-Gupta et al., 1993; J. Dunham et al., 1989 и 1990
Мыши	Мутация коллагена II Мутация коллагена IX	S. Garofalo et al., 1991 K. Nakata et al., 1993
Собаки	Дисплазия тазобедренного сустава	G. Smale et al., 1995
Приматы	Генетическая предрасположенность	C. J. Alexander, 1994; C. S. Carlson et al., 1994; M. Chateauvert J. et al., 1990

Таблица 2. Экспериментальные модели патологии хрящевой ткани у животных путем введения химических веществ

Животные	Индуктирующий фактор / агент	Источник
Цыплята	Иодоацетат, в/с*	D. A. Kalbhen, 1987
Кролики	Папаин, в/с	G. Marcelon et al., 1976; Y. Coulais et al., 1983; Y. Coulais et al., 1984 Y. Kitoh et al., 1992
Кролики	Гипертонический раствор NaCl Витамин А, в/с Коллагеназа, в/с	V. Vasilev et al. 1992 M. Boni et al., 1977 T. Kikuchi et al., 1998
Морские свинки	Папаин, в/с	H. Tanaka et al., 1992 T. Moriizumi et al., 1986 S. Kopp et al., 1983
Собаки	Химопапаин, в/с Преднизолон, в/с	H. R. Leipold et al., 1989 B. И. Тарасенко, 1989
Мыши	Папаин, в/с Коллагеназа, в/с ТФР-Р, в/с	P. M. van der Kraan et al., 1989; P. M. van der Kraan et al., 1989 W. B. van den Berg, 1995
Крысы	Дексаметазон, в/м Дексаметазон, в/с Гидрокортизона ацетат, в/с Моноидуксусная кислота, в/с Витамин А, в/с Раствор этанола, в/с	И. А. Зупанец с соавт., 1999, 2011 M. Anfield, R. Raiss, 1984 B. A. Вишневыкий, С. В. Малышкина, 2004 R. G. Gray, N. L. Gottlieb, 1983 N. Schuelert, J. McDougall, 2009 K. Kobayashi et al., 2003 R. Combe et al., 2004 C. Guingamp et al., 1997 Y. Kimura, 1994 Б. П. Введенский с соавт., 2011

в/с: внутрисуставно; в/м: внутримышечно.

ющей патологии и возможностей исследователя. Так как наиболее частая локализация ОА у человека – коленный и тазобедренные суставы (А. А. Корж и соавт., 1997), именно они являются предметом внимания исследователей при экспериментальном моделировании дегенеративно-дистрофического процесса.

Для систематизации существующих методик создания патологии хрящевой ткани целесообразно использовать классификацию, которая различает экспериментальные модели по способу воздействия на хрящевую ткань. Так, среди экспериментальных моделей выделяют формируемые путем введения в сустав химических веществ (табл. 2) [54], путем воздей-

ствия физическими факторами, а также хирургические экспериментальные модели (табл. 3). Первичный (идиопатический) ОА моделируется при использовании химических и физических факторов, а вторичный (в частности, посттравматический) ОА формируется при использовании хирургических методик.

При формировании экспериментальной модели у крыс путем введения внутрисуставно химических веществ наиболее часто используются стероидные препараты (R. G. Gray, N. L. Gottlieb, 1983), гидрокортизона ацетат (500 мг/кг массы животного, ежедневно в течение 7 дней), дексаметазон (10 мг/кг массы в течение 3 недель по 1 инъекции в неделю) (M. Anfield, R. Raiss, 1984), моноидуксусная кислота (из расчета 3 мг на 50 мкл стерильного физиологического раствора) (C. Guingamp et al., 1997) [54]; у морских свинок используется 1 % раствор папаина 0,1 мл (T. Moriizumi, N. Ymashita, J. Okada, S. Inone, Glim., 1986); у кроликов формирование модели возможно путем введения витамина А (M. Boni et al., 1977).

Из физических факторов описано воздействие на суставной хрящ парожидкостной струи азота (А. с. № 951368). Данный способ моделирования представлен на примере тазобедренного сустава. У животного рассекают капсулу, вскрывают сустав и обнажают переднюю поверхность головки бедренной кости. На эту часть головки направляют парожидкостную струю азота из аппарата «Х-34» с расстояния 2 см при давлении 0,4 атм. Время воздействия – 8 с. Выраженные дистрофические изменения в суставе прослеживаются непосредственно после воздействия и манифестируют в течение 30 дней, характеризуются однотипностью морфологических изменений во времени, что облегчает стандартизацию оценки препаратов [28,45].

Механические и травматические способы моделирования патологии хрящевой ткани приводят к нарушению нормальной анатомической целостности и структуры суставного хряща и/или стабильности сустава (создание условий дисконгруэнтности, дисплазии и разбалансированности подсистем сустава), что достигается путем компрессии сустава, иммобилизации коленного сустава (Е. Я. Панков и соавт., 1988), прямой травмы (дырчатый дефект, проникающий из массива в субхондральную кость) (И. А. Зупанец и соавт., 1989), удаления структурных компонентов, обеспечивающих конгруэнтность сустава, например, части мениска (R. W. Moskowitz, et al., 1973), скарификация участка суставного хряща по заранее заготовленному шаблону.

Имеются и модели, которые могут быть воспроизведены только на коленном суставе:

– рассечение передней крестовидной связки (модель Pond-Nuki) (M. J. Pond, G. Nuki, 1973). Животные – собаки. После осуществления латерального доступа к коленному суставу и рассечения его капсулы коленную чашку смещают медиально. Далее для лучшей визуализации передней крестовидной связки конечность сгибают и после обнаружения связки пересекают скальпелем или ножницами. На капсулу сустава накладывают несколько узловатых швов из синтетического материала.

– удаление части мениска, рассечение передней крестовидной связки (E. R. Schwartz, 1987). Животные – морские свинки, кролики, собаки. Техника операции такая же, только кроме рассечения связки проводят ча-

стичную эктомию латерального мениска, для создания большей дисконгруэнтности и подвижности суставных поверхностей.

– дислокация надколенника к латеральному мыщелку бедренной кости с последующей (21 сут.) репозицией (Е. Я. Панков и соавт., 1988). Животные – крысы.

Таким образом, существует большое разнообразие вариантов формирования экспериментальной патологии хрящевой ткани. Данные экспериментальные модели призваны обеспечивать максимальное соответствие экспериментальной модели патологическому процессу и, в связи с тем, что остеоартроз является полиэтиологическим заболеванием, выбор модели должен быть основан на задачах экспериментального исследования. Необходимо стремиться к наиболее близкому соответствию особенностей патологического процесса к характеру формируемой экспериментальной модели.

Выводы

1. Существует большое разнообразие экспериментальных моделей для формирования патологии хрящевой ткани, которые отражают полиэтиологичность и многогранность такого дегенеративно-дистрофического заболевания, как остеоартроз.

2. При выборе экспериментальной модели необходимо учитывать, какой тип остеоартроза нужно получить: первичный (остеоартроз, имеющий эндогенное – метаболическое нарушение) или вторичный (посттравматический). Кроме того, имеет значение вид, возраст и физиологическое состояние животного, что отражается на глубине и качестве воспроизводимости остеоартроза.

Перспективы дальнейших исследований. Дальнейшие исследования будут направлены на воспроизведении экспериментальной модели остеоартроза на фоне коморбидной патологии.

Конфликт интересов: отсутствует.

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

Надійшла до редакції / Received: 24.10.2018

Після доопрацювання / Revised: 05.11.2018

Прийнято до друку / Accepted: 23.11.2018

Сведения об авторе:

Носивец Д. С., канд. мед. наук, ассистент каф. фармакологии и клинической фармакологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепро. ORCID ID: 0000-0001-9954-6027

Відомості про автора:

Носивець Д. С., канд. мед. наук, асистент каф. фармакології та клінічної фармакології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.

Information about author:

Nosivets D. S., MD, PhD, Assistant, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine.

Таблица 3. Экспериментальные модели патологии хрящевой ткани у животных путем хирургических методик

Животные	Индукцирующий фактор / агент	Источник
Собаки	Пересечение передней крестообразной связки (унилатерально)	J. L. Marshall et al., 1971; K. D. Brandt, 1994
	Пересечение передней крестообразной связки (билатерально) артроскопически	K. W. Marshall, A. D. Chan, 1996
	Иммобилизация	D. S. Howell et al., 1992; A. Ratcliffe et al., 1994; M. Palmoski, K. D. Brandt, 1981
	Денервация с последующим пересечением передней крестообразной связки	J. A. Vilenky et al., 1994
	Односторонняя вальгизирующая остеотомия большеберцовой кости	R. G. Johnson, A. R. Poole, 1988
Кролики	Контузия коленной чашечки	T. R. J. Oegema, et al., 1993; B. Mazieres et al., 1990
	Пересечение передней крестообразной связки	S. B. Christensen, 1983; E. Vignon et al., 1991; D. L. Batiste et al., 2002
	Иммобилизация	A. Langenskiold et al., 1979; T. Videman, 1982
	Менискэктомия	A. G. Fam et al., 1995; R. W. Moskowitz, V. M. Goldberg, 1987; P. Moskowitz et al., 1973
	Комбинированное повреждение (латеральная менискэктомия, резекция малоберцовой и сесамовидной связок)	C. Colombo et al., 1983
Овцы	Менискэктомия	P. Ghosh et al., 1993
Морские свинки	Менискэктомия	A. M. Bendele, 1987; P. Pastoureaux et al., 1999
	Миозектомия	C. L. Arsever, G. G. Bole, 1986; M. W. Layton et al., 1987; D. K. Dedrick et al., 1991
	Двусторонняя резекция яичников	G. Dai et al., 2006
Крысы	Пересечение передней крестообразной связки	Y. H. Jean et al., 2007; T. Hayami et al., 2004 и 2006
	Повреждение мениска	M. J. Janusz et al., 2002; T. Hayami et al., 2006
Мыши	Формирование нестабильности коленного сустава	S. Kamekura et al., 2005; H. Ma et al., 2007

Список литературы

- [1] Носивець Д. С. Фармакологія хондропротекторів (огляд фармацевтичного ринку України). *Вісник проблем біології та медицини*. 2013. Вип. 4(1). С. 57–63.
- [2] Мамчур В. И., Носивець Д. С. Фармакологические свойства и клиническая эффективность препарата Алфлутоп при лечении патологии опорно-двигательного аппарата. *Травма*. 2018. Т. 19. №1. С. 6–12. doi: 10.22141/1608-1706.1.19.2018.126660
- [3] Макушин В. Д., Степанов М. А., Ступина Т. А. Экспериментальное моделирование остеоартроза коленного сустава у собак. *Биомедицина*. 2012. №3. С. 108–115.
- [4] Давыдов В. Б. Методы экспериментального моделирования остеоартрозов у мелких экспериментальных животных. URL: <http://www.vethospital.ru/archives/43>
- [5] Рациональная фармакотерапия болевого синдрома различного генеза комбинированными нестероидными противовоспалительными средствами: монография / В. И. Мамчур, Д. С. Носивец, С. В. Налетов и др. Киев: Випол, 2017. 78 с.
- [6] Опрышко В. И., Носивець Д. С. Системный обзор международных исследований по применению Алфлутопа в комплексной фармакотерапии болевого синдрома в области спины. *Міжнародний неврологічний журнал*. 2018. №1(95). С. 64–69. doi: 10.22141/2224-0713.1.95.2018.127415
- [7] Патент. 79206 Україна, МПК8 G 09 B 23/28. Спосіб моделювання остеоартрозу з синовієм / В. М. Коваленко, О. П. Вікторов, М. О. Корж, та ін.; заявник і патентовласник Інститут кардіології ім. акад. М. Д. Стражеска АМН України. №200510418; заявл. 4.11.2005; опубл. 25.05.2007, бюл. №7.
- [8] A novel synthesized sulfonamido-based gallate-jetztc blocks cartilage degradation on rabbit model of osteoarthritis: an in vitro and in vivo

- study / Lu Z., Q. Liu, L. Liu, et al. *Cell Physiol Biochem*. 2018. Vol. 49. Issue 6. P. 2304–2319. doi: 10.1159/000493832
- [9] Chang A., Tang S. Y. Determination of the depth- and time- dependent mechanical behavior of mouse articular cartilage using cyclic reference point indentation. *Cartilage*. 2018. Vol. 18. P. 1947603518786554. doi: 10.1177/1947603518786554
- [10] Selection and investigation of a primate model of spontaneous degenerative knee osteoarthritis, the cynomolgus monkey (macaca fascicularis) / G. Liu, L. Zhang, X. Zhou, et al. *Med Sci Monit*. 2018. Vol. 24. P. 4516–4527. doi: 10.12659/MSM.908913
- [11] Kimura Y. Morphological changes in the knee joint of rat by intra-articular injection of vitamin. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi*. 1994. Vol. 68. P. 572–584.
- [12] Вишневикий В. А., Малышкина С. В. Моделирование артроза путем введения дексаметазона в коленный сустав крысы. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2004. №4. С. 76–80.
- [13] Salmon Calcitonin Attenuates Degenerative Changes in Cartilage and Subchondral Bone in Lumbar Facet Joint in an Experimental Rat Model / Y. Gou, F. Tian, Q. Kong, et al. *Med Sci Monit*. 2018. Vol. 24. P. 2849–2857. doi: 10.12659/MSM.910012
- [14] A new class of potent matrix metalloproteinase 13 inhibitors for potential treatment of osteoarthritis: Evidence of histologic and clinical efficacy without musculoskeletal toxicity in rat models / V. M. Baragi, G. Becher, A. M. Bendele et al. *Arthritis Rheum.*, 2009. Vol. 60. Issue 7. P. 2008–2018. doi: 10.1002/art.24629
- [15] Induction of osteoarthritis by injecting monosodium iodoacetate into the patellofemoral joint of an experimental rat model / I. Takahashi, T. Matsuzaki, et al. *PLoS One*. 2018. Vol. 13. Issue 4. P. e0196625. doi: 10.1371/journal.pone.0196625
- [16] Pharmacological modulation of movement-evoked pain in a rat model of osteoarthritis / P. Chandran, M. Pai, E. Blomme et al. *Eur. J. Pharmacol*. 2009. Vol. 613. Issue 1–3. P. 39–45. doi: 10.1016/j.ejphar.2009.04.009
- [17] Schuelert N., McDougall J. Grading of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis reveals a concentration-dependent sensitization of nociceptors in the knee joint of the rat. *Neurosci. Lett*. 2009. Vol. 465. Issue 2. P. 184–188. doi: 10.1016/j.neulet.2009.08.063
- [18] Calcineurin modulates the catabolic and anabolic activity of chondrocytes and participates in the progression of experimental osteoarthritis / S. A. Yoo, B. H. Park, H. J. Yoon, et al. *Arth. Rheum*. 2007. Vol. 56. Issue 7. P. 2299–2311. <https://doi.org/10.1002/art.22731>
- [19] Cartilage damage pattern in relation to subchondral plate thickness in a collagenase-induced model of osteoarthritis / S. M. Botter, G. J. van Osch, J. H. Waarsing et al. *Osteoarth. Cartil*. 2008. Vol. 16. Issue 4. P. 506–514. doi: 10.1016/j.joca.2007.08.005
- [20] Kikuchi T., Sakuta T., Yamaguchi T. Intra-articular injection of collagenase induces experimental osteoarthritis in mature rabbits. *Osteoarth. Cartil*. 1998. Vol. 6. Issue 3. P. 177–186. doi: 10.1053/joca.1998.0110
- [21] Bian Y., Zhang M., Wang K. Taurine protects against knee osteoarthritis development in experimental rat models. *Knee*. 2018. Vol. 25. Issue 3. P. 374–380. doi: 10.1016/j.knee.2018.03.004
- [22] Development and characterization of various osteoarthritis models for tissue engineering / J. E. Kim, D. H. Song, S. H. Kim, et al. *PLoS One*. 2018. Vol. 13. Issue 3. P. e0194288. doi: 10.1371/journal.pone.0194288
- [23] The selective cathepsin K inhibitor MIV-711 attenuates joint pathology in experimental animal models of osteoarthritis / E. Lindström, B. Rizoška, K. Tunblad, et al. *J Transl Med*. 2018. Vol. 16. Issue 1. P. 56. doi: 10.1186/s12967-018-1425-7
- [24] Local intraarticular injection of vascular endothelial growth factor accelerates articular cartilage degeneration in rat osteoarthritis model / S. Deng, J. L. Zhou, H. Peng, et al. *Mol Med Rep*. 2018. Vol. 17. Issue 5. P. 6311–6318. doi: 10.3892/mmr.2018.8652
- [25] Spinacia oleracea extract attenuates disease progression and sub-chondral bone changes in monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats / D. Choudhary, P. Kothari, A. K. Tripathi, et al. *BMC Complement Altern Med*. 2018. Vol. 18. Issue 1. P. 69. doi: 10.1186/s12906-018-2117-9
- [26] Imaging fibroblast activation protein to monitor therapeutic effects of neutralizing interleukin-22 in collagen-induced arthritis / T. van der Geest, D. M. Roelleveld, B. Walgreen et al. *Rheumatology (Oxford)*. 2018. Vol. 57. Issue 4. P. 737–747. doi: 10.1093/rheumatology/kex456
- [27] Котельников Г. П., Ларцев Ю. В., Махова А. Н. Сравнительная оценка структурных изменений тканей сустава при различных моделях экспериментального артроза. *Казанский медицинский журнал*. 2006. Т. 87. №1. С. 31–35.
- [28] Ковалев Г. А., Введенский Б. П., Сандомирский Б. П. Технология моделирования остеоартроза крупных суставов. *Биотехнология*. 2010. Т. 3. №4. С. 37–43.
- [29] A rat model of knee osteoarthritis suitable for electroacupuncture study / Y. Ma, H. Guo, F. Bai, et al. *Exp Anim*. 2018. Vol. 67. Issue 2. P. 271–280. doi: 10.1538/expanim.17-0142
- [30] Intraarticular injection of the cyclooxygenase-2 inhibitor parecoxib attenuates osteoarthritis progression in anterior cruciate ligament transected knee in rats: role of excitatory amino acids / Y. H. Jean, Z. H. Wen, Y. C. Chang, et al. *Osteoarth. Cartil*. 2007. Vol. 15. Issue 6. P. 638–645. doi: 10.1016/j.joca.2006.11.008
- [31] Effect of intraarticular hyaluronan injection on vertical ground reaction force and progression of osteoarthritis after anterior cruciate ligament transection / G. Jr. Smith, S. L. Myers, K. D. Brandt et al. *J. Rheumatol*. 2005. Vol. 32. Issue 2. P. 325–334.
- [32] Ex vivo characterization of articular cartilage and bone lesions in a rabbit ACL transection model of osteoarthritis using MRI and micro-CT / D. L. Batische, A. Kirkley, S. Lavery et al. *Osteoarth. Cartil*. 2004. Vol. 12. Issue 2. P. 986–996. doi: 10.1016/j.joca.2004.08.010
- [33] The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis: Reduction of cartilage degeneration and prevention of osteophyte formation by alendronate in the rat anterior cruciate ligament transection model / T. Hayami, M. Pickarski, G. Wesolowski et al. *Arth. Rheum*. 2004. Vol. 50. Issue 4. P. 1193–1206. doi: 10.1002/art.20124
- [34] Marshall K. W., Chan A. D. Arthroscopic anterior cruciate ligament transection induces canine osteoarthritis. *J. Rheumatol*. 1996. Vol. 23. Issue 2. P. 338–343.
- [35] Pastoureaux P., Chomel A., Bonnet J. Evidence of early subchondral bone changes in the meniscectomized guinea pig. A densitometric study using dual-energy X-ray absorptiometry subregional analysis. *Osteoarth. Cartilage*. 1999. Vol. 7. Issue 5. P. 466–473. doi: 10.1053/joca.1999.0241
- [36] Osteochondral repair using porous three-dimensional nanocomposite scaffolds in a rabbit model / B. Żylińska, E. Stodolak-Zych, A. Sobczyńska-Rak, et al. *In Vivo*. 2017. Vol. 31. Issue 5. P. 895–903. doi: 10.21873/invivo.11144
- [37] Induction of osteoarthritis in the rat by surgical tear of the meniscus: inhibition of joint damage by a matrix metalloproteinase inhibitor / M. J. Janusz, A. M. Bendele, K. K. Brown et al. *Osteoarth. Cartil*. 2002. Vol. 10. Issue 8. P. 785–791. doi: 10.1053/joca.2002.0823
- [38] Characterization of articular cartilage and subchondral bone changes in the rat anterior cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis / T. Hayami, M. Pickarski, Y. Zhuo et al. *Bone*. 2006. Vol. 38. Issue 2. P. 234–243. doi: 10.1016/j.bone.2005.08.007
- [39] Chondroprotective effects of pulsed shortwave therapy in rabbits with experimental osteoarthritis / R. A. Ungur, A. Florea, A. F. Tăbăran, et al. *Rom J Morphol Embryol*. 2017. Vol. 58. Issue 2. P. 465–472.
- [40] Osteoarthritis development in novel experimental mouse models induced by knee joint instability / S. Kamekura, K. Hoshi, T. Shimoaka et al. *Osteoarth. Cartil*. 2005. Vol. 13. Issue 7. P. 632–641. doi: 10.1016/j.joca.2005.03.004
- [41] Osteoarthritis severity is sex dependent in a surgical mouse model / H. Ma, T. Blanchet, D. Peluso et al. *Osteoarthritis Cartilage*. 2007. Vol. 15. Issue 6. P. 695–700. doi: 10.1016/j.joca.2006.11.005
- [42] Effect of ligamentum teres tear on the development of joint instability and articular cartilage damage: an in vivo rabbit study / J. H. Baek, Y. S. Chun, K. H. Rhyu et al. *Anat Sci Int*. 2018. Vol. 93. Issue 2. P. 262–268. doi: 10.1007/s12565-017-0406-x
- [43] The canine «groove» model, compared with the ACLT model of osteoarthritis / A. C. Marijnissen, P. M. van Roermond, J. M. TeKoppele et al. *Osteoarth. Cartil*. 2002. Vol. 10. Issue 2. P. 145–155. doi: 10.1053/joca.2001.0491
- [44] Патент 42133 Україна, МПК G09B 23/00. Спосіб моделювання механічного міжвиростового дефекту суглобного хряща / О. К. Гулевський, Г. В. Іванов, Є. Г. Іванов; заявник і патентовласник: Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України. – № u200900367; заявл. 19.01.2009; опубл. 25.06.2009; бюл. №12.
- [45] Watanabe K., Oue Y., Ikegawa S. Animal models for bone and joint disease. Mouse models develop spontaneous osteoarthritis. *Clin Calcium*. 2011. Vol. 21. Issue 2. P. 286–293. doi: 10.102286293
- [46] Glasson S. S. In vivo osteoarthritis target validation utilizing genetically-modified mice. *Curr Drug Targets*. 2007. Vol. 8. Issue 2. P. 367–376. doi: 10.2174/138945007779940061
- [47] Курпьяков А. П. Экспериментальные модели для исследования повреждения и репарации суставного хряща синовиальных суставов (Экспериментальное исследование); автореф. дис. ... к. мед. н. Москва, 2009. 20 с.
- [48] Doserresponse relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study / L. Galois, S. Etienne, L. Grossin et al. *Osteoarth. Cartil*. 2004. Vol. 12. Issue 10. P. 779–786. doi: 10.1016/j.joca.2004.06.008
- [49] Chondroprotective effect of N-acetylglucosamine and hyaluronate in early stages of osteoarthritis – an experimental study in rabbits / F. U. Ozkan, K. Ozkan, S. Ramadan et al. *Bull. NYU Hosp. Jt. Dis*. 2009. Vol. 67. Issue 4. P. 352–357.
- [50] Pain related behaviour in two models of osteoarthritis in the rat knee / J. Fernihough, C. Gentry, M. Malcangio et al. *Pain*. 2004. Vol. 112. Issue 1–2. P. 83–93. doi: 10.1016/j.pain.2004.08.004

- [51] Prevention of cartilage degeneration in a rat model of osteoarthritis by intraarticular treatment with recombinant lubricin / C. Flannery, R. Zollner, C. Corcoran et al. *Arth. Rheum.* 2009. Vol. 60. Issue 3. P. 840–847. doi: 10.1002/art.24304
- [52] Little C. B., Zaki S. What constitutes an «animal model of osteoarthritis»-the need for consensus? *Osteoarthritis Cartilage.* 2012. Vol. 20. Issue 4. P. 261–267. doi: 10.1016/j.joca.2012.01.017
- [53] The validity of osteoarthritis model induced by bilateral ovariectomy in guinea pig / G. Dai, S. Wang., J. Li, et al. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol.* 2006. Vol. 26. Issue 6. – P. 716–719. doi: 10.1007/s11596-006-0624-2
- [54] Effects of ID-CBT5101 in preventing and alleviating osteoarthritis symptoms in a monosodium iodoacetate-induced rat model / B. Y. Sim, H. J. Choi, M. G. Kim. *J Microbiol Biotechnol.* 2018. Vol. 28. Issue 28(7). P. 1199–1208. doi: 10.4014/jmb.1803.03032
- ## References
- [1] Nosivets, Dm. S. (2013) Farmakolohiia khondroprotektoriv (ogliad farmatsevtichnoho rynku Ukrainy) [Pharmacology of Chondroprotectors (Review Pharmaceutical Market of Ukraine)]. *Visnyk problem biolohii ta medytsyny*, 4(1), 57–63. [in Ukrainian].
- [2] Mamchur, V. I., & Nosyvets, D. S. (2018) Farmakologicheskie svojstva i klinicheskaya e'fektivnost' preparata Alflutop pri lechenii patologii oporno-dvigatel'nogo apparata [Pharmacological properties and clinical efficacy of Alflutop in the treatment of musculoskeletal diseases]. *Travma*, 19(1), 6–12. [in Russian]. doi: 10.22141/1608-1706.1.19.2018.126660
- [3] Makushin, V. D., Stepanov, M. A., & Stupina, T. A. (2012) E'ksperimental'noe modelirovaniye osteoartroza kolennogo sustava u sobak [Experimental modeling of the knee osteoarthritis in dogs]. *Biomedicina*, 3, 108–115. [in Russian].
- [4] Davydov, V. B. (2012) Metody e'ksperimental'nogo modelirovaniya osteoartrozov u melkikh e'ksperimental'nykh zhivotnykh [Methods of experimental modeling of experimental osteoarthritis in small animal]. Retrieved from <http://www.vethospital.ru/archives/43/> [in Russian].
- [5] Mamchur, V. I., Nosivets, D. S., Naletov, S. V., Guryanov, V. G., Palamarchuk, V. I., & Ogol, A. Zh. (2017) *Racional'naya farmakoterapiya bolevoogo sindroma razlichnogo geneza kombinirovannymi nesteroidnymi protivovospalitel'nymi sredstvami* [Rational pharmacotherapy of pain syndrome of various genesis with combined non-steroidal anti-inflammatory drugs]. Kyiv : Vipol. [in Russian].
- [6] Opryshko, V. I., & Nosyvets, D. S. (2018) Sistemyy obzor mezhdunarodnykh issledovaniy po primeneniyu Alflutopa v kompleksnoy farmakoterapii bolevoogo sindroma v oblasti spiny [Systemic review of international studies on the use of Alflutop in the comprehensive pharmacotherapy of back pain]. *Mizhnarodnyi nevrolohichnyi zhurnal*, 1(95), 64–69. [in Russian]. doi: 10.22141/2224-0713.1.95.2018.127415
- [7] Kovalenko, V. M., Viktorov, O. P., Korzh, M. O., Dedukh, N. V., & Lisenko, I. V. (2007) Patent. 79206 Ukraina, MPK8 G 09 V 23/28. Sposib modelirovaniya osteoartrozu z sinovitiom [Patent. 79206 Ukraine, MPK8 G 09 V 23/28. Method of osteoarthritis modeling with synovitis]. *Biul.*, 7. [in Ukrainian].
- [8] Lu, Z., Liu, Q., Liu, L., Wu, H., Zheng, L., & Zhao, J. M. (2018) A novel synthesized sulfonamido-based gallate-jeztc blocks cartilage degradation on rabbit model of osteoarthritis: an in vitro and in vivo study. *Cell Physiol Biochem.* 49(6), 2304–2319. doi: 10.1159/000493832
- [9] Chang, A., & Tang, S. Y. (2018) Determination of the depth- and time-dependent mechanical behavior of mouse articular cartilage using cyclic reference point indentation. *Cartilage*, 18, 1947603518786554. doi: 10.1177/1947603518786554
- [10] Liu, G., Zhang, L., Zhou, X., Zhang, B. L., Guo, G. X., Xu, P., et al. (2018) Selection and investigation of a primate model of spontaneous degenerative knee osteoarthritis, the cynomolgus monkey (*macaca fascicularis*). *Med Sci Monit*, 24, 4516–4527. doi: 10.12659/MSM.908913
- [11] Kimura, Y. (1994) Morphological changes in the knee joint of rat by intra-articular injection of vitamin A. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi*, 68, 572–584.
- [12] Vishnevskiy V. A., & Malyishkina S. V. (2004) Modelirovaniye artroza putem vvedeniya deksametazona v kolennyi sustav krysy [Modeling arthrosis by injecting dexamethasone into a rat's knee joint]. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye*, 4, 76–80. [in Russian].
- [13] Gou, Y., Tian, F., Kong, Q., Chen, T., Li, H., Lv, Q., & Zhang, L. (2018) Salmon Calcitonin Attenuates Degenerative Changes in Cartilage and Subchondral Bone in Lumbar Facet Joint in an Experimental Rat Model. *Med Sci Monit*, 24, 2849–2857. doi: 10.12659/MSM.910012
- [14] Baragi, V. M., Becher, G., Bendele, A. M., Biesinger, R., Bluhm, H., Boer, J., et al. (2009) A new class of potent matrix metalloproteinase 13 inhibitors for potential treatment of osteoarthritis: Evidence of histologic and clinical efficacy without musculoskeletal toxicity in rat models. *Arthritis Rheum*, 60(7), 2008–18. doi: 10.1002/art.24629
- [15] Takahashi, I., Matsuzaki, T., Kuroki, H., & Hoso, M. (2018) Induction of osteoarthritis by injecting monosodium iodoacetate into the patellofemoral joint of an experimental rat model. *PLoS One*, 13(4), e0196625. doi: 10.1371/journal.pone.0196625
- [16] Chandran, P., Pai, M., Blomme, E. A., Hsieh, G. C., Decker, M. W., & Honore, P. (2009) Pharmacological modulation of movement-evoked pain in a rat model of osteoarthritis. *Eur. J. Pharmacol*, 613(1–3), 39–45. doi: 10.1016/j.ejphar.2009.04.009
- [17] Schuelert, N., & McDougall, J. (2009) Grading of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis reveals a concentration-dependent sensitization of nociceptors in the knee joint of the rat. *Neurosci. Lett*, 465(2), 184–8. doi: 10.1016/j.neulet.2009.08.063
- [18] Yoo, S. A., Park, B. H., Yoon, H. J., Lee, J. Y., Song, J. H., Kim, H. A., et al. (2007) Calcineurin modulates the catabolic and anabolic activity of chondrocytes and participates in the progression of experimental osteoarthritis. *Arth. Rheum*, 56(7), 2299–2311. <https://doi.org/10.1002/art.22731>
- [19] Botter, S. M., van Osch, G. J., Waarsing, J. H., van der Linden, J. C., Verhaar, J. A., Pols, H. A., et al. (2008) Cartilage damage pattern in relation to subchondral plate thickness in a collagenase-induced model of osteoarthritis. *Osteoarth. Cartil*, 16(4), 506–514. doi: 10.1016/j.joca.2007.08.005
- [20] Kikuchi, T., Sakuta, T., & Yamaguchi, T. (1998) Intra-articular injection of collagenase induces experimental osteoarthritis in mature rabbits. *Osteoarthritis Cartilage*, 6(3), 177–186. doi: 10.1053/joca.1998.0110
- [21] Bian, Y., Zhang, M., & Wang, K. (2018) Taurine protects against knee osteoarthritis development in experimental rat models. *Knee*, 25(3), 374–380. doi: 10.1016/j.knee.2018.03.004
- [22] Kim, J. E., Song, D. H., Kim, S. H., Jung, Y., & Kim, S. J. (2018) Development and characterization of various osteoarthritis models for tissue engineering. *PLoS One*, 13(3), e0194288. doi: 10.1371/journal.pone.0194288
- [23] Lindström, E., Rizoska, B., Tunblad, K., Edenius, C., Bendele, A. M., Maul, D. et al. (2018) The selective cathepsin K inhibitor MIV-711 attenuates joint pathology in experimental animal models of osteoarthritis. *J Transl Med*, 16(1), 56. doi: 10.1186/s12967-018-1425-7
- [24] Deng, S., Zhou, J. L., Peng, H., Fang, H. S., Liu, F., & Weng, J. Q. (2018) Local intraarticular injection of vascular endothelial growth factor accelerates articular cartilage degeneration in rat osteoarthritis model. *Mol Med Rep*, 17(5), 6311–6318. doi: 10.3892/mmr.2018.8652
- [25] Choudhary, D., Kothari, P., Tripathi, A. K., Singh, S., Adhikary, S., Ahmad, N., et al. (2018) Spinacia oleracea extract attenuates disease progression and sub-chondral bone changes in monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis in rats. *BMC Complement Altern Med*, 18(1), 69. doi: 10.1186/s12906-018-2117-9
- [26] Geest, T., Roelvelde, D. M., Walgreen, B., Helsen, M. M., Nayak, T. K., Klein, C., et al. (2018) Imaging fibroblast activation protein to monitor therapeutic effects of neutralizing interleukin-22 in collagen-induced arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 57(4), 737–747. doi: 10.1093/rheumatology/kex456
- [27] Kotelnikov, G. P., Lartsev, Yu. V., & Makhova, A. N. (2006) Sravnitel'naya ocenka strukturnykh izmeneniy tkanej sustava pri razlichnykh modelyakh e'ksperimental'nogo artroza [Comparative evaluation of structural changes of joint tissues in various models of experimental arthrosis]. *Kazanskij medicinskij zhurnal*, 87(1), 31–35. [in Russian].
- [28] Koval'ov, G. A., Vvedenskyy, B. P., & Sandomirskiy, B. P. (2010) Tekhnologiya modelirovaniya osteoartroza krupnykh sustavov [Technology of modeling of large joints osteoarthritis]. *Biotehnologiya*, 3(4), 37–43. [in Russian].
- [29] Ma, Y., Guo, H., Bai, F., Zhang, M., Yang, L., Deng, J., & Xiong, L. (2018) A rat model of knee osteoarthritis suitable for electroacupuncture study. *Exp Anim*, 67(2), 271–280. doi: 10.1538/expanim.17-0142
- [30] Jean, Y. H., Wen, Z. H., Chang, Y. C., Hsieh, S. P., Tang, C. C., Wang, Y. H., & Wong, C. S. (2007) Intraarticular injection of the cyclooxygenase-2 inhibitor parecoxib attenuates osteoarthritis progression in anterior cruciate ligament transected knee in rats: role of excitatory amino acids. *Osteoarth. Cartil*, 15(6), 638–645. doi: 10.1016/j.joca.2006.11.008
- [31] Smith, G. Jr., Myers, S. L., Brandt, K. D., Mickler, E. A., & Albrecht, M. E. (2005) Effect of intraarticular hyaluronan injection on vertical ground reaction force and progression of osteoarthritis after anterior cruciate ligament transection. *J. Rheumatol*, 32(2), 325–334.
- [32] Batiste, D. L., Kirkley, A., Laverty, S., Thain, L. M., Spouge, A. R., & Holdsworth, D. W. (2004) Ex vivo characterization of articular cartilage and bone lesions in a rabbit ACL transection model of osteoarthritis using MRI and micro-CT. *Osteoarth. Cartil*, 12(12), 986–996. doi: 10.1016/j.joca.2004.08.010
- [33] Hayami, T., Pickarski, M., Wesolowski, G., McLane, J., Bone, A., Destefano, J., et al. (2004) The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis: Reduction of cartilage degeneration and prevention of osteophyte formation by alendronate in the rat anterior cruciate ligament transection model. *Arth. Rheum*, 50(4), 1193–1206. doi: 10.1002/art.20124
- [34] Marshall, K. W., & Chan, A. D. (1996) Arthroscopic anterior cruciate ligament transection induces canine osteoarthritis. *J. Rheumatol*, 23(2), 338–343.

- [35] Pastoureau, P., Chomel, A., & Bonnet, J. (1999) Evidence of early subchondral bone changes in the meniscectomized guinea pig. A densitometric study using dual-energy X-ray absorptiometry subregional analysis. *Osteoarth. Cartilage*, 7(5), 466–473. doi: 10.1053/joca.1999.0241
- [36] Żylińska, B., Stodolak-Zych, E., Sobczyńska-Rak, A., Szponder, T., Silmanowicz, P., Łańcut, M., et al. (2017) Osteochondral repair using porous three-dimensional nanocomposite scaffolds in a rabbit model. *In Vivo*, 31(5), 895–903. doi: 10.21873/invivo.11144
- [37] Janusz, M. J., Bendele, A. M., Brown, K. K., Taiwo, Y. O., Hsieh, L., & Heitmeyer, S. A. (2002) Induction of osteoarthritis in the rat by surgical tear of the meniscus: inhibition of joint damage by a matrix metalloproteinase inhibitor. *Osteoarth. Cartil*, 10(10), 785–791. doi: 10.1053/joca.2002.0823
- [38] Hayami, T., Pickarski, M., Zhuo, Y., Wesolowski, G. A., Rodan, G. A., & Duong, L. T. (2006) Characterization of articular cartilage and subchondral bone changes in the rat anterior cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis. *Bone*, 38(2), 234–243. doi: 10.1016/j.bone.2005.08.007
- [39] Ungur, R. A., Florea, A., Tăbăran, A. F., Scurtu, I. C., Onac, I., Borda, I. M., et al. (2017) Chondroprotective effects of pulsed shortwave therapy in rabbits with experimental osteoarthritis. *Rom J Morphol Embryol*, 58(2), 465–472.
- [40] Kamekura, S., Hoshi, K., Shimoaka, T., Chung, U., Chikuda, H., Yamada, T., et al. (2005) Osteoarthritis development in novel experimental mouse models induced by knee joint instability. *Osteoarth. Cartil*, 13(7), 632–641. doi: 10.1016/j.joca.2005.03.004
- [41] Ma, H. L., Blanchet T. J., Peluso D., Hopkins, B., Morris, E. A., & Glasson, S. S. (2007) Osteoarthritis severity is sex dependent in a surgical mouse model. *Osteoarth. Cartilage*, 15(6), 695–700. doi: 10.1016/j.joca.2006.11.005
- [42] Baek, J. H., Chun, Y. S., Rhyu, K. H., Yoon, W. K., & Cho, Y. J. (2018) Effect of ligamentum teres tear on the development of joint instability and articular cartilage damage: an in vivo rabbit study. *Anat Sci Int*, 93(2), 262–268. doi: 10.1007/s12565-017-0406-x
- [43] Marijnissen, A. C., Roermund, P. M., TeKoppele, J. M., Bijlsma, J. W., & Lafeber, F. P. (2002) The canine «groove» model, compared with the ACLT model of osteoarthritis. *Osteoarth. Cartil*, 10(2), 145–155. doi: 10.1053/joca.2001.0491
- [44] Hulevskiy, O. K., Ivanov, H. V., & Ivanov, E. H. (2009) Patent 42133 Ukraina, MPK G09B 23/00. Sposib modeliuвання mekhanichnoho mizhvyrostkovoho defektu suhlobnoho khryascha [Patent 42133 Ukraine, IPC G09B 23/00. Method of modeling of mechanical intervertebral defect of articular cartilage]. *Biuletyn*, 12. [in Ukrainian].
- [45] Watanabe, K., Oue, Y., & Ikegawa, S. (2011) Animal models for bone and joint disease. Mouse models develop spontaneous osteoarthritis. *Clin Calcium*, 21(2), 286–293. doi: 10.1007/s12286293
- [46] Glasson, S. S. (2007) In vivo osteoarthritis target validation utilizing genetically-modified mice. *Curr Drug Targets*, 8(2), 367–376. doi: 10.2174/13894500779940061
- [47] Kurpyakov, A. P. (2009). *E'ksperimental'nye modeli dlya issledovaniya povrezhdeniya i reparacii sustavnogo khryascha sinovial'nykh sustavov* (Avtoref. dis...kand. med. nauk) [Experimental models for the study of damage and repair of the articular cartilage of synovial joints]. (Extended abstract of candidate's thesis). Moscow. [in Russian].
- [48] Galois, L., Etienne, S., Grossin, L., Watrin-Pinzano, A., Courmil-Henrionnet, C., Loeuille, D., et al. (2004) Dose-response relationship for exercise on severity of experimental osteoarthritis in rats: a pilot study. *Osteoarth. Cartil*, 12(10), 779–786. doi: 10.1016/j.joca.2004.06.008
- [49] Ozkan, F. U., Ozkan, K., Ramadan, S., & Guven, Z. (2009) Chondroprotective effect of N-acetylglucosamine and hyaluronate in early stages of osteoarthritis – an experimental study in rabbits. *Bull. NYU Hosp. Jt. Dis*, 67(4), 352–357.
- [50] Fernihough, J., Gentry, C., Malcangio, M., Fox, A., Rediske, J., Pellas, T., et al. (2004) Pain related behaviour in two models of osteoarthritis in the rat knee. *Pain*, 112(1–2), 83–93. doi: 10.1016/j.pain.2004.08.004
- [51] Flannery, C., Zollner, R., Corcoran, C., Jones, A. R., Root, A., Rivera-Bermúdez, M. A., et al. (2009) Prevention of cartilage degeneration in a rat model of osteoarthritis by intraarticular treatment with recombinant lubricin. *Arth. Rheum*, 60(3), 840–847. doi: 10.1002/art.24304
- [52] Little, C. B., & Zaki, S. (2012) What constitutes an «animal model of osteoarthritis»—the need for consensus? *Osteoarth. Cartilage*, 20(4), 261–267. doi: 10.1016/j.joca.2012.01.017
- [53] Dai, G., Wang, S., Li, J., Liu, C., & Liu, Q. (2006) The validity of osteoarthritis model induced by bilateral ovariectomy in guinea pig. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol*, 26(6), 716–719. doi: 10.1007/s11596-006-0624-2
- [54] Sim, B. Y., Choi, H. J., Kim, M. G., Jeong, D. G., Lee, D. G., Yoon, J. M., et al. (2018) Effects of ID-CBT5101 in preventing and alleviating osteoarthritis symptoms in a monosodium iodoacetate-induced rat model. *J Microbiol Biotechnol*, 28(7), 1199–1208. doi: 10.4014/jmb.1803.03032

Peculiarities of multidrug-resistant tuberculosis on the background of idiopathic pulmonary fibrosis (a clinical case report)

O. M. Raznatovska*^{1,A-D,F}, M. O. Shalmina^{1,C,D}, A. V. Fedorets^{2,B,C}, O. S. Shalmin^{1,F},
M. S. Potapenko^{1,C,E}

¹Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine, ²Communal Institution "Zaporizhzhia Regional TB Clinical Dispensary", Ukraine

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

Objective – familiarization of practitioners with the peculiarities of pulmonary multi-drug resistant tuberculosis (MDRT) in a patient with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) resulted from a long exposure to environmental factors at the workplace.

Materials and methods. The article deals with a clinical case of own observation of pulmonary MDRT development in a patient with IPF. The patient was hospitalized in the Pulmonary Tuberculosis Department No 3 (Department of Resistant Tuberculosis) of the Clinical Site of Phthisiology and Pulmonology Department of Zaporizhzhia State Medical University in the CI "Zaporizhzhia Regional Tuberculosis Clinical Dispensary".

Results. Patient: male, 41 years, no medical history of tuberculosis. His work was associated with a harmful environmental factor within 7 years: dust in the workplace (refueling and repair of powder-type fire extinguishers). After 3 weeks of inpatient treatment, the patient died. The presented clinical case demonstrates the complexity of a life-time IPF diagnosis, which progression provoked the development of an equally serious disease, such as multi-resistant disseminated pulmonary tuberculosis and the prescription of antimycobacterial therapy. The cause of death was a progressive pulmonary fibrosis, and as a result, a progressively worsening pulmonary heart disease.

Conclusions. Practitioners should be especially vigilant and attentive while dealing with a patient having a history of harmful environmental factors exposure that may cause IPF development. It must be borne in mind that IPF may be asymptomatic for a long time resulting in increased risk for developing tuberculosis. This case confirms the literature data that the development of pulmonary MDRT in patients with untreated IPF leads to a rapid fatal outcome in the vast majority of cases (in this case it was 3 weeks).

Key words:

idiopathic pulmonary fibrosis, multi-drug resistant tuberculosis.

Zaporozhye medical journal
2019; 21 (4), 561–564

DOI:
10.14739/2310-1210.
2019.4.173363

*E-mail:
raznatovskaya@
gmail.com

Особливості перебігу мультирезистентного туберкульозу на тлі ідіопатичного легеневого фіброзу (клінічний випадок)

О. М. Разнатовська, М. О. Шальміна, А. В. Федорець, О. С. Шальмін, М. С. Потапенко

Мета роботи – ознайомлення фахівців-практиків з особливостями перебігу мультирезистентного туберкульозу (МРТБ) легень у хворого з ідіопатичним легеневою фіброзом (ІЛФ), який розвинувся на тлі тривалої експозиції факторів довкілля на робочому місці.

Матеріали та методи. Описали клінічний випадок власного спостереження розвитку МРТБ легень у пацієнта з ІЛФ. Хворий перебував на стаціонарному лікуванні у відділенні легеневого туберкульозу № 3 (відділення резистентного туберкульозу) клінічної бази кафедри фтизіатрії та пульмонології ЗДМУ в КЗ «Запорізький обласний протитуберкульозний клінічний диспансер».

Результати. Пацієнт – чоловік віком 41 рік. З анамнезу відомо, що раніше на туберкульоз не хворів. Протягом 7 років робота була пов'язана зі шкідливим фактором довкілля – запиленість на робочому місці (заправка та ремонт порошкових вогнегасників). Через 3 тижні стаціонарного лікування пацієнт помер. Наведений клінічний випадок демонструє складність прижиттєвої діагностики ІЛФ, прогресування якого спровокувало приєднання не менш тяжкого захворювання – мультирезистентного дисемінованого туберкульозу легень – і призначення антимікобактеріальної терапії. Причиною смерті стало прогресування легеневого фіброзу та, як наслідок, посилення легенево-серцевої недостатності.

Висновки. Лікарі-практики повинні бути вкрай пильними та уважними до пацієнтів із наявністю в анамнезі шкідливих факторів довкілля, які можуть стати причиною розвитку ІЛФ. Потрібно враховувати, що ІЛФ може тривалий час мати безсимптомний перебіг і бути підґрунтям для приєднання туберкульозу. Описаний випадок підтверджує відомості фахової літератури: розвиток МРТБ легень на тлі нелікованого ІЛФ призводить здебільшого до швидкого летального результату (в наведеному випадку – 3 тижні).

Ключові слова:

ідіопатичний легеневий фіброз, мультирезистентний туберкульоз.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 4(115). – С. 561–564

Особенности течения мультирезистентного туберкулеза на фоне идиопатического легочного фиброза (клинический случай)

Е. Н. Разнатовская, М. А. Шальмина, А. В. Федорец, А. С. Шальмин, М. С. Потапенко

Цель работы – ознакомление практикующих специалистов с особенностями течения мультирезистентного туберкулеза (МРТБ) легких у больного с идиопатическим легочным фиброзом (ИЛФ), который развился на фоне длительной экспозиции факторов внешней среды на рабочем месте.

Ключевые слова:

идиопатический легочной фиброз, мультирезистентный туберкулез.

Материалы и методы. Описан клинический случай собственного наблюдения развития МРТБ легких у пациента с ИЛФ. Больной находился на стационарном лечении в отделении легочного туберкулеза № 3 (отделение резистентного туберкулеза) клинической базы кафедры фтизиатрии и пульмонологии ЗГМУ в КУ «Запорожский областной противотуберкулезный клинический диспансер».

Результаты. Пациент – мужчина в возрасте 41 год. Из анамнеза известно, что ранее туберкулезом не болел. На протяжении 7 лет работа была связана с вредным фактором внешней среды – запыленность на рабочем месте (заправка и ремонт порошковых огнетушителей). Через 3 недели стационарного лечения пациент умер. Представленный клинический случай демонстрирует сложность прижизненной диагностики ИЛФ, прогрессирование которого спровоцировало присоединение не менее тяжелого заболевания – мультирезистентного диссеминированного туберкулеза легких – и назначение антимикобактериальной терапии. Причиной смерти стал прогрессирующий легочной фиброз и, как следствие, нарастание легочно-сердечной недостаточности.

Выводы. Практикующие врачи должны быть крайне бдительны и внимательны к пациентам с наличием в анамнезе вредных факторов внешней среды, которые могут стать причиной развития ИЛФ. Необходимо учитывать, что ИЛФ может длительное время протекать бессимптомно и является почвой для присоединения туберкулеза. Описанный случай подтверждает данные научной литературы, что развитие МРТБ легких на фоне не леченого ИЛФ приводит в преобладающем количестве случаев к быстрому летальному исходу (в представленном случае – 3 недели).

Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is included in the group of interstitial lung diseases, which represent heterogeneous pathological process in the parenchyma. IPF is characterized by the development of irreversible progressive lung fibrosis with respiratory functions loss, severe pulmonary insufficiency and poor prognosis [1]. In Ukraine, IPF is presented as interstitial pneumonia [2]. One of the potential risk factors for the development of IPF is exposure to environmental factors (inhalation of metal, wood dust etc.) [3,6]. The main morphological manifestation that characterizes IPF is parenchyma distortion with honeycomb formation (fibroblastic foci, deposits of collagen and scar tissue), which radiographically manifests as a dense area of increased opacity within the lungs (ground-glass opacities), and visualized as a honeycombing pattern during dissemination [2]. But honeycombing indicates late manifestations of IPF [4].

According to the literature data, IPF is more common among middle-aged and older individuals [4–8]. V. K. Gavrisyuk (2011) [1] and S. N. Avdeeva (2015) [5] indicate that for IPF in combination with pulmonary emphysema, parameters of external respiratory function (respiratory pressure) for a long time may be within the normal range. Therefore, video-assisted thoracoscopic surgery with biopsy for early diagnosis of IPF is currently considered as one of the most important methods [1,6].

Given the unpredictable course of IFA and rapidly progressive pulmonary heart disease, J. H. Ryu et al. (2014) [7] indicate the need to address the issue of surgical treatment, including lung transplantation.

Novikova L. et al. (2015) [9] conducted a retrospective analysis of the combined course of pulmonary tuberculosis and IPF. A progressive course was noted in 12 patients with resistant tuberculosis developed due to the underlying IPF, and 9 patients (75 %) died within 2 to 24 months. At the same time, tuberculosis had an atypical course and there were difficulties in its diagnosis in all the cases. In 14 patients, IPF developed as a result of host susceptibility to tuberculosis, and 4 deaths of patients (28.5 %) were reported in several years (3, 6, 9, and 10 years).

Objective

Familiarization of practitioners with the peculiarities of pulmonary multi-drug resistant tuberculosis (MDRT) in a

patient with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) resulted from a long exposure to environmental factors at the workplace.

Materials and methods

The article deals with a clinical case of own observation of pulmonary MDRT development in a patient with IPF. The patient was hospitalized in the Pulmonary Tuberculosis Department No 3 (Department of Resistant Tuberculosis) of the Clinical Site of Phthysiology and Pulmonology Department of Zaporizhzhia State Medical University in the CI “Zaporizhzhia Regional Tuberculosis Clinical Dispensary” (ZRTCDC).

Results of own observations

Patient: male, 41 years.

He had no past history of tuberculosis. Within 7 years, there was an occupational exposure to a harmful environmental factor: dust in the workplace (refueling and repair of powder-type fire extinguishers). The regular medical examinations were annually (the previous fluorographic examination was a year ago). He was a blood donor for 17 years. He received treatment for laryngeal disease two years ago and was operated for a sinus cyst a year ago.

2 weeks before admission to the PTD No 3 of ZRTCDC because of health deterioration, the patient developed symptoms such as fever and severe dyspnea. The patient consulted a therapist at the place of residence and received a course of non-specific antibiotic therapy (NSABT) for bronchitis. But the patient's condition worsened in 5 days with NSABT. After radiographic examination, changes in the form of dissemination were detected on a chest X-ray which caused the patient to be consulted by a phthysiologist.

The patient underwent additional examination during outpatient visit in the ZRTCDC. Repeated X-ray confirmed dissemination syndrome, which was recommended to be differentiated between miliary pulmonary tuberculosis and pulmonary carcinomatosis.

During fibrobronchoscopy (FBS), the patient was diagnosed with fibrinous endobronchitis and an aspirate from the bronchi was sampled. Mycobacterium tuberculosis (MBT) was not detected microscopically in the bronchial aspirate. The patient was consulted by a thoracic surgeon, who recommended a video-assisted thoracoscopic lung biopsy. But the following day, rifampicin (R) resistant MTBs

were detected in the bronchial aspirate using molecular-genetic (MG) method, so newly diagnosed tuberculosis (NDTB), rifampicin-resistant pulmonary tuberculosis (RifTB) (disseminated), destruction-. MBT + M-MG + Rif + K-, extrapulmonary tuberculosis (EPTB) of intrathoracic lymphatic nodes (ITLN), category 4 (NDTB).

The patient was hospitalized to PTD No 3 of ZRTCD for treatment according to the scheme of category 4 according to the Unified Clinical Protocol of Medical Care "Tuberculosis" [10], taking into account the data of the drug sensitivity test (DST). Additionally, the patient was prescribed with pathogenetic (hepatoprotectors and cardioprotectors), symptomatic and detoxification therapy.

During the week of inpatient treatment, the patient's condition deteriorated with shortness of breath worsening. An X-ray examination revealed (Fig. 1): all lung fields, mainly of lung hilum zones and basal sections, contained a dense, confluent small-focal dissemination, which overlapped with enhanced interstitial component and demonstrated ground-glass pulmonary pattern; both lung hilum were infiltrated. Conclusion: lung dissemination syndrome. It was recommended to differentiate between miliary pulmonary tuberculosis and pneumocystis pneumonia.

At the same time, in a week of inpatient treatment, MBT were not microscopically detected in the analysis of sputum.

Blood count were within the normal range: hemoglobin – 156 g/l, erythrocytes – $4.88 \times 10^{12}/l$, color index – 0.97, leucocytes – $8.2 \times 10^9/l$, erythrocyte sedimentation rate – 18 mm/hour, banded – 8 %, segmented – 70 %, lymphocytes – 18 %, monocytes – 4 %.

A blood test for HIV infection was negative. Parameters of biochemical blood analysis were also within the normal range.

The conclusion of the respiratory function examination: I degree ventilation insufficiency.

Conclusion of the electrocardiographic examination: sinus tachycardia (heart rate – 105 per minute), shortened PQ interval syndrome, signs of right atrial hypertrophy, diffuse (dystrophic) changes in the myocardium.

Considering the anamnesis data, the patient was consulted by an otolaryngologist. ENT organs pathology was not revealed.

After ophthalmological examination, angioretinopathy and low degree myopia were revealed.

Despite the ongoing comprehensive treatment, the patient's symptoms of pulmonary heart disease progressed steadily. Respiratory function examination: 3 degree ventilation failure. Auscultation: harsh breathing, rales were absent.

Therapist report: stage 3 respiratory failure (RF), toxicometabolic cardiomyopathy, stage III heart failure (HF), cachexia.

After 3 weeks of inpatient treatment, the patient died. The postmortem diagnosis: Pulmonary RifTB (disseminated), destruction- MBT + M- MG + Rif + K-, EPTB ITLN, category 4 (NDTB). Stage 3 RF. Toxicometabolic cardiomyopathy. HF IIA. Cachexia. IPF.

Pathoanatomical diagnosis:

1. *Primary disease*. NDTB Disseminated pulmonary tuberculosis (progression phase): multiple bilateral, sometimes confluent, acinar-lobular foci of specific granulomatous inflammation, represented by epithelioid cells, macrophages with the presence of giant multi-nuclear



Fig. 1. Chest X-ray in a week after hospitalization.

Pirogov-Langhans cells and centrally located caseous necrosis; interstitial alveolar edema. Histology +. EPTB ITLN: extensive foci of necrosis, capturing the entire medulla and part of the cortical layer of the lymphatic node, surrounded by thick epithelioid cell granuloma. ITLN lymphoid tissue is depleted, with multiple epithelioid cell granulomas and the presence of giant Pirogov-Langhans cells.

Secondary disease: IPF: pronounced diffuse interstitial, perivascular and peribronchial pulmonary fibrosis; thickening of the interalveolar septa walls with chronic severe inflammatory cell infiltration, represented by histiolympocytic elements.

2. *Complications*. Chronic cor pulmonale (the right ventricle wall thickness of 0.7 cm). Bilateral fibrinous pleuritis. Endogenous intoxication: focal renal tubular necrosis, centrolobular hepatic necrosis. Parenchymal dystrophy and venous hyperemia of the internal organs. Cachexia.

3. *Concomitant diseases*. Chronic erosive and ulcerative gastroduodenitis in acute stage. Chronic pancreatitis in stage of remission. Chronic calculous cholecystitis in stage of remission.

Clinical, pathological-anatomical epicrisis:

– comparing the clinical and pathological-anatomical data, it was established that the patient had a mycobacterial infection with damage of both lungs and ITLN occurred with underlying IPF;

– due to these conditions, pulmonary heart disease progressively worsened which was the direct cause of death;

– complete coincidence of clinical and pathologic-anatomical diagnoses was noted.

2 weeks after the patient's death, the results of inoculation of aspirate on liquid nutrient medium were obtained and MBT resistance to isoniazid (H), R, ethambutol (E) and pyrazinamide (Z) was revealed, which indicated the presence of pulmonary MDRT in the patient.

Discussion

In the present case, such methods of examination as FBS, aspirate test, total blood count and respiratory function tests were not significant for IPF diagnosis. Respiratory

insufficiency worsening in the terminal stage (after 3 weeks from the onset of pulmonary MDRT) allowed only assessing the degree of IPF progression. The obtained results confirm the data of V. K. Gavrisyuk (2011) [1].

All literary sources indicate that the most common cause of death in patients with IPF is a progressive worsening of respiratory failure, which was observed in this case.

Novikova L. et al. (2015) [9] described an atypical course of tuberculosis, which made it difficult to diagnose in a patients with resistant tuberculosis and IPF. In the presented case, there were no difficulties in diagnosing tuberculosis, especially since the patient responsibly underwent an annual preventive fluorographic examination. Difficulties were experienced in the timely diagnosis of IPF which manifestations were observed at a late stage as a lung honeycombing on X-ray 3 weeks before death.

In the described clinical case, the secondary pulmonary MDRT with a subsequent antimycobacterial therapy for IPF patient, due to lack of early diagnosis and treatment provoked a rapid progression of the disease, so death was unavoidable.

The presented clinical case demonstrates the complexity of a life-time IPF diagnosis, which progression provoked the development of an equally serious disease, such as multi-resistant disseminated pulmonary tuberculosis and the prescription of antimycobacterial therapy. The cause of death was a progressive pulmonary fibrosis, and as a result, a progressively worsening pulmonary heart disease.

Conclusions

Practitioners should be especially vigilant and attentive while dealing with a patient having a history of harmful environmental factors exposure that may cause IPF development. It must be borne in mind that IPF may be asymptomatic for a long time resulting in increased risk for developing tuberculosis. This case confirms the literature data that the development of pulmonary MDRT in patients with untreated IFA leads to a rapid fatal outcome in the vast majority of cases (in this case it was 3 weeks).

Prospects for further research. Further study and analysis of clinical cases of tuberculosis combined with other diseases.

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

Надійшла до редакції / Received: 26.11.2018
Після доопрацювання / Revised: 09.01.2019
Прийнято до друку / Accepted: 14.01.2019

Information about authors:

Raznatovska O. M., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Phthysiology and Pulmonology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Shalmina M. O., MD, PhD, Assistant of the Department of Clinical Pharmacology, Pharmacy and Pharmacotherapy with the Course of Cosmetology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
Fedorets A. V., MD, Phthysiolgist of Pulmonary Tuberculosis Department № 3, Communal Institution "Zaporizhzhia Regional TB Clinical Dispensary", Ukraine.

Shalmin O. S., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Phthysiology and Pulmonology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Potapenko M. S., MD, PhD, Assistant of the Department of Surgery and Anesthesiology, Faculty of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Разнатовська О. М., д-р мед. наук, професор каф. фтизіатрії і пульмонології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Шальміна М. О., канд. мед. наук, асистент каф. клінічної фармакології, фармації і фармакотерапії та косметології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Федорець А. В., лікар-фтизіатр відділення легеневого туберкульозу № 3, КЗ «Запорізький обласний протитуберкульозний клінічний диспансер», Україна.

Шальмін О. С., д-р мед. наук, професор, зав. каф. фтизіатрії і пульмонології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Потاپенко М. С., канд. мед. наук, асистент каф. хірургії та анестезіології факультету післядипломної освіти, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Разнатовская Е. Н., д-р мед. наук, профессор каф. фтизиатрии и пульмонологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Шальмина М. А., канд. мед. наук, ассистент каф. клинической фармакологии, фармации и фармакотерапии и косметологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Федорец А. В., врач-фтизиатр отделения легочного туберкулеза № 3, КУ «Запорожский областной противотуберкулезный клинический диспансер», Украина.

Шальмин А. С., д-р мед. наук, профессор, зав. каф. фтизиатрии и пульмонологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Потاپенко М. С., канд. мед. наук, ассистент каф. хирургии и анестезиологии факультета послдипломного образования, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- Gavrisyuk, V. K. (2011). Fibroziruyushhie al'veolity [Fibrosing alveolitis]. *Klinichna imunologhija. Alerholohija. Infektolohija*, 5–12. [in Ukrainian].
- Kilessa, V. V. (2009). Idiopaticheskij fibroziruyushhij al'veolit [Idiopathic fibrosing alveolitis]. *Tavrisheskij mediko-biologicheskij vestnik*, 12, 1(45), 173–176. [in Russian].
- Travis, W. D., Costabe, U., Hansell, D. M., King, T. E., Lynch, D. A., Nicholson, A. G. et al. (2013). An official American Thoracic Society / European Respiratory Society statement: update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*, 188(6), 733–748. doi: 10.1164/rccm.201308-1483ST
- Averyanov, A. V., & Lesnyak, V. N. (2016). Ot idiopaticheskogo fibroziruyushhego al'veolita k idiopaticheskomu legochnomu fibrozu (Chast' II) [From idiopathic fibrosing alveolitis to idiopathic lungs fibrosis]. *Klinicheskaya praktika*, 4(28), 58–64. [in Russian].
- Avdeev, S. N. (2015). Idiopaticheskij legochnyj fibroz [Idiopathic pulmonary fibrosis]. *Pul'monologiya*, 25(5), 600–612. doi: 10.18093/0869-189-2015-25-5-600-612 [in Russian].
- Il'kovich, M. M., Novikova, L. N., & Speranskaya, A. A. (2009). Idiopaticheskij fibroziruyushhij al'veolit: sovremennye predstavleniya [Idiopathic pulmonary fibrosis: the current view]. *Consilium Medicum*, 11(11), 24–29. [in Russian].
- Ryu, J. H., Moua, T., Daniels, C. E., Hartman, T. E., Yi, E., Utz, J. P., & Limper, A. H. (2014). Idiopathic pulmonary fibrosis: evolving concepts. *Mayo. Clin. Proc.*, 89(8), 1130–1142. doi: 10.1016/j.mayocp.2014.03.016
- Raghu, G., Collard, H. R., Egan, J. J., Martinez, F. J., Behr, J., Brown, K. K., et al. (2011). An official ATS / ERS / JRS / ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence based guidelines for diagnosis and management. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*, 183(6), 788–824. doi: 10.1164/rccm.2009-040GL
- Novikova, L., Ilkovich, Y. & Speranskaya, A. (2015). Tuberculosis in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *European Respiratory Journal*, 46(59). doi: 10.1183/13993003.congress-2015.PA2046
- (2014). Ukraina. MOZ. Unifikovanyi klinichniy protokol pervynnoi, vtorynnoi (spetsializovanoi) ta tretynnoi (vysokospetsializovanoi) medychnoi dopomohy doroslym. Tuberkuloz [Unified clinical protocols of primary, secondary (specialized) and tertiary (highly specialized) medical care for adults "Tuberculosis"]. [in Ukrainian].