

MORPHOLOGIA



ISSN 1997-9665

2024 • Том 18 • Номер 1

2024 • Volume 18 • Number 1

MORPHOLOGIA

2024 • Том 18 • Номер 1

Науковий фаховий електронний журнал Всеукраїнської громадської організації
«Наукове товариство анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України»
Періодичність видання 4 рази на рік

Засновники:

ВГО «Наукове товариство анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України»
Дніпровський державний медичний університет

Індексація журналу:

«NLM Catalog US National Library of Medicine» (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog>)

«Medical Journals Links» (<http://www.medical-journals-links.com>)

«CiteFactor Academic Scientific Journals» (<http://www.citefactor.org>)

«Google Scholar» (<https://scholar.google.com>)

«Directory of Open Access Journals» (<http://doaj.org>)

Національна бібліотека України імені В.І. Вернадського (<http://www.nbuv.gov.ua>)

Атестований як періодичне електронне наукове видання в галузі медичних наук і включений до **Переліку наукових фахових видань України (категорія «Б»)**, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії (Наказ Міністерства освіти і науки України від 17.03.2020 р. № 409).

Свідоцтво про державну реєстрацію № 26 від 25.04.2014 р.

Головний редактор

Твердохліб І.В.

Редакційна колегія

Аппельханс О.Л., Бондаренко І.М., Бондаренко О.О., Жан Зі, Інджикулян А.А., Ковальчук О.І., Луговський С.П., Луцик О.Д., Маєвський О.Є., Медведєв М.В., Мельник Н.О., Мішалов В.Д., Погорєлов М.В., Сулаєва О.М., Туманський В.О., Шпонька В.І., Шпонька І.С.

Оглядіві, проблемні й оригінальні статті рецензуються. Журнал публікує наукові роботи морфологів, а також результати морфологічних досліджень фахівців інших спеціальностей.

Видається і рекомендується для вільного поширення мережею Internet згідно з рішенням вченої ради Дніпровського державного медичного університету (протокол № 11 від 28 березня 2024 року).

Підписано до друку 29.03.2024 р. Умовн. друк. арк. 12.

Адреса редакції: 49005, м. Дніпро, вул. Севастопольська, 19, редакція журналу „Morphologia”.
Тел.: +380974584284. E-mail: morphology.ivt@gmail.com

MORPHOLOGIA

2024 • Volume 18 • Number 1

Scientific specialized electronic journal of the Ukrainian public organization
“Ukrainian scientific Society of Anatomists, Histologists, Embryologists”
Periodicity quarterly

Founders:

Ukrainian scientific Society of Anatomists, Histologists, Embryologists
Dnipro State Medical University

Indexed by:

«NLM Catalog US National Library of Medicine» (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog>)
«Medical Journals Links» (<http://www.medical-journals-links.com>)
«CiteFactor Academic Scientific Journals» (<http://www.citefactor.org>)
«Google Scholar» (<https://scholar.google.com>)
«Directory of Open Access Journals» (<http://doaj.org>)
Vernadsky National Library of Ukraine (<http://www.nbuv.gov.ua>)

Certificated and included in the List of scientific specialized editions in which the main results of scientific works may be published (Order of Ministry of Education and Science of Ukraine № 409 Mar 17, 2020).

Certificate of state registration № 26 Apr 25, 2014.

Editor-in-chief

Tverdokhlib I.V.

Editorial board

Appelhans O.L. (Odessa), Bondarenko I.M. (Dnipro), Bondarenko O.O. (Dnipro), Indzhykulian A.A. (Boston), Kovalchuk O.I. (Kyiv), Lugovskij S.P. (Kyiv), Lutsyk O.D. (Lviv), Maievskiy O.Ye. (Kyiv), Medvediev M.V. (Dnipro), Melnyk N.O. (Brno), Mishalov V.D. (Kyiv), Pogorielov M.V. (Sumy), Shponka I.S. (Dnipro), Shponka V.I. (Milwaukee), Sulaieva O.M. (Kyiv), Tumanskiy V.O. (Zaporizhzhia), Zhang Ze (Quebec City).

Reviews, critical and research articles are reviewed. Journal publishes scientific works of morphologists and also morphological works of specialists in other fields.

Published and recommended for distribution via the Internet according to the decision of the Academic Council of Dnipro State Medical University (protocol № 11 Mar 28, 2024).

Signed for publishing on Mar 29, 2024. Conventional printed pages 12.

Address: editorial office of journal “Morphologia”, 19 Sevastopolska Str., Dnipro, Ukraine, 49005.
Tel.: +380974584284. E-mail: morphology.ivt@gmail.com

Оглядів та проблемні статті

Савуляк Г.Р., Новак В.Л.
Епідеміологічні дані, етіологія, патогенез, фактори ризику, клінічні прояви, сучасні методи діагностики і лікування, прогнозування перебігу множинної мієломи (огляд літератури)

Хрипков І.С., Голікова А.А.
Залишок середнього тіла як механізм клітинного сигналювання

Оригінальні дослідження

Бумейстер В.І., Дудок О.В., Челпанова І.В.
Утворення та розвиток ламелярної гістоархітектури шлуночкового міокарда курячих зародків

Волос Л.І., Горбатюк О.М., Веселий М.Ю., Веселий С.В., Лавров Д.В.
Патоморфологічна та імуногістохімічна характеристика яєчка з критичною ішемією при його гострому перекруті у дітей

Калініченко М.О., Степаненко О.Ю.
Індивідуальна мінливість артерій мозочка людини та зон їх кровопостачання

Максименко О.С., Ступак Д.С., Гринь В.Г.
Малий чепець білих щурів: структурно-функціональна характеристика

Марченко Д.Г., Твердохліб І.В.
Внутрішньоклітинні перебудови скоротливого апарату міокарда шлуночків щурів на етапах пренатального онтогенезу після дії алкоголю

Маслак Г.С., Онисько Р.М., Челпанова І.В.
Взаємозв'язок між саркомерогенезом і розвитком тканинної організації міокарда в ембріональному кардіогенезі курки

Новіков С.П., Поляниц А.В., Твердохліб І.В.
Значення корекції еритропоезу в передопераційній підготовці при хірургічному лікуванні хворих з колоректальним раком

Усова О.М.
Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2

Reviews and topical articles

6 Savuliak H.R., Novak V.L.
Epidemiological data, etiology, pathogenesis, risk factors, clinical manifestations, modern methods of diagnosis and treatment, prediction of the course of multiple myeloma (literature review)

19 Khripkov I.S., Golikova A.A.
The remnant of the midbody as a cellular signaling mechanism

Research, original papers

26 Bumeister V.I., Dudok O.V., Chelpanova I.V.
Formation and development of lamellar histoarchitecture of the ventricular myocardium of chick embryos

32 Volos L.I., Gorbatyuk O.M., Veselyi M.Yu., Veselyi S.V., Lavrov D.V.
Pathomorphological and immunohistochemical characteristics of the testicle in children with critical ischemia during acute torsion

41 Kalinichenko M.O., Stepanenko O.Yu.
Individual variability of human cerebellar arteries and their perfusion territories

49 Maksymenko O.S., Stupak D.S., Hryn V.H.
Lesser omentum of white rats: structural and functional characteristics

56 Marchenko D.G., Tverdokhlib I.V.
Intracellular rearrangements of the rat contractile myocardial apparatus during prenatal ontogenesis after alcohol influence

62 Maslak H.S., Onysko R.M., Chelpanova I.V.
The relationship between sarcomerogenesis and the development of tissue organization of the myocardium in embryonic chicken cardiogenesis

70 Novikov S.P., Poliiants A.V., Tverdokhlib I.V.
Significance of erythropoiesis correction in preoperative preparation in the surgical treatment of patients with colorectal cancer

78 Usova O.M.
Comparative assessment of the role of TMPRSS2 and ACE-2 receptors in the development of olfactory disorders in infection with coronavirus SARS-CoV-2

Методологія наукових досліджень

Кобеза П.А.

Саркомер. Структурна одиниця міофібрилярного комплексу типових кардіоміоцитів. Аспекти ізометризації в організації саркомера

Маєвський О.Є., Твердохліб І.В.

Сполучнотканинні клітини шкіри: гетерогенітет фібробластів і загальні властивості їх субпопуляцій

До відома авторів

Scientific research methodology

83 Kobeza P.A.

Sarcomere. The structural unit of the myofibrillar complex of typical cardiomyocytes. Isometric aspects of sarcomere organization

89 Maievskiy O.Ye., Tverdokhlib I.V.

Connective tissue cells of the skin: heterogeneity of fibroblasts and general properties of their subpopulations

95

Author guidelines

Г.Р. Савуляк¹
В.Л. Новак²


¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
² ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України»
Львів, Україна

Надійшла: 14.02.2024
Прийнята: 15.03.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.6-18>

УДК: 616-006.448

ЕПІДЕМІОЛОГІЧНІ ДАНІ, ЕТІОЛОГІЯ, ПАТОГЕНЕЗ, ФАКТОРИ РИЗИКУ, КЛІНІЧНІ ПРОЯВИ, СУЧАСНІ МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ І ЛІКУВАННЯ, ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ МНОЖИННОЇ МІЄЛОМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Savuliak H.R.  , Novak V.L.  Epidemiological data, etiology, pathogenesis, risk factors, clinical manifestations, modern methods of diagnosis and treatment, prediction of the course of multiple myeloma (literature review). Lviv National Medical University by Danylo Halytskyi; Government agency "Institute of Blood Pathology and Transfusion Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Lviv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Multiple myeloma (MM) is a neoplastic disease with a multistage course characterized by uncontrolled, multifocal proliferation of monoclonal plasma cells in the bone marrow, which produce monoclonal immunoglobulin or only its fragments, which lead to destruction of bone tissue and organ damage. Quite high rates of both morbidity and mortality from MM require more careful attention and deeper scientific research of this problem. **Objective** of the article is to investigate the epidemiology, etiology, pathogenesis, risk factors, clinical manifestations, modern methods of diagnosis and treatment, and also prediction of the course of MM. **Methods.** The following research methods were used: search, extraction and processing of information; assessment of the quality of sources; systematic literature review; content analysis. Research materials are thematic publications of ukrainian and foreign scientists. **Results.** MM accounts for ~1% of all malignant neoplasms and ~14% of hematological neoplasms worldwide. Etiological factors of MM: genetic predisposition, bacterial or viral infections, ionizing radiation, carcinogenic toxins. The clinical syndrome of MM is characterized by hypergammaglobulinemia, hypercalcemia, susceptibility to infections, and pathological fractures. Diagnosis of MM includes: general analysis of peripheral blood; diagnosis of serum and urine proteins; aspiration biopsy and trepanobiopsy of bone marrow; cytogenetic and molecular diagnostics; other laboratory diagnostics; radiography, CT, MRT and PET-CT. The main methods of treatment of MM: radiation therapy, chemotherapy, combined CT with the inclusion of new drugs, HDCT + autologous THSC. Prediction of the course of MM depends on the R-ISS stage, LDH level and high-risk cytogenetics. **Conclusion.** During the last years of modern oncohematology, we observe scientific achievements in the diagnosis and treatment of MM. A thorough study of the epidemiology, etiology and pathogenesis, risk factors and clinical manifestations of MM contribute to effective diagnosis and selection of the optimal treatment strategy and tactics, as well as determining the prognosis of the course of MM.

Key words: multiple myeloma, plasmacytic myeloma, HDCT, auto-THSC.


Citation:

Savuliak HR, Novak VL. [Epidemiological data, etiology, pathogenesis, risk factors, clinical manifestations, modern methods of diagnosis and treatment, prediction of the course of multiple myeloma (literature review)]. Morphologia. 2024;18(1):6-18. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.6-18>

 Savuliak H.R. 0000-0002-8835-3147

 Novak V.L. 0000-0002-5979-5018

 savulyak97@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Множинна мієлома (надалі – ММ) за загальноприйнятою на сьогодні класифікацією лімфоїдних новоутворень Всесвітньої організації охорони здоров'я (2008) належить до лімфопроліферативних захворювань [1]. Показник захворюваності на ММ за даними Національного канцер-реєстру України у 2021 р. становив 2,0 на 100 000 населення (чоловіки – 2,3, жінки – 1,8). Смертність від ММ у 2021 р. становила 0,9 на 100 000 населення (чоловіки – 1,1, жінки – 0,8); причому не прожили 1-го року з числа вперше виявлених в 2021 р. 22,4 % (чоловіки – 19,9 %, жінки – 24,5 %) [2]. Такі високі негативні показники свідчать про потребу ретельнішої уваги і глибшого наукового дослідження проблеми ММ.

ММ (плазмочитарна мієлома) (лат. – myeloma multiplex, myeloma plasmocyticum; англ. – multiple myeloma (MM), plasma cell myeloma (PCM)) – це неопластичне захворювання з багатоетапним перебігом, що характеризується неконтрольованою, багатоголищевою проліферацією моноклональних плазмочитів в кістковому мозку, які продукують моноклональний імуноглобулін або лише його фрагменти, які призводять до руйнування кісткової тканини та пошкодження органів [3], а саме вражають кістковий мозок, кістки скелета, нирки.

Хронологічно вперше спостереження захворювання на ММ описав у 1844 р. доктор госпіталю Сент-Томас Соллі (Solly). Однак першим за своєю значимістю прийнято вважати спостереження, здійснене у 1845 р. лондонським терапевтом і консультантом Королівського інституту здоров'я У. Макінтайром. У 1848 р. терапевт госпіталю Сент-Жорж, фахівець у сфері клінічної біохімії Х. Бенс Джонс (У. Vence Jones) на підставі його спостереження описав преципітацію білка у сечі. І, врешті, у 1889 р. професор медичної клініки у Празькому і Віденському університетах О. Калер представив детальний опис клінічної картини ММ [4, с. 70-72].

На сьогодні проблему ММ вивчають, зокрема, такі українські дослідники, як: І. Крячок [5; 6; 7; 8; 9; 10; 32], Т. Каднікова [11; 12; 13; 14; 32], С. Клименко [15; 16; 17; 18], І. Титоренко [19; 20], В. Конашенкова [21; 22], У. Мельник [23; 24], О. Лук'янець [25; 26], Л. Михальська [27; 28], Т. Рудюк [29], З. Масляк [30], С. Сівкович [31], О. Новосад [32] та ін. Серед новітніх іноземних досліджень ММ привертають увагу напрацювання, зокрема, таких вчених: польських дослідників – А. Юрчишин (А. Jurczyszyn) [33; 34; 35; 36], D. Dytfeld [37], L. Gil [38]; італійських – Т. Скрипец [39; 40], F. Fazio [41; 42], G. Sfara, F. Vozella et al. [41], G. Lapietra, M.-T. Petrusci [42]; а також М. Mohty [43], A. Spencer, O. Samoilo, W.-J. Chng et al. [44], M. Dimopoulos [45; 46; 53], F. Schjesvold, V. Doronin et al. [45], P. Moreau, E. Terpos et al. [46], T. Plesner [47], P. G. Richardson, S. K. Kumar,

T. Masszi et al. [48], E. Hatzimichael [49; 50], J. San Miguel [51], M.-V. Mateos [52; 53], S. Giri, A. Grimshaw, S. Bal, K. Godby, P. Kharel, L. J. Costa. et al. [53], S. V. Rajkumar [54; 55], J. Hillengass, S. Usmani et al. [55] та ін.

Зауважимо, що у структурі Європейської асоціації гематологів діє спеціалізована робоча група, котра займається дослідженням, посеред інших, ММ [56]. Група Multiple Myeloma тісно співпрацює з Європейською мережею з вивчення мієломи (European Myeloma Network – EMN) та організаціями пацієнтів Myeloma Euronet і European Myeloma Platform (Європейська мієлома платформа) [57].

Разом з тим, вважаємо, що ММ потребує комплексного вивчення. А тому метою статті є дослідження епідеміології, етіології, патогенезу, факторів ризику, клінічних проявів, сучасних методів діагностики та лікування, а також прогнозування перебігу ММ.

Матеріали та методи

При написанні статті було використано такі методи дослідження: 1. пошук, вилучення і обробка інформації – опрацьовано бази даних і веб-сайти для пошуку відповідної літератури, зокрема PubMed і Google Scholar; 2. оцінка якості джерела – розглянуто актуальність і якість віднайденних джерел та передусім враховано найновіші наукові публікації з теми за останні 5 р.; 3. систематичний огляд літератури – проведено аналіз наявних джерел для збору усієї необхідної інформації з досліджуваної проблеми; 4. контент-аналіз – вивчено зміст наукових статей для виявлення закономірностей та зв'язків між змінними розглядуваної тематики. Матеріалами дослідження слугували вказані вище та інші наукові публікації українських й іноземних науковців.

Результати та їх обговорення

Щодо епідеміології відначимо, що ММ становить ~1 % усіх злоякісних новоутворень і ~14 % гематологічних новоутворень у світі [3] (в країнах Європи та США ~ 10 % усіх гематологічних злоякісних новоутворень [54]). За світовою статистикою, ММ є доволі частим захворюванням системи крові – щорічно реєструється в США приблизно 4 нових випадки на 100 тис. дорослого населення [54], а в Європі – 4,5-6/100 000 [3]. Чоловіки хворіють трохи частіше (близько 60 %), ніж жінки [1]. Хворіють на ММ переважно люди старше 40 р. [1]. Пік захворюваності припадає на 7-му декаду життя (середній вік 70 р.); 20-30 % хворих віком >80 р., ~ 5 % хворих – <60 р., і <2 % – <40 р. Ризик захворіти у людей, споріднених із хворими, в 3,7 рази більший [3].

Слід наголосити, що етіологія ММ невідома. Певну роль відводиться генетичним факторам і тривалій антигенній стимуляції в перебігу бактеріальних або вірусних інфекцій. Значення може мати тривалий вплив іонізуючого випромінювання, бензолу, азбесту, засобів захисту рослин та

інших токсичних речовин, що застосовуються в хімічній промисловості [3]. У час повномасштабного вторгнення росії низка військових спеціальностей пов'язані з особливими ризиками, котрі підвищують імовірність впливу небезпечних канцерогенних токсинів на організм людини. Ці ризики можуть включати вплив азбесту, бойових отруйних речовин, деяких екологічних канцерогенів у повітрі, воді та ґрунті, радіоактивне випромінювання. Сьогодні з цими канцерогенами стикається і мирне населення українських міст, які зазнають ракетних ударів. Все це у найближчому майбутньому може сприяти зростанню захворюваності населення України, зокрема на ММ [58].

Щодо патогенезу зауважимо, що розвиток ММ проходить у кілька етапів. А саме, внаслідок хромосомних транслокацій в середині генів тяжкого ланцюга імуноглобулінів, які виникають під час класової комутації та соматичних гіпермутацій, доходить до з'єднання послідовностей, що підсилюють гени які кодуєть імуноглобуліни з онкогенами, це призводить до набуття клітинами потенційної здатності до безмежного поділу та появи обмеженої кількості моноклональних плазмочитів (MGUS). Мієломні клітини виходять з лімфоцитів В, які в центрах репродукції зазнали процесу соматичної гіпермутації та перебудови генів тяжких ланцюгів імуноглобулінів. Транслокації всередині локусів гена тяжких ланцюгів імуноглобулінів або гена одного з імуноглобулінових легких ланцюгів, а також гіпердиплоїдії – це ранній розлад, що відповідає за новотворну трансформацію плазмочитів. Трансформації MGUS в ММ сприяє нестабільність каріотипу та додаткові генетичні аберації, включаючи гени MYC, BRAF, KRAS та NRAS. Дослідження геному виявляє значне субклональне розмаїття в ММ, що пов'язано із стійкістю до лікування та рецидивом. Характерною особливістю пухлинних плазматичних мієломних клітин є те, що крім імуноглобулінів, вони виробляють багато цитокінів і самі піддаються їхньому впливу, що стимулює їхню проліферацію. Мієломні клітини взаємодіють з стромальними клітинами кісткового мозку, в цьому беруть участь різні адгезивні молекули, у т. ч. VCAM-1 і VLA-4 інтегрин. Внаслідок цієї взаємодії збільшується секреція IL-6 та фактора росту ендотелію (VEGF), які, стимулюючи ангиогенез, сприяють зростанню мієломних клітин. Проліферація плазматичних клітин відбувається генералізованим або багатогогнищевим методом у кістковому мозку. Крім того, можуть виникати кісткові пухлини, утворені з плазмочитів, а при запущеному захворюванні може відбутися вторинне залучення екстрамедулярних органів [3].

Найбільш типовою ознакою ММ є остеолітичні зміни, викликані надмірним стимулюванням остеокластів та пригніченням активності остеобластів. Вважається, що активація остеокластів є

результатом дисбалансу між посиленою продукцією ліганда активатора ядерного рецептора фактора транскрипції NF-κB (RANKL) та зменшеною продукцією остеопротегерину (OPG). Активовані стромальними клітинами остеокласти, виділяють остеопонтин, який посилює ангиогенез, тим самим сприяє прогресії ММ. Підвищена активація остеокластів супроводжується зниженням активності остеобластів за рахунок гомологу білка DKK1 (Dickkopf1), який секретується мієломними клітинами і є ключовим регулятором кісткового метаболізму в перебігу ММ, який гальмує диференціацію попередників остеобластів. Концентрація DKK1 в сироватці крові корелює зі стадією захворювання та вираженістю кісткових змін. Мієломні клітини також інгібують дозрівання остеобластів, блокуючи RUNX2 – їхній ключовий фактор транскрипції. Крім остеолітичних змін та вторинної гіперкальціємії, органом який найчастіше пошкоджується при ММ є нирки, розвивається ниркова недостатність та анемія, головню внаслідок механізму анемії при хронічних захворюваннях, менше значення має – інфільтрація кісткового мозку та хронічна хвороба нирок.

Пошкодження нирок відбувається внаслідок таких причин: 1) висока концентрація легких ланцюгів імуноглобуліну в сечі, які в поєднанні з білком Тамма–Хорсфалла утворюють циліндри всередині дистальних канальців, безпосередньо пошкоджують клітини проксимальних канальців, що призводить до розвитку тубуло-інтерстиціального нефриту (легкі ланцюги мають нефротоксичні властивості) – т. зв. циліндрова нефропатія (найпоширеніша (90 %) форма захворювання нирок у перебігу ММ); 2) гіперкальціємія та гіперкальціурія з подальшою гіповолемією, що призводить до преренальної ниркової недостатності; крім того, відкладення кальцію, що накопичуються в ниркових канальцях призводять до інтерстиціального нефриту; 3) амілоїдоз AL (у ~ 10 % пацієнтів) або хвороба відкладень легких ланцюгів – внаслідок нефротичного синдрому; 4) гіперурикемія – кристали сечової кислоти осаджуються всередині і навколо збірних трубочок [3].

Щодо клінічних проявів ММ відзначимо наступне. Симптоми ММ виникають внаслідок проліферації клітин новоутвору та секреції ними білків і цитокінів. До них належать наступні: 1) загальні симптоми – слабкість (32 %), втрата маси тіла (24 %); 2) оссалгія (найчастіший прояв у 60-70 % хворих) – локалізується у поперековому відділі хребта, кістках тазу, ребрах, рідше в черепі та трубчастих кістках, зумовлена остеолітичними змінами та патологічними переломами кісток (напр., компресійними переломами хребців); 3) неврологічні симптоми: а) внаслідок компресії або ушкодження спинного мозку, спинномозкових корінців або черепних нервів патологічними переломами (напр., компресійний перелом хребців) або

безпосередньо пухлиною: найчастіше радикулопатія, іноді парези, паралічі кінцівок, нетримання сечі і калу; б) сенсорна або сенсорномоторна периферична нейропатія, симетрична і дистальна, рідко на момент діагностування захворювання (<10 %), майже виключно у хворих із супутнім амілоїдозом AL та при РОEMS-синдромі, значно частіше (до 75 %) у хворих, які отримують нейротоксичні ЛЗ (талідомід, бортезоміб); 4) симптоми анемії (~70 %); 5) прояви гіперкальціємії та її наслідків (10-20 %); 6) повторні інфекції – найчастіше бактеріальні, дихальної (*S. pneumoniae*, *H. influenzae* типу b) та сечовидільної систем (*E. coli* та інші грам-негативні палички), а також вірусні інфекції (грип, оперізуючий герпес) – внаслідок зниження рівня нормальних (поліклональних) імуноглобулінів, порушення функції дендритних клітинних та субпопуляцій Т-лімфоцитів, а також внаслідок використовуваного лікування та ускладнень з боку інших органів; 7) симптоми ниркової недостатності (у ~30 % хворих на момент встановлення діагнозу ММ, пізніше до 50 %); 8) прояви синдрому підвищеної в'язкості крові (у <10 % хворих): викликаного високою концентрацією М-протеїну; найвищий ризик (~ 25 %) у ММ IgA, оскільки IgA легко полімеризує і закупорює судини мікроциркуляції, що погіршує функцію різних органів; 9) екстремедулярні плазмацитоми (7-13 %); 10) симптоми супутнього AL-амілоїдозу у ~10 % хворих; 11) інші, які рідко зустрічаються: а) гепатомегалія (4 %), збільшення периферичних лімфовузлів та спленомегалія (1 %), рідко втягнення в процес спинно-мозкових оболонок (при декомпенсованому захворюванні) – пов'язане з інфільтрацією плазмацитами; б) жовтяниця долонь і підшовової частини стоп (паранеопластичний синдром); в) синдром Фанконі без ниркової недостатності внаслідок порушення реабсорбційної функції проксимальних каналців через легкі ланцюги [3]. Загалом можемо узагальнити, що клінічний синдром ММ характеризується гіпергаммаглобулінемією (підвищений вміст у крові імуноглобулінів), гіперкальціємією, сприйнятливостю до інфекцій, патологічними переломами.

Зупинимося детальніше на розгляді сучасних методів діагностики і лікування ММ. Для діагностики ММ проводять наступні дослідження: 1. загальний аналіз периферичної крові; 2. діагностика білків сироватки та сечі (електрофорез сироваткових білків (SPEP), електрофорез білків сечі (UPEP), електрофорез із імунофіксацією сироватки (SIFE), електрофорез із імунофіксацією сечі (UIFE)); 3. аспіраційна біопсія і трепанобіопсія кісткового мозку; 4. цитогенетична і молекулярна діагностика; 5. інша лабораторна діагностика; 6. візуалізаційна діагностика кісток (РГ, КТ, МРТ, ПЕТ-КТ) [3]. Притому діагноз ставиться на підставі тріади: кількість плазмацитів у кістковому мозку більше 10 %; літичні пошкодження кісток; наявність М-градієнту в сироватці крові та/або в

сечі [1].

Донедавна діагноз ММ повинен був відповідати критеріям CRAB (гіперкальціємія, ниркова недостатність, анемія та ураження кісток). Основна складність верифікації ММ за критеріями CRAB полягала у тому, що цей підхід є клінікопатологічним, тобто для встановлення діагнозу мають бути клінічні прояви тяжкого ураження органів, а саме деструкція кісткової тканини та ниркова недостатність. За таких умов хворий втрачає шанс раннього початку терапії та запобігання ушкодженню органів. Критерії CRAB були доречними в епоху, коли можливості терапії ММ були дуже обмеженими. Проте з розвитком фармакології та появою сучасних ефективних препаратів, раннє застосування яких дозволяє покращити виживаність хворих, виникла потреба в оновленні діагностичних критеріїв. Відтак, у 2014 р. Міжнародна робоча група з вивчення мієломи (International Myeloma Working Group, IMWG) оновила діагностичні критерії, сформулювавши біомаркери злоякісності ММ, т. зв. критерії SLiM CRAB, які істотно розширили терапевтичні можливості та дозволили лікувати пацієнтів із високим ризиком прогресування захворювання ще до появи вираженої клінічної картини [31].

Відповідно до рекомендацій IMWG (2014) діагноз ММ встановлюється згідно з такими критеріями: 1. наявність $\geq 10\%$ плазматичних клітин у кістковому мозку або підтверджені біопсією кісткової чи екстремедулярної плазмацитоми; 2. будь-який один або більше з таких факторів, що визначають активну ММ (критерії CRAB): hyper(C)alcemia – гіперкальціємія: вміст кальцію на 0,25 ммоль/л (>1 мг/дл) перевищує верхню межу норми або >2,75 ммоль/л (>11 мг/дл); (R)enal insufficiency – ниркова недостатність: концентрація креатиніну >2 мг/дл або >177 мкмоль/л чи кліренс креатиніну <40 мл/хв; (A)nemia – анемія: вміст гемоглобіну <10 г/дл або на 2 г/дл нижчий за нижню межу норми; (B)one lesions – ураження кісток: одне чи більше остеолітичних вогнищ ураження за даними РГ скелета, КТ або ПЕТ із фтордезоксиглюкозою; 3. критерії SLiM CRAB: S (Sixty percents) – 60 % моноклональних плазматичних клітин у кістковому мозку; Li – співвідношення вільних легких ланцюгів (ВЛЛ, Light chains) імуноглобулінів (Ig) сироватки крові ≥ 100 (каппа) та концентрація ВЛЛ Ig 10 мг/дл або вище ($\leq 0,01$ лямбда) (каппа); M (MRI): >1 вогнищеве ураження ≥ 5 мм, виявленого на МРТ [59; 11; 7; 22]. Фахівець Національного інституту раку (НІР) Є. Кушечий наголошує, що максимальна повна діагностика ММ дає змогу вирішити питання тандемної трансплантації [60].

Звернемо увагу, що в Україні діє «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги: множинна мієлома», затверджений Наказом МОЗ України від

02.11.2015 р. № 710 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при множинній мієломі», де описано симптоматику ММ, подано її стадіювання, визначено способи діагностування та вказано алгоритми лікування, а також представлено прогнозування перебігу ММ [61]. Разом з тим, як відзначає проф. І. А. Крячок [6], саме з проблемами в Україні діагностики ММ та обмеженим доступом до відповідних новітніх лікарських засобів пов'язана дуже низька, порівняно зі світовою, медіана показника загальної виживаності (3В) (73 місяці у світі, супроти 24 місяців в Україні) [62]. Так, доступність цитогенетичного дослідження наразі обмежена (оскільки воно здійснюється за власний, а не державний, кошт), що унеможливує якісну діагностику ММ, а також стадіювання патологічного процесу [59]. Відповідно до сучасних настанов, для стадіювання ММ рекомендовано використовувати переглянуту у 2015 р. Міжнародну систему стадіювання мієломи (Revised Multiple Myeloma International Staging System – R-ISS), яка є оновленою версією ISS 2005 р. R-ISS включає виявлення хромосомних аномалій, визначених за допомогою флуоресцентної гібридизації *in situ*, та оцінку рівня лактатдегідрогенази (ЛДГ) [63]. Імплементация цих рекомендацій до української системи діагностики ММ ускладнена, оскільки на сьогодні в Україні ще не набули широкого застосування цитогенетичні дослідження. Тому для діагностики ММ в Україні доцільно дотримуватися критеріїв, зображених у ISS, що включають оцінку лабораторних показників за даними молекулярно-генетичних досліджень, які легко визначити (рівень β_2 -мікроглобуліну й альбуміну сироватки) [7].

Окрім того, відсутність якісної діагностики в Україні не дає змоги стратифікувати пацієнтів на групи ризику, що відповідно впливає на вибір тактики лікування [64]. Сьогодні прийнято розподіляти хворих на ММ на групи ризику залежно від наявних у них цитогенетичних параметрів. Виділяють групу високого ризику, частка якої становить 20 % у загальній структурі пацієнтів з ММ, проміжного ризику, що також становить 20 %, та стандартного ризику, яка є найчисельнішою – 60 %. Гірший прогноз реєструється у хворих із рівнем лактатдегідрогенази вище за норму у поєднанні з умістом β_2 -мікроглобуліну $>5,5$ або ж якщо виявлено підвищення рівня β_2 -мікроглобуліну з анемією [7].

Експертка з імунодіагностики онкогематологічних захворювань В. В. Конашенкова особливо наголошує на ролі імунофенотипування методом проточної цитометрії у діагностиці і моніторингу ММ. Так, метою таких стандартних методів діагностики ММ, як цитологічне дослідження пунктату кісткового мозку та гістологічне дослідження трепанобіоптату плоскої кістки та/або плазмоцитомі, є виявлення субстрату хвороби,

а саме моноклональних плазматичних клітин. Внаслідок розширення діагностичних критеріїв ММ у 2014 р., а також появи високоефективних методів лікування, застосування таргетних препаратів з'явилася необхідність у глибшому аналізі структури та властивостей мієломних клітин. Ключовою характеристикою патологічної трансформації є аберантний фенотип моноклональних плазматичних клітин, який можна визначити за допомогою імунофенотипування клітин кісткового мозку методом проточної цитометрії. Проточна цитометрія входить до переліку рекомендованих Національною онкологічною мережею США (NCCN) методів первинної діагностики ММ. Наукові та практичні можливості проточної цитометрії полягають у наступному: можливість виявити та дати чітку характеристику мієломних клітин, навіть якщо субстрат хвороби є мінімальним; можливість встановлення аберантного фенотипу та визначення маркерів, що мають прогностичну цінність; диференційна діагностика ММ, моноклональних гаммапатій неясного значення (MGUS), лімфом і реактивних станів; моніторинг мінімальної залишкової хвороби після проведеної терапії; створення нових таргетних препаратів, мішенями яких можуть бути аберантні маркери мієломних клітин. Отож, імунофенотипування методом проточної цитометрії – це важлива діагностична опція у веденні пацієнтів з ММ як на етапі первинного обстеження, так і в процесі терапії для оцінювання ефективності лікування та прогнозу [22].

Під час обстеження пацієнта, у якого запідозрено ММ, перед фенотипуванням необхідно провести морфологічне дослідження. Його метою є не тільки підрахунок кількості плазматичних клітин і характеристика окремих аберантних змін, а й опис плазматичних клітин, які можуть мати значення для проточної цитометрії. Експерти EMN розробили рекомендації, які стосуються загальних технічних питань лабораторної діагностики ММ. А саме, обстеження пацієнта включає 3 послідовних етапи: преаналітичний, аналітичний і саме дослідження [22].

Преаналітичний етап проточної цитометрії полягає у дослідженні аспірату кісткового мозку, крові, тонкоголкового аспіраті, однак еталонним матеріалом для дослідження є зразки кісткового мозку. Аналітичний етап передбачає виділення плазматичних клітин на основі експресії маркерів CD45/SSC, CD138+/CD38+. Для подальшої детальної характеристики пухлинної популяції клітин використовують адекватно підібрану широку панель моноклональних антитіл. Більшість дослідницьких груп застосовують стандартизовану панель моноклональних антитіл Європейського консорціуму із стандартизації проточної цитометрії EuroFlow. Саме дослідження стосується маркерів аберантного фенотипу. Так, CD19 – це мар-

кер, який у нормі присутній на В-лімфоцитах, однак близько 1/3 плазматичних клітин є CD19-. Зазвичай трансформовані плазматичні клітини є CD19-, однак описані випадки, коли клітини при ММ є CD19+ (як правило, такі пацієнти мають гірший прогноз). Раніше вважалося, що CD56 є специфічним маркером ММ, однак нещодавно було виявлено, що 6-9 % нормальних плазматичних клітин є CD56+. Маркери аберантного фенотипу при ММ характеризуються гетерогенністю, тому вони мають прогностичне значення при комплексному оцінюванні. Наприклад, експресію маркера CD27 слід оцінювати разом з маркером CD56. У пацієнтів з ММ та CD27- або CD27-/CD56+ спостерігається нижча загальна виживаність, ніж в осіб з іншими комбінаціями маркерів CD27 та CD56 (Н. Л. Салогуб, 2020). CD117 – це маркер, який у нормі присутній на всіх В-клітинах (від ранніх попередників до зрілих плазматичних клітин). Однак CD117 експресується у близько 50 % хворих на ММ та є маркером сприятливого прогнозу [22].

Сучасні стандарти лікування ММ базуються на останніх настановах Європейського товариства медичної онкології (European Society for Medical Oncology – ESMO, 2021) та NCCN (2022) [65; 7]. Лікування хворих на ММ має розпочинатися якомога швидше. Основним методом лікування є ХТ. Метою лікування ММ є знищення мієломних клітин в організмі хворого [1]. Звернемо увагу, що міжнародна онкологічна група з питань ПТ при лімфомах представила нові стандарти ПТ для солітарної плазмодитоми та ММ (Tsang et al. JPROBP 101(4): 794-808, 2018). Згідно з цими рекомендаціями для знеболюючого ефекту достатньо сумарної дози 8 Гр за один сеанс ПТ. Для зняття компресії спинного мозку при ММ однаково ефективним є короткий курс ПТ (8Гр, 5х4Гр) та більш тривалий курс ПТ (3х10 Гр) [66]. Крім стандартних методів лікування ММ існують нові вискоелективні терапевтичні підходи: ВДХТ+аутологічна ТГСК; комбінована ХТ з включенням нових лікарських препаратів (талідомід, велкейд та ін.) [1].

Якщо проаналізувати рекомендовані ESMO і NCCN схеми лікування ММ, важливо звернути увагу на той факт, що всі вони включають нові препарати, оскільки їх застосування забезпечує надзвичайно високі ЗВ і виживаність без прогресування (ВВП). Загальні принципи лікування ММ базуються на тому, що пацієнти мають отримувати принаймні триплетну схему (2 класи препаратів і 1 кортикостероїд), якщо вони можуть це переносити. Пацієнтам з поганим статусом рекомендовано терапію розпочинати зі схеми, яка містить два препарати, з додаванням третього після покращення загального стану. Бажано, щоб лікування включало нову триплетну схему, тобто препарати/класи препаратів, які пацієнти попередньо не отримували або не приймали принаймні

останні 6 місяців [7].

У кандидатів на ТГСК лікування ММ має певні особливості, зокрема, у цій групі пацієнтів слід обмежити вплив мієлотоксичних препаратів, включаючи алкілувальні агенти та препарати нітрозосечовини, з метою уникнення порушення резерву стовбурових клітин. Також рекомендовано розглянути можливість збору стовбурових клітин периферичної крові після кількох циклів терапії перед тривалим прийомом леналідоміду та/або даратумумабу [7].

Розглянемо методику лікування ММ детальніше.

Вибір протипухлинної терапії повинен враховувати загальний стан та супутні захворювання пацієнта, а також очікувану токсичність пропонованих схем (схема з 3-х препаратів проти схеми з 2-х). Притому хворі <70 р. є кандидатами на ВДХТ, яка підтримується аутоТГСК, виділених з периферичної крові. Це лікування можна застосовувати також для пацієнтів у віці ≥ 70 р., не обтяжених супутніми захворюваннями. У пацієнтів старших 70 р. або молодших, але які не кваліфікуються до ауто-ТГСК, в даний час найчастіше використовуються схеми (включаючи бортезоміб, леналідомід, ГКС, алкілувальні препарати): VMP (бортезоміб (комерційна назва – velcade), мелфалан, преднізолон), VCD (бортезоміб, циклофосфамід, дексаметазон), VD, Rd, VRD (бортезоміб, леналідомід (ревлімід) і дексаметазон). Пацієнтів з високим ризиком (визначається як ≥ 1 із: високий ризик згідно з R-ISS, високий цитогенетичний ризик, плазматичний лейкоз, екстрамедулярна хвороба) слід скеровувати на лікування у рамках клінічних випробувань внаслідок несприятливих результатів традиційного лікування. Окрім клінічних випробувань, таке лікування може включати більш інтенсивні схеми, такі як VTD-PACE, тандемне ауто-ТГСК, хоча не існує перспективних досліджень, що оцінюють ефективність таких лікувальних тактик [3].

Усім пацієнтам після ауто-ТГСК або після індукційного лікування незакінченим ауто-ТГСК рекомендується застосовувати підтримуючу терапію ремісії одним із наступних препаратів до прогресування або настання токсичності: леналідомід 10-15 мг/добу (≥ 2 рр.), бортезоміб по 1,3 мг/м² кожні 1-4 тижні (у пацієнтів, чутливих до препарату, особливо пацієнтів із групи високого цитогенетичного ризику, нерезестраційне показання), або талідоміду 50-100 мг/д (у пацієнтів без несприятливих генетичних порушень) або рідко застосовується преднізолон 50 мг/д через день. Притому леналідомід – єдиний препарат, зареєстрований для підтримуючого лікування у пацієнтів, які проходять процедуру ауто-ТГСК (засноване на дослідженні, яке показало збільшення безпрогресивного та загальну виживання). Звернемо увагу, що алогенна ТГСК не є стандартним терапевтичним методом через досить високу (15-30

%) смертність внаслідок трансплантації, яку слід враховувати у відібраних пацієнтів (молодші, група високого ризику, ранній рецидив після лікування першої лінії), найкраще в межах клінічних випробувань [3].

На підставі аналізу лікування пацієнтів у НІР з 2006 р. по 2018 р. фахівці НІР О. І. Новосад, І. А. Крячок, К. О. Ульяновченко, Т. В. Скрипеч, Т. В. Каднікова констатують, що схеми на основі бортезомібу досі залишаються пріоритетними для лікування в якості терапії 1-ї лінії в різних вікових групах пацієнтів з ММ. Зрештою, ефективність застосування бортезомібу в комбінації з ХТ засвідчують і результати численних досліджень [67; 68; 69; 70; 71; 72]. Водночас в Україні дотепер для лікування ММ достатньо широко застосовуються режими ПХТ та талідомідвмісні режими. Згадані науковці стверджують, що талідомідвмісні схеми лікування є також ефективною опцією для пацієнтів віком молодше 65 р., у той час як для хворих віком старше 65 р. застосування таких режимів пов'язане з ризиком розвитку тромботичних ускладнень. Відтак, для досягнення кращої відповіді на терапію 1-ї лінії бажано використовувати 3-компонентні схеми із застосуванням новітніх агентів для пацієнтів різних вікових груп [32].

Фахівець НІР Т. Каднікова вважає, що терапію хворих на ММ має передувати чіткий алгоритм діагностування захворювання, стадіювання та визначення факторів негативного прогнозу. Також важливим є визначення мінімальної резидуальної (залишкової) хвороби (minimal residual disease (MRD); МЗХ). Згідно з рекомендаціями ESMO терапія першої лінії проводиться залежно від того, чи є пацієнт кандидатом на проведення ВДХТ та ауто трансплантації. Відтак, для хворих на ММ кандидатів на трансплантацію основною схемою терапії виступає VRD, також може застосовуватися схема з даратамумабом (Daratumumab) та схеми з бортезомібом, дексаметазоном у поєднанні з талідомідом або циклофосфамідом. У подальшому проводиться ВДХТ з аутоТГСК периферичної крові та підтримувальною терапією леналідомідом. Для пацієнтів-некандидатів на трансплантацію також застосовують схему VRD, але за ефективністю перевагу мають три- та чотирикомпонентні схеми з даратамумабом. В окремих випадках застосовується схема VMP [14].

У рекомендаціях NCCN для пацієнтів-кандидатів на трансплантацію схемою № 1 є VRD, також використовуються схеми з карфілзомібом, іксазомібом, з додаванням даратамумабу; підтримувальна терапія проводиться як леналідомідом, так і бортезомібом або іксазомібом, в окремих випадках – VRD. Пацієнтам, які не є кандидатами на трансплантацію, призначають лікування за схемою VRD або даратамумаб, леналідомід, дексаметазон. Застосовують також інші схеми на основі карфілзомібу, іксазомібу, даратамумабу.

Призначають також підтримувальну терапію леналідомідом, іксазомібом, бортезомібом, в окремих випадках – бортезомібом з леналідомідом [14]. Ефективність леналідоміду як підтримувальної терапії доведена результатами метааналізу 3 досліджень III фази; відтак, підтримувальна терапія леналідомідом є в останніх настановах ESMO [50].

Слід зазначити, що підтримуюча терапія при ММ передбачає наступне: 1. лікування хвороби нирок; 2. лікування спрямоване на припинення остеолізу; 3. лікування гіперкальціємії; 4. лікування синдрому підвищеної в'язкості крові; 5. лікування анемії; 6. лікування осалгії; 7. профілактика інфекцій; 8. антитромботична профілактика; 9. лікування медикаментозної полінейропатії; 10. лікування синдрому компресії спинного мозку; 11. лікування переломів кісток та загрозливих переломів кісток [3].

Президент Європейської асоціації трансплантації кісткового мозку (European Society for Blood and Marrow Transplantation – EBMT) А. Суредра (Іспанія) підкреслює, що, попри появу нових препаратів для лікування ММ, ВДХТ+АТГСК залишається стандартом терапії першої лінії. За даними дослідження IFM 2009, у пацієнтів з уперше діагностованою ММ, що отримали терапію з та без АТГСК, період спостереження становив 50 та 32 місяці відповідно. У статті Savo et al., 2020 продемонстровано покращення результатів ВБП (59 та 44 %) та ЗВ (85 та 73 %) у пацієнтів з ММ з високим цитогенетичним ризиком, яким було проведено одну тандемну ВДХТ+АТГСК. Підтримка леналідомідом значно покращує ВБП (близько 55 % проти 25 %) та ЗВ (87 проти 80 %) після проведення ВДХТ+АТГСК [73].

Завідувачка відділення Київського центру трансплантації кісткового мозку І. Коренькова теж відзначає, що при ММ ВДХТ+АТГСК проводиться в терапії першої лінії (повна відповідь/часткова відповідь) або при рецидиві. Доцільно розглянути можливість тандемної трансплантації за умови відсутності дуже доброї часткової відповіді після 1-ї ВДХТ або у разі високого цитогенетичного ризику. Колекцію проводять після 3-4 циклів індукції. Дози мелфалану в режимі кондиціонування можуть бути знижені у разі ниркової недостатності [74].

Керівник центру ТГСК в Інституті патології крові та трансфузійної медицини (м. Львів) О. Цяпка підкреслює, що у ході проведення АТГСК як мобілізаційний курс для хворих на ММ використовували курс циклофосфаміду 3000 мг/м² або етопозиду 1600 мг/м² + метилпреднізолон 480 мг. Колекція стовбурових клітин периферичної крові відбувалася зазвичай при лейкоцитозі від 30 Г/л, CD34+ клітин при цьому було 0,4 %. Було зібрано в середньому 6,9±0,82 • 10⁶/кг CD34+ клітин. Як режим кондиціонування використовувалися ку-

рси MEL-200, LEAM. Відновлення гранулоцитопоезу відбувалося на 9-14-ий день. Після проведення ВДХТ+АТГСК у 85,75 % пацієнтів було досягнуто строгої повної відповіді. За 30 місяців спостереження рецидив відмічено у 3 пацієнтів, серед них 2 померли [75].

Е. Hatzimichael (Греція) наголошує на ролі леналідоміду та помалідоміду в лікуванні ММ. Леналідомід в якості терапії першої лінії довів свою ефективність у клінічному дослідженні FIRST, в якому для пацієнтів-не кандидатів на ВДХТ з наступною аутотрансплантацією стовбурових клітин периферичної крові призначали леналідомід у поєднанні з дексаметазоном, на відміну від стандарту терапії на той час – схеми МРТ. Потім було розпочато ще одне важливе дослідження, в якому також пацієнти похилого віку після індукційної терапії леналідомідом у поєднанні з дексаметазоном продовжували отримувати підтримувальну терапію леналідомідом. Це дослідження показало, що можна безпечно призначати леналідомід з дексаметазоном, а потім тільки леналідомід і ефективність такої схеми є подібною до ефективності постійного застосування леналідоміду з дексаметазоном [50].

У дослідженні SWOG пацієнти не отримували трансплантації одразу та були рандомізовані в дві групи: хворі з першої групи отримували схему VRD, з другої – схему RD. Пацієнти в обох групах отримували підтримувальну терапію леналідомідом до прогресії. Дослідження показало набагато вищу ефективність схеми VRD у досягненні відповіді на терапії, тривалості ВБП і, що найважливіше, тривалості ЗВ. В іншому дослідженні II фази вивчали можливість зниження токсичності при застосуванні схеми VRD-lite (леналідомід 15 мг Д1-21; бортезоміб 1,3 мг/м кв. Д1, 8, 15, 22; дексаметазон 20 мг 1, 2, 8, 9, 15, 16, 22, 23). Ця схема довела свою ефективність за вражаюче низький рівень токсичності (рівень нейропатії 3-4-го ступеня становив усього 2 %) [50].

Для пацієнтів-не кандидатів на трансплантацію в міжнародних рекомендаціях існують інші потрійні комбінації. Дослідження MAIA показало вражаючі результати застосування схеми, що включала даратумумаб, леналідомід, дексаметазон (DRd). Навіть пацієнти з факторами негативного прогнозу мали переваги від DRd. Застосування даратумумабу зумовлювало зниження ризику прогресування на 47 % [50].

У 8 великих рандомізованих дослідженнях доведено вищу ефективність потрійних схем терапії порівняно з подвійними. У дослідженні POLLUX показано вражаючі результати додавання даратумумабу до трикомпонентних схем лікування. Використовуючи леналідомід у першій лінії терапії ММ, лікарі все частіше стикаються з випадками резистентності до препарату у разі рецидиву ММ. Виходом може бути застосування помалідоміду. Ефективність помалідоміду була

доведена в дослідженнях ММ-003 та OPTIMISM. Помалідомід включений в останні настанови ESMO. Для пацієнтів з потрійною рефрактерністю (до бортезомібу, леналідоміду, даратумумабу) в дослідженні ALGONQUIN вивчали ефективність комбінації белантамабу мафодотину (кон'юговане антитіло) з помалідомідом і дексаметазоном. Відтак, доведено ефективність комбінації помалідоміду з новими препаратами [50].

Звернемо увагу на дослідження вчених з Великобританії, у якому показано, що до другої лінії терапії доживає тільки 66 % пацієнтів, а до третьої терапії – лише 38 %. Ці результати ще раз доводять, що пацієнти з ММ мають отримувати найефективніше лікування в першій лінії терапії [14].

Попри досягнення внаслідок проведення аутологічної трансплантації та підтримувальної терапії, залишається проблема лікування хворих з рецидивами ММ. Тому, обираючи терапевтичну тактику, слід враховувати фактори, пов'язані з хворобою, з пацієнтом, лікуванням [50]. Тож у роботі лікаря важливим є визначення відповіді на лікування та критеріїв прогресування захворювання, виявлення показань до початку лікування пацієнтів з рецидивною ММ. Вибір терапії другої лінії залежить від чутливості або рефрактерності до леналідоміду або бортезомібу, наявності подвійної рефрактерності до бортезомібу та леналідоміду. Викликом для лікарів буде терапія другого та подальших рецидивів захворювання при рефрактерності до більшості препаратів. Виходом для хворих може бути участь у клінічних дослідженнях [14].

Онколог-гематолог НІР К. С. Філоненко стверджує, що клінічні дослідження нових препаратів: інгібіторів протеасом (карфілзоміб, іксазоміб), нових імуномодуляторів (помалідомід), епігенетичних препаратів (інгібітори гістондеацетилази (HDAC), воріностат і панобіностат), моноклональних антитіл (елотузумаб і даратумумаб) та хімотерапевтичних препаратів (бендамустан) є багатообіцяючими внаслідок низької токсичності та досить високої ефективності у запобіганні рецидиву ММ [76]. Водночас, зауважимо, що відомий американський вчений S. V. Rajkumar відзначає високу вартість нових препаратів для терапії ММ та наголошує на необхідності пошуку шляхів вирішення цієї проблеми на рівні держав [66].

Ведення хворих на ММ також включає оцінку відповіді на лікування. За сучасними рекомендаціями виділяють глибоку повну, дуже хорошу часткову, часткову, мінімальну відповідь і стабілізацію захворювання. У 2016 р. O. Landgren і S.V. Rajkumar презентували нові діагностичні критерії ММ, згідно з якими визначення статусу MRD стало корисним для оцінки відповіді на лікування [7]. Професор R. Owen (St. James Institute

of Oncology (Leeds, UK)) на підставі низки клінічних досліджень акцентує, що MRD при ММ є потужним прогностичним маркером ЗВ, незалежно від типу терапії, лінії терапії, стадії захворювання та біологічних ризиків. Цитометрія та секвестрування для дослідження MRD є стандартом оцінки відповіді на терапію [77]. MRD-негативний статус визначається як відсутність клональних плазматичних клітин у кістковому мозку, якщо чутливість методу відповідає 10-5, іншими словами, MRD-негативний статус позначає молекулярну ремісію [7].

Фахівець НІР Є. В. Куцевий наголошує, що необхідно проводити ранню оцінку відповіді на терапію ММ, оскільки накопичена токсичність та незадовільна мобілізаційна здатність після значної кількості курсів VCD/VRD не дає змогу провести ВДХТ+АТГСК [60].

Для клінічної оцінки важкості та, відтак, прогнозування перебігу ММ застосовують ISS та модифіковану, переглянуту R-ISS. Остання включає стадію ISS, рівень ЛДГ і цитогенетику високого ризику. ЛДГ є важливим біомаркером при ММ, підвищення його рівня вище верхньої межі норми вказує на підвищену агресивність захворювання та передбачає високу швидкість проліферації та/або наявність пухлинної маси, зокрема, екстрамедулярної та позакісткової патології [78; 79].

До цитогенетичних аномалій високого ризику належать del(17p) та/або t(4;14) та/або t(14;16) виявлених за допомогою флуоресцентної гібридизації in situ (FISH). При середньому періоді спостереження 46 місяців 5-річна частота загального виживання (ЗВ) становила 82 % у групах R-ISS I, 62 % у R-ISS II та 40 % у групах R-ISS III; показник виживаності без прогресування (ВБП) за 5 років становили 55 %, 36 % і 24 % відповідно [78].

Час між появою перших генетичних змін і набуттям В-клітинами потенційної здатності до безмежного поділу в репродуктивному центрі лімфатичного фолікула та розвитком багатосимптоматичної хвороби ММ становить 20-30 рр. і навіть довше. Пацієнти із симптоматичною ММ без лікування живуть менше 1 р. [3].

На початку лікування ММ моніторинг пацієнтів здійснюється кожні 1-2 місяці (або частіше за клінічними показами), а під час лікування чи по закінченню кожні 2-3 місяці. Перша оцінка ефективності лікування проводиться після перших 2-х циклів хіміотерапії, а потім за графіком; однак, якщо після 2-х циклів спостерігається прогресування захворювання, слід змінити лікування [3].

Лікування дає змогу досягнути ремісії, збільшити час виживаності без хвороби, а також подовжити загальну виживаність. Результати лікування кожного наступного рецидиву є гіршими. Інфекції становлять найчастішу причину смерті. Середня виживаність пацієнтів із симптоматично прогресуючим захворюванням раніше не перевищувала 3-4 рр., але завдяки впровадженню нових препаратів вона була продовжена до 5-7 рр., особливо у групі молодих пацієнтів. Вважається, що середня виживаність пацієнтів, у яких діагностовано ММ, становитиме 10 р. завдяки новим препаратам. Виживання залежить від групи ризику ISS або R-ISS та наявності MRD після лікування, особливо ауто-ТГСК [3]. Проте в цілому загальний прогноз виживаності при ММ несприятливий. Середня тривалість життя залежно від стадії захворювання становить: при стадії I А – 62 місяці; стадії I Б – 58 місяців; стадії II А, Б – 55 місяців; стадії III А – 30 місяців; стадії III Б – 15 місяців [1].

Підсумок

Можемо констатувати, що упродовж останніх років сучасної онкогематології спостерігаємо наукові досягнення у діагностуванні та лікуванні ММ. Проведенню ефективної діагностики та вибору оптимальної стратегії і тактики лікування, а також визначенню прогнозу перебігу ММ сприяють ґрунтовне вивчення епідеміології, етіології і патогенезу, факторів ризику та клінічних проявів ММ.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела

References

1. [Lymphoproliferative diseases]. Available from: <http://lympho.com.ua/2019/06/10/limfoproliferativni-zahvoryuvannya/>. Ukrainian.
2. Fedorenko ZP. [Cancer in Ukraine 2020-2021: Incidence, mortality, prevalence and other relevant statistics]. Bulletin of the national cancer registry of Ukraine. 2023;1:24. Ukrainian.
3. Svintsitskyi A, Haievski P, authors: Vnutrishni xvoroby. Pidruchnyk na osnovi pryncypiv dokazovoyi medycyny [Internal diseases. A textbook based on the principles of evidence-based medicine].

Krakov: Practical Medicine; 2019. 1632 p. Ukrainian.

4. Rukavitsyn OA. [Multiple myeloma]. Clinical medicine. 2006;7:70-73. Russian.

5. Kriachok I. [Current state of providing treatment for patients with multiple myeloma]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XV scientific and practical conference with international participation; 2023 Nov 1-3; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian. DOI: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.51-3.31258

6. Kriachok IA. [Relapsed/refractory myeloma: searching for the optimal clinical solution]. In: [Council of Experts; 2023 March 31; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
7. Kriachok I. [International protocols for the treatment of multiple myeloma: is it possible to implement them in medical practice in Ukraine?]. In: [Standards of care for multiple myeloma: update and implementation in clinical practice: workshop; 2022 Oct 6; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
8. Kriachok IA. [Practical aspects of pomalidomide application]. In: [A round table for hematologists, dedicated to the experience of using the drug Pomalidomide-Vista; 2022 Feb 10; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
9. Kriachok IA. [Standards and new approaches in the diagnosis and treatment of relapsed and refractory forms of multiple myeloma (rrMM)]. In: [Treatment of relapsed and refractory multiple myeloma in 2021: a workshop; 2021 Jan; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
10. Kriachok IA. [Current state of diagnosis and treatment of MM in Ukraine]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XII scientific and practical conference with international participation; 2020 Oct 1-2; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
11. Kadnikova TV. [Algorithms for choosing a treatment scheme for patients with MM]. In: [Prospects of diagnosis and treatment of hematological diseases: materials of the XIII scientific and practical conference with international participation; 2023 May 11-12; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
12. Kadnikova TV. [Treatment strategies for refractory/relapsing (r/r) MM]. In: [Standards of care for multiple myeloma: update and implementation in clinical practice: workshop; 2022 Oct 6; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
13. Kadnikova TV. [Standards of the 2nd line of therapy for patients with MM]. In: [Master class on the diagnosis and treatment of 2nd line MM; 2021 Nov; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
14. Kadnikova T. [Modern recommendations in the treatment of patients with multiple myeloma]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XII scientific and practical conference with international participation; 2020 Oct 1-2; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
15. Klymenko SV. [The use of proteasome inhibitors (PI) in the treatment of r/rMM]. In: [Council of Experts; 2023 Mar 31; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
16. Klymenko SV. [Review of international protocols for the treatment of MM, studies on the effectiveness of pomalidomide and the possibilities of its use in rrMM]. In: [A round table for hematologists, dedicated to the experience of using the drug Pomalidomide-Vista; 2022 Feb 10; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
17. Klymenko SV. [The importance of finding out the group of cytogenetic risk in patients with MM]. In: [Master class on the diagnosis and treatment of 2nd line MM; 2021 Nov; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
18. Klymenko SV. [Treatment strategy for multiple myeloma after relapse]. In: [Modern opportunities in the treatment of multiple myeloma: a scientific and practical master class; 2021 Aug 19; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
19. Tytorenko I. [Discussion of a clinical case of refractory multiple myeloma]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XV scientific and practical conference with international participation; 2023 Nov 1-3; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
20. Tytorenko I. [Ixazomib in the treatment of multiple myeloma]. In: [Prospects of diagnosis and treatment of hematological diseases: materials of the XIII scientific and practical conference with international participation; 2023 May 11-12; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
21. Konashenkova V. [Differential diagnosis of diseases with a plasma cell reaction of the bone marrow or the presence of paraprotein]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XV scientific and practical conference with international participation; 2023 Nov 1-3; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
22. Konashenkova VV. [Immunophenotyping by flow cytometry in the diagnosis of multiple myeloma]. In: [Diagnosis and 2nd line of treatment of multiple myeloma: master class; 2021 Jul 1; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
23. Melnyk UI. [Positive experience of using pomalidomide in r/rMM]. In: [Standards of care for multiple myeloma: update and implementation in clinical practice: workshop; 2022 Oct 6; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
24. Melnyk UI. [Practical aspects of pomalidomide application]. In: [A round table for hematologists, dedicated to the experience of using the drug Pomalidomide-Vista; 2022 Feb 10; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
25. Luk`ianets OV. [Clinical evidence of the effectiveness of pomalidomide]. In: [Standards of care for multiple myeloma: update and implementation in clinical practice: workshop; 2022 Oct 6; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
26. Luk`ianets OV. [Practical aspects of pomalidomide application]. In: [A round table for hematologists, dedicated to the experience of using the drug Pomalidomide-Vista; 2022 Feb 10; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
27. Mykhalska LV. [Experience of using pomalidomide in patients with rrMM]. In: [A round table for hematologists, dedicated to the experience of using the drug Pomalidomide-Vista; 2022 Feb 10; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.
28. Mykhalska LV. [Value of daratumumab in maintaining quality of life in patients with multiple myeloma]. Oncology, Hematology, Chemotherapy.

2021;4(71):35. Ukrainian.

29. Rudiuk TO. [Practical aspects of pomalidomide application]. In: [Standards of care for multiple myeloma: update and implementation in clinical practice: workshop; 2022 Oct 6; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.

30. Masliak ZV. [The place of daratumumab in the treatment of rMM and the "portrait of the ideal patient" for prescribing this drug]. In: [Treatment of relapsed and refractory multiple myeloma in 2021: a workshop; 2021 Jan; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.

31. Sivkovich SO. [Effectiveness of III-generation immunomodulators in the treatment of patients with refractory multiple myeloma]. *Oncology, Hematology, Chemotherapy*. 2020;4(65):35. Ukrainian.

32. Novosad OI, Kriachok IA, Ulianchenko KO, Skrypets TV, Kadnikova TV. [Changes in the multiple myeloma treatment paradigm (2003-2013). Own results]. *Oncohematology*. 2019;9(2(34)):76. Ukrainian.

33. Jurczyszyn A. [Multiple myeloma – treatment trends in 2022]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XV scientific and practical conference with international participation; 2022 Nov 17-18; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.

34. Jurczyszyn A. [Immunomodulators – lenalidomide and pomalidomide: present and future in the treatment of multiple myeloma]. In: [Modern opportunities in the treatment of multiple myeloma: a scientific and practical master class; 2021 Aug 19; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.

35. Jurczyszyn A. [Lenalidomide and pomalidomide in the treatment of patients with multiple myeloma]. *Oncology, Hematology, Chemotherapy*. 2021;4(71):64. Ukrainian.

36. Jurczyszyn A. [Current aspects of immunotherapy and the treatment of refractory/relapsed multiple myeloma (rrMM)]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XII scientific and practical conference with international participation; 2020 Oct 1-2; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.

37. Dytfeld D. [Management of MM patient in Poland]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XV scientific and practical conference with international participation; 2023 Nov 1-3; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.

38. Gil L. [Controversies in allogeneic HSCT for multiple myeloma patients]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XV scientific and practical conference with international participation; 2022 Nov 17-18; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.

39. Skrypets T. [RRMM treatment practice in Italy, a clinical case]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XV scientific and practical conference with international participation; 2023 Nov 1-3; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.

40. Skrypets T. [Modern recommendations for the treatment of r/rMM in Italy]. In: [Council of Experts; 2023 March 31; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.

41. Fazio F, Sfara G, Vozella F. Therapy regimens including daratumumab for relapsed/refractory multiple myeloma patients: report from the Multiple myeloma GIMEMA Lazio Group. *EHA Library*. 2020;2:37.

42. Lapietra G, Fazio F, Petrucci M-T. The Modern Age of Monoclonal Antibodies: The Revolution of Daratumumab. *Multiple Myeloma*. 2021;1:67. DOI: 10.5772/intechopen.95406.

43. Mohty M. [Modern treatment strategy in MM: today and future]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XV scientific and practical conference with international participation; 2023 Nov 1-3; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.

44. Spencer A, Samoilo O, Chng W-J. Impact of ixazomib-lenalidomide-dexamethasone therapy on overall survival in multiple myeloma patients: Analysis of the emerging-markets subgroup of the TOURMALINE-MM1 trial. *JHaem*. 2022;3:1241-51. DOI: 10.1002/jha2.548.

45. Dimopoulos MA, Schjesvold F, Dronin V. Oral ixazomib-dexamethasone vs oral pomalidomide-dexamethasone for lenalidomide-refractory, proteasome inhibitor-exposed multiple myeloma: a randomized Phase 2 trial. *Blood Cancer J*. 2022;12(1):9. DOI: 10.1038/s41408-021-00593-2.

46. Dimopoulos MA, Moreau P, Terpos E. Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2021;32(3):309-22. DOI: 10.1016/jannonc.2020.11.014.

47. Plesner T. Optimizing the Outcome of Anti-Myeloma Treatment with Daratumumab. *J Clin Med*. 2021;10:1002. DOI: 10.3390/jcm10051002.

48. Richardson PG, Kumar SK, Masszi T. Final Overall Survival Analysis of the TOURMALINE-MM1 Phase III Trial of Ixazomib, Lenalidomide, and Dexamethasone in Patients With Relapsed or Refractory Multiple Myeloma. *J Clin Oncol*. 2021;39(22):2430-42. DOI: 10.1200/JCO.21.00972.

49. Hatzimichael E. Lenalidomide, pomalidomide – present and future treatment of multiple myeloma. In: [New opportunities and unresolved issues of hematology: scientific and practical conference with international participation; 2021 May 19-21; Kyiv, Ukraine].

50. Hatzimichael E. Present and future in the treatment of multiple myeloma, current aspects of iMID using. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XII scientific and practical conference with international participation; 2020 Oct 1-2; Kyiv, Ukraine].

51. San Miguel J. Tactics of treatment at relapse of MM. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XII sci-

tific and practical conference with international participation; 2020 Oct 1-2; Kyiv, Ukraine].

52. Mateos M-V. The use of daratumumab in the treatment of patients with relapsed/refractory MM (rrMM). In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XII scientific and practical conference with international participation]. 2020 Oct 1-2; Kyiv, Ukraine].

53. Giri S, Grimshaw A, Bal S, Godby K, Kharel P, Dimopoulos MA, Mateos M-V, Costa LJ. Evaluation of daratumumab for the treatment of multiple myeloma in patients with high-risk cytogenetic factors a systematic review and meta-analysis. *JAMA Oncol.* 2020;6(11):1759-65. DOI:10.1001/jamaoncol.2020.4338.

54. Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol.* 2020;95(5):548-67. DOI: 10.1002/ajh.25791.

55. Hillengass J, Usmani S, Rajkumar SV. International myeloma working group consensus recommendations on imaging in monoclonal plasma cell disorders. *Lancet Oncol.* 2019;20:302-312.

56. Specialized Working Groups. Available from: <https://ehaweb.org/research/swg/>.

57. Multiple Myeloma. Available from: <https://ehaweb.org/research/swg/multiple-myeloma/>.

58. Kovalov OO, Kovalov KO. [How the consequences of the war can affect the incidence of cancer in Ukraine and the countries of the European Union]. *Oncology, Hematology, Chemotherapy.* 2022;5(78):46. Ukrainian.

59. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15(12):538-48. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)70442-5.

60. Kushchevyi Ye. [Experience of THSC at the National Cancer Institute]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XII scientific and practical conference with international participation; 2020 Oct 1-2; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.

61. Unified clinical protocol of primary, secondary (specialized), tertiary (highly specialized) medical care: multiple myeloma: Order of the Ministry of Health of Ukraine "On the approval and implementation of medical and technological documents on the standardization of medical care for multiple myeloma"; 2015. 710 p. Ukrainian.

62. Fedorenko Z, Soumkina O, Horokh Ye. [Cancer in Ukraine 2020-2021: Incidence, mortality, prevalence and other relevant statistics]. *Bulletin of the national cancer registry of Ukraine.* 2022;1:23. Ukrainian.

63. Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S. Revised international staging system for multiple myeloma: a report from international myeloma working group. *J Clin Oncol.* 2015;33(26):2863-9. DOI: 10.1200/JCO.2015.61.2267.

64. Dispenzieri A, Rajkumar SV, Gertz MA. Treatment of newly diagnosed multiple myeloma based on Mayo Stratification of Myeloma and Risk-adapted Therapy (mSMART): consensus statement. *Mayo Clin Proc.* 2007;82(3):323-41. DOI: 10.4065/82.3.323.

65. Multiple Myeloma. NCCN Clinical Practical Guidelines in Oncology.

66. [15th International congress on diagnosis and treatment of lymphoma (ICML) in Lugano, Switzerland]. Available from: <https://aoncohem.com.ua/15i-mizhnarodnyi-konhres-prysviachenyi-diahnostytsi-ta-likuvanniu-limfomicml-u-mluhano-shveitsariia.html>. Ukrainian.

67. San Miguel JF, Schlag R, Khuageva NK, Dimopoulos MA, Shpilberg O, Kropff M. Bortezomib plus melphalan and prednisone for initial treatment of multiple myeloma. *The New England Journal of Medicine.* 2008;359(9):906-917. DOI: 10.1056/NEJMoa0801479.

68. Sonneveld P, Schmidt-Wolf IG, van der Holt B, El Jarari L, Bertsch U, Salwender. Bortezomib induction and maintenance treatment in patients with newly diagnosed multiple myeloma: results of the randomized phase III HOVON-65/ GMMG-HD4 trial. *J Clin Oncol.* 2012;30(24):2946-55. DOI: 10.1200/JCO.2011.39.6820.

69. Cavo M, Tacchetti P, Patriarca F, Petrucci MT, Pantani L, Galli M. Bortezomib with thalidomide plus dexamethasone compared with thalidomide plus dexamethasone as induction therapy before, and consolidation therapy after, double autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a randomised phase 3 study. *The Lancet.* 2010;376(9758):2075-85. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61424-9.

70. Harousseau JL, Attal M, Avet-Loiseau H, Marit G, Caillot D, Mohty M. Bortezomib plus dexamethasone is superior to vincristine plus doxorubicin plus dexamethasone as induction treatment prior to autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: results of the ifm 2005-01 phase III trial. *J Clin Oncol.* 2010;28(30):4621-29. DOI: 10.1200/JCO.2009.27.9158.

71. Rajkumar S, Hayman S, Gertz M. Deep Venous Thrombosis and Thalidomide Therapy for Multiple Myeloma. *Blood.* 2001;344(25):1951-2. DOI: 10.1056/NEJM200106213442516.

72. Sonneveld P, Avet-Loiseau H, Lonial S, Usmani S, Siegel D, Anderson KC. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: a consensus of the International Myeloma Working Group. *In: Blood.* 2017;127(24):2955-2962. DOI:10.1182/blood-2016-01-631200.

73. Sureda A. Indications for autologous and allogeneic transplantation. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XII scientific and practical conference with international participation; 2020 Oct 1-2; Kyiv, Ukraine].

74. Korenkova I. [Experience and prospects of THSC at the Kyiv Bone Marrow Transplantation Center]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XII scientific and practical conference with international participation; 2020 Oct 1-2; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.

75. Tsiapka O. [Experience and prospects of THSC at the Institute of Blood Pathology and Transfusion Medicine (Lviv)]. In: [Modern approaches to diagnosis and treatment of lymphoproliferative diseases: XII scientific and practical conference with international participation; 2020 Oct 1-2; Kyiv, Ukraine]. Ukrainian.

76. [Standard and new approaches in the treatment of multiple myeloma: scientific and practical school-seminar]. 2017 March 23; Kyiv, UA. Available from: <https://aoncohem.com.ua/naukovo-praktychna-shkola-seminar-23-03-2017.html>. Ukrainian.

77. [The 24th Congress of the European Hematology Association (EHA) was held on June 13-16 in Amsterdam]. Available from: <https://aoncohem.com.ua/24-konhres-evropeiskoi-hematolohichnoi-asotsiatsii-eha-vidbuvsia-13-16-chervnia-v-misti-amsterdam.html>. Ukrainian.

78. Gopalakrishnan S, D'Souza A, Scott E, Fraser R, Davila O, Shah N. Revised International Staging System is predictive and prognostic for early relapse (<24 months) after autologous transplantation for newly diagnosed multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2019;25(4):683-8. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.12.141.

79. Lopes M-A, Higashi F, Crusoe E, Peres A, Cury P, Hungria V. Impact of the lactate dehydrogenase in association with the International Staging System prognostic score in multiple myeloma patients treated in real life. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy.* 2022;1:56.

Савуляк Г.Р., Новак В.Л. Епідеміологічні дані, етіологія, патогенез, фактори ризику, клінічні прояви, сучасні методи діагностики і лікування, прогнозування перебігу множинної мієломи (огляд літератури).

РЕФЕРАТ. Актуальність. Множинна мієлома (ММ) – це неопластичне захворювання з багатоетапним перебігом, що характеризується неконтрольованою, багатовогнищевою проліферацією моноклональних плазмочитів в кістковому мозку, які продукують моноклональний імуноглобулін або лише його фрагменти, які призводять до руйнування кісткової тканини та пошкодження органів. Доволі високі показники як захворюваності, так і смертності від ММ вимагають ретельнішої уваги і глибшого наукового дослідження цієї проблеми. **Мета** – дослідити епідеміологію, етіологію, патогенез, фактори ризику, клінічні прояви, сучасні методи діагностики та лікування, а також прогнозування перебігу ММ. **Методи.** Використано такі методи дослідження: пошук, вилучення і обробка інформації; оцінка якості джерел; систематичний огляд літератури; аналіз змісту. Матеріали дослідження становлять тематичні публікації українських й іноземних науковців. **Результати.** ММ становить ~1 % усіх злоякісних новоутворень і ~14 % гематологічних новоутворень у світі. Етіологічні фактори ММ: генетична схильність, бактеріальні або вірусні інфекції, іонізуюче випромінювання, канцерогенні токсини. Клінічний синдром ММ характеризується гіпєрамаглобулінемією, гіперкальціємією, сприйнятливістю до інфекцій, патологічними переломами. Діагностика ММ включає: загальний аналіз периферичної крові; діагностику білків сироватки і сечі; аспіраційну біопсію і трепанобіопсію кісткового мозку; цитогенетичну і молекулярну діагностику; іншу лабораторну діагностику; РГ, КТ, МРТ і ПЕТ-КТ. Основні методим лікування ММ: ПТ, ХТ, комбінована ХТ з включенням нових лікарських препаратів, ВДХТ + аутологічна ТГСК. Прогнозування перебігу ММ залежить від стадії R-ISS, рівня ЛДГ і цитогенетики високого ризику. **Підсумок.** Упродовж останніх років сучасної онкогематології спостерігаємо наукові досягнення у діагностуванні та лікуванні ММ. Проведенню ефективної діагностики та вибору оптимальної стратегії і тактики лікування, а також визначенню прогнозу перебігу ММ сприяють ґрунтовне вивчення епідеміології, етіології і патогенезу, факторів ризику та клінічних проявів ММ.

Ключові слова: множинна мієлома, плазмочитарна мієлома, ВДХТ, аутоТГСК.

І.С. Хріпков
А.А. Голікова

Дніпровський державний
медичний університет
Дніпро, Україна


Надійшла: 28.01.2024

Прийнята: 11.03.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.19-25>

УДК 616-002.18:612.176.

ЗАЛИШОК СЕРЕДЬНОГО ТІЛА ЯК МЕХАНІЗМ КЛІТИННОГО СИГНАЛЮ- ВАННЯ

Khripkov I.S.  , **Golikova A.A.** **The remnant of the midbody as a cellular signaling mechanism.**
Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. Cell signaling mechanisms are the basis for intercellular integration and regulation of proliferation and differentiation processes at the systemic level. One of the most plausible ways to control cell-to-cell interaction and targeted distribution of genetic information is for cells to use their own structures that are formed during mitosis and carry RNA-dependent signaling molecules that affect the mechanisms of control of intercellular interaction, cell proliferation and differentiation. The midbody remnant is a microtubule-rich structure that forms between dividing cells in the last stages of cytokinesis. Previously, it was thought to be only a temporary structure of the intercellular bridge during cytokinesis, which served to connect two future daughter cells. This structure is a key regulator of abscission and functions as a signaling platform that coordinates the cytoskeleton and endosomal dynamics during the terminal stages of cell division. The midbody is a subcellular structure that is formed during cell division, during penetration into the cleavage sulcus, when the microtubules of the central spindle are compacted and cross-linked by a thin intracellular bridge connecting the two daughter cells. The midbody plays a key role in organizing cytokinesis by recruiting a variety of mitotic kinases such as Aurora B and Plk1, as well as sulcus endosomes containing Rab11/FIP3, the membrane-rupturing ESCRT complex and the microtubule-rupturing enzyme spastin, all of which are responsible for mediated rupture during the later stages of cytokinesis. The midbodies can serve as extracellular and intracellular polarity signals during early embryogenesis, as well as during epithelialization and polarization of neurons. The molecular mechanism that governs the positioning of the middle body and how it transmits signals to neurons during differentiation or epithelium remains unknown. Importantly, the remains of the middle bodies can also function as intracellular signaling scaffolds that regulate proliferation and fate postmitotic cells. Since these structures can be released outside cells and taken up by other non-mitotic cells, it is suggested that they may function as vehicles for alternative transmission of complex sets of signaling molecules and/or receptors between cells, thus profoundly affecting signaling in general.

Key words: remnant of the midbody, mitosis, cell signaling.

Citation:

Khripkov IS, Golikova AA. [The remnant of the midbody as a cellular signaling mechanism]. *Morphologia*. 2024;18(1):19-25. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.19-25>

 0000-0003-0378-8414

 histoexpert@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Механізми клітинного сигналювання є підґрунтям для міжклітинної інтеграції та регуляції процесів проліферації та диференціювання на системному рівні. Одним з вірогідних шляхів контролю міжклітинної взаємодії та цільового розповсюдження генетичної інформації є використання клітинами власних структур, що утворюються під час мітозу та несуть в собі РНК-залежні сигнальні молекули, що впливають на механізми контролю міжклітинної взаємодії, клітинної проліферації та диференціювання.

Метою нашого дослідження був аналіз наукової літератури присвяченої вивченню впливу залишків середнього тіла на процеси клітинного

сигналювання.

Залишок середнього тіла – це багата на мікротрубочки структура, що утворюється між клітинами, які діляться, на останніх стадіях цитокінезу. Раніше вважалося, що він є лише тимчасовою структурою міжклітинного містка під час цитокінезу, який служив для з'єднання двох майбутніх дочірніх клітин. Дана структура є ключовим регулятором абсцисії та функціонує як сигнальна платформа, що координує цитоскелет і ендосомальну динаміку під час термінальних стадій поділу клітини. Достатньо довго існувала думка про те, що одразу після відриву та завершення поділу клітини середнє тіло або звільняється, або швидко

деградує однією з дочірніх клітин. Наразі залишок середнього тіла опинився в центрі інтенсивних досліджень завдяки ідентифікації зростаючої кількості різноманітних клітинних і молекулярних шляхів, які локалізуються в цій структурі та сприяють його цитокінетичним функціям, починаючи від селективного переміщення везикул, регульованих мікротрубочок, складання та розбирання філаментів ESCRT, актину, і посттрансляційна модифікація, така як убіквінтування. Останні дослідження виявили нові та несподівані функції середнього тіла, які відбуваються в постмітотичних клітинах.

Середнє тіло – це субклітинна структура, яка утворюється при поділі клітини, під час проникнення в борозну розщеплення, коли мікротрубочки центрального веретена ущільнюються та зшиваються тонким внутрішньоклітинним містком, що з'єднує дві дочірні клітини. Середнє тіло відіграє ключову роль в організації цитокінезу шляхом залучення різноманітних мітотичних кіназ, таких як Aurora B та Plk1, а також ендосом борозни, що містять Rab11/FIP3, комплекс ESCRT, що розриває мембрану, і фермент спастин, що розриває мікротрубочки, усі з яких відповідають за опосередкований розрив під час пізніх стадій цитокінезу [1].

Численні мембранні шляхи передачі є вирішальними для поділу материнської клітини на дочірні, тому що попередні дослідження мітозу дали змогу ідентифікувати багато типів везикул навколо середнього тіла під час раннього цитокінезу та до самого моменту поділу. Нещодавні ж дослідження показали, що молекули, які беруть участь у процесах секреції та ендоцитозу, були зосереджені в області середнього тіла під час пізнього цитокінезу. Пост-Гольджи везикули та білки, які необхідні для зв'язування та злиття везикул, були залучені до середнього тіла, і це залежало від білків центросоми (центріолін та CEP55) [2]. Порушення або локалізації, або функції цих білків, або рекрутування молекул, необхідних для секреції, спричинило невдачу абсцисії. Це, в свою чергу, спричинило колапс міжклітинного містка з утворенням двоядерної клітини, затримок утворення багатоклітинного синцитію [3].

Ендосомальний шлях також сприяє поділу. Асоційовані з ендосомами білки Rab11, FIP3, FIP4, були націлені на середнє тіло і взаємодіяли з компонентом екзоцити, Ect70, і білком середнього тіла mgcRacGAP/Сук4 [4]. Це необхідно для завершення цитокінезу. Ці дані вказують на те, що середнє тіло може служити кріпильним каркасом для молекул і комплексів, які сприяють накопиченню везикул на цьому місці або поблизу нього та потенціюють злиття везикул під час поділу.

Везикули були спрямовані асиметрично з одного боку середнього тіла до поділу. Це спостере-

ження підтверджується повідомленням про асиметричне накопичення пост-Гольджи везикул у середньому тілі під час пізнього цитокінезу після їх первинного симетричного накопичення з обох сторін даної структури [5]. При більш детальному дослідженні було виявлено, що рекрутовані пост-Гольджи везикули притискуються до середнього тіла і залишаються нарізно без злиття, що свідчить про те, що ці везикули чекали сигналу до початку злиття і поділу [6]. Два основних комплекси Гольджи розміщені далеко від мосту, за ядрами обох дочірніх клітин біля центросом. Два невеликих басейни мембран комплексу Гольджи були розташовані на стику міжклітинного містка. В одній із двох дочірніх клітин мінорний мембранний басейн Гольджи був повернутий назад до основного місця під час пізнього цитокінезу, залишивши незначний басейн іншої дочірньої клітини в такому положенні, щоб доставати до мембрани комплексу Гольджи на одну сторону середнього тіла для опосередкування абсцисії. Незважаючи на те, що FIP3/4-позитивні ендосоми транспортуються симетрично до середнього тіла, більш нові дані свідчать про те, що вони можуть не зливатися, доки локалізований розрив не відбудеться асиметрично з одного боку середнього тіла.

Незалежно від того, як рекрутуються везикули, злиття може бути «асиметричним» або «последовним», вірогідно, через обмежуючі фактори з одного боку середнього тіла або последовне прибуття на цей сайт. Наслідком цих «асиметричних» або «последовних» подій може бути успадкування постмітотичного середнього тіла з двох дочірніх клітин або вивільнення після того, як міст знову розірвано з іншого боку середнього тіла.

ESCRT є еволюційно збереженим шляхом, необхідним для поділу, дає уявлення про пізній крок у цьому процесі [7]. ESCRT відіграє важливу роль у звуженні мембрани під час брунькування вірусів та везикул [8]. Топологія вірусу з оболонкою, що брунькується з клітин-господаря, подібна до міжклітинного мосту, що з'єднує одну дочірню клітину з іншою перед поділом. Розрив мосту для роз'єднання дочірніх клітин аналогічний вивільненню вірусу з клітини та може вимагати ідентичних або подібних функцій ESCRT [9]. Відомо, що кілька компонентів ESCRT (Alix і Tsg101) націлені на середнє тіло для абсцисії. Нові дослідження показали, що компоненти ESCRT-III (CHMP2 і CHMP4A/B) спочатку локалізувалися в кільці середнього тіла, а пізніше на вторинній ділянці, що відповідає зоні звуження. Вичерпання CHMP2, основного компонента ESCRT-III, призвело до зникнення контурів хвилі та спіралеподібних ниток, що свідчить про те, що ESCRT-III сприяє їх збиранню. Проте досі залишається не до кінця зрозумілим чи повністю вичерпується пул CHMP2 та зона звуження після його вичерпання, і це могло призвести до іншої інтерпретації того, як ESCRT функціонує в цих

місцях. Також було виявлено, що ESCRT взаємодіє зі спатином, AAA+АТФазою, яка роз'єднує дочірні клітини, забезпечуючи модель, у якій функція ESCRT узгоджується з розривом клітин під час абсцесії.

Наразі не до кінця зрозуміло, як ESCRT утворює нитки всередині міжклітинного мосту та чи вони функціонально здатні викликати розрив мосту. На основі моделювання цих процесів припускають, що везикули та механізми злиття, які організовані топологічно відмінно від ESCRT, залучаються до середнього тіла, де вони сприяють ремоделюванню та звуженню моста, таким чином дозволяючи ESCRT функціонувати на пізніх стадіях розвитку. ESCRT може екструдувати мембрану та цитоплазму в позаклітинне середовище, щоб звужити калібр мосту через механізм, подібний до вірусного брунькування перед остаточним розривом мосту [10]. Інша думка полягає в тому, що транспортування везикул і механізми ESCRT працюють разом, щоб досягти відриву, оскільки обидва все більше залучаються до середини тіла та зони звуження принаймні за 10 хвилин до розриву мосту.

Відповідно до моделі абсцесії ESCRT було показано, що два ESCRT-модулюючі деубіквітинуючі ферменти (DUBs), UBPY/USP8 і AMSH, були залучені до середнього тіла під час цитокінезу [11]. Виснаження будь-якого DUBs призводить до збою цитокінезу. Виснаження AMSH спричиняє утворення двоядерних клітин та клітин, що з'єднані між собою довгими містками, а виснаження UBPY – утворення двоядерних клітин. Ця фенотипова різниця може відображати різну специфіку двох DUBs по відношенню до різних білкових субстратів середнього тіла та кон'югатів убіквітину [12]. Просторовий розподіл UBPY і AMSH відрізнявся від анафази до цитокінезу, що свідчить про селективну взаємодію з різними молекулами ESCRT і не-ESCRT, які можуть мати вирішальне значення для впорядкованого розриву. Роль опосередкованих убіквітином модифікацій у абсцесії підтверджується даними про те, що BRUCE, гігантський білок, який володіє активністю убіквітинлігази E2/E3, переміщався до середнього тіла, взаємодівав з компонентами середнього тіла, такими як мітотичний кінезиноподібний білок 1 (Mklp1), і заблокував поділ при виснаженні [13]. Фракція середнього тіла як BRUCE, так і Mklp1 була значною мірою моно- або олігоубіквітинувана після поділу, і обидва білки були мішенню UBPY. Взяті разом убіквітинуючі ферменти та DUBs, що взаємодіють з ESCRT, модулюють статус убіквітинуваних білків середнього тіла, що може відігравати роль у розпаді та визначенні долі середнього тіла після розпаду.

Одним із важливих відкриттів стосовно подальшої долі постмітотичних середніх тіл є роль ма-

кроаутофагії. Аутофагія сприяє переробці амінокислот, ембріональному розвитку і патогенезу захворювання [14]. Аутофагія може бути вибірковою та опосередкованою аутофагічними рецепторами. Розпізнавання рецепторів супроводжується утворенням аутофагосом, їх злиттям з лізосомами та деградацією інкапсульованих органел або білків [15]. Було виявлено, що аутофагічний рецептор NBR1 відіграє домінуючу роль у деградації постмітотичних середніх тіл через його розпізнавання CEP55, основного компонента середнього тіла, вирішального для відриву; інший рецептор, p62, також залучений до цього процесу. Крім розпізнавання рецепторів, рівень аутолізосомної активності може впливати на ефективність деградації постмітотичних залишків середнього тіла. Загалом макроаутофагія є основним фактором знищення даної структури.

Вивільнення середнього тіла й аутофагічна деградація, швидше за все, представляють собою паралельні шляхи виведення середнього тіла. Клітини HeLa та клітини мишачої нейробластоми (Neuro-2a) можуть розщеплювати залишок середнього тіла за допомогою аутофагії та вивільняти їх у позаклітинний простір, демонструючи, що обидва шляхи можуть бути використані в одній клітині та припускають взаємодію між цими шляхами. Оскільки донедавна доля середнього тіла не була детально охарактеризована, правильним буде передбачити додаткові шляхи, які зрештою призводять до внутрішньоклітинної деградації або вивільнення з клітини. Нещодавній ультраструктурний аналіз постмітотичних середніх тіл виявив характеристики, відмінні від мітотичних середніх тіл, імовірно, через старіння даних структур [16]. Ці морфологічні зміни можуть представляти продукти різних часів перебування в аутолізосомах або продукти преаутофагічних подій, які змінюють постмітотичну цілісність і склад середніх тіл. Також вірогідно, що через тривалий час після вивільнення з клітин постмітотичні середні тіла інтерналізуються шляхом ендцитозу/фагоцитозу з подальшою гетеролізосомною або аутофагічною деградацією. Усі ці різні, але не взаємовиключні шляхи можуть існувати, але їх важко розрізнити. Також важливо дізнатися, чи потрібний той самий механізм аутофагії як завершальний крок для всіх цих шляхів. Тим не менш, часовий аналіз деградації та ультраструктурний аналіз постмітотичних середніх тіл проливає світло на те, коли і як дані структури беруть участь у внутрішньоклітинній деградації. Додаткові дослідження необхідні для більш ретельного відстеження процесу деградації та перевірки того, як різні шляхи деградації використовуються різними клітинами.

У загальному плані збільшення активності аутофагії та вивільнення середнього тіла може сприяти його деградації, коли середнє тіло, утво-

рене під час проліферації, потрібно видалити. Одним із таких сценаріїв є диференціація. У даному контексті клітини, отримані з різних ліній розвитку або з різним статусом плюрипотентності, можуть використовувати один або обидва шляхи для видалення середнього тіла залежно від середовища та того, що доступно в генетичному наборі. Таким чином, диференційовані клітини можуть сприяти очищенню середнього тіла або шляхом підвищення аутофагічної активності, як це спостерігається у фібробластах, отриманих з ембріональних стовбурових клітин людини, або шляхом посилення вивільнення середнього тіла для досягнення тієї ж мети, усунення середнього тіла.

Нещодавно стало відомо, що середнє тіло, окрім регулювання цитокінезу, виконує ще немітотичну функцію. У кількох дослідженнях було виявлено, що дана структура може асиметрично успадковуватися під час поділу клітини, що може надавати властивостей (таких як ознака полярності чи сигнальна платформа) клітині, яка його успадкувала [17]. Проте деякі дослідження показали, що симетрична абсцисія призводить до вивільнення середнього тіла у позаклітинний простір [18]. Також є дані, що ці позаклітинні середні тілця можуть бути поглинені навколишніми клітинами, хоча функціональне значення цього поглинання залишається невідомим. Було висунуто припущення, що процес поглинання середнього тіла базується на збагаченні фосфатидилсеринами зовнішнього листка мембрани середньої частини тіла, процес, який здається схожим на актинзалежне фагоцитозне поглинання апоптотичних клітин [19].

За останні декілька років було з'ясовано, що середнє тіло допомагає визначити полярність дочірніх клітин як *in vivo*, так і *in vitro*. Так, під час нейрогенезу спинного мозку у курячих ембріонів середнє тіло успадковується та зміщується до апікальної поверхні нервових попередників, що діляться. Під час раннього розвитку *Caenorhabditis elegans* було виявлено, що дана структура функціонує як сигнал полярності, необхідний для спрямування орієнтації мітотичного веретена для наступного поділу клітини. Подібним чином, використовуючи тривимірні епітеліальні культури ссавців, було з'ясовано, що формування сайту ініціації апікальної мембрани (AMIS) керується середнім тілом, таким чином дозволяючи ендосомам Rab11/FIP5 доставляти апікальний вантаж під час люменогенезу [20].

Одне з найбільш цікавих припущень полягає в тому, що середні тіла діють як асиметрично розташовані сигнальні каркаси, які передають сигнальні молекули до однієї дочірньої клітини. На теперішній час за допомогою імунофлуоресценції або мас-спектрометрії було виявлено понад 300 білків середнього тіла [21]. Важливо, що велика кількість кіназ і фосфотаз присутня у середніх тілах. Ультраструктурний аналіз показує, що склад

постмітотичних середніх тіл відрізняється від мітотичних, і різні розміри виділених даних структур можуть бути відновлені з різних клітинних ліній [22]. Різниця в структурі середнього тіла свідчить про те, що його компоненти можуть бути активно реконструйовані, імовірно, для забезпечення стратегічного розміщення сигнальних компонентів для взаємодії з цитоплазматичними або позаклітинними факторами росту та рецепторами. Постмітотичні середні тіла – це довгоіснуючі структури, які можуть зберігатися в цитоплазмі годинами [23]. Це забезпечує достатньо часу для їхньої взаємодії з іншими сигнальними компонентами цитоплазми.

Сигнальний шлях Wnt добре вивчений щодо його ролі в ембріогенезі, наприклад, у формуванні осі тіла, проліферації клітин, міграції та специфікації долі клітин. Сигнальні компоненти Wnt асиметрично розподіляються в дочірній клітині, яка була піддана впливу ліганду Wnt, і служать для визначення долі стовбурової клітини [24]. Кілька ключових компонентів сигнального шляху Wnt, таких як Frizzled 2, β -катенін і Dishevelled, знаходяться в середньому тілі під час мітозу і можуть зберігатися після нього. Таким чином, накопичення постмітотичних середніх тіл може поляризувати сигнальний шлях Wnt у більш схожий на стовбурову дочірню клітину, щоб підтримувати «стовбурність». Цікаво, що адаптерний білок Wnt, Dvl, як було показано, зв'язує мотив LIR LC3 перед тим, як пройти аутофагію. Можливо, Dvl, що міститься в середньому тілі, може бути необхідним для націлювання його на аутофагосому LC3.

Сигнальні шляхи хемокінів важливі для мобілізації та хоумінгу нормальних мезенхімальних стовбурових клітин [25]. Крім того, припускають, що хемокіновий рецептор CXCR4 підтримує самовідновлення та мультипотентність нервових стовбурових клітин. У контексті раку CXCR4 вважається біомаркером ракових стовбурових клітин, і його експресія відображає поганий прогноз. Також відомо, що CXCR4 сприяє метастазуванню у кількох типах солідних пухлин [26]. Гетеротримерні протеїни G α (молекулярні перемикачі, які зв'язуються з хемокіновим рецептором) і кілька ізоформ фосфоліпази C (нижчий ефектор хемокінового рецептора) були виявлені в середньому тілі під час поділу клітин [27]. У той час як локалізація цих білків у середньому тілі служить для опосередкування цитокінезу, слід також враховувати потенційну участь сигналізації хемокінового рецептора в опосередкуванні оновлення стовбурових клітин і хемотаксису після мітозу.

Численні дослідження показали наявність MEK1/2 і ERK1/2 у середньому тілі мітотичних клітин [28]. Хоча MAP-кіназа є добре відомим центральним регулятором клітинної проліферації, було також показано, що активація передачі сигналів MAP-кінази сприяє пухлиногенності

шляхом посилення фенотипу ракових стовбурових клітин і регулює долю стовбурових клітин. Загалом величезна сигнальна інформація, яка потенційно міститься в середньому тілі, може мати важливі наслідки в багатьох фундаментальних біологічних процесах після мітозу. Через одночасну локалізацію цих сигнальних білків у різних клітинних компартментах розшифровка важливості цих середньоклітинно-залежних сигнальних шляхів може бути не простою та, ймовірно, потребуватиме інноваційних експериментальних підходів.

Серед нормальних клітин, що діляться, стовбурових клітин і ракових клітин, останні містять найвищий рівень накопичення середніх тіл [29]. У культивованих ракових клітинах субпопуляція накопичує високі рівні даних структур і демонструє посилене утворення колоній. Подібним чином, ракові клітини, які штучно спонукають до накопичення середніх тіл, демонструють підвищений пухлинотензійний потенціал *in vitro*. Крім того, відсортовані побічні популяції з клітинної лінії раку молочної залози MCF-7 демонструють більше накопичення середніх тіл порівняно з клітинами без побічних популяцій. Побічні популяції клітини є підмножиною ракових стовбурових клітин, які експресують високий рівень АТФ-зв'язуючого касетного транспортера, який наділяє ці клітини здатністю виводити хіміотерапевтичні препарати [30]. Взяті разом, ці дослідження показують, що накопичення МВ у ракових клітинах може сприяти стовбуровим характеристикам.

Інтригуючим є те, що «стовбур» ракової клітини є дуже динамічним процесом, який можна втратити або відновити. Зокрема, було показано, що розчинні фактори з мікрооточення пухлини перетворюють диференційовану ракову клітину в більш примітивний, стовбуровий стан [31]. З огляду на те, що секретовані середні тіла можуть бути поглинені раковими клітинами, ймовірно, що ракові клітини, які вступають у контакт із секретованими середніми тілами у позаклітинному середовищі, потенційно можуть поглинати та накопичувати їх, щоб набути «стовбуровості». Цілком ймовірно, що цей процес сильно регулюється, хоча шляхи, які опосередковують поглинання середніх тіл, ще не охарактеризовані.

Поточний консенсус полягає в тому, що накопичення середніх тіл пов'язане з посиленням клітинної проліферації, тоді як утилізація їх (шляхом аутофагічної деградації або вивільнення в позаклітинне середовище) пов'язана з клітинною диференціацією. На відміну від звичайних стовбурових клітин, ракові стовбурові клітини мають неконтрольовану проліферацію через їхню нездатність регулювати інгібування міжклітинного контакту та порушення реакцій гальмування росту. Таким чином, успадкування та накопичення середніх тіл у ракових пухлинах може сприяти високій проліферації та дедиференціації цих ракових

клітин. Подібно до звичайних стовбурових клітин, ракові стовбурові клітини, як правило, мають дуже активну конститутивну аутофагію для підтримки стану самооновлення [32]. Отже, накопичення середніх тіл в ракових стовбурових клітинах вимагатиме від клітини уникнення конститутивної аутофагії. Недавні відкриття показують, що аутофагія клітинних органел і білкових агрегатів є високоселективним процесом [33]. Селективність аутофагії залежить від наявності рецепторів вантажу та адапторів. Таким чином, залишки середніх тіл в ракових стовбурових клітинах можуть містити специфічні аутофагічні адаптери, які відрізняють їх від більш глобальних шляхів аутофагії. Якщо це так, накопичення середніх тіл може відбуватися навіть у клітинах із високою загальною аутофагічною активністю. Необхідні додаткові дослідження, особливо з використанням тваринних моделей і первинних пухлинних клітин, щоб чітко визначити зв'язок між накопиченням даних структур і прогресуванням раку.

Хоча середні тіла були спочатку ідентифіковані більше століття тому, ми тільки починаємо розуміти складність їх функції та накопичення. Зараз встановлено, що вони можуть служити позаклітинними та внутрішньоклітинними сигналами полярності під час раннього ембріогенезу, а також під час епітелізації та поляризації нейронів. Молекулярний механізм, що керує позиціонуванням середнього тіла і тим, як воно передає сигнали нейронам, що диференціюються або епітелію, залишається невідомим. Важливо, що залишки середніх тіл можуть також функціонувати як внутрішньоклітинні сигнальні каркаси, які регулюють проліферацію та долю постмітотичних клітин. Оскільки дані структури можуть вивільнятися поза клітинами та поглинатися іншими немітотичними клітинами, припускається, що вони можуть функціонувати як транспортні засоби для альтернативної передачі складних наборів сигнальних молекул та/або рецепторів між клітинами, таким чином, глибоко впливаючи на передачу сигналів у цілому.

Незважаючи на те, що важливість багатьох функцій середніх тіл залишається суперечливою, виявляється, що вони можуть, принаймні в деяких випадках, безпосередньо впливати на диференціацію та проліферацію ракових і стовбурових клітин. Однак залишки середніх тіл, здається, не мають універсально збереженої ролі у визначенні долі всіх клітин. Таким чином, вплив їх на диференціювання клітин, безперечно, залежить від типу клітини та тканини, а також від стадії розвитку. Більше досліджень у цій новій галузі зрештою мають встановити роль залишків середніх тіл під час розвитку та канцерогенезу детальноше.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела
References

1. Schiel JA, Simon GC, Zaharris C, Weisz J, Castle D, Wu CC, Prekeris R. FIP3-endosome-dependent formation of the secondary ingression mediates ESCRT-III recruitment during cytokinesis. *Nature Cell Biology*. 2012;14:1068–78.
2. Zhao WM. Cep55, a microtubule-bundling protein, associates with central spindle to control the midbody integrity and cell abscission during cytokinesis. *Mol Biol Cell*. 2006;17:3881–96.
3. Gromley A. Centriolin anchoring of exocyst and SNARE complexes at the midbody is required for secretory-vesicle-mediated abscission. *Cell*. 2005;123:75–87.
4. Simon GC. Sequential Cyk-4 binding to ECT2 and FIP3 regulates cleavage furrow ingression and abscission during cytokinesis. *EMBO J*. 2008;27:1791–1803.
5. Goss JW, Toomre DK. Both daughter cells traffic and exocytose membrane at the cleavage furrow during mammalian cytokinesis. *J Cell Biol*. 2008;181:1047–54.
6. Gaietta GM. Golgi twins in late mitosis revealed by genetically encoded tags for live cell imaging and correlated electron microscopy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:17777–82.
7. Carlton JG, Martin-Serrano J. Parallels between cytokinesis and retroviral budding: a role for the ESCRT machinery. *Science*. 2007;316:1908–12.
8. Raiborg C, Stenmark H. The ESCRT machinery in endosomal sorting of ubiquitylated membrane proteins. *Nature*. 2009;458:445–452.
9. Wollert T. The ESCRT machinery at a glance. *J Cell Sci*. 2009;122:2163–2166.
10. Dubreuil V. Midbody and primary cilium of neural progenitors release extracellular membrane particles enriched in the stem cell marker prominin-1. *J Cell Biol*. 2007;176:483–495.
11. Mukai A. Dynamic regulation of ubiquitylation and deubiquitylation at the central spindle during cytokinesis. *J Cell Sci*. 2008;121:1325–33.
12. Mizuno E. A deubiquitinating enzyme UBPY regulates the level of protein ubiquitination on endosomes. *Traffic*. 2006;7:1017–31.
13. Pohl C, Jentsch S. Final stages of cytokinesis and midbody ring formation are controlled by BRUCE. *Cell*. 2008;132:832–45.
14. Pohl C, Jentsch S. Midbody ring disposal by autophagy is a post-abscission event of cytokinesis. *Nat Cell Biol*. 2009;11:65–70.
15. Klionsky DJ. Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8:931–937.
16. Dubreuil V. Midbody and primary cilium of neural progenitors release extracellular membrane particles enriched in the stem cell marker prominin-1. *J Cell Biol*. 2007;176:483–495.
17. Singh D, Pohl C. Coupling of Rotational Cortical Flow, Asymmetric Midbody Positioning, and Spindle Rotation Mediates Dorsoventral Axis Formation in *C. elegans*. *Developmental Cell*. 2014;28(3):253–267.
18. Chai Y, Tian D, Yang Y, Feng G, Cheng Z, Li W, Ou G. Apoptotic regulators promote cytokinetic midbody degradation in *C. Elegans*. *Journal of Cell Biology*. 2012;199(7):1047–55.
19. Crowell EF, Gaffuri A, Gayraud-Morel B, Tajbakhsh S. Engulfment of the midbody remnant after cytokinesis in mammalian cells. *Journal of Cell Science*. 2014;127:3840–51.
20. Li D, Mangan A, Cicchini L, Margolis B, Prekeris R. FIP5 phosphorylation during mitosis regulates apical trafficking and lumenogenesis. *EMBO Reports*. 2014;15(4):428–437.
21. Huang Z. MiCroKiTS 4.0: a database of midbody, centrosome, kinetochore, telomere and spindle. *Nucleic Acids Res*. 2015;43:328–34.
22. Ettinger AW. Proliferating versus differentiating stem and cancer cells exhibit distinct midbody-release behaviour. *Nat Commun*. 2011;2:503.
23. Crowell EF, Tinevez JY, Echard A. A simple model for the fate of the cytokinesis midbody remnant: implications for remnant degradation by autophagy. *Bioessays*. 2013;35(5):472–81.
24. Clevers H, Loh KM, Nusse R. Stem cell signaling. An integral program for tissue renewal and regeneration: Wnt signaling and stem cell control. *Science*. 2014;346(6205):1248012.
25. Andreas K, Sittlinger M, Ringe J. Toward in situ tissue engineering: chemokine-guided stem cell recruitment. *Trends Biotechnol*. 2014;32(9):483–92.
26. Graham NA, Graeber TG. Complexity of metastasis-associated SDF-1 ligand signaling in breast cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(21):7503–4.
27. Naito Y, Okada M, Yagisawa H. Phospholipase C isoforms are localized at the cleavage furrow during cytokinesis. *J Biochem*. 2006;140(6):785–91.
28. Kasahara K. Src signaling regulates completion of abscission in cytokinesis through ERK/MAPK activation at the midbody. *J Biol Chem*. 2007;282(8):5327–39.
29. Kuo TC. Midbody accumulation through evasion of autophagy contributes to cellular reprogramming and tumorigenicity. *Nat Cell Biol*. 2011;13(10):1214–23.
30. Wu C, Alman BA. Side population cells in human cancers. *Cancer Lett*. 2008;268(1):1–9.
31. Borovski T. Cancer stem cell niche: the place to be. *Cancer Res*. 2011;71(3):634–9.
32. Pan H. Autophagic control of cell ‘stemness’. *EMBO Mol Med*. 2013;5(3):327–31.
33. Johansen T, Lamark T. Selective autophagy mediated by autophagic adapter proteins. *Autophagy*. 2011;7(3):279–96.

Хрпков І.С., Голікова А.А. Залишок середнього тіла як механізм клітинного сигналювання.

РЕФЕРАТ. Механізми клітинного сигналювання є підґрунтям для міжклітинної інтеграції та регуляції процесів проліферації та диференціювання на системному рівні. Одним з вірогідних шляхів контролю міжклітинної взаємодії та цільового розповсюдження генетичної інформації є використання клітинами власних структур, що утворюються під час мітозу та несуть в собі РНК-залежні сигнальні молекули, що впливають на механізми контролю міжклітинної взаємодії, клітинної проліферації та диференціювання. Залишок середнього тіла – це багата на мікротрубочки структура, що утворюється між клітинами, які діляться, на останніх стадіях цитокінезу. Раніше вважалось, що він є лише тимчасовою структурою міжклітинного містка під час цитокінезу, який служив для з'єднання двох майбутніх дочірніх клітин. Дана структура є ключовим регулятором абсцисії та функціонує як сигнальна платформа, що координує цитоскелет і ендосомальну динаміку під час термінальних стадій поділу клітини. Середнє тіло – це субклітинна структура, яка утворюється при поділі клітини, під час проникнення в борозну розщеплення, коли мікротрубочки центрального веретена ущільнюються та зшиваються тонким внутрішньоклітинним містком, що з'єднує дві дочірні клітини. Середнє тіло відіграє ключову роль в організації цитокінезу шляхом залучення різноманітних мітотичних кіназ, таких як Aurora B та Plk1, а також ендосом борозни, що містять Rab11/FIP3, комплекс ESCRT, що розриває мембрану, і фермент спастин, що розриває мікротрубочки, усі з яких відповідають за опосередкований розрив під час пізніх стадій цитокінезу. Середні тіла можуть слугувати позаклітинними та внутрішньоклітинними сигналами полярності під час раннього ембріогенезу, а також під час епітелізації та поляризації нейронів. Молекулярний механізм, що керує позиціонуванням середнього тіла і тим, як воно передає сигнали нейронам під час диференціювання або епітелію, залишається невідомим. Важливо, що залишки середніх тіл можуть також функціонувати як внутрішньоклітинні сигнальні каркаси, які регулюють проліферацію та долю постмітотичних клітин. Оскільки дані структури можуть вивільнятися поза клітинами та поглинатися іншими немітотичними клітинами, припускається, що вони можуть функціонувати як транспортні засоби для альтернативної передачі складних наборів сигнальних молекул та/або рецепторів між клітинами, таким чином, глибоко впливаючи на передачу сигналів у цілому.

Ключові слова: залишок середнього тіла, мітоз, клітинне сигналювання.

В.І. Бумейстер¹
О.В. Дудок²
І.В. Челпанова²

¹ Сумський державний
університет, Суми

² Львівський національ-
ний медичний універси-
тет імені Данила Галиць-
кого, Львів, Україна

Надійшла: 04.02.2024

Прийнята: 20.03.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.26-31>

УДК: 611.12:611.013:611.061.1

УТВОРЕННЯ ТА РОЗВИТОК ЛАМЕЛЯР- НОЇ ГІСТОАРХІТЕКТУРИ ШЛУНОЧКО- ВОГО МІОКАРДА КУРЯЧИХ ЗАРОДКІВ

Bumeister V.I.  , Dudok O.V.  , Chelpanova I.V.   Formation and development of lamellar histoarchitecture of the ventricular myocardium of chick embryos.

Sumy State University, Sumy; Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.


ABSTRACT. Background. The existence of several models of the myolamellar structure of the ventricular myocardium, which currently has a number of contradictory provisions, reflects the need for a reasonable integration of the results of different methods. Under these circumstances, the study of those ontogenetic mechanisms that are responsible for the formation and development of the myolamellar architecture of the myocardium is of great interest. **The purpose** of the study is to determine the ontogenetic transformations of the embryonic chicken heart that ensure the formation and development of the myolamellar structure of the ventricular myocardium. **Methods.** The work examined the embryos of Cobb500 cross chickens from the beginning of the 10th day to the 21st day of incubation. The lamellar organization of the ventricular myocardium was studied using light and transmission electron microscopy. **Results.** Starting from the 36th stage according to NN (the beginning of the 10th day of incubation), the active development of the stromal component was observed in the heart of chicken embryos, which led to the division of the tissue of the compact ventricular myocardium into groups of muscle fibers in the form of narrow elongated flat plates containing thicker than 3 to 5 rows of cardiomyocytes. At the 41st and 43rd stages of development, active development of the intercellular matrix and division of the myocardium mass into muscle plates continued as part of the compact ventricular myocardium. The intercellular spaces within the plates narrowed, and between the myolamellae, the perimysium accumulated elements of the microcirculatory bed, functionally active fibroblasts, a large amount of amorphous substance, and bundles of formed collagen fibers. At the final stages of embryogenesis, the muscle plates of the left ventricle acquired a pronounced spiral orientation with a gradual displacement of the long axis of the muscle fibers in the direction from the apex of the ventricle to its base. In the wall of the right ventricle, the location of the myolamella acquired a transverse oblique-circular orientation. **Conclusion.** A comparison of the structure and geometry of the myolamella made it possible to reveal that starting from the 38th stage of development in the left ventricle, the conditions for the translational-rotational mechanism of chamber contraction were formed and increased, in which the formation of the difference between the systolic and diastolic volumes of the left ventricle is ensured not only by the longitudinal apico-basal vector compression of the cavity, but also by mutual sliding of spirally oriented plates in the ventricular wall. In right ventricle, the contraction mechanism is based on the longitudinal-circular compression of the chamber in accordance with the oblique-circular orientation of the muscle fibers in the composition of the myolamella without displacement in the state of systole.


Key words: prenatal ontogeny, heart, ventricular myocardium, histoarchitecture, endomysium, perimysium, muscle plates.

Citation:

Bumeister VI, Dudok OV, Chelpanova IV. [Formation and development of lamellar histoarchitecture of the ventricular myocardium of chick embryos]. Morphologia. 2024;18(1):26-31. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.26-31>

 Bumeister V.I. 0000-0001-8604-4458;  Dudok O.V. 0000-0001-9513-3460;

 Chelpanova I.V. 0000-0001-5215-814X

 v.bumeyster@med.sumdu.edu.ua; sunsea707@gmail.com; ilona.med75@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Відповідно до сучасних уявлень про просторову архітектуру міокарда шлуночків прийнято розглядати три ієрархічні рівні в рамках їх тканинної організації. Перший – це функціональні волокна кардіоміоцитів та їх орієнтація. Другий рівень визначає організацію м'язових волокон у м'язові пластини (міоламелли). Третинна організація передбачає об'єднання міоламелл у групи, які у науковій літературі позначені по-різному – як шари, пучки, смуги [1-3].

Деякі дослідники структури серця відхилили існування стійкої третинної організації міокарда. З іншого боку, існують численні та переконливі докази її наявності, отримані при зіставленні даних магнітно-резонансної томографії з високою роздільною здатністю (мікро-МРТ), гістологічного аналізу серійних зрізів, автоматизованої конфокальної мікроскопії, просторового моделювання на основі гістологічних зображень. При цьому досягнуто спільної згоди, що орієнтація м'язових волокон надзвичайно схожа між видами і всередині видів експериментальних об'єктів [4-8], тоді як вторинна структура міокарда має виражену варіабельність навіть усередині одного виду [9, 10].

Також була запропонована модель з перехресним чергуванням орієнтації м'язових пластин у поздовжньо-радіальній площині від субендокардіальної зони через інтрамуральну до субепікардіальної. При цьому автори вказали на відсутність суттєвих індивідуальних відмінностей у 5 вивчених тварин [11]. Аналогічні результати були отримані у собак при використанні даних МРТ: у 25 з 30 вивчених ділянок шлуночкового міокарда простежувалося чергування орієнтації волокон у складі м'язових пластин в товщі шлуночків [12].

Організація та функція міокарда значною мірою залежать від його позаклітинного матриксу, який включає фібрилярні білки (колаген, еластин, фібронектин), сигнальні молекули та ферменти. Позаклітинний матрикс не тільки забезпечує структурну організацію міокарда та передачу зусилля скорочення, а й, відповідно до останніх даних, розглядається як динамічно активне утворення, що безперервно змінюється у відповідь на передачу локальних клітинних сигналів. Колагенові волокна є основним структурним компонентом позаклітинного матриксу, розподіленим у складі епімізія, перимізія та ендомізія. Перимізія визначає тривимірну організацію кардіоміоцитів і, отже, відіграє центральну роль у забезпеченні механічних характеристик міокарда [13, 14].

Існує лише невелика кількість досліджень, присвячених цілеспрямованій характеристиці просторових співвідношень між організацією перимізія та ламінарним розташуванням кардіоміоцитів, а також аналізу їх сполученої архітектури залежно від локалізації у стінці шлуночків. При

поєднанні світлової мікроскопії та скануючої електронної мікроскопії були докладно вивчені особливості колагену ендомізія, який поєднує між собою суміжні міоцити [15], а також візуалізовані особливості колагенової сітки перимізія [16]. Тим не менш, ці дослідження були обмежені занадто малими обсягами тканини, щоб охарактеризувати структуру міоламелярної архітектури стінки шлуночка. Висока роздільна здатність зображення потрібна в набагато більших обсягах.

Слід зазначити, що досі міоламелярна модель організації міокарда піддається сумніву. Думка, що міокард шлуночків складається з дискретних спіральних пучків м'язових волокон, була переглянута у вигляді спіральних шлуночкових м'язових смуг [12], тоді як інші дослідники [2, 3] заперечують існування будь-якого впорядкованого ламінарного розташування кардіоміоцитів. Крім того, існування декількох моделей міоламелярної структури шлуночкового міокарда, яке в даний час має низку суперечливих положень, відображає необхідність розумної інтеграції результатів різних методів. За цих обставин значний інтерес викликає дослідження тих онтогенетичних механізмів, які відповідають за утворення та розвиток міоламелярної архітектури міокарда.

Мета дослідження – визначення онтогенетичних перетворень ембріонального курячого серця, які забезпечують утворення та розвиток міоламелярної будови шлуночкового міокарда.

Матеріали та методи

У роботі досліджували зародки курей кросу Cobb500 від початку 10-ї доби (стадія 29 за Hamburger-Hamilton, HH) до 21-ї доби (стадія 46 за HH) інкубації. Яйця інкубували при температурі 39,4°C та відносній вологості повітря 80%. Стадію розвитку визначали за Hamburger-Hamilton [17] відповідно до рекомендацій Martinsen B.J. [12]. Перед фіксацією серце ембріона зі збереженим серцебиттям поміщали в 50 мл розчину, що містить 20 мг KCl при температурі 37,0°C, і витримували протягом 30 сек при зупинці серцевих скорочень з подальшою фіксацією в розчині Буена (для виготовлення парапластових блоків) або охолоджену 2,5%-ном розчині глютаральдегіду (для проведення ультраструктурного дослідження). Морфометрично на гістопрепаратах сердець, забарвлених за Вейгертом, проводили планіметричне визначення товщини м'язових пластин лівого шлуночка (ЛШ), правого шлуночка (ПШ) і міжшлуночкової перегородки (МШП).

Для ультраструктурного дослідження зразки міокарда фіксували при температурі +2°C протягом 3-4 годин у 2,5%-ному розчині глютаральдегіду (виготовленому на 0,2М фосфатному буфері (pH=7,4) з наступною постфіксацією протягом 1 години у 1%-ному забуференому (pH=7,4) розчині тетроксиду осмію («SPI», США), зневоднен-

ням у спиртах зростаючої концентрації і пропіленоксиді та виготовленням епоксидних блоків з використанням композиції епон-аралдіт. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікротомі УМТП-6М («SELMI», Україна) та розміщали на мідних опорних сітках Mesh Regular Grid 200 («SPI», США). Подвійне контрастування проводили за методом Рейнольдса [18]. Дослідження проводили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-100-01 («SELMI», Україна) при напрузі прискорення 65-90 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 25000 за стандартною схемою [18]. Ділянки препаратів вивчалися за модифікованим методом [19] та були фотодокументовані на монохромну плівку «Agfa» з подальшим відцифруванням сканером Canon CanoScan 9000F.

Визначення статистичної значущості відмінностей проводили з урахуванням критерію t Стьюдента. У випадку, якщо отримане в дослідженні емпіричне розподілення не відповідало нормальному закону, відмінності між вибірками оцінювали за допомогою непараметричного критерію Вілкоксона для пов'язаних вибірок та

Манна-Уїтні для непов'язаних вибірок.

Дослідження виконувались у відповідності до принципів Хельсінгської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000), відповідних положень ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств згідно з положеннями «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших навчальних цілях» [20].

Результати та їх обговорення

Починаючи з 36-ї стадії за НН (початок 10-ї доби інкубації) в серці курячих ембріонів спостерігався активний розвиток стромального компонента, що призводило до розділення тканини компактного шлуночкового міокарда на групи м'язових волокон у вигляді вузьких протяжних плоских пластин, що містять за товщею від 3 до 5 рядів кардіоміоцитів. Товщина міоламель у ЛШ незначно поступалася правошлуночковим м'язовим пластинам. До 41-ї стадії за НН відбувалося більш ніж дворазове потовщення м'язових пластин обох шлуночків; більш стримане зростання відзначалося у МШП (табл. 1).

Таблиця 1

Динаміка змін товщини міоламель шлуночкового міокарда серця курячих ембріонів, мкм ($M \pm m$)

Стадія за НН	Локалізація досліджуваного міокарда		
	ЛШ	ПШ	МШП
36	14,6±2,6	15,7±1,8	13,9±1,5
38	29,1±4,3*	23,9±3,4*	15,2±1,7
41	33,9±4,7*	32,0±4,0*	23,5±2,9*
43	37,3±4,6*	42,0±4,1*	24,9±3,7*
46	38,6±4,9*	50,9±4,4*	32,4±4,3*

Примітка: * – достовірна відмінність ($p < 0,05$) від значень на 36-й стадії розвитку.

Орієнтація міоламель у стінці ЛШ курячих ембріонів з 36-ї до 41-ї стадії була переважно косо-радіальною, у стінці ПШ – радіальною. Частина волокон у складі найбільш протяжних лівошлуночкових м'язових пластин мала спіральну спрямованість (рис. 1).

Товщина компактного міокарда ЛШ у цей період зростала в 1,75 рази, в ПШ – у 1,83 рази. У цей час спостерігалось достовірне збільшення діаметра трабекул ЛШ (на 70,8%) і ПШ (на 66,6%).

При електронномікроскопічному дослідженні міжклітинні простори всередині м'язових пластин були вузькими та містили незначну кількість гемокапілярів, які орієнтувалися переважно вздовж довгої вісі кардіоміоцитів. Навпроти, між міоламеллами прошарки примітивного перимізії значно розширювалися в порівнянні з попередніми стадіями розвитку та містили функціонально активні фібробласти, велику кількість аморфної речовини з низькою електронною щільністю, тонкі пучки сформованих колагенових волокон і елементи мікроциркуляторного русла, переважно

артеріоли та венули з відносно невеликим діаметром (рис. 2, 3). Фібробласти всередині міоламель траплялися дуже рідко. У складі трабекулярного міокарда шлуночків виявлялися звужені міжтрабекулярні простори на тлі добре сформованих трабекул, у складі яких міжклітинні простори також помітно стоншувалися.

При ультраструктурному дослідженні ембріонального серця на 41-й та 43-й стадіях розвитку у складі компактного шлуночкового міокарда продовжувався активний розвиток міжклітинного матриксу та поділ маси міокарда на м'язові пластини. Міжклітинні простори всередині пластин звужувалися, а між міоламеллами перимізії накопичував елементи мікроциркуляторного русла, функціонально активні фібробласти, велику кількість аморфної речовини та пучки сформованих колагенових волокон (рис. 4). Фібробласти всередині міоламель виявлялися в поодиноких випадках поблизу гемокапілярів. У масивних трабекулах обох шлуночків міжклітинні простори також помітно стоншувалися.

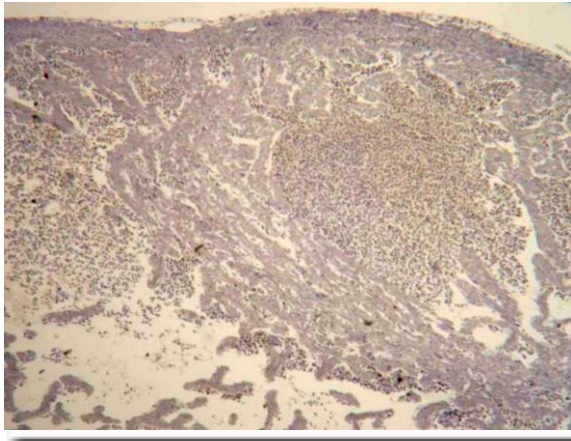


Рис. 1. Структура міокарда в проміжній частині шлуночків (задня стінка) серця курячого ембріона на 15 добу інкубації (стадія 41 за НН). Забарвлення за Вейгертом. $\times 200$.



Рис. 2. Міоламелли ЛШ курячого ембріона на 36-й стадії розвитку. Відростки фібробластів у варіативних за формою міжклітинних просторах. Електроннограма. $\times 18000$.

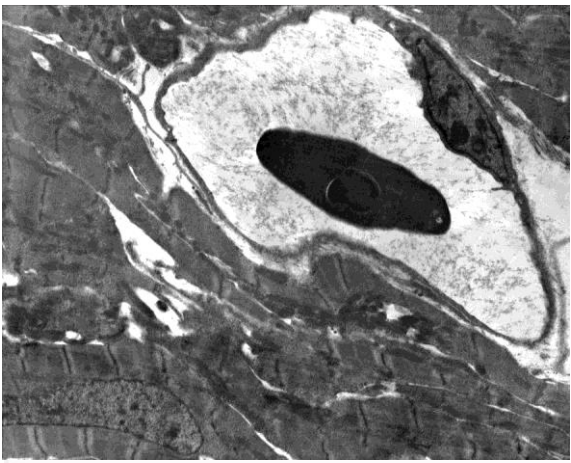


Рис. 3. Кардіоміоцити м'язових пластин ЛШ курячого ембріона на 38-й стадії розвитку. Нелінійне розширення міжклітинних просторів поблизу венули. Значна тангенційна орієнтація Z-дисків міофібрил. Електроннограма. $\times 5000$.



Рис. 4. Кардіоміоцити м'язових пластин ПШ курячого ембріона на 43 стадії розвитку. Відростки фібробласта між гемокапіляром і кардіоміоцитом. Ортогональна конфігурація Z-дисків. Електроннограма. $\times 12000$.

Інтенсивне і нерівномірне потовщення шлуночкових міоламелл призводило до того, що в серці курячих ембріонів на 43-й і 46-й стадіях розвитку м'язові пластини вільної стінки ПШ перевищували товщину лівошлуночкових міоламелл (табл. 1). У складі МШП формувалися більш тонкі та протяжні пластини. В цілому, протягом 36-46-ї стадій розвитку відбувалося достовірне збільшення товщини міоламелл ЛШ від $15,9 \pm 2,1$ мкм до $42,3 \pm 3,4$ мкм (у 2,7 рази) та ПШ від $17,2 \pm 2,7$ мкм до $56,8 \pm 4,0$ мкм (у 3,3 рази). На кінцевих стадіях ембріогенезу м'язові пластини ЛШ набували виразної спіральної орієнтації з поступовим зміщенням довгої вісі м'язових волокон у напрямку від верхівкової частини ЛШ до його основи. У стінці ПШ розташування міоламелл набувало попереочної косо-циркулярної орієнтації (рис. 5).

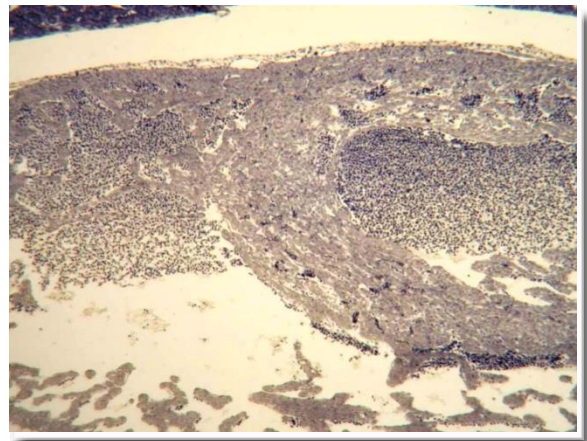


Рис. 5. Структура і орієнтація м'язових пластин міокарда ЛШ, ПШ і МШП у проміжній частині шлуночків серця курячого ембріона на 17-ту добу інкубації (стадія 43 за НН). Забарвлення за Вейгертом. $\times 200$.

Трабекули вільних стінок обох шлуночків до кінця ембріонального розвитку мали добре розви-

нену ендотеліальну оболонку, що щільно прилягала до поздовжньо орієнтованих кардіоміоцитів. Їх діаметр у ЛШ значно перевищував товщину правощлуночкових трабекул, хоча розміри клітин суттєво не відрізнялися.

На 46-й стадії розвитку у складі ендомізії міоламель міокарда спостерігалася значна кількість зрілих гемокапілярів, іноді в оточенні тонких протяжних відростків фібробластів. При цьому колагенові волокна залишалися одиничними та не формували організованих пучків (рис. 6).

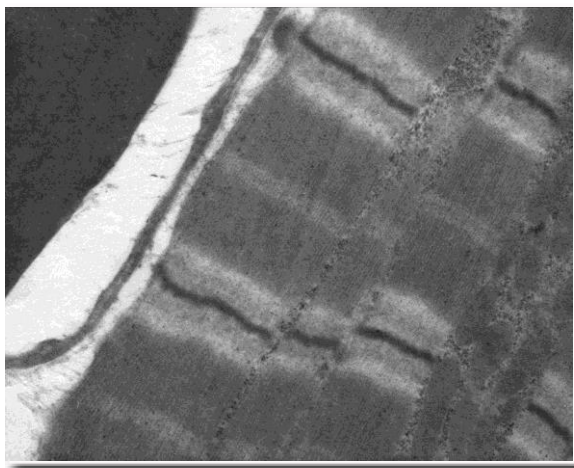


Рис. 6. Ділянка проміжної частини м'язової пластини вільної стінки ПШ курячого ембріона на 46-й стадії розвитку. Скупчення міжміофібрилярних мітохондрій. Ортогональна орієнтація поперечних структур саркомерів. Електроннограма. $\times 28000$.

У перимізії між м'язовими пластинами виявлялися переважно артеріоли та венули різних калібрів в оточенні пучків колагенових волокон,

орієнтованих паралельно один одному, і значна кількість функціонально активних фібробластів. Як правило, локуси колагенотворення розташовувалися між фібробластом (або його відростком) і стінкою мікросудини, але не поблизу кардіоміоцита. У перимізії на даній стадії розвитку за об'ємом переважав аморфний компонент з неоднорідною електронною щільністю.

Підсумок

Зіставлення структури і геометрії міоламель дозволило виявити, що починаючи з 38-ї стадії розвитку в ЛШ формувалися і нарощувалися умови для поступально-обертального механізму скорочення камери, при якому формування різниці між систолічним і діастолічним об'ємами ЛШ забезпечується не тільки подовжнім апіко-базальним вектором стискання порожнини, але і взаємним ковзанням спіраль-но-орієнтованих пластин у верхівковому та серединному відділах стінки ЛШ. У ПШ механізм скорочення заснований на поздовжньо-циркулярному стисканні камери відповідно до косо-циркулярної орієнтації м'язових волокон у складі міоламель без істотного взаємного зміщення в стані систоли.

Перспективи подальших досліджень полягають у морфологічному дослідженні постнатального розвитку міоламельної будови міокарда.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

Літературні джерела References

1. Zhou J, Shu Y, Lü S. The spatiotemporal development of intercalated disk in three-dimensional engineered heart tissues based on collagen/matrige matrix. *PLoS One*. 2013;8(11):814-20.
2. Kocica MJ, Corno AF, Carreras-Costa F. Helical ventricular myocardial band: global, three-dimensional, functional architecture of the ventricular myocardium. *The Eur. J. Cardiothorac Surg*. 2006;29:21-40.
3. Gilbert SH, Benson AP, Li P. Localisation of left ventricular sheet structure: integration with current models of cardiac fibre, sheet and band structure. *Regional Eur. J. Cardiothorac Surg*. 2007;32:231-49.
4. Arts T, Costa KD, Covell JW, McCulloch AD. Relating myocardial laminar architecture to shear strain and muscle fiber orientation. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol*. 2001;280:2222-9.
5. Ewald AJ, McBride H, Reddington M. Imaging microscopy, an automated method for visualizing whole embryo samples in three dimensions at high resolution. *Dev. Dyn*. 2002;12:369-75.
6. Helm PA, Younes L, Beg MF et al. Evidence of structural remodeling in the dyssynchronous failing heart. *Circ. Res*. 2006;98:125-32.
7. Tseng WY, Wedeen VJ, Reese TG. Diffusion tensor MRI of myocardial fibers and sheets: correspondence with visible cut-face texture. *J. Magn. Reson. Imaging*. 2003;17:31-42.
8. Buckberg GD. Stonehenge and the heart: similar construction. *Eur. J. Cardiothorac. Surg*. 2006;29:286-90.
9. Kresh JY, Chopra A. Intercellular and extracellular mechanotransduction in cardiac myocytes. *Pflugers Arch*. 2011;462(1):75-87.
10. Chen J, Liu W, Zhang H. Regional ventricular wall thickening reflects changes in cardiac fiber

and sheet structure during contraction: quantification with diffusion tensor MRI. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005;289:1898-907.

11. Harrington KB, Rodriguez F, Cheng A. Direct measurement of transmural laminar architecture in the anterolateral wall of the ovine left ventricle: new implications for wall thickening mechanics. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005;288:1324-30.

12. Martinsen BJ. Reference guide to the stages of chick heart embryology. *Dev. Dyn.* 2005;233:1217-37.

13. Rijcken J, Bovendeerd P, Schoofs A. Optimization of cardiac fiber orientation for homogeneous fiber strain during ejection. *Ann. Biomed. Eng.* 1999;27:289-97.

14. Dokos S, Smaill BH, Young AA, LeGrice IJ. Shear properties of passive ventricular myocardium. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2002;283:2650-9.

15. Chen J, Song SK, Liu W. Remodeling of cardiac fiber structure after infarction in rats quantified with diffusion tensor MRI. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003;285:946-54.

16. LeGrice IJ, Hunter PJ, Smaill BH. Laminar structure of the heart: a mathematical model. *Am. J. Physiol.* 1997;272:2466-76.

17. Hamburger V. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J. Morphol.* 1951;88(1):49-92.

18. Kuo J. *Electron microscopy: methods and protocols*. Totowa, New Jersey : Humana Press Inc; 2007. 608 p.

19. Tverdokhlib IV, Petruk NS, Ivanchenko MV, Silkina JuV, Khripkov IS, Pertseva NO, Shevchenko KM, Goodlett TO, Malkov II, Berehovenko IM, Zinenko DYU, Galaida NO, Varin VV, inventors; State Institution «Dnipropetrovsk medical academy of the Health Ministry of Ukraine». Method of determining the coordinates of ultrastructures in transmission electron microscopy of biological objects. Ukrainian patent UA 83611. 2013 Sep 25. Int. Cl. G01N 1/28. Ukrainian.

20. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe. 18 Mar 1986. 53 p.

Бумейстер В.І., Дудок О.В., Челпанова І.В. Утворення та розвиток ламелярної гістоархітектури шлуночкового міокарда курячих зародків.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Існування декількох моделей міоламелярної структури шлуночкового міокарда, яке в даний час має низку суперечливих положень, відображає необхідність розумної інтеграції результатів різних методів. За цих обставин значний інтерес викликає дослідження тих онтогенетичних механізмів, які відповідають за утворення та розвиток міоламелярної архітектури міокарда. **Мета** дослідження – визначення онтогенетичних перетворень ембріонального курячого серця, які забезпечують утворення та розвиток міоламелярної будови шлуночкового міокарда. **Методи.** У роботі досліджували зародки курей кросу Cobb500 від початку 10-ї доби до 21-ї доби інкубації. За допомогою світлової та трансмісійної електронної мікроскопії вивчали ламелярну організацію міокарда шлуночків. **Результати.** Починаючи з 36-ї стадії за НН (початок 10-ї доби інкубації) в серці курячих ембріонів спостерігався активний розвиток стромального компонента, що призводило до розділення тканини компактного шлуночкового міокарда на групи м'язових волокон у вигляді вузьких протяжних плоских пластин, що містять за товщею від 3 до 5 рядів кардіоміоцитів. На 41-й та 43-й стадіях розвитку у складі компактного шлуночкового міокарда продовжувався активний розвиток міжклітинного матриксу та поділ маси міокарда на м'язові пластини. Міжклітинні простори всередині пластин звужувалися, а між міоламеллами перимізій накопичував елементи мікроциркуляторного русла, функціонально активні фібробласти, велику кількість аморфної речовини та пучки сформованих колагенових волокон. Фібробласти всередині міоламелл виявлялися в поодиноких випадках поблизу гемокапілярів. У масивних трабекулах обох шлуночків міжклітинні простори також помітно стоншувалися. На кінцевих стадіях ембріогенезу м'язові пластини лівого шлуночка набували виразної спіральної орієнтації з поступовим зміщенням довгої вісі м'язових волокон у напрямку від верхівкової частини шлуночка до його основи. У стінці правого шлуночка розташування міоламелл набувало поперечної косо-циркулярної орієнтації. **Підсумок.** Зіставлення структури і геометрії міоламелл дозволило виявити, що починаючи з 38-ї стадії розвитку в лівому шлуночку формувалися і нарощувалися умови для поступально-обертального механізму скорочення камери, при якому формування різниці між систолічним і діастолічним об'ємами лівого шлуночка забезпечується не тільки подовжнім апіко-базальним вектором стискання порожнини, але і взаємним ковзанням спірально-орієнтованих пластин у верхівковому та середньому відділах шлуночкової стінки. У правому шлуночку механізм скорочення заснований на подовжньо-циркулярному стисканні камери відповідно до косо-циркулярної орієнтації м'язових волокон у складі міоламелл без істотного взаємного зміщення в стані систоли.

Ключові слова: пренатальний онтогенез, серце, міокард шлуночків, гістоархітектура, ендомізій, перимізій, м'язові пластини.

Л.І. Волос¹, О.М. Горбатюк²,
М.Ю. Веселий², С.В. Веселий^{3,4},
Д.В. Лавров⁵

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів

² Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, Київ

³ Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К.Гусака НАМН України, Київ

⁴ Донецький національний медичний університет, Кропивницький

⁵ КНП «Обласне територіальне медичне об'єднання м. Краматорськ», Україна






Надійшла: 24.01.2024

Прийнята: 15.03.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.32-40>

УДК: 616.681-007.59-005.4-036.11-078-73-074.091.8-053.2

ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЯЄЧКА З КРИТИЧНОЮ ІШЕМІЄЮ ПРИ ЙОГО ГОСТРОМУ ПЕРЕКРУТІ У ДІТЕЙ

Volos L.I. , Gorbatyuk O.M. , Veselyi M.Yu. , Veselyy S.V. , Lavrov D.V.  Pathomorphological and immunohistochemical characteristics of the testicle in children with critical ischemia during acute torsion. Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv; Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv; Institute of urgent and recovery surgery named after V.K. Gusak, Kyiv; Donetsk National Medical University, Kropivnitskiy; Communal non-profit enterprise «Regional Territorial Medical Association of Kramatorsk», Ukraine.

ABSTRACT. Background. The occurrence of acute torsion of the testicle in children leads to ischemia of the testicle, and in the absence of timely medical assistance - to the loss of the organ. The period from 12 hours to 24 hours from the onset of the disease leaves only a 20% chance of saving the genital gonad. There are still no exact signs of viability of the affected gonad in case of critical ischemia of the testicle due to its torsion. Therefore, the study of the dynamics of changes in morphological structures in the course of acute testicular torsion, morphological and functional disorders resulting from torsion, is of great practical interest, because there is no consensus on the nature and degree of these changes in the affected gonad. **Objective:** study of the nature and severity of pathomorphological changes and immunohistochemical features of the acute torsion testicle in children within 12.1-24 hours or more from the onset of the disease. **Methods.** A histological, histochemical, and immunohistochemical study of testicular tissue biopsies taken during the operation of detorsion and orchiopexy, and orchidectomy within 12.1-24 hours or more from the onset of clinical symptoms of acute unilateral torsion in 16 patients was conducted. **Results.** The morphological study of the gonads showed that the duration of acute torsion of 12.1-24 hours or more is characterized by severe pathological changes found in the testicles. After 18 hours of acute ischemia, tubules were visualized in many fields of view in the form of shadows with the impossibility of identifying the structures due to hemorrhagic or ischemic infarcts. Immunohistochemical typing demonstrated the absence of expression of vimentin and calretinin, which indicated the death of sustentocytes (Sertoli cells) and Leydig cells. With a duration of acute torsion of 12.1-18 hours, a histochemical study of glycogen in the cytoplasm of spermatogonia, spermatocytes, and sustentocytes using the PAS-reaction showed that some cells of the spermatogenic epithelium were characterized by irreversible changes preceding necrosis, although giant multinucleated spermatids with relatively preserved glycogen, which meant there was a minimal chance for saving the gonad. **Conclusion.** Total duration of symptoms and degree of male gonadal torsion are the main prognostic factors for testicular preservation or necrosis in episodes of torsion. The duration of an acute torsion of 12.1-18 hours, according to morphological research, leaves in 42,9% of cases the presence of a minimal chance of saving the genital gonad. After 18 hours from the onset of acute complete testicular torsion in children, the operation of choice is orchidectomy.

Key words: testicular torsion, critical ischemia, seminiferous tubules, Leydig cells, Sertoli cells, histopathology, immunohistochemistry.


Citation:

Volos LI, Gorbatyuk OM, Veselyi MYu, Veselyy SV, Lavrov DV. [Pathomorphological and immunohistochemical characteristics of the testicle in children with critical ischemia during acute torsion]. Morphologia. 2024;18(1):32-40. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.32-40>

 Volos L.I. 0000-0002-1733-589X;  Gorbatyuk O.M. 0000-0003-3970-8797;

 Veselyi M.Yu. 0000-0002-4340-4924;  Veselyy S.V. 0000-0001-7988-8214;

 Lavrov D.V. 0000-0003-2940-3375

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Гострий перекут яєчка у дітей є ургентним станом, який характеризується повертанням та скручуванням сім'яного канатика разом з судинами, що знаходяться у ньому навколо вертикальної або горизонтальної осі. Виникнення цієї патології призводить до ішемізації яєчка, та у разі відсутності своєчасної медичної допомоги – до втрати органу [1]. Серед усіх звернень та госпіталізацій до урологічного або хірургічного стаціонару гострий заворот яєчка зустрічається у 1 випадку на 500 хворих. У перші 10 років життя перекут яєчка зустрічається у 20% госпіталізацій, пов'язаних з гострим захворюванням яєчка. Після 10 років та до статевого дозрівання, тобто періоду дорослості – у 50% випадків [2]. Багато авторів погоджуються у думці про те, що у разі надання кваліфікованої медичної допомоги дітям з гострим перекутом яєчка у термін до 6 годин від початку захворювання яєчко залишається життєздатним майже у 100% випадків. Життєздатність яєчок значно знижується через 6 годин після появи симптомів, тож рання діагностика має основне значення [3]. Якщо операція виконується у терміні 6-12 годин, то шанс дитини на повноцінне відновлення ураженої статевої гонади зменшується до 70%. Строк від 12 годин до 24 годин з початку захворювання залишає лише 20% шансів на збереження статевої гонади. Після 24 годин після початку захворювання шансів на збереження життєздатності органу не залишається [4-6]. Перекут яєчка викликає пошкодження тканини та сперматогенезу через різні гіпотетичні механізми; однак існує спільна думка, що наслідки ішемії, ішемічно-реперфузійного пошкодження та окислювального стресу викликають найбільш руйнівні наслідки [7].

Терміни протікання гострого перекуту яєчка, коли шанс на збереження статевої гонади залишається сумнівним, називається критичною ішемією [6]. У випадках, коли під час операції виникають труднощі з визначенням життєздатності статевої гонади, багато-хто з авторів пропонують різні інтраопераційні діагностичні методики, що мають допомогти прийняти рішення стосовно збереження або видалення органу. До них відносяться такі, як трансїлюмінаційне дослідження, радіонуклідна сцинтиграфія, інтраопераційне ультразвукове дослідження з доплерографією судин яєчка та сім'яного канатика, діагностичний розтин білкової оболонки гонади та визначення характеру кровотечі, морфологічна експрес-діагностика життєздатності паренхіми яєчка тощо. Однак точні ознаки життєздатності ураженої гонади у разі критичної ішемії яєчка за його перекутом досі відсутні [8, 9]. Тож дослідження динаміки змін морфологічних структур у процесі перебігу гострої торсії яєчка, морфологічних і функціональних порушень, що настають внаслідок

завороту, представляє значний практичний інтерес. тому що нема єдиної думки щодо характеру та ступеня цих змін у гонаді. Подальше вирішення проблеми діагностики та лікування перекуту яєчка у дітей безпосередньо залежить від морфологічних досліджень та вивчення морфогенезу торсії статевої гонади з погляду чинника часу [10]. Особливе значення мають морфологічні дослідження у хворих з критичною ішемією яєчка, коли шансів на відновлення органу майже не залишається.

Метою роботи було вивчити характер і виразність патоморфологічних змін та імуногістохімічні особливості яєчок при гострому перекуті у дітей у терміні 12,1–24 години і більше від початку захворювання.

Матеріали та методи

Для визначення характеру і виразності патоморфологічних змін у гонаді в дітей з гострим перекутом нами проведено гістологічне, гістохімічне та імуногістохімічне дослідження біопатів тканин яєчок, взятих у терміні 12,1-24 години і більше від початку клінічних симптомів гострого однобічного перекуту у 16 хворих під час операції деторсії та орхіопексії чи орхідектомії, з них у 7 (43,75%) пацієнтів у терміні 12,1-18 годин, у 5 (31,25%) - у терміні 18,1-24 години і в 4 (25%) хворих після 24 годин і більше від початку захворювання.

Дослідження проведено з дотриманням основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні засади проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008 рр.), а також наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Для оптимального ефекту фіксації операційного матеріалу використовували розчин 10% нейтрального забуференого формаліну. Після зневоднення матеріалу етиловим спиртом висхідної міцності проводили заливку в парафін. З парафінових блоків на ротаційному мікротомі Leica RM2235 виготовляли серійні зрізи завтовшки 5 ± 1 мкм.

Гістологічне дослідження проводили після забарвлення препаратів гематоксиліном та еозином за стандартною методикою, альціановим синім, за Массоном, постановки ШПК-реакції з обробкою контрольних зрізів амілазою для виявлення глікогену. Візуалізацію первинних антитіл при імуногістохімічному дослідженні (ІГХ) тестикул проводили за допомогою високочутливої системи полімерної детекції DAKO (DAKO, Данія) згідно з інструкцією виробника. Застосовували антитіла до віментину (Clone SP20, Thermo scientific) для ідентифікації суспендоцитів (клітин Сертолі), гладком'язового актину – SMA (Clone Ab-1, Master diagnostica) для виявлення актинових міофіламентів гладком'язових клітин та клітин,

що містять α -актин (фібробласти), кальретиніну – calretinin (Clone SP13, Thermo scientific) – для візуалізації клітин Лейдіга. Антитіло до CD117 (c-Kit, Clone 104D2) може бути використане в діагностиці пухлин яєчка для диференціації семіном та ембріональних карцином. У всіх наших випадках не було позитивної експресії, яка б вказувала на пухлину яєчка, проте CD117 антитіло нами застосовувалося для візуалізації сперматогенного епітелію при гострому перекруті яєчка.

Візуалізацію та фотографування виконували на світлооптичному універсальному лабораторному мікроскопі Leica DM 750 (Leica Microsystems GmbH, Німеччина) із вбудованою цифровою відеокамерою Leica ICC50 HD.

Під час гістологічного дослідження гонад у дітей з гострим перекрутом нами оцінювався стан клітин сперматогенного епітелію та інтерстиціальної тканини. Критерієм для визначення ступеня ушкодження був один із чотирьох варіантів морфологічних змін сім'яних каналців [11].

1. Нормальна будова каналців – статеві клітини різного ступеня диференціювання розташовуються концентричними шарами відповідно до стадій циклу сперматогенного епітелію, при цьому каналці округлої або овальної форми.

2. Легкий ступінь ушкодження клітин сперматогенного епітелію – окремі клітини з ознаками каріопікнозу, каріорексису, вакуолізації, гіперхромності цитоплазми, десквамація одиничних клітин у просвіт каналців, набряк та розпушення власної оболонки, набряк інтерстиціуму, зміна форми каналців.

3. Тяжкий ступінь пошкодження – велика кількість дегенеруючих клітин з десквамацією їх у просвіт каналців, порушення цілісності власної оболонки, перетворення статевих клітин на детрит, пошкодження клітин Лейдіга та інтерстиціуму.

4. Повне або часткове спустошення сім'яних каналців – пристінково збережені лише поодинокі клітини Сертолі та окремі сперматогонії, багато каналців у вигляді тіней внаслідок некрозу.

Візуалізацію та фотографування виконували на світлооптичному універсальному лабораторному мікроскопі Leica DM 750 (Leica Microsystems GmbH, Німеччина) із вбудованою цифровою відеокамерою Leica ICC50 HD.

Результати та їх обговорення

Раніше нами було проведено комплексне морфологічне, в тому числі гістохімічне та імуногістохімічне дослідження гонад у дітей при гострому перекруті з тривалістю симптомів до 6 годин і від 6,1 до 12 годин від початку захворювання. Ступінь перекруту та тривалість симптомів є прогностичними факторами для збереження яєчка в епізодах перекруту. Було встановлено, що ішемія тривалістю до 6 годин характеризувалася помірним ступенем ураження гонад, а деторсія, вико-

нана протягом 6 годин від початку патології, дозволила зберегти яєчко в 100% випадків [3]. При гострому 6–12-годинному перекруті і ступені торсії 360–720° встановлено нові дані про характер патоморфологічних змін, що виникають в умовах гострої ішемії, у клітинах сперматогенного епітелію, компонентах гематотестикулярного бар'єру, клітинах Лейдіга та Сертолі. Якщо на межі 6–7 годин з початку захворювання нами було діагностовано зворотні пошкодження тканин майже у 100% препаратів, то у хворих з 12-годинним перекрутом осередкові незворотні зміни у яєчку були майже у 28,6% випадків. Ішемія характеризувалася осередковою загибеллю інкреторних (стероїдогенез) та екскреторних (сперматогенез) клітин яєчка, сім'яні каналці здебільшого спостерігалися з важкими ушкодженнями сперматогенного епітелію. Проте деяка кількість клітин сперматогенного епітелію в сім'яних каналцях характеризувалася ШИК-позитивною реакцією на глікоген та глікопротеїни, що означало їх функціональну збереженість [6].

Проведене нами теперішнє морфологічне дослідження гонад показало, що тривалість гострого перекруту 12,1–24 години і більше характеризується важкими патологічними змінами, виявленими в яєчках, особливо при тривалості гострого перекруту 18 годин і більше. При проведенні оперативного лікування хворих з критичною ішемією гонади практично не залишається шансів зберегти життєздатність перекрученого яєчка. Гістологічне дослідження тканини яєчка показало великі ішемічні та геморагічні інфаркти, зменшення діаметра сім'яних каналців, некроз сперматогенного епітелію (1 а-г). Більшість сім'яних каналців спустошені (55%). В окремих із них розташовані клітини, які важко ідентифікувати (рис. 1 б), залишки загиблих клітин у вигляді зернистої маси вільно лежать у просвіті каналців (рис. 1 в). У багатьох полях зору візуалізуються каналці у вигляді тіней з неможливістю ідентифікувати структури внаслідок геморагічного чи ішемічного інфарктів (рис. 1 г, д).

Ішемія тривалістю 12,1–18 годин при тестикулярній торсії 360–720° супроводжувалася також важкими ушкодженнями сперматогенного епітелію каналців і руйнуванням власної оболонки. Проте ми звернули увагу, що у 3 із 7 (42,9%) випадків гострого перекруту на межі 12,1–18 годин з початку захворювання нами було діагностовано частково збережений сперматогенний епітелій у сім'яних каналцях. За допомогою спеціальних гістохімічних та імуногістохімічних методик забарвлення гістологічних препаратів нами було визначено морфологічні зміни, що відбуваються під впливом тривалої ішемії в каналцях, що дало змогу встановити мінімальний шанс на врятування гонади з помірними та важкими пошко-

дженнями, а також з частково збереженими каналцями. Гістохімічне дослідження глікогену в цитоплазмі сперматогоній, сперматоцитів та суспенцитів за допомогою ШИК-реакції показало, що клітини сперматогенного епітелію характеризувалися незворотними змінами, що передували некрозу (рис. 2 а), хоча у просвіті одиничних каналців виявлено гігантські багатоядерні сперматиди

з відносно збереженим глікогеном (рис. 2 б). У частині каналців збережений сперматогенний епітелій (рис. 2 а), проте в багатьох каналцях визначається злуцвання всіх типів генеративних клітин. В окремих каналцях клітини Сертолі характеризуються каріопікнозом і вираженою вакуолізацією цитоплазми, а також діагностуються спустошені каналці.

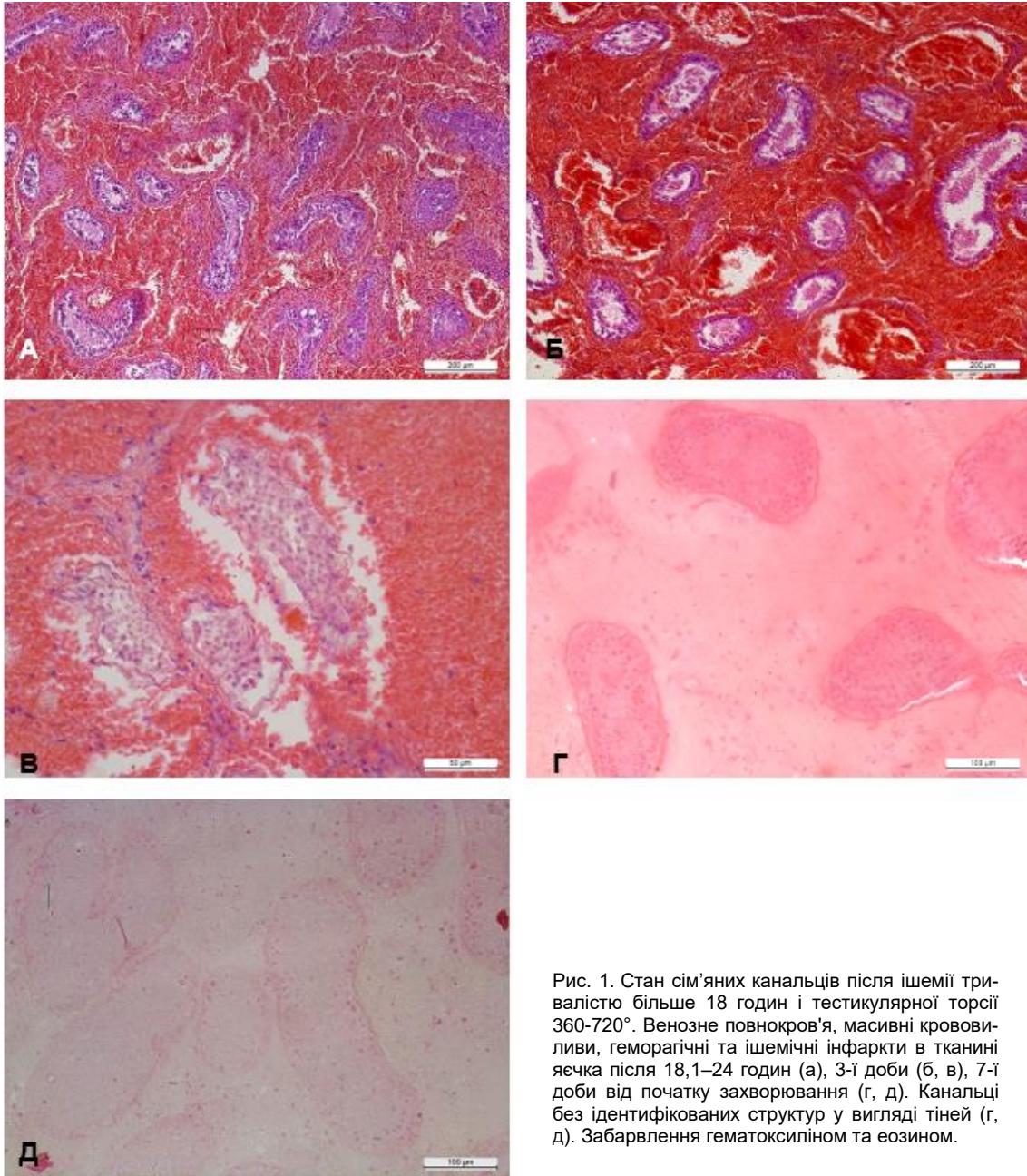


Рис. 1. Стан сім'яних каналців після ішемії тривалістю більше 18 годин і тестикулярної торсії 360-720°. Венозне повнокров'я, масивні крововиливи, геморагічні та ішемічні інфаркти в тканині яєчка після 18,1–24 годин (а), 3-ї доби (б, в), 7-ї доби від початку захворювання (г, д). Канальці без ідентифікованих структур у вигляді тіней (г, д). Забарвлення гематоксилином та еозином.

Між клітинними елементами з'являлися різного розміру порожнини. При порушенні цілісності власної оболонки каналців її сполучнотканинні компоненти заповнювали їх просвіт. При гістохімічному забарвленні альціановим синім в

окремих препаратах визначалася позитивна реакція кислих мукополісахаридів, що означало наявність секреторної активності сперматогенного епітелію, відсутність порушень у синтезі протеогліканів і глікозаміногліканів у сперматогенезі. Також виявлялося накопичення глікопротеїнів та

протеогліканів у власній оболонці каналців з набуханням та її розволокненням (рис. 2 в). У багатьох полях зору візуалізувалися каналці у вигляді тіней з неможливістю ідентифікувати структури внаслідок геморагічного чи ішемічного інфарктів, як при ішемії тривалістю більше 18 годин (рис. 1 г, д). Гістохімічна методика за Массоном демонструвала деструкцію колагенових во-

локон інтерстиціуму (рис. 2 е), клітини сперматогенного епітелію відокремлені від базальної мембрани каналців (рис. 2 а-е), деякі з них в стані некробіозу (рис. 2 а). Імуногістохімічне типування демонструвало відсутність експресії віментину і кальретинину, що вказувало на загибель суспендоцитів (клітин Сертолі) та клітин Лейдіга (рис. 2 г, д).

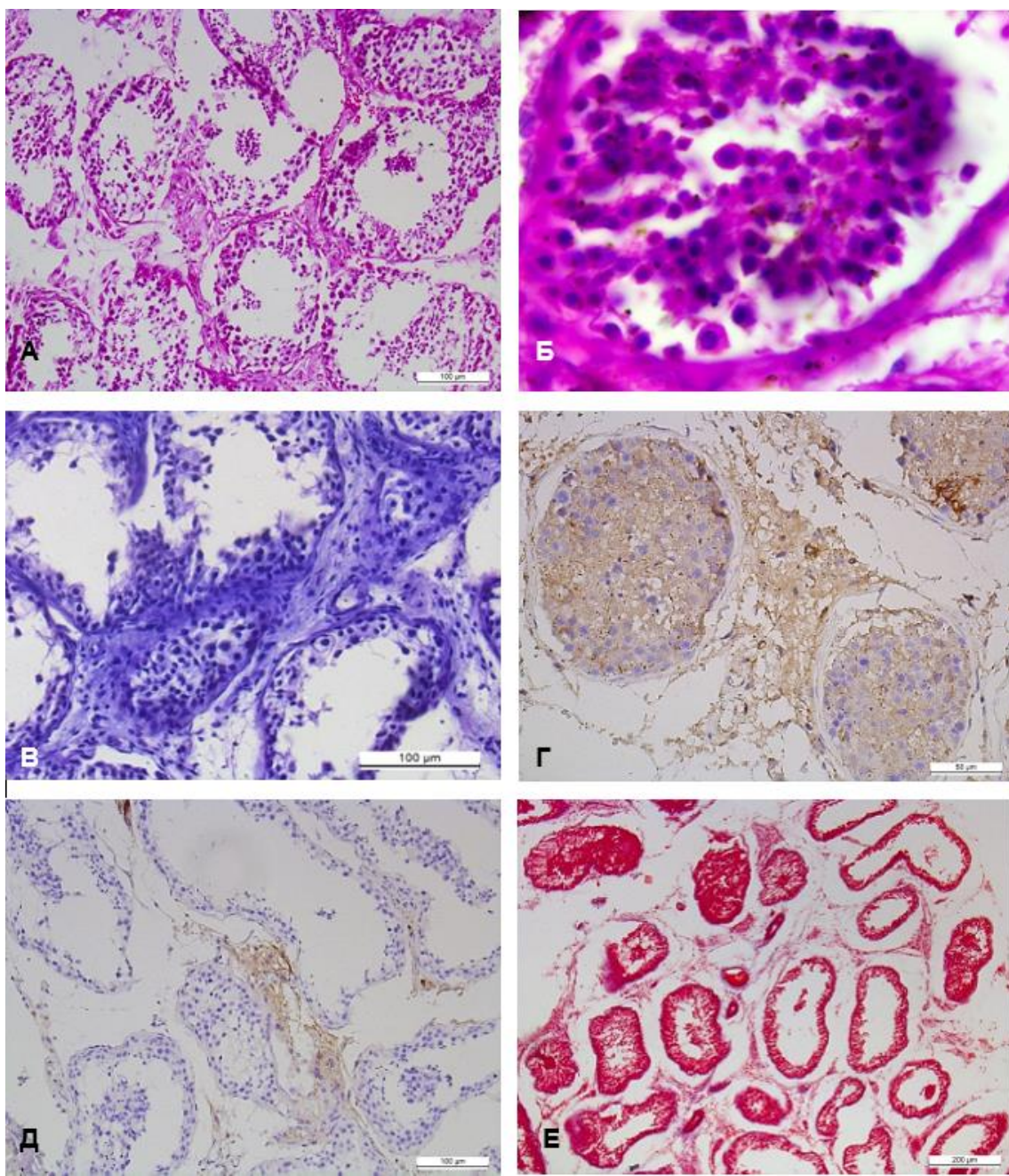


Рис. 2. Стан сім'яних каналців після 12,1–24 годинної ішемії, 3-ї та 7-ї доби ішемії та тестикулярної торсії 360°. Дослідження глікогену в цитоплазмі сперматогоній, сперматоцитів та суспендоцитів після 12,1 годинної ішемії (а, б); реакція на нейтральні глікопротеїни та сульфатовані протеоглікани в сполучнотканинних структурах сім'яних каналців з їх накопиченням у власній оболонці каналців, набуханням та її розволокненням (в); відсутність експресії віментину клітинами Сертолі (г) та кальретинину – клітинами Лейдіга (д); деструкція інтерстиціуму – руйнування клітинних елементів сполучної тканини (е). Забарвлення: а, б – ШИК-реакція; в – альціановим синім; г – ІГХТ МАТ до віментину (vimentin, Clone SP20, Thermo scientific); д – ІГХТ МАТ до кальретинину (calretinin, Clone: SP13, Thermo scientific); е – забарвлення за Массоном.

Таким чином, характер і виразність патоморфологічних змін та імуногістохімічні особливості яєчок у дітей з гострим перекрутом у терміни 12,1–24 години і більше від початку захворювання супроводжувалися тяжким ступенем ушкодження з великою кількістю дегенеруючих клітин з десквамацією їх у просвіт каналців, порушенням цілісності власної оболонки, перетворенням статевих клітин на детрит, пошкодженням клітин Лейдіга та інтерстиціуму. Гістопатологічне дослідження біоптатів яєчок виявило повне або часткове спустошення сім'яних каналців. Проте у терміни 12,1–18 годин з початку захворювання в окремих гістологічних препаратах діагностувались пристінково збережені поодинокі клітини Сертолі та окремі сперматогонії. При гістохімічному забарвленні альціановим синім визначалася позитивна реакція кислих мукополісахаридів, що означало наявність секреторної активності сперматогенного епітелію, відсутність порушень у синтезі протеогліканів і глікозаміногліканів у сперматогенезі.

За даними багатьох авторів, перекрут яєчка, або тестикулярна торсія – це невідкладна урологічна ситуація, яка може виникнути в будь-якому віці. Щорічна захворюваність на перекрут яєчка становить приблизно 1/4000 осіб віком до 25 років, з найбільшою поширеністю у віці від 12 до 18 років [12, 13], інше дослідження виявило щорічну захворюваність 3,8 на 100 000 чоловіків до 18 років [14]. Зазвичай перекрут яєчка відбувається без видимої причини, але пов'язаний серед інших з анатомічними, травматичними факторами та факторами навколишнього середовища [15]. Найчастіше етіологія перекруту яєчка пов'язана з анатомічним дефектом, часто двобічним, спричиненим розширенням вгору вагінальної оболонки сім'яного канатика, внаслідок чого яєчко вільно знаходиться у порожнині оболонки, дозволяючи йому обертатися. З цієї причини пік захворюваності на перекрут яєчка припадає на період статевого дозрівання, саме тоді, коли маса яєчка швидко збільшується, що схиляє його до перекруту [16].

Результати залежать від тяжкості або ступеня торсії та ішемії, а також від часу до деторсії. Збереження яєчок вище у пацієнтів віком до 21 року (41% проти 70% у пацієнтів старше 21 року), що, ймовірно, пов'язано із затримкою представлення клінічних симптомів і більшим ступенем перекруту у літніх пацієнтів [17, 18].

Необхідна швидка оцінка та лікування, щоб врятувати яєчко після епізоду перекруту, при тому що перекрут повинен бути виключений у всіх пацієнтів із гострою мошонкою. Перекрут яєчка є клінічним діагнозом, і пацієнти зазвичай мають сильний гострий односторонній біль у мошонці, нудоту та блювання. Фізичне обстеження може виявити високо підняте яєчко з відсутністю кремаштерного рефлексу. Якщо анамнез і фізикальне

обстеження свідчать про перекрут, показано негайне хірургічне дослідження, яке не слід відкладати для проведення візуалізаційних досліджень. За даними авторів, існує вікно від чотирьох до восьми годин, перш ніж виникає постійне ішемічне пошкодження [19]. За нашими попередніми даними, зворотні пошкодження тканин були діагностовані майже у 100% препаратів на межі 6–7 годин від початку клінічних симптомів, проте у хворих з 12-годинним перекрутом осередкові незворотні зміни у яєчку були виявлені майже у 28,6% випадків [3, 6]. Затримка діагностики в більшості випадків може вимагати орхідектомії або може бути пов'язана зі зниженням фертильності.

Тестикулярна торсія призводить до пошкодження тканини яєчок і сперматогенезу через різні гіпотетичні механізми; однак існує консенсус, що наслідки ішемії, ішемічно-реперфузійного ушкодження та окислювального стресу спричиняють найбільш руйнівні ефекти [20].

García-Fernández G et al. [15] наводить клінічний випадок, в якому 15-річний хлопець без особливого анамнезу був оглянутий у відділенні невідкладної допомоги з раптовим і безперервним болем у лівому яєчку. Біль іррадіював у живіт і пахову ділянку зліва, супроводжувався нудотою та блюванням, які тривали більше 12 годин. Доплерографія показала зміни, що вказували на перекрут яєчка. Проведене хірургічне втручання показало некротизоване ліве яєчко з поворотом сім'яного канатика на 360°. Виконана лівостороння орхідектомія. Таким чином, перекрут яєчка завжди слід вважати однією з основних причин гострого болю в мошонці. Слід уникати затримки в діагностиці, оскільки це безпосередньо пов'язано з відсотком збереження або втрати яєчка.

Негайна діагностика та лікування мають на меті мінімізувати ураження яєчок. Однак часто зустрічається перекрут яєчка неправильно діагностований як ордоєпідидиміт, або пацієнт надто довго звертався за медичною допомогою, що призвело до незворотного порушення сперматогенезу, атрофії яєчок і низької фертильності у дорослому віці [21, 22].

У теперішньому дослідженні нами показано, що ішемія тривалістю 12,1–24 години та довше характеризується важким ступенем пошкодження гонад, при якому виявляється геморагічний інфаркт тестикул, наявність гемолізованих еритроцитів в інтерстиціумі. Спостерігається велика кількість дегенеруючих клітин, з відділенням їх у просвіт каналців, перетворення клітин сперматогенного епітелію в детрит, порушення цілості власної оболонки каналців, повне або часткове спустошення сім'яних каналців.

Проте у терміни 12,1–18 годин з початку захворювання в окремих гістологічних препаратах діагностувались пристінково збережені поодинокі клітини Сертолі та поодинокі сперматогонії,

При гістохімічному забарвленні альціановим синім визначалася позитивна реакція кислих мукополісахаридів, що означало наявність секреторної активності сперматогенного епітелію, відсутність порушень у синтезі протеогліканів і глікозаміногліканів у сперматогенезі, що означало наявність мінімального шансу на врятування гонади. При тривалості ішемії понад 18 годин майже всі сім'яні каналці без ідентифікованих структур у вигляді тіней, що вказує на коагуляційний некроз, імуногістохімічне типування демонструє відсутність експресії віментину та кальретинину, що означає загибель суспендоцитів (клітин Сертолі) та клітин Лейдіга. При проведенні оперативного лікування після 24 годин тестикулярної торсії практично не залишається шансів зберегти життєздатність яєчка. Макроскопічно яєчко сильно збільшене в розмірах і перетворюється на мішок м'якої, некротизованої, просоченої кров'ю тканини. Таким чином, операцією вибору у дітей з гострою повною торсією яєчка після 18 годин з початку захворювання є орхідектомія.

Висновки

Загальна тривалість симптомів та ступінь перекруту чоловічої гонади є основними прогностичними факторами щодо прогнозу збереження або некрозу яєчка в епізодах перекруту.

Критична ішемія яєчка тривалістю 12,1–24 години та довше характеризується тяжким ступенем пошкодження з великою кількістю дегенеруючих клітин з десквамацією їх у просвіт каналців, порушенням цілісності власної оболонки, перетворенням статевих клітин на детрит. Імуногістохімічне типування демонструє відсутність експресії кальретинину, що вказує на загибель клітин Лейдіга.

У 3 із 7 (42,9%) випадків гострого перекруту на межі 12,1–18 годин з початку захворювання діагностовано частково збережений сперматогенний епітелій у сім'яних каналцях, пристінково

збережені лише поодинокі клітини Сертолі та окремі сперматогонії. Після 18 годин гострої ішемії майже всі каналці у вигляді тіней внаслідок некрозу. Імуногістохімічне типування демонструє у більшості випадків відсутність експресії віментину, що вказує на загибель суспендоцитів (клітин Сертолі).

Після 18 годин з початку гострої повної тестикулярної торсії у дітей операцією вибору є орхідектомія.

Перспективи подальших досліджень

Негайна діагностика та лікування мають на меті мінімізувати ураження яєчка при його гострому перекруті. Стероїдні клітини в яєчку - клітини Лейдіга розташовані в інтерстиціальному відділі, відіграють життєво важливу роль у розвитку репродуктивного тракту чоловіків, підтримці належного сперматогенезу та загальної репродуктивної функції чоловіків.

В подальшому з ціллю уніфікації та систематизації патологічних змін у яєчку за його перекрутом в залежності від часу з початку захворювання, ми пропонуємо дезінтегрувати ішемію яєчка як компенсовану (перші 6 годин з початку захворювання), субкомпенсовану ішемію (6,1–12 годин з початку захворювання) та критичну ішемію (12,1–24 години і більше з початку захворювання) і впровадити рекомендації щодо прогнозування розвитку пошкоджень яєчка на підставі визначення експресії віментину та кальретинину, що вказує на наявність чи загибель суспендоцитів (клітин Сертолі) та клітин Лейдіга

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

Літературні джерела References

1. Schick MA, Sternard BT, authors: Testicular Torsion. Treasure Island: StatPearls Publishing; 2023. 305 p. PMID: 28846325.
2. Vesely MYu, Vesely SV. [Early rehabilitation of critical testicular ischemia in children with acute torsion]. Neonatology, surgery and perinatal medicine. 2021;4(42):40-44. Ukrainian. DOI: 10.24061/2413-4260.XI.4.42.2021.7.
3. Volos L, Gorbatyuk O, Veselyi M, Vesely S, Lavrov D, Hladkiy O, Usenko T. Morphological and immunohistochemical changes in the gonads of children 2-6 hours after acute unilateral testicular torsion. Wiad Lek. 2023;76(11):2351-8. doi: 10.36740/WLek202311102. PMID: 38112348
4. Keays M, Rosenberg H. Testicular torsion. CMAJ. 2019;191(28):792. DOI: 10.1503/cmaj.190158.
5. Pogorelić Z, Mustapić K, Jukić M, Todoric J, Mrkličić I, Meštrović J, Jurić I, Furlan D. Management of acute scrotum in children: a 25-year single center experience on 558 pediatric patients. Can J Urol. 2016;23(6):8594-8601.
6. Volos LI, Horbatyuk OM, Vesely MU, Vesely SV, Lavrov DV, Gladky AP, Usenko TV. [Histopathological changes and immunohistochemical characteristics of the testis in children with subcompensated ischemia in acute torsion]. Medical science of Ukraine. 2023;19(4):37-45. Ukrainian. <https://doi.org/10.32345/2664-4738.4.2023.05>

7. Shimizu S, Tsounapi P, Dimitriadis F, Higashi Y, Shimizu T, Saito M. Testicular torsion-detorsion and potential therapeutic treatments: A possible role for ischemic postconditioning. *Int J Urol.* 2016;23(6):454-63. DOI: 10.1111/iju.13110.
8. Shields LB, Daniels MW, Peppas DS, Rosenberg E. Sonography Findings Predict Testicular Viability in Pediatric Patients with Testicular Torsion. *Cureus.* 2022;14(1):21790. doi: 10.7759/cureus.21790. PMID: 35251858; PMCID: PMC8890983.
9. Zondi N, Pilloy WJ, Ntuli TS, Mutambirwa S, Nyakale NE. The effectiveness of radionuclide scintigraphy in confirming testicular torsion at delayed presentation. *Transl Androl Urol.* 2023;12(10):1550-60. doi: 10.21037/tau-23-116. Epub 2023 Oct 24. PMID: 37969780; PMCID: PMC10643379.
10. Veselyy MU, Vtselyy SV. [Diagnostics, Treatment and Rehabilitation of Testicular Torsion in Children (literature review)]. *Paediatric Surgery. Ukraine.* 2021;2(71):63-71; doi 10.15574/PS.2021.71.63.
11. Oettle AG, Harrison RG. The histological changes produced in the rat testis by temporary and permanent occlusion of the testicular artery. *J Pathol Bacteriol.* 1952;64(2):273-97. DOI: 10.1002/path.1700640204.
12. Laher A, Ragavan S, Mehta P, Adam A. Testicular torsion in the emergency room: a review 459 of detection and management strategies. *Open Access Emerg Med.* 2020;12:237-246.
13. Chan EP, Wang PZT, Myslik F, Chen H, Dave S. Identifying symptoms delays in assessment, 485 diagnosis, and operative management for testicular torsion in a single-payer health-care 486 system. *J Pediatr Urol.* 2019;15(3):251-7.
14. Zhao L, Lautz T, Meeks J, Maizels M. Pediatric testicular torsion epidemiology using a 488 national database: incidence, risk of orchiectomy and possible measures toward improving 489 the quality of care. *J Urol.* 2011;186(5):2009-13.
15. García-Fernández G, Bravo-Hernández A, Bautista-Cruz R. [Testicular torsion: A case report]. *Cir Cir.* 2017;85(5):432-5. Spanish. doi: 10.1016/j.circir.2016.05.014. Epub 2016 Aug 8. PMID: 27423885.
16. Fernando L, Renato TF, Regina P, Anderson J, Thomas R, Jorge E. Long-term effects of the testicular torsion on the spermatogenesis of the contralateral testis and the preventive value of the twisted testis orchiopididymectomy. *Acta Cirúrgica Brasileira.* 2012;27(6):388-95.
17. Rosenberg H, Long B, Keays M. Just the facts: assessment and management of testicular 463 torsion in the emergency department. *CJEM.* 2021;23(6):740-3.
18. Cummings JM, Boullier JA, Sekhon D, Bose K. Adult testicular torsion. *J Urol.* 2002;167(5):2109-10.
19. Sharp VJ, Kieran K, Arlen AM. Testicular torsion: diagnosis, evaluation, and management. *Am Fam Physician.* 2013;88(12):835-40. PMID: 24364548.
20. Alawamh OAH, Flannigan R, Hayden R, Goldstein M, Li PS, Lee RK. Testicular Torsion and Spermatogenesis. *Adv Exp Med Biol.* 2021;1288:287-306. doi: 10.1007/978-3-030-77779-1_14. PMID: 34453742.
21. Mansbach JM, Forbes P, Peters C. Testicular torsion and risk factors for orchiectomy. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2005;159(12):1167-71
22. Taskinen S, Taskinen M, Rintala R. Testicular torsion: orchiectomy or orchiopexy? *J Pediatr Urol.* 2008;4(3):210-3.

Волос Л.І., Горбатюк О.М., Веселий М.Ю., Веселий С.В., Лавров Д.В. Патоморфологічна та імуногістохімічна характеристика яєчка з критичною ішемією при його гострому перекруті у дітей.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Виникнення гострого перекруту яєчка у дітей призводить до його ішемії, а в разі відсутності своєчасної медичної допомоги – до втрати органу. Термін від 12 годин до 24 годин з початку захворювання залишає лише 20% шансів на збереження статевої гонади. Через 24 години після початку захворювання шансів на збереження життєздатності органу не залишається. Терміни протікання гострого перекруту яєчка, коли шанс на збереження статевої гонади залишається сумнівним, називають критичною ішемією. Точні ознаки життєздатності ураженої гонади у разі критичної ішемії яєчка внаслідок його перекруту досі відсутні. Тож дослідження динаміки змін морфологічних структур у процесі перебігу гострої торсії яєчка, морфологічних і функціональних порушень, що настають внаслідок завороту, представляє значний практичний інтерес, тому що нема єдиної думки щодо характеру та ступеня цих змін в ураженій гонаді. **Мета.** Вивчення характеру та вираженості патоморфологічних змін та імуногістохімічних особливостей яєчка при його гострому перекруті у дітей у терміни 12, 1–24 години і більше від початку захворювання. **Методи.** Проведено гістологічне, гістохімічне та імуногістохімічне дослідження біопатів тканин яєчок, взятих під час операції деторсії та орхіопексії і орхідектомії у терміни від 12, 1–24 години і більше від початку клінічних симптомів гострого однобічного перекруту у 16 хворих. **Результати.** Морфологічне дослідження статевих залоз показало, що тривалість гострого перекруту 12, 1–24 години і більше характеризується тяжкими патологічними змінами, виявленими в яєчках. Після 18 годин гострої ішемії майже у всіх полях зору візуалізувалися каналці у вигляді тіней з неможливістю ідентифікувати струк-

тури внаслідок геморагічного чи ішемічного інфарктів. Імуногістохімічне типкування демонструвало відсутність експресії віментину і кальретинину, що вказувало на загибель суспендоцитів (клітин Сертолі) та клітин Лейдіга. При тривалості гострого переверту 12,1-18 годин гістохімічне дослідження глікогену в цитоплазмі сперматогоній, сперматоцитів та суспендоцитів за допомогою ШИК-реакції показало, що деякі клітини сперматогенного епітелію характеризувалися незворотними змінами, що передували некрозу, хоча у просвіті одиничних канальців виявлено гігантські багатоядерні сперматиди з відносно збереженим глікогеном, що означало наявність мінімального шансу на врятування гонади. **Підсумок.** Загальна тривалість симптомів та ступінь переверту чоловічої гонади є основними прогностичними факторами щодо збереження або некрозу яєчка в епізодах переверту. Тривалість гострого переверту 12,1-18 годин за даними морфологічного дослідження залишає у 42,9% випадків наявність мінімального шансу на врятування статеві гонади. Після 18 годин з початку гострої повної тестикулярної торсії у дітей операцією вибору є орхідектомія.

Ключові слова: переверт (заворот, торсія) яєчка, критична ішемія, сім'яні канальці, клітини Лейдіга, клітини Сертолі, гістопатологія, імуногістохімія.

M.O. Kalinichenko
O.Yu. Stepanenko

Kharkiv National Medical
University
Kharkiv, Ukraine



Надійшла: 12.02.2024

Прийнята: 10.03.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.41-48>

UDC: 611.817.1:611.133.068

INDIVIDUAL VARIABILITY OF HUMAN CEREBELLAR ARTERIES AND THEIR PERFUSION TERRITORIES

Kalinichenko M.O.  ✉, Stepanenko O.Yu.  Individual variability of human cerebellar arteries and their perfusion territories.

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Three paired arteries provide the blood supply of the cerebellum: the superior cerebellar artery, anterior inferior cerebellar artery, and posterior inferior cerebellar artery. The origin of these arteries, the extent of their development and their duplication may serve as factors influencing variations in the vascular supply territories. **The aim** of this study was to determine the characteristics of individual variability of the human cerebellar arteries and their perfusion territory. **Methods.** The study was conducted on 100 samples. Each sample included cerebellum and an adjacent brainstem. They were obtained from adult human cadavers (67 male and 33 female) who died of causes unrelated to brain pathology at the age between 20 and 92. To analyze the variability of perfusion territories of the cerebellar arteries, a method involving sectorial division of the superior and inferior surfaces of the cerebellum was proposed. **Results and conclusion.** In 95 samples, the SCA arose from the basilar artery on both sides as a single vessel. In two samples, it arose as a duplicate trunk from the basilar artery bilaterally. We also found unilateral duplication of the left SCA in three samples. The AICA arose from the lower third of the basilar artery in 69 samples on the right and in 77 on the left; from the middle third in 11 on the right and 11 on the left. It was presented as a common trunk with the PICA in 18 samples on the right and 10 on the left. The AICA was found duplicated in one sample bilaterally. In two samples it was absent on one side. The PICA most often arose from the vertebral artery (82 samples), rarely as a common trunk with AICA. It was duplicated in two samples on the left and absent in four samples on the right and four on the left. In cases of duplication of the PICA, its perfusion territory expands towards the central sectors of the inferior surface of the cerebellum. In the absence of the AICA, the PICA enlarges its perfusion territory, replacing it, and vice versa. Occasionally, the absent or poorly developed PICA is replaced by a PICA from the opposite hemisphere. There were not any cases of simultaneous absence of both AICA and PICA on one side. The probability of the extension of branches of the AICA onto specific sectors of the inferior surface of the cerebellum decreases from anterior to posterior and from the sides towards the center, while for the PICA there is an opposite trend. Additionally, this study describes three variations of the course of the arteries when both AICA and PICA originate as a common trunk from the basilar artery.


Key words: human, anatomy, cerebellum, SCA, AICA, PICA.

Citation:

Kalinichenko MO, Stepanenko OYu. Individual variability of human cerebellar arteries and their perfusion territories. *Morphologia*. 2024;18(1):41-8.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.41-48>

 Kalinichenko M.O. 0000-0002-9450-6277

 Stepanenko O.Yu. 0000-0002-5686-0857

✉ kelend13@gmail.com, mokalinichenko.po20@knmu.edu.ua

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Introduction

One of the leading causes of mortality worldwide is cardiovascular diseases, including ischemic and hemorrhagic strokes [1]. Approximately 20 to 30% of ischemic strokes occur within the territory of the vertebrobasilar system [2]. According to several epidemiological studies, 3-4% of all ischemic strokes are represented by cerebellar strokes, the majority of which are unilateral [3-5]. Large cerebellar strokes

are typically classified based on the territories supplied by the three paired arteries providing its blood supply: the superior cerebellar artery (a. cerebelli superior, SCA), anterior inferior cerebellar artery (a. cerebelli inferior anterior, AICA), and posterior inferior cerebellar artery (a. cerebelli inferior posterior, PICA) [4, 6-8]. Strokes in the territory of the SCA constitute 36%, AICA – 12%, and PICA – 40%; an additional 12% involve the simultaneous involvement of multiple regions [3].

The perfusion territories of the SCA, AICA and PICA are variable. The SCA typically supplies the superior surface of the cerebellum (quadrangular and superior semilunar lobules), superior vermis (central lobule, culmen, declive and folium), deep cerebellar nuclei, cerebellar peduncles, midbrain and brainstem. The primary role of the AICA lies in supplying the tegmentum of the midbrain and the middle cerebellar peduncles. In comparison to the SCA, the AICA has a smaller territory of blood supply specifically to the cerebellum (anterior surfaces of the gracile, superior and inferior semilunar lobules and the flocculus). The PICA supplies pyramid, uvula, nodule, tuber and sometimes the declive of the vermis. It supplies the central and inferior portions of the inferior semilunar, gracile, biventer lobules and the tonsil. The PICA also gives off branches to the lateral surface of the pons, the olivary, fastigial and dentate nuclei.

The perfusion territories of the cerebellar arteries are interrelated and can replace one another. The origin of these arteries, the extent of their development and their duplication may serve as factors influencing variations in the vascular supply territories. Comprehensive evaluation of the distribution of superficial cerebellar arteries has not been conducted previously.

The aim of this study was to determine the characteristics of individual variability of the human cerebellar arteries and their perfusion territory.

Materials and methods

The study was conducted on 100 samples. Each sample included cerebellum and an adjacent brainstem. They were obtained from adult human cadavers (67 male and 33 female) who died of causes unrelated to brain pathology at the age between 20 and 92. The Commission on Bioethics of the Kharkiv National Medical University established that the research does not contradict the basic bioethical standards of the Helsinki Declaration, the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine (1977), relevant WHO regulations and laws of Ukraine.

To analyze the course of superficial cerebellar arteries and to determine their perfusion territories, the surface of the cerebellum was divided into sectors.

The superior surface of the cerebellar hemisphere was divided into six sectors (Fig. 1). An angle was constructed, formed by two lines belonging to the superior surface of the cerebellum. One line runs along the anterior edge of the cerebellum, while the other originates at the intersection of the mid-sagittal plane and the superior vermis. The angle was divided into three equal parts corresponding to the lateral, central, and medial sectors. The superior posterior fissure of the cerebellum divides the sectors of the quadrangular lobule (quadrangular lateral (Q_l), quadrangular central (Q_c) and quadrangular medial (Q_m)) and the sectors of the superior semilunar lobule (superior semilunar lateral (S_l), superior semilunar central (S_c) and superior semilunar medial (S_m)). The opposite hemisphere is divided in a similar manner.

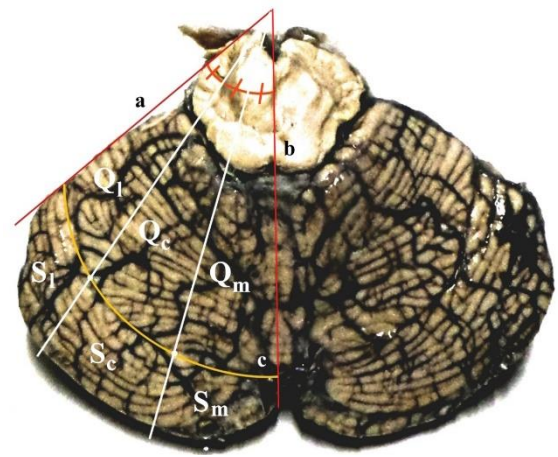


Fig. 1. Division of the superior surface of the left hemisphere of the cerebellum into sectors: a – the line running along the anterior edge of the cerebellum; b – the line originating at the intersection of the mid-sagittal plane and the superior vermis; c – the superior posterior fissure of the cerebellum.

The inferior surface of the cerebellar hemisphere was divided into ten sectors (Fig. 2). An angle was constructed, formed by two lines belonging to the anterior surface of the cerebellum. One line runs along the medial edge of the tonsil, while the other follows the anterior part of the horizontal fissure. This angle was divided into three equal parts corresponding to the anterior, central, and posterior sectors. The secondary fissure of the cerebellum divides the sector of the tonsil (T) and the sectors of the biventral lobule (biventral anterior (B_a), biventral central (B_c) and biventral posterior (B_p)). The anteroinferior and posterolateral fissures divide the sectors of the gracile lobule (gracile anterior (G_a), gracile central (G_c), gracile posterior (G_p)). The horizontal fissure divides the superior semilunar lobule and the sectors of the inferior semilunar lobule (inferior semilunar anterior (I_a), inferior semilunar central (I_c) and inferior semilunar posterior (I_p)). The opposite hemisphere is divided in a similar manner.

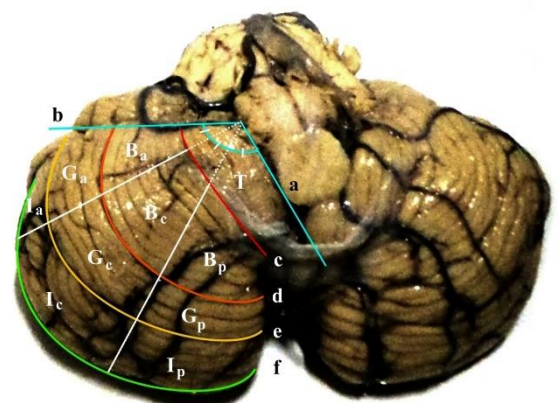


Fig. 2. Division of the inferior surface of the right hemisphere of the cerebellum into sectors: a – the line running along the medial edge of the tonsil; b – the line running along the anterior part of the horizontal fissure; c – the secondary fissure of the cerebellum; d – the anteroinferior fissure; e – the posterolateral fissure; f – the horizontal fissure.

Results

SCA

In 95 samples, the SCA arose from the basilar artery on both sides as a single vessel. In two samples, it arose as a duplicate trunk from the basilar artery bilaterally. We also found unilateral duplication of the left SCA in three samples. In cases of duplication of the SCA, its more caudal branch typically runs alongside the first one and parallel to it, heading towards the most lateral sectors of the superior surface of the cerebellum (Q₁, S₁).

Sometimes, in cases of duplication of the SCA, its more caudal branch originated from the middle third of the basilar artery (1 case on the right, 2 cases on the left). In this variant, the first segment [9] of this branch takes a more oblique course in the rostral direction. No significant differences in perfusion territory were observed in cases of SCA duplication.

As evident from the data in Figure 3, the terminal branches of the SCA, distributing over the superior surface of the cerebellum, may be absent over a relatively large area. In two samples, instead of the SCA, the terminal branches of the PICA extended to these areas from the inferior surface of the cerebellum. In the remaining 10 samples (4 on the right, 6 on the left), no arteries were observed in these sectors at all, resulting in “gray zones”. This could be explained by the continuation of the course of these arteries in deeper layers of the cortex.

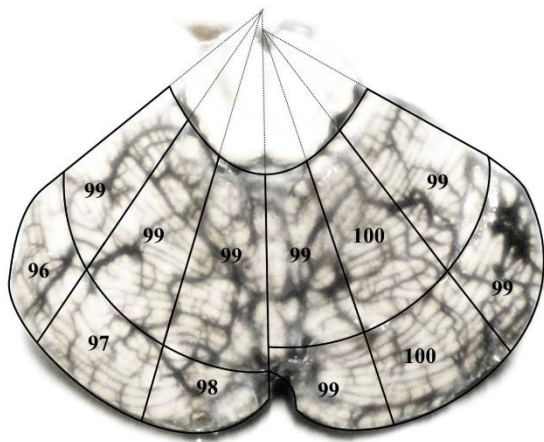


Fig. 3. Distribution of terminal branches of the SCA across sectors of the superior surface of the cerebellum (indicated the number of cases of typical distribution).

Among all the perfusion territories of the SCA, the folium of the vermis is the most variable. This variability is associated with its location on the border between the territories of the SCA and PICA. The folium is supplied by the SCA alone in 51 samples, by PICA in 20 samples and by branches of both arteries simultaneously in 24 samples. In the absence of PICA, the folium receives blood supply from the AICA in two samples and from both SCA and AICA in three samples.

AICA

The AICA arose from the lower third of the basilar artery in 69 samples on the right and in 77 on the left; from the middle third in 11 on the right and 11 on the left. No significant differences in the course of artery branches were observed with these variations of its origin.

As evident from the data in Figure 4, the AICA typically supplies sectors B_a, G_a, and I_a. Due to the course features of the AICA branches, the probability of their extension onto specific sectors of the inferior surface of the cerebellum decreases from anterior to posterior and from the sides towards the center.

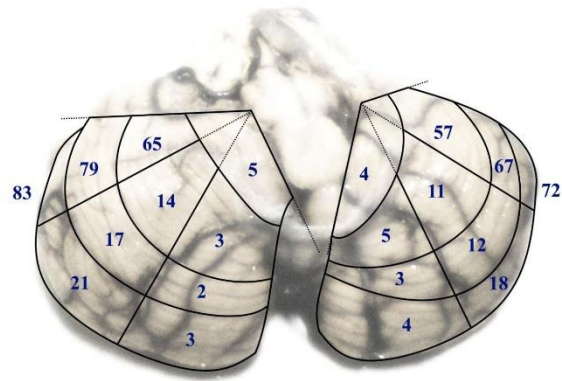


Fig. 4. Distribution of terminal branches of the AICA across sectors of the inferior surface of the cerebellum (indicated the number of cases of typical distribution).

The AICA was absent in only two cases (1 on the right, 1 on the left). In these cases, the origin and course of the PICA from the same side remained unchanged, but its perfusion territory expanded to the flocculus and anterior sectors (B_a, G_a, I_a). This expansion occurred due to additional branches of the PICA that branched off at the level of the tonsillomedullary segment [9], before it makes the first loop in the cranial direction. In one case of the AICA absence, the vascular structure of the SCA also underwent changes: its lateral branch extended to sectors G_a and I_a.

The duplication of the AICA was observed bilaterally in one sample, simultaneously with the absence of the PICA on the left. In this case, the caudal branch originated from the lower third of the basilar artery, and the rostral branch – from the middle third. On both sides, the duplicated AICAs ran close and parallel to each other up to the ponto-medullary junction, after which they repeated the course of the rostral and caudal branches of the classical AICA. Another distinctive difference was the larger diameter of these vessels and the pattern of their distribution across the inferior part of the cerebellar cortex. On the right, the rostral branch reached sectors G_a, G_c, I_a, I_c, and the caudal branch – B_a, B_c. On the left, in the absence of PICA, the rostral branch reached sectors B_a, G_a, I_a, and the caudal branch occupied all other sectors of the inferior surface of the left hemisphere.

PICA

The PICA most often arose from the vertebral artery (78 on the right, 86 on the left), near the inferior olivary complex of the medulla oblongata.

As seen from the data in Figure 5, the PICA most frequently supplies sectors T, B_p, G_p, I_p, with lower probability sectors B_c, G_c, I_c, and the least probability sectors B_a, G_a, I_a. The distribution pattern in the data regarding the “gray zones” of the inferior surface of the cerebellum is different (Fig. 6). The probability of their appearance decreases from anterior to posterior and from the center towards the sides.

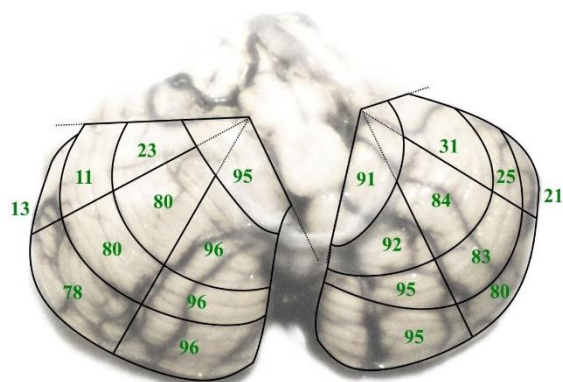


Fig. 5. Distribution of terminal branches of the PICA across sectors of the inferior surface of the cerebellum (indicated the number of cases of typical distribution).

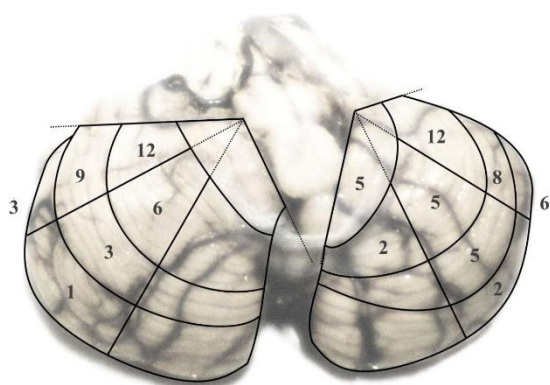


Fig. 6. Distribution of “gray zones” across the sectors of the inferior surface of the cerebellum.

The PICA was absent in four cases on the right and four cases on the left. In these cases, the terminal branches of the caudal AICA had a larger diameter, extended to the central sectors of the corresponding hemisphere's inferior surface (B_c, G_c, I_c) and branched into smaller vessels within these sectors.

Duplication of the PICA was observed twice on the left side. In these cases, the more rostral PICA originated 1.5-2 cm above the caudal one, ran parallel to it and supplied sectors B_c, G_c, I_c.

Sometimes (in two samples on the right and in two on the left), the sectors B_p, G_p or I_p received blood from the contralateral PICA. Such redistribution of

the vascular bed occurred to compensate for the weakly developed PICA, which shared a common segment with the AICA (one case on the left) or in the absence of PICA (two cases on the right, one on the left).

Common trunk AICA-PICA

In 18 cases on the right and 10 cases on the left (including four cases bilaterally), the AICA and PICA originated as a common trunk from the basilar artery. We observed three variants of the vascular pattern associated with this variation, characterized by differences in the length of the common segment, the course of the arteries, and the perfusion territories.

The first variant was observed 9 times on the right and 2 times on the left (Fig. 7). The common trunk follows the course of the classical AICA and then its caudal branch extends to the middle part of the flocculus, where it bifurcates into two branches: AICA and PICA. In some cases (3 on the right), the bifurcation occurs earlier, immediately after crossing the oculomotor nerve. The AICA continues along the horizontal fissure, giving off a rostral branch near the lateral part of the flocculus, then turns back, goes medially and caudally, encircling the flocculus. The AICA then often extends its branches to sector I_c. The PICA makes a sharp turn backward, following the medial edge of the tonsil, encircling it, and then branching into smaller vessels on the inferior surface of the cerebellum.

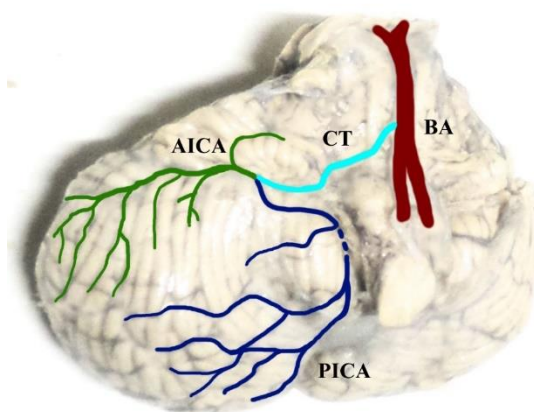


Fig. 7. Schematic representation of the course of superficial arteries of the cerebellum, view from below and on the right. Common segment of AICA and PICA, first variant. Note: CT – common trunk, BA – basilar artery (here and in Fig. 8, 9).

The second variant was observed 7 times on the right and 4 times on the left (Fig. 8). The common trunk extends to the central part of the ponto-cerebellar angle and bifurcates into the AICA and PICA before crossing the VII and VIII nerves. The AICA then follows the course of its classical rostral branch, encircling the flocculus laterally and from above. It also gives off a caudal branch that starts near the lateral part of the flocculus, encircles it from below and

branches around the horizontal fissure. The PICA descends to the anterior part of the tonsil, then crosses it diagonally, passing somewhat laterally compared to the first variant. No significant difference in perfusion territory was observed.

The third variant was observed three times on the right and three times on the left (Fig. 9). The course of the AICA and PICA is similar to the second variant; however, the degree of branching of the PICA is comparatively greater. Near the anterior part of the tonsil, it branches into several large branches that cover most of the inferior surface of the cerebellum (all sectors except I_a).

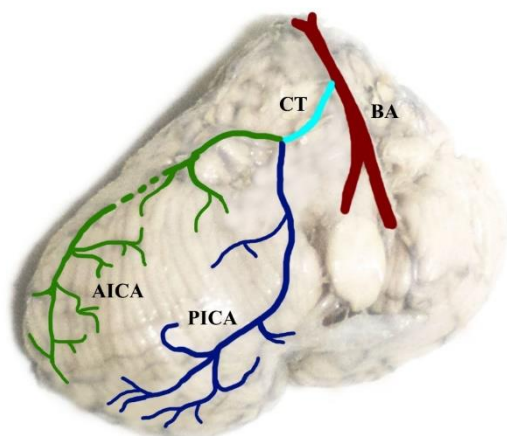


Fig. 8. Schematic representation of the course of superficial arteries of the cerebellum, view from below and on the right. Common segment of AICA and PICA, second variant.

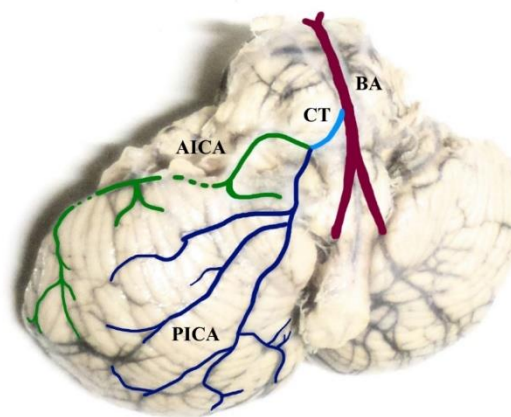


Fig. 9. Schematic representation of the course of superficial arteries of the cerebellum, view from below and on the right. Common segment of AICA and PICA, third variant.

Discussion

The descriptions of the perfusion territories of the cerebellar arteries have previously been based on three surfaces of the cerebellum [7, 8]. In this study, for the first time, a method was applied to divide the superior and inferior surfaces of the cerebellum into sectors. This method allows for the identification of features of the superficial vascular structure and defining the perfusion territories and their boundaries.

The comparison of data regarding the variability of cerebellar arteries is presented in Tables 1-3.

Table 1

Comparison of data on the variability of the SCA with findings from other authors

Author	Type of SCA variation						
	Origin			Duplication		Triplication	Absence
	BA	PCA	Common trunk with PCA from BA	All cases	Bilateral		
[10]	98,5*	0	0	28	3	1,5	1,5
[6]	96	4	0	14	-	0	0
[11]	100	0	0	0	0	0	0
[12]	89,4	4,6	5,9	8	4	0	4
[13]	74,6	0	25,3	23,3	-	2	0
[14]	98,2	1,8	0	1,8	0,9	0	0
[15]	93,4	4	2,5	21,3	2	0	0
[16]	95	1,9	3,1	17,5	0	1,9	0
[17]	98,3	1,7	0	22,1	-	0	3,2
This study	100	0	0	3,5	1	0	0

Note: BA – basilar artery; PCA – posterior cerebral artery; * – Data is given as percentages.

As evident from the data in Table 1, the variability of the origin and development of the SCA is less than that observed in the AICA or PICA. The SCA

typically originates from the basilar artery, as reported by most authors with a probability of 95-100%, a finding consistent with the results of this

study. Additionally, the SCA may arise from the posterior cerebral artery in approximately 1.8% of cases, or sharing a common trunk with the posterior cerebral artery from the basilar artery, occurring in approximately 3.7% of cases [6, 10-17].

Nearly all authors have reported cases of duplication of the SCA, with an average occurrence of 14%. Cases of bilateral duplication, triplication or absence of the SCA were much less common, with averages of 1.6%, 0.5%, and 0.9%, respectively [6, 10-17].

Table 2
Comparison of data on the variability of the AICA with findings from other authors

Type of AICA variation			Author				
			[10]	[6]	[11]	[18]	This study
Origin	BA	All cases	95*	92	63,7	79,1	85
		Middle third	17	-	-	0,7	11
		Lower third	78	-	-	78,4	74
	PICA		0	2	0	0	0
	Common with PICA from BA		0,7	6	0	10,4	14
	VA		2	0	0	3,7	0
	BA-VA junction		0	0	0	3,7	0
Duplication			0	26	0	10,4	1
Absence			1,3	0	36,3	3,1	1

Note: BA – basilar artery; VA – vertebral artery; * – Data is given as percentages (here and in Tab. 3).

There are significantly more variations of the origin of the AICA compared to the SCA (Tab. 2). Most commonly, the AICA originates from the vertebral artery, with its lower third being the predominant location (averaging 83%). The origin of the AICA from the PICA was observed in only one study, accounting for 2% of cases [6]. There is considerable variability in the data regarding the AICA originating

as a common trunk with the PICA from the basilar artery (0-14%). The rarest cases involve the AICA arising from the vertebral artery or the junction of the vertebral and basilar arteries, averaging 1.1% and 0.7%, respectively. Data on duplication and absence of the PICA show wide ranges (0-26% and 0-36.3%, respectively) [6, 10, 11, 18]. There is no data on triplication of the AICA.

Table 3
Comparison of data on the variability of the PICA with findings from other authors

Type of PICA variation		Author (number of arteries)			
		[10]	[6]	[11]	This study
Origin	VA	86,5*	82	56,3	82
	BA	1,5	10	0	0
	AICA	0	6	0	0
	Common with AICA from BA	1,5	2	0	14
Duplication		1,5	0	0	2
Absence	All cases	10,5	0	43,7	4
	Bilateral	3	0	-	0

The PICA has fewer variations of its origin compared to the AICA, but the most common variant averages only 76.7% (Tab. 3). Besides the vertebral artery, the PICA may originate from the basilar artery, the AICA, or as a common trunk with the AICA from the basilar artery (averaging 2.9%, 1.5%, and 4.4%, respectively). Duplication of the PICA occurs on average less frequently than that of the SCA or the AICA (0.9%). The PICA has the highest maximum rate of absence among the three cerebellar arteries (43.7%), averaging 14.6%, with bilateral absence accounting for 1% [6, 10, 11].

None of the studies reported the simultaneous

absence of both cerebellar arteries on one side.

The data on the variability and perfusion territories of the SCA, AICA and PICA, presented in this study, can be used in the prevention and diagnosis of neurological disorders, guiding surgical interventions for neurological conditions, and localizing areas of large ischemic strokes [19]. The significant variability in the perfusion territories of cerebellar arteries poses challenges in reliably localizing small strokes; however, accurate identification of the affected territory contributes to determining their etiology [20].

Conclusion

This study analyzed the variability of the origin

and perfusion territories of the SCA, AICA and PICA. To investigate the variability of the perfusion territories of the cerebellum, a method of sectoral division of the superior and inferior surfaces of the cerebellum was proposed.

Most commonly, the SCA originates from the upper third of the basilar artery, distributing its branches across the entire superior surface of the cerebellum, including the central lobule, culmen, declive, and folium of the vermis. The classical AICA begins from the lower third of the basilar artery, with its terminal branches reaching sectors B_a, G_a and I_a. The PICA typically arises from the vertebral artery, supplying sectors B_c, B_p, G_c, G_p, I_c, I_p.

In addition to the classical variations, we observed duplications of the SCA (unilateral and bilateral), the origin of the AICA from the middle third of the basilar artery or as a common segment with the PICA from the basilar artery, as well as duplication (bilateral) and absence of the AICA. We also noted duplications and absence of the PICA. In cases of duplication of the PICA, its perfusion territory expands towards the central sectors of the inferior surface of

the cerebellum. In the absence of the AICA, the PICA enlarges its perfusion territory, replacing it, and vice versa. Occasionally, the absent or poorly developed PICA is replaced by a PICA from the opposite hemisphere. There were not any cases of simultaneous absence of both AICA and PICA on one side. The probability of the extension of branches of the AICA onto specific sectors of the inferior surface of the cerebellum decreases from anterior to posterior and from the sides towards the center, while for the PICA there is an opposite trend. Additionally, this study describes three variations of the course of the arteries when both AICA and PICA originate as a common trunk from the basilar artery.

Prospects for further investigations

Further research will help better understand the causes of cerebellar vascular pathologies.

Conflicts of interest

There are no potential or actual conflicts of interest associated with this manuscript at the time of publication, and none is anticipated.

Funding

Not applicable.

References

1. Mishchenko T. [Epidemiology of cerebrovascular diseases and organization of medical care for patients with stroke in Ukraine]. *Ukrains'kyi visnyk psikhonevrolohii*. 2017;25(2):41–43. Ukrainian.
2. Khan S, Cloud GC, Kerry S, Markus HS. Imaging of vertebral artery stenosis: a systematic review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007;78(11):1218-25. doi:10.1136/jnnp.2006.111716
3. Venti M. Cerebellar infarcts and hemorrhages. *Front Neurol Neurosci*. 2012;30:171-175. doi:10.1159/000333635
4. Edlow JA, Newman-Toker DE, Savitz SI. Diagnosis and initial management of cerebellar infarction. *Lancet Neurol*. 2008;7(10):951-964. doi:10.1016/S1474-4422(08)70216-3
5. Calic Z, Cappelen-Smith C, Anderson CS, Xuan W, Cordato DJ. Cerebellar Infarction and Factors Associated with Delayed Presentation and Misdiagnosis. *Cerebrovasc Dis*. 2016;42(5-6):476-484. doi:10.1159/000448899
6. Marinković S, Kovacević M, Gibo H, Milišavljević M, Bumbasirević L. The anatomical basis for the cerebellar infarcts. *Surg Neurol*. 1995;44(5):450-461. doi:10.1016/0090-3019(95)00195-6
7. Hartkamp NS, De Cocker LJ, Helle M. In vivo visualization of the PICA perfusion territory with super-selective pseudo-continuous arterial spin labeling MRI. *Neuroimage*. 2013;83:58-65. doi:10.1016/j.neuroimage.2013.06.070
8. Tatu L, Moulin T, Bogousslavsky J, Duvernoy H. Arterial territories of human brain: brainstem and cerebellum. *Neurology*. 1996;47(5):1125-35. doi:10.1212/wnl.47.5.1125
9. Rodríguez-Hernández A, Rhoton AL Jr, Lawton MT. Segmental anatomy of cerebellar arteries: a proposed nomenclature. Laboratory investigation. *J Neurosurg*. 2011;115(2):387-397. doi:10.3171/2011.3.JNS101413
10. Stopford JS. The Arteries of the Pons and Medulla Oblongata. *Journal of anatomy*. 1916;50(2):131-164.
11. Akgun V, Battal B, Bozkurt Y. Normal anatomical features and variations of the vertebrobasilar circulation and its branches: an analysis with 64-detector row CT and 3T MR angiographies. *Scientific World Journal*. 2013;2013:620162. doi:10.1155/2013/620162
12. Krzyżewski RM, Stachura MK, Stachura AM. Variations and morphometric analysis of the proximal segment of the superior cerebellar artery. *Neurol Neurochir Pol*. 2014;48(4):229-235. doi:10.1016/j.pjnns.2014.07.006
13. Padmavathi G. Study of the variations of superior cerebellar artery in human cadavers. *Int J Res Med Sci*. 2017;2(2):699-703.
14. Dodevski A, Tosovska-Lazarova D, Zhivadnikov J, Lazareska M, Stojovska-Jovanovska E. Morphological characteristics of the superior cerebellar artery. *Pril (Makedon Akad Nauk Umet Odd Med Nauki)*. 2015;36(1):79-83.
15. Ogeng'o J, Elbusaidy H, Sinkee, S, Olabu B, Mwachaka P, Inyimili M. Variant origin of the superior cerebellar artery in a black Kenyan population.

European Journal of Anatomy. 2015;19(3):287-90.

16. Kalaiyarasi S, Chitra PS. A study of variations in the origin of superior cerebellar artery and the dimensions of its proximal segment. International Journal of Approximate Reasoning. 2018;6(1.1):4849-53.

17. Ballesteros-Acuña L, Gómez-Torres F, Estupiñán HY. Morphologic characterization of the superior cerebellar artery. A direct anatomic study. Translational Research in Anatomy. 2021;25:100150. doi: 10.1016/j.tria.2021.100150

18. Hou K, Li G, Luan T, Xu K, Xu B, Yu J. Anatomical Study of Anterior Inferior Cerebellar Ar-

tery and Its Reciprocal Relationship with Posterior Inferior Cerebellar Artery Based on Angiographic Data. World Neurosurg. 2020;133:459-472. doi:10.1016/j.wneu.2019.09.047

19. De Cocker LJ, van Veluw SJ, Fowkes M, Luijten PR, Mali WP, Hendrikse J. Very small cerebellar infarcts: integration of recent insights into a functional topographic classification. Cerebrovasc Dis. 2013;36(2):81-87. doi:10.1159/000353668

20. Mangla R, Kolar B, Almast J, Ekholm SE. Border zone infarcts: pathophysiologic and imaging characteristics. Radiographics. 2011;31(5):1201-14. doi:10.1148/rg.315105014

Калініченко М.О., Степаненко О.Ю. Індивідуальна мінливість артерій мозочка людини та зон їх кровопостачання.

РЕФЕРАТ. Обґрунтування. Кровопостачання мозочка забезпечують три парні артерії: верхня, передня нижня і задня нижня мозочкові артерії. Походження артерій мозочка, ступінь їх розвитку та наявність подвоювання можуть бути факторами зміни зони кровопостачання цих артерій. **Мета дослідження** – визначення особливостей індивідуальної мінливості артерій мозочка людини та зон їх кровопостачання. **Методи.** Дослідження проводили на 100 препаратах, які являли собою мозочок разом зі стовбуром мозку. Для аналізу мінливості зон кровопостачання мозочка було запропоновано метод секторального розподілу верхньої та нижньої поверхонь мозочка. **Результати та підсумок.** На 95 препаратах ВМА починалась від основної артерії з двох сторін. Подвоєння цієї артерії спостерігали на 2 препаратах білатерально і ще у 3 випадках зліва. ПНМА починається від нижньої третини основної артерії на 69 препаратах справа і 77 – зліва, від середньої третини – на 11 справа і 11 зліва. ПНМА і ЗНМА починалися спільним сегментом від основної артерії у 18 випадках справа і 10 зліва (з них на 4 препаратах білатерально). Подвоєння ПНМА спостерігали білатерально на одному препараті. Вона була відсутньою у 2 випадках (1 справа, 1 зліва). ЗНМА у 78 випадках справа і 86 зліва брала початок від хребтової артерії, рідше вона починалася спільним сегментом з ПНМА від основної артерії. Подвоєння ЗНМА спостерігали 2 рази зліва, вона була відсутньою у 4 випадках справа і 4 зліва. При подвоєнні ПНМА, її зона кровопостачання розширюється до центральних секторів нижньої поверхні мозочка. За відсутності ПНМА, ЗНМА розширює свою зону кровопостачання, замінюючи її, і навпаки. Інколи відсутню або слабо розвинену ЗНМА замінювала однойменна артерія з протилежної півкулі. Випадків одночасної відсутності ПНМА і ЗНМА з одного боку не спостерігалося. Вірогідність поширення гілок ПНМА на певні сектори нижньої поверхні мозочка зменшується спереду назад і з боків до центру, ЗНМА – навпаки. Також у даному дослідженні описано три варіанти ходу артерій при походженні ПНМА і ЗНМА спільним сегментом від основної артерії.

Ключові слова: людина, анатомія, мозочок, ВМА, ПНМА, ЗНМА.

О.С. Максименко
Д.С. Ступак
В.Г. Гринь

Полтавський державний
медичний університет
Полтава, Україна

Надійшла: 24.01.2024

Прийнята: 15.03.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.49-55>

УДК 616.382:599.323.4:612.08

МАЛИЙ ЧЕПЕЦЬ БІЛИХ ЩУРІВ: СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА

Maksymenko O.S.  , Stupak D.S. , Hryn V.H.  Lesser omentum of white rats: structural and functional characteristics.

Poltava State Medical University, Poltava, Ukraine.

ABSTRACT. Background. According to the literature, all mammals have two omenta, one of which is the greater omentum and the other one is the lesser omentum, but white rats have two additional derivatives of the visceral peritoneum, homologous in structure to the greater omentum - called the epididymal omentum. Today, the greater omentum is comprehensively studied and arouses great interest among researchers, in turn, the lesser omentum is not popular among scientists, as a result of which many details of its anatomical and histological structure remain undisclosed. **Objective.** To study the morpho-functional features of the structure of the lesser omentum of white rats through a bibliographic analysis of the literature. **Methods.** This bibliographic analysis is based on published articles, books, textbooks, and monographs. The search for which was carried out on the worldwide network "Internet" in the scientific and metric databases of Google Scholar, Web of Science and PubMed, foreign sources of literature and the National Library of Medicine. **Results.** The lesser omentum is formed due to the successive transition of the duplication of the peritoneum, from the lower surface of the liver to the lesser curvature of the stomach and duodenum. At the small curvature of the stomach, the leaves that form the lesser omentum diverge and cover the front-upper and back-lower walls of the stomach. The lesser omentum consists of the hepatogastric ligament, which is an extremely thin and transparent membrane, and a thicker, transparent membrane - the hepatoduodenal ligament, which is attached to the duodenum. Microscopically, it consists of two main structural elements: thin fenestrated translucent membranes and adipose tissue-rich areas containing milky spots that may play a role in the immune defense of the peritoneal cavity. **Conclusion.** So, according to the analysis, the lesser omentum mainly performs a connecting role and provides support and stabilization of the organs of the abdominal cavity between which it is located.

Key words: lesser omentum, milky spots, stomach, duodenum, liver, serous membrane, peritoneum.

Citation:


Maksymenko OS, Stupak DS, Hryn VH. [Lesser omentum of white rats: structural and functional characteristics]. *Morphologia*. 2024;18(1):49-55. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.49-55>

 Maksymenko O.S. 0000-0003-1502-1464

 Stupak D.S. 0000-0003-4119-7025

 Hryn V.H. 0000-0001-5894-4416

 dr.aleksmaksymenko@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Очеревина – це найбільша серозна оболонка в організмі, яка має найскладнішу будову. Відомі загальноприйняті в анатомії положення про похідні очеревини, серед яких виділяють складки, зв'язки, брижі та чепці [1-6].

При цьому, у всіх ссавців без винятку, згідно з даними літератури, наявні два чепці, один з яких називається малим, а інший – великим, хоча за даними деяких авторів, у білих щурів виділяють ще два додаткові похідні вісцеральної очеревини, гомологічні за будовою великому чепцю, так звані

епідидимальні чепці [7-9].

На сьогодні великий чепець всебічно досліджується та викликає неабиякий інтерес у дослідників, у свою чергу, малий чепець не користується популярністю серед науковців, внаслідок чого багато деталей його анатомічної та гістологічної будови залишаються нерозкритими [7, 10-11].

Грунтовне та детальне вивчення будови та функцій малого чепця може сприяти більшому розумінню анатомії даної ділянки черевної поро-

жнини. Тим більше досить зрозумілого опису будови малого чепця, у жодному джерелі літератури не виявили, що змушує до проведення ретельного його вивчення. Тому було поставлено завдання всебічно вивчити морфологічну будову малого чепця білих щурів на підставі аналізу літературних джерел.

Метою роботи є вивчення морфо-функціональних особливостей будови малого чепця білих щурів шляхом бібліографічного аналізу літератури.

Матеріали та методи

Цей бібліографічний аналіз базується на опублікованих статтях, книгах, навчальних посібниках, монографіях. Для цілей даного систематичного огляду пошук літератури (що стосується вивчення морфологічної будови малого чепця білих) здійснювався у всесвітній мережі «Інтернет» у науково-метричних базах Google Scholar, Web of Science і PubMed, закордонних джерелах літератури, Національній медичній бібліотеці за ключовими словами: «очеревина», «малий чепець», «анатомія щура», «lesser omentum», «omentum minus». Автори використовували такі критерії включення та виключення:

– критерії включення: оригінальні статті, опубліковані в журналах та матеріалах конференцій, книги, навчальні посібники, монографії, автореферати дисертацій; мова публікації: українська та англійська;

– критерії виключення: тематичні дослідження, редакційні статті, листи тощо, які не рецензовані на перегляд; мова публікації: інші.

Результати та їх обговорення

Згідно даним літератури, малий чепець утворюється з вентральної брижі шлунку і дванадцятипалої кишки (вентрального мезогастія), яка у результаті ембріонального повороту шлунку та дванадцятипалої кишки набуває поперечного положення. У процесі розвитку печінки передній (вентральний) відділ брижі перетворюється на серпоподібну зв'язку печінки, а задній (дорсальний) – на малий чепець [12-14].

Малий чепець утворюється в результаті послідовного переходу дуплікатури очеревини, яка представлена у вигляді зв'язок, з нижньої поверхні печінки (від ділянки воріт) на малу кривизну шлунку та дванадцятипалу кишку. На малій кривизні шлунку листки, з яких утворений малий чепець, розходяться і викривають передньо-верхню та задньо-нижню стінки шлунку (рис. 1).

Отже, малий чепець складається з печінково-шлункової зв'язки, що представляє собою вкрай тонку й прозору мембрану, та більш товстої, прозорої мембрани – печінково-дванадцятипалої зв'язки, яка прикріплюється до дванадцятипалої кишки [15-18]. Печінково-шлункова зв'язка – ліва, найширша частина малого чепця, згорнута у вигляді вітрила. Між листками зв'язки містяться ліва і права шлункові артерії, вени, нерви, лімфатичні судини та вузли [19-21]. Печінково-дванадцятипала зв'язка, в свою чергу, є правою частиною малого чепця. Між листками очеревини у зв'язці праворуч проходить загальна жовчна протока, загальна печінкова і протока жовчного міхура, зліва від них розташована ворітна вена, проходить печінкова артерія та її гілки.

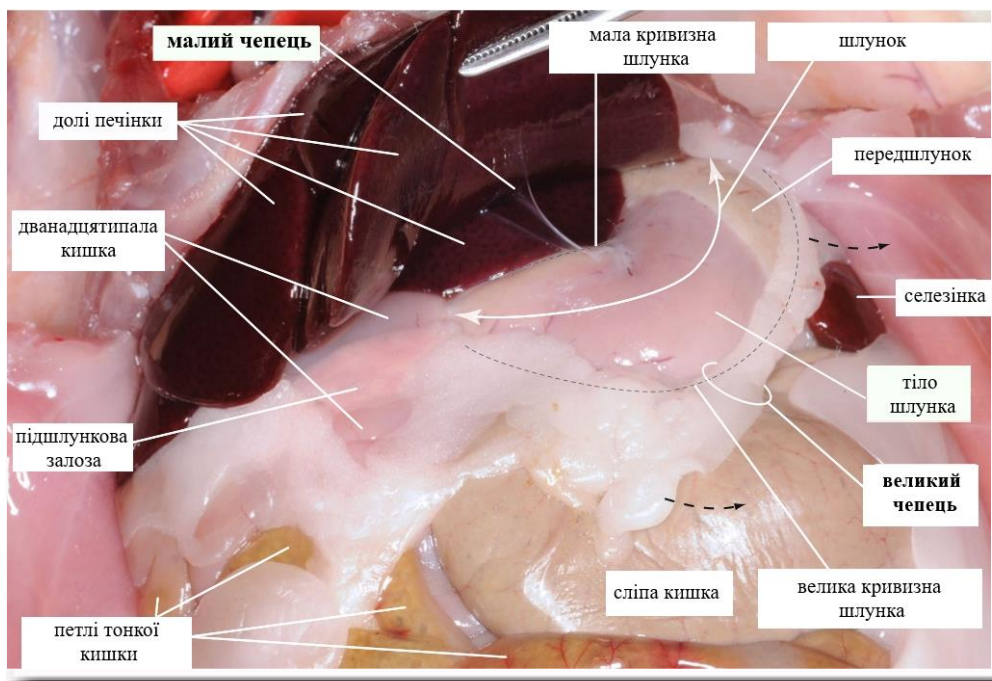


Рис. 1. Оглядове фото органів очеревинної порожнини білого щура. (запозичено з «Dissection of the Rat (*Rattus norvegicus*). In: Atlas of Animal Anatomy and Histology. Springer, Cham.» за редакцією Löw, P. і співавт., 2016).

У нижньому відділі зв'язки проходять права шлункова артерія і вена та шлунково-дванадцятипала артерія та вена. Уздовж артерій розташовуються лімфатичні вузли [17, 22-24].

Між двома шарами очеревини, зв'язки, що утворюють малий чепець, містять невелику кількість жирової клітковини (переважно вздовж жовчної протоки та місці фіксації до малої кривизни шлунку) [25-26]. Можна припустити, що наявність жирової тканини в місці фіксації малого чепця до відповідних органів пов'язана з локалізацією різних анатомічних утворів, таких як кровоносні та лімфатичні судини, нерви та молочні плями.

Разом з задньою стінкою шлунку малий чепець утворює передню стінку чепцевої сумки. Верхньою стінкою чепцевої сумки є хвостата частка печінки, нижньою – задня пластинка великого чепця, зрощена з брижею поперечної ободо-

вої кишки. Спереду чепцева сумка обмежена задньою стінкою шлунку, малим чепцем і шлунково-ободовою зв'язкою, ззаду – парієтальною очеревиною. Через чепцевий отвір (отвір Вінслового) чепцева сумка сполучається з печінковою сумкою. Межами чепцевого отвору є: печінково-дванадцятипала зв'язка (спереду), парієтальна очеревина (ззаду), хвостата частка печінки (зверху) та дванадцятипала кишка (знизу) [27-28].

Згідно власних спостережень на білих щурах, звертає увагу той факт, що після гепатоліфтинга, хвостата частка печінки розділяє печінково-шлункову зв'язку малого чепця на два поверхи – верхній та нижній, перший з них розташований між каудальною поверхнею лівої частки печінки та краніальною поверхнею хвостатої частки печінки, тоді як нижній поверх – між каудальною поверхнею хвостатої частки печінки і малою кривизною шлунку (рис. 2).

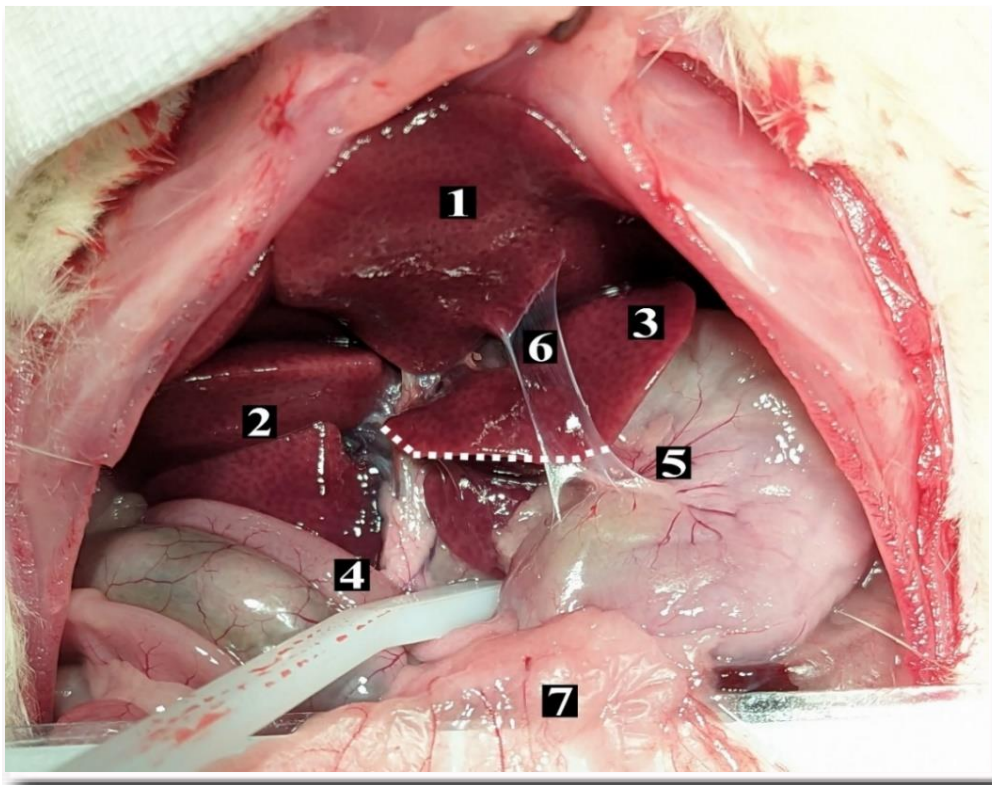


Рис. 2. Загальний вигляд малого чепця білого щура. Макрофото, $\times 4$.

1 – ліва частка печінки; 2 – права частка печінки; 3 – хвостата частка печінки; 4 – дванадцятипала кишка; 5 – мала кривизна шлунку; 6 – малий чепець; 7 – великий чепець. Горизонтальна точкова лінія розділяє малий чепець на верхній та нижній поверхи.

Мікроскопічно малий чепець складається з двох основних структурних елементів: тонких фенестрованих напівпрозорих мембран і багатих жировою тканиною ділянок [17, 29-30]. Виходячи з класичних уявлень про будову типових похідних очеревини, ці фенестровані напівпрозорі мембран малого чепця повинні бути найтоншою дуплікатурою плоских мезотеліальних клітин, які ма-

ксимально зближені між собою своїми базальними поверхнями [31-33]. При цьому, вузька міжклітинна щілина, яка їх розділяє, вміщує окремі сполучнотканинні елементи, тоді як вільна поверхня цих мезотеліальних клітин, яка безпосередньо омивається перитонеальною рідиною, містить велику кількість мікрворсинок, що свідчить про участь даної люмінальної плазмолемі в процесі активного трансмембранного переносу речовин з

перитонеальної рідини в інтерстиціальний простір, а з нього, згідно з даними літератури, до лімфатичних мікросудин. Існують також дані про здатність мезотеліальних клітин до фагоцитозу [29, 33].

Як відомо, невід'ємними утворами малого чепця є молочні плями, які відносяться до периферійного відділу імунної системи, виконуючи функцію імунного нагляду над антигенним складом відповідних серозних порожнин. Клітини, які входять до складу молочної плями, здійснюють фагоцитоз сторонніх структур, поглинають бактерії, мікрочастинки та різні барвники, а також синтезують антитіла [34-38]. Вважається, що молочні плями також беруть участь у резорбції перитонеальної рідини очеревинної порожнини [39-41]. Молочні плями малого чепця різняться за кількістю, розміром і клітинним складом залежно від багатьох факторів (стать, вік і функціональний стан організму). Точної локалізації молочних плям у малому чепці в літературних джерелах, які були у нашому розпорядженні, не знайдено. Тому, можна припустити, що дані структури локалізуються, так як і у великому чепці, у ділянках багатих жировою тканиною, у малому чепці – біля воріт печінки та по малій кривизні шлунку.

Відомо, що молочні плями «працюють» як фільтр для перитонеальної рідини [20, 42-43]. За результатами експериментальних досліджень К. Дух в малу чепцеву сумку було введено білок курячого яйця, що дало змогу візуалізувати роздутий малий чепець, а також ідентифікувати молочні плями після введення розчину чорнила інтраперитонеально [15].

Також не можна заперечити, що малий чепець має вплив на контроль запальних процесів органів очеревинної порожнини, сприяє ревазуляризації та регенерації тканин. Враховуючи структурні особливості анатомічної будови малого чепця він здебільшого виконує пряму функцію зв'язок – сполучну, на відміну від великого чепця, який володіє значними мобільними властивостями і є поліфункціональним органом, який

загалом виправдовує, дану йому образну назву «поліцейського очеревинної порожнини» [35, 39, 41, 44].

Підсумок

Отже, при проведенні бібліографічного аналізу відомих джерел, присвячених малому чепцю встановлено, що у всіх випадках він локалізується під печінкою і стає доступним візуалізації тільки після гепатоліфтингу. Малий чепець представлений у вигляді двох зв'язок – печінково-дванадцятпалої та печінково-шлункової. Складається з двох основних тканинних утворів, які представлені у вигляді тонких фенестрованих напівпрозорих серозних мембран і ділянок багатих жировою тканиною. Невід'ємними структурами малого чепця є молочні плями, які, як відомо, відносяться до периферійного відділу імунної системи, виконуючи функцію імунного нагляду над антигенним складом відповідних серозних порожнин. Але молочні плями не можна вважати специфічними елементами виключно для малого чепця, тому що вони мають місце й в інших серозних оболонках.

Таким чином, малий чепець виконує переважно сполучну роль і забезпечує підтримання та стабілізацію органів черевної порожнини між якими він знаходиться. У зв'язку з таким положенням, малий чепець не має мобільної активності, яка властива великому чепцю, що відіграє найважливішу роль швидкого реагування на те чи інше ушкодження органів черевної порожнини.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи «Морфофункціональне вивчення внутрішніх органів людини та лабораторних тварин в різних аспектах експериментальної медицини» (номер державної реєстрації 0121U108258).

Літературні джерела References

1. Patel RR, Planche K. Applied peritoneal anatomy. *Clinical radiology*. 2013;68(5):509-20 DOI: 10.1016/j.crad.2012.06.135.
2. Bermo MS, Koppula B, Kumar M, Leblond A, Matesan MC. The Peritoneum: What Nuclear Radiologists Need to Know. *Seminars in nuclear medicine*. 2020;50(5):405-18 DOI: 10.1053/j.semnuclmed.2020.04.005.
3. Максименко ОС, Гринь ВГ. Великий чепець білих шурів: структурно-функціональна характеристика та його роль при перитоніті. *Український журнал медицини, біології та*

- спорту. 2023;8(1):22-9 DOI: 10.26693/jmbs08.01.022.
4. Hryn VH, Kostylenko YP, Yushchenko YP, Lavrenko AV, Ryabushko OB. General comparative anatomy of human and white rat digestive systems: a bibliographic analysis. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*. 2018;71(8):1599-602.
5. Hryn VH, Kostylenko YP, Yushchenko YP, Ryabushko MM, Lavrenko DO. Comparative histological structure of the gastrointestinal mucosa in human and white rat: a bibliographic analysis. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*.

2018;71(7):1398-403.

6. Starchenko, II, Dyachenko LV, Prylutskiy O K, Vynnyk NI, Filenko BM. The observation of congenital retroperitoneal large size neuroblastoma. *Experimental oncology*. 2019;41(2):179-81 DOI: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-41-no-2.13321.

7. Doom M. The morphology of the canine omentum and its surgical implications: Ghent University; 2015.

8. Hryn V, Kostylenko Y, Maksymenko O. The greater omentum and similar serous formations of testis in male white rats. *Folia Morphologica*. 2023;82(4):854-61 DOI: 10.5603/FM.a2022.0095.

9. Hryn V, Kostylenko Y, Maksymenko O. General Morphological Characteristics of the Results of Experimental Modeling of Aseptic Peritonitis. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger*. 2023;250:152160 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2023.152160>.

10. Liu Z, He L, Jiao Y, Xu Z, Suo J. An extremely rare case of lesser omental hernia in an elderly female patient following total colectomy. *BMC Surg*. 2020;20(1):14 DOI: 10.1186/s12893-019-0665-7.

11. Babu B, Subbiah Nagaraj S, Yadav S, Periasamy K. Neuroendocrine tumour of the lesser omentum. *BMJ case reports*. 2023;16(12) DOI: 10.1136/bcr-2023-258366.

12. Dodds WJ, Foley WD, Lawson TL, Stewart ET, Taylor A. Anatomy and imaging of the lesser peritoneal sac. *AJR American journal of roentgenology*. 1985;144(3):567-75 DOI: 10.2214/ajr.144.3.567.

13. Schäfer T, Stankova V, Viebahn C, de Bakker B, Tsikolia N. Initial morphological symmetry breaking in the foregut and development of the omental bursa in human embryos. *Journal of anatomy*. 2021;238(4):1010-22 DOI: <https://doi.org/10.1111/joa.13344>.

14. Ba-Ssalamah A, Fakhrai N, Baroud S, Shirkhoda A. Mesentery, Omentum, Peritoneum: Embryology, Normal Anatomy and Anatomic Variants. In: Hamm B, Ros PR, editors. *Abdominal Imaging*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013. p. 1563-76.

15. Dux K. Anatomy of the greater and lesser omentum in the mouse with some physiological implications. In: Goldsmith HS, editor. *The Omentum: Research and Clinical Applications*. New York, NY: Springer New York; 1990. p. 19-43.

16. Nakashima J, Bordoni B. Anatomy, Abdomen and Pelvis: Hepatoduodenal Ligament. *StatPearls*. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Bruno Bordoni declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.; 2024.

17. Lőw P, Molnár K, Kriska G. Atlas of Animal Anatomy and Histology. *Anticancer research*. 2016;36(8):4371.

18. Jeffrey RB, Federle MP, Goodman PC. Computed tomography of the lesser peritoneal sac. *Radiology*. 1981;141(1):117-22 DOI: 10.1148/radiology.141.1.7291515.

19. Evans HE. The digestive apparatus and abdomen. *Miller's Anatomy of the Dog*. 1993:385-462.

20. Yoo E, Kim JH, Kim MJ, Yu JS, Chung JJ, Yoo HS, et al. Greater and lesser omenta: normal anatomy and pathologic processes. *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*. 2007;27(3):707-20 DOI: 10.1148/rg.273065085.

21. Karaosmanoglu AD, Onder O, Akata D, Ozmen MN, Karcaaltincaba M. Imaging findings of diseases affecting the gastrohepatic ligament: not as acquiscent as it seems. *Abdominal radiology (New York)*. 2021;46(9):4106-20 DOI: 10.1007/s00261-021-03102-y.

22. Alves AS, Balaphas A, Zuo K, Hauser P, Neroladaki A, Raffoul T. Spontaneous lesser omental herniation resolved by laparoscopic surgery: case report and systematic literature review. *Surgical Endoscopy*. 2023;37(9):6704-10 DOI: 10.1007/s00464-023-10279-4.

23. Pérez W, Lima M. Anatomical Description of the Liver, Hepatic Ligaments and Omenta in the Coypu (*Myocastor coypus*). *International Journal of Morphology*. 2007;25:61-4.

24. Weiglein AH. Variations and topography of the arteries in the lesser omentum in humans. *Clinical anatomy (New York, NY)*. 1996;9(3):143-50 DOI: 10.1002/(sici)1098-2353(1996)9:3<143::aid-cal>3.0.co;2-h.

25. Feng JF, Guo YH, Chen WY, Chen DF, Liu J. Primary small cell carcinoma of the lesser omentum. *The Kaohsiung journal of medical sciences*. 2012;28(2):115-9 DOI: 10.1016/j.kjms.2011.10.028.

26. Nagano H, Goi T, Taguchi S, Tsubaki T, Tsuchiyama T, Uematsu H, et al. Capillary hemangioma arising from the lesser omentum in an adult: A case report. *Medicine*. 2020;99(4):e18693 DOI: 10.1097/md.00000000000018693.

27. Brenkman HJF, van der Wielen NI, Ruurda JP, van Leeuwen MS, Scheepers JGG, van der Peet DL, et al. Surgical anatomy of the omental bursa and the stomach based on a minimally invasive approach: different approaches and technical steps to resection and lymphadenectomy. *Journal of Thoracic Disease*. 2017:S809-S16.

28. Thomas JM, Van Fossen K. Anatomy, Abdomen and Pelvis: Foramen of Winslow (Omental Foramen, Epiploic Foramen). *StatPearls*. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Kelly Van Fossen declares no relevant financial relationships with ineligible companies.: StatPearls Publishing Copyright © 2024, StatPearls Publishing LLC.; 2024.

29. Shah S, Lowery E, Braun RK, Martin A, Huang N, Medina M, et al. Cellular basis of tissue regeneration by omentum. *PLoS one*. 2012;7(6):e38368

DOI: 10.1371/journal.pone.0038368.

30. Maksymenko OS, Hryn VH, Kostylenko YuP. General plan of the structure and principles of morphometric analysis of the greater omentum of white rats. *APMM*. 2022;22(1 (77)):105-10. DOI: 10.31718/2077-1096.22.1.105.

31. Kostylenko YP. Anatomiya organov pishchevaritel'noy sistemy. *Ukrainian Medical Stomatology Academy*; 2003. p. 122.

32. Hryn VH, Maksymenko OS. Morphofunctional characteristics of the intermediate areas of the greater omentum of white rats. *Scientific Bulletin of the Uzhhorod University. Series «Medicine»*. 2023(1(67)):68-74 DOI: 10.32782/2415-8127.2023.67.12.

33. Mutsaers SE. Mesothelial cells: their structure, function and role in serosal repair. *Respirology (Carlton, Vic)*. 2002;7(3):171-91 DOI: 10.1046/j.1440-1843.2002.00404.x.

34. Savchenko L, Mykytiuk M, Cinato M, Tronchere H, Kunduzova O, Kaidashev I. IL-26 in the induced sputum is associated with the level of systemic inflammation, lung functions and body weight in COPD patients. *International journal of chronic obstructive pulmonary disease*. 2018;13:2569-75 DOI: 10.2147/copd.s164833.

35. Liebermann-Meffert D. The greater omentum. *Anatomy, embryology, and surgical applications. The Surgical clinics of North America*. 2000;80(1):275-93, xii DOI: 10.1016/s0039-6109(05)70406-0.

36. Bousquet J, Agache I, Berger U, Bergmann KC, Besancenot JP, Bousquet PJ, et al. Differences in Reporting the Ragweed Pollen Season Using Google Trends across 15 Countries. *International archives of allergy and immunology*. 2018;176(3-4):181-8 DOI: 10.1159/000488391.

37. Kostylenko Y, Hryn V, Maksymenko O, Bilash V, Svintsytska N, Brovarnyk Y, et al. Similarities and differences between peyer's patches of the small intestine and milky spots of the greater omentum of

white rats. *Azerbaijan Medical Journal*. 2023;4:126-33 DOI: 10.34921/amj.2023.4.018

38. Liu J, Geng X, Li Y. Milky spots: omental functional units and hotbeds for peritoneal cancer metastasis. *Tumor Biology*. 2016;37(5):5715-26 DOI: 10.1007/s13277-016-4887-3.

39. Wang AW, Prieto JM, Cauvi DM, Bickler SW, De Maio A. The Greater Omentum - A Vibrant and Enigmatic Immunologic Organ Involved in Injury and Infection Resolution. *Shock*. 2020;53(4):384-90 DOI: 10.1097/shk.0000000000001428.

40. Rangel-Moreno J, Moyron-Quiroz JE, Carragher DM, Kusser K, Hartson L, Moquin A, et al. Omental milky spots develop in the absence of lymphoid tissue-inducer cells and support B and T cell responses to peritoneal antigens. *Immunity*. 2009;30(5):731-43 DOI: 10.1016/j.immuni.2009.03.014.

41. Di Nicola V. Omentum a powerful biological source in regenerative surgery. *Regenerative Therapy*. 2019;11:182-91 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reth.2019.07.008>.

42. Hryn V, Kostylenko Y, Maksymenko O, Tykhonova O, Tarasenko Y, Korchan N. Microscopic structure and the process of formation of milky spots of the greater omentum of white rats. *World of Medicine and Biology*. 2023;3(85):200-205 DOI: 10.26724/2079-8334-2023-3-85-200-205.

43. Krishnan V, Tallapragada S, Schaar B, Kamat K, Chanana AM, Zhang Y, et al. Omental macrophages secrete chemokine ligands that promote ovarian cancer colonization of the omentum via CCR1. *Communications Biology*. 2020;3(1):524 DOI: 10.1038/s42003-020-01246-z.

44. Westenfelder C. Does the greater omentum ("policeman of the abdomen") possess therapeutic utility in CKD? *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2014;25(6):1133-5 DOI: 10.1681/asn.2014010127.

Максименко О.С., Ступак Д.С., Гринь В.Г. Малій чепець білих щурів: структурно-функціональна характеристика.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Згідно даних літератури, у всіх ссавців, наявні два чепці, один з яких це великий чепець а інший – малий чепець, але у білих щурів, наявні ще два додаткові похідні вісцеральної очеревини, гомологічні за будовою великому чепцю, так звані епідидимальні чепці. На сьогодні великий чепець всебічно досліджується та викликає неабиякий інтерес у дослідників, у свою чергу, малий чепець не користується популярністю серед науковців, внаслідок чого багато деталей його анатомічної та гістологічної будови залишаються нерозкритими. **Мета.** Вивчити морфо-функціональні особливості будови малого чепця білих щурів шляхом бібліографічного аналізу літератури. **Методи.** Цей бібліографічний аналіз базується на опублікованих статтях, книгах, навчальних посібниках, монографіях. Пошук яких здійснювався у всесвітній мережі «Інтернет» у науково-метричних базах Google Scholar, Web of Science і PubMed, закордонних джерелах літератури та Національній медичній бібліотеці. **Результати.** Малій чепець утворюється в результаті послідовного переходу дуплікатури очеревини, з нижньої поверхні печінки на малу кривизну шлунку та дванадцятипалу кишку. На малій кривизні шлунку листки, з яких утворений малий чепець, розходяться і вкривають передньо-верхню та задньо-нижню стінки шлунку. Малій чепець складається з печінково-шлункової зв'язки, що представляє собою вкрай тонку й прозору мембрану, та

більш товстої, прозорої мембрани – печінково-дванадцятипалої зв'язки, яка прикріплюється до дванадцятипалої кишки. Мікроскопічно він складається з двох основних структурних елементів: тонких фенестрованих напівпрозорих мембран і багатих жирною тканиною ділянок, де містяться молочні плями, які можуть відігравати роль в імунному захисті очеревинної порожнини. **Підсумок.** Отже, згідно проведеного аналізу малий чепець виконує переважно сполучну роль і забезпечує підтримання та стабілізацію органів черевної порожнини між якими він знаходиться.

Ключові слова: малий чепець, молочні плями, шлунок, дванадцятипала кишка, печінка, серозна оболонка, очеревина.

Д.Г. Марченко
І.В. Твердохліб

Дніпровський державний
медичний університет
Дніпро, Україна

Надійшла: 15.02.2024
Прийнята: 20.03.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.56-61>

УДК 611.12:611.018:611.013:576.311.348.3

ВНУТРІШНЬОКЛІТИННІ ПЕРЕБУДОВИ СКОРОТЛИВОГО АПАРАТУ МІОКАРДА ШЛУНОЧКІВ ЩУРІВ НА ЕТАПАХ ПРЕНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗУ ПІСЛЯ ДІЇ АЛКОГОЛЮ

Marchenko D.G. , Tverdokhlib I.V.  ✉ Intracellular rearrangements of the rat contractile myocardial apparatus during prenatal ontogenesis after alcohol influence.

Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Information on the formation of the contractile apparatus of the heart and the distribution of myofibrils in cardiomyocytes under conditions of intrauterine intoxication with ethanol remain a subject of considerable debate. **The aim** of the study was to determine changes in the ultrastructure of the contractile apparatus of rat ventricular cardiomyocytes during prenatal development in conditions of intrauterine alcohol intoxication. **Methods.** The object of the research was the hearts of rat posterity at different times from birth to adulthood in the model of chronic alcohol intoxication of the maternal organism. Quantitative parameters of cardiomyocyte myofibrils in different zones of the ventricular myocardium were determined using transmission electron microscopy. **Results.** In newborn rats, after exposure to ethanol, the values of the parameters in the subendocardial zone were statistically significantly increased in the left ventricle by 101.0% and in the right ventricle by 42.0%, compared to the indicators of the previous day of development. Indicators in the intramural and subepicardial zones were not significantly different from the corresponding values on the 20th day of prenatal ontogenesis. The difference between the parameters of different parts of the interventricular septum was statistically significant and amounted to 45.9% in the left ventricular part and 20.2% in the right ventricular part. The values of the parameter in the intramural zone after ethanol exposure decreased by 35.5% ($p>0.05$) in the left ventricle and by 36.0% ($p<0.05$) in the right ventricle compared to the norm. **Conclusion.** Chronic alcohol intoxication in prenatal cardiogenesis damages the contractile apparatus of ventricular cardiomyocytes due to disorganization of the structure of sarcomeres, fragmentation and disorientation of myofibrils, significant inhibition of sarcomere genesis, and a decrease in the content of myofibrils, which is associated with destruction of mitochondria. The severity of changes in these structures depends on the zone and period of development of the embryo. The most significant changes are due to the direct toxic effect of ethanol and occur in the early stages of cardiogenesis.

Key words: prenatal ontogenesis, rats, alcohol intoxication, heart, ventricular myocardium, myofibrils, ultrastructure.

Citation:

Marchenko DG, Tverdokhlib IV. [Intracellular rearrangements of the rat contractile myocardial apparatus during prenatal ontogenesis after alcohol influence]. *Morphologia*. 2024;18(1):56-61. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.56-61>

 Marchenko D.G. 0000-0001-7616-3613

 Tverdokhlib I.V. 0000-0002-8672-3773

✉ ivt@dsma.dp.ua

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Скоротливий апарат кардіоміоцитів являє собою високо організовану структуру, яка включає у себе міофібрили, елементи Т- та L-систем. Саркомер поперечно-посмугованого м'яза змінюється за будовою та складом білків по всій довжині міофібрили, проте існують три головні компоненти – тонкі нитки, товсті нитки і Z-диски – кожний з яких розвивається за допомогою численних взаємодій з білками, що беруть участь у скороченні [12, 17, 18]. Міофібрилогенез – це

складний процес, який являє собою утворення і розподіл міофібрил у кардіоміоциті, формування скоротливих білків і утворення саркомерів [8, 10, 16]. Порушення на одному з цих етапів розвитку ембріонального серця під дією ушкоджувальних факторів можуть призвести до формування численних патологій серцево-судинної системи та надалі викликати летальний результат.

Хоча дослідження із запровадженням різних методичних підходів дозволили отримати дані про основні етапи розвитку скоротливого апарату

міокарда та механізми його енергозабезпечення [2-5], проте відомості про формування і розподіл міофібрил у кардіоміоцитах під впливом пошкоджуючих факторів, у тому числі за умов внутрішньоутробної інтоксикації етанолом, залишаються предметом значних суперечок [7, 11, 14]. Складнощі полягають, насамперед, в ідентифікації подій міофібрилогенезу після введення токсичних речовин експериментальним тваринам. Вирішення цього завдання, що пов'язане з дослідженням пренатального впливу етанолу на серця ембріонів, можна застосувати як базові знання для подальшого вивчення спектру захворювань серцево-судинної системи, що утворюються внаслідок тератогенної дії алкоголю.

Метою дослідження є визначення змін ультраструктури скоротливого апарату кардіоміоцитів шлуночків серця щурів під час пренатального розвитку за умов внутрішньоутробної алкогольної інтоксикації.

Матеріали та методи

В якості об'єкта дослідження слугували серця ембріонів і плодів білих безпородних щурів віком від 14-ї доби ембріогенезу до народження. Для відтворення умов внутрішньоутробної алкогольної інтоксикації була використана модель, що описана у публікації Becker H.C. [19]. Було проведено декілька етапів отримання щурами-саміцями етанолу у різній концентрації та у різній проміжок часу. Тривалість першого етапу становила два тижні. Протягом цього часу тварини знаходилися на звичайній дієті, але замість води отримували 5%-ний розчин етанолу. На другому етапі (також 2 тижні) 5%-ний розчин етанолу замінювався на 15%-ний розчин. Після запліднення починався третій період, у якому 15%-ний розчин етанолу замінювався на 20%-ний розчин. Даний період тривав 2 тижні після запліднення.

Самиць щурів з датованим терміном вагітності мертвили за допомогою передозування ефірного наркозу через 14, 16, 18 і 20 діб після запліднення з подальшим вилученням ембріонів і плодів для подальшого ультраструктурного аналізу. Дослідження виконувались у відповідності до принципів Хельсінкської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000), Конвенції Ради Європи з прав людини та біомедицини (1997), відповідних положень ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики (1983), «Загальним етичним принципам експериментів над тваринами», що затверджені I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) згідно з положеннями «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших навчальних цілях» [9].

Для дослідження структур скоротливого апарату кардіоміоцитів зразки міокарда правого та лівого шлуночків і міжшлуночкової перегородки

фіксували при температурі +2°C протягом 3-4 годин у 2,5%-ному розчині глютаральдегіду (виготовленому на 0,2М фосфатному буфері (pH=7,4) з наступною постфіксацією протягом 1 години у 1%-ному забуференому (pH=7,4) розчині тетроксиду осмію («SPI», США), зневодненням у спиртах зростаючої концентрації і пропіленоксиді та виготовленням епоксидних блоків з використанням композиції епон-аралдіт. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікротомі УМТП-6М («SELMI», Україна) та розмішали на мідних опорних сітках Mesh Regular Grid 200 («SPI», США). Подвійне контрастування проводили за методом Рейнольдса [15]. Дослідження проводили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-100-01 («SELMI», Україна) при напрузі прискорення 65-90 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 25000 за стандартною схемою [13, 15]. Ділянки препаратів вивчалися за оригінальною модифікацією методу [6] та були фотодокументовані на монохромну плівку «Agfa» з подальшим відцифруванням сканером Canon CanoScan 9000F.

Кількісну оцінку ультраструктурних змін проводили методом підрахунку щільності упаковки міофібрил з використанням програмного пакету ImageJ 1,47v за методом Автанділова [1]. Для аналізу впливу етанолу на формоутворення скоротливого апарату вивчали морфологічні характеристики субепікардіальної (СЕП), інтрамуральної (ІМЗ) і субендокардіальної (СЕН) зон стінки лівого (ЛШ) та правого шлуночків (ПШ), а також лівої (ЛШЧ) та правої (ПШЧ) частин міжшлуночкової перегородки (МШП).

Визначення статистичної значущості відмінностей між експериментальною групою (дія етанолу) та групою інтактних тварин (нормальний розвиток) проводили з урахуванням критерію t Стьюдента. У тому випадку, якщо отримане в дослідженні емпіричне розподілення не відповідало нормальному закону, оцінку відмінностей між вибірками оцінювали за допомогою непараметричного критерію Вілкоксона для пов'язаних вибірок та Манна-Уїтні для непов'язаних вибірок або із використанням рангового критерію Ван-дер-Вардена. При проведенні біостатистичної обробки отриманих квантифікованих результатів усі необхідні розрахунки виконували в оболонці електронної таблиці Excel при використанні відповідних формул і з використанням ліцензійної програми STATISTICA (версія 6.1; серійний номер AGAR 909 E415822FA).

Результати та їх обговорення

Протягом 14-ї доби ембріонального розвитку у кардіоміоцитах в обох групах тварин спостерігалися лише невеликі осередки саркомерогенезу. Міофібрили, які утворювали невеликі хаотично розташовані пучки по 6-8 ниток за товщиною, зосереджувалися переважно на периферії кардіоміоцита. Часто зустрічались актинові та міозинові

філаменти, які не були включені до складу міофібрил. Також часто спостерігались пучки міофіламентів, прикріплених до зон злипання вставних дисків. Однак, у кардіоміоцитах експериментальних тварин, на відміну від норми, міофібрили розташовувались більш хаотично і не мали чіткого упорядкування. Траплялися міофібрили, які не мали поперечної посмугованості. У цих клітинах відзначалася порушена цілісність і відбувався лізис та стоншення окремих саркомерів (рис. 1).

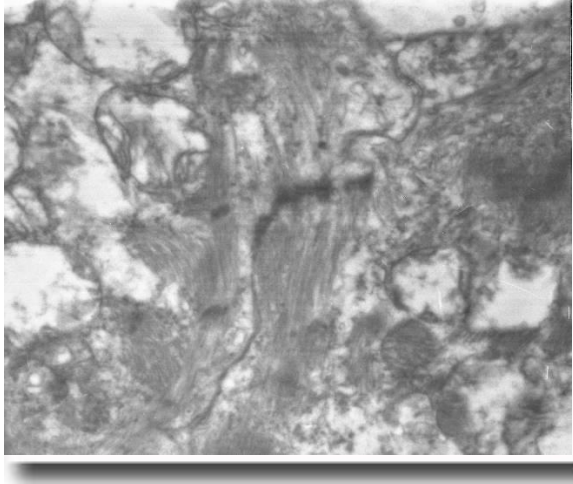


Рис. 1. Міокард щура експериментальної групи на 16-ту добу пренатального розвитку. Фрагментація міофібрил, стоншення та розрив міофібрил в області саркомерів. Електронोगрама. $\times 8000$.

На 14-ту добу пренатального онтогенезу при нормальному розвитку значення щільності упакування міофібрил у всіх досліджуваних зонах ЛШ та ПШ мали суттєві відмінності між собою. Величина параметра була вище у СЕН на 64,0% ($p < 0,05$) у ЛШ та на 53,9% ($p < 0,05$) у ПШ порівняно з ІМЗ, і на 15,5% ($p > 0,05$) у ЛШ та на 13,3% ($p > 0,05$) у ПШ – у порівнянні з СЕП ($p > 0,05$). Рівень щільності упакування міофібрил МШП у ПШЧ достовірно перевищував значення показника у ЛШЧ на 23,8%. Після дії етанолу на 14-у добу у порівнянні з нормальним розвитком величина щільності упакування у СЕН зменшувалася на 42,9% ($p < 0,05$) у ЛШ та на 41,7% ($p < 0,05$) у ПШ, в ІМЗ – на 21,1% ($p < 0,05$) у ЛШ та на 21,8% ($p < 0,05$) у ПШ, у СЕП – на 23,3% ($p < 0,05$) у ЛШ та на 23,2% ($p < 0,05$) у ПШ. Після дії алкоголю значення щільності упакування у ЛШЧ були нижче на 20,5% ($p < 0,05$) та у ПШЧ – на 25,1% ($p < 0,05$) у порівнянні з нормою.

На 15-ту добу нормального розвитку щільність упакування міофібрил шлуночкових кардіоміоцитів у складі СЕП та ІМЗ міокарда суттєво не змінювалася у порівнянні з 14-ю добою, у той час як значення параметра у СЕН статистично вагомо підвищувалися на 64,1% у ЛШ та на 66,1% у ПШ. Значення параметра у кардіоміоцитах МШП не

мали суттєвої різниці відносно попереднього досліджуваного терміну розвитку в обох частинах перегородки. Отже, у даний період скоротливі клітини СЕН обох шлуночків не лише зберігали найвищу щільність упакування міофібрил, але й відрізнялися найбільшими темпами її зростання у порівнянні з іншими зонами шлуночкового міокарда. Після дії алкоголю величина щільності упакування міофібрил у СЕП та в ІМЗ у порівнянні з попередньою добою розвитку суттєво не відрізнялася, при цьому значення параметра у СЕН у даний період розвитку статистично вагомо підвищувалися на 67,1% у ЛШ та на 68,8% у ПШ. Різниця між значеннями МШП на 15-у добу, у порівнянні з 14-ю добою, становила 59,4% ($p < 0,05$) у ЛШ та 57,1% ($p < 0,05$) у ПШ. Значне зростання рівня параметра у субендокардіальній зоні на 15-у добу пренатального онтогенезу свідчить про більш інтенсивний розвиток скоротливого апарату на ранніх етапах саме цієї частини шлуночка. При цьому значення щільності упакування в інших зонах шлуночкового міокарда залишалися сталими протягом цього періоду. Після дії етанолу значення показника в усіх зонах суттєво відрізнялися від значень, які характерні для нормального розвитку. Зокрема, значення параметра статистично вагомо були нижче, ніж при нормальному розвитку: у СЕН – на 40,1% у ЛШ та 40,7% у ПШ, в ІМЗ – на 20,3% у ЛШ та на 21,5% у ПШ, у СЕП – на 20,0% у ЛШ та на 20,7% у ПШ. Різниця між величинами МШП на 15-у добу у порівнянні з нормою становила 20,0% ($p < 0,05$) у ЛШЧ та 25,5% ($p < 0,05$) у ПШЧ.

Для змін в ультраструктурі міокарда експериментальних тварин, як і на 14-ту добу розвитку, було характерним хаотичне, невпорядковане розташування міофібрил. Відбувався лізис деяких актинових та міозинових філаментів, при цьому спостерігалось стоншення деяких саркомерів. Зустрічались поодинокі міофібрили зі зміненою Z-лінією, вона ставала менш вираженою, а у деяких випадках зовсім зникла. А- та І-диски були слабо виражені (рис. 2), що не було характерним для нормального розвитку.

При нормальному розвитку на 16-ту добу пренатального онтогенезу щурів величина щільності упакування міофібрил достовірно зросла у СЕП у ЛШ на 65,0% та у ПШ – на 42,0% у порівнянні з 15-ю добою. Значення параметра у СЕН достовірно не відрізнялися. Щільність упакування міофібрил МШП не мала суттєвої різниці відносно попередньої доби розвитку у ЛШЧ та у ПШЧ. Протягом 16-ї доби значення параметра у кардіоміоцитах після дії алкоголю статистично вагомо відрізнялися від величини показника попередньої доби розвитку. Величина щільності упакування підвищувалася у СЕП на 61,2% у ЛШ та на 44,9% у ПШ, в ІМЗ – на 92,5% у ЛШ та на 74,0% у ПШ, у СЕН – на 20,0% у ПШ, у МЖП –

на 38,5% у ЛШЧ. Після дії алкоголю на шлуночковий міокард згурів щільність упакування міофібрил у порівнянні з нормою статистично вагомо зменшувалася у СЕН на 40,6% у ЛШ та на 40,8% у ПШ, в ІМЗ – на 22,8% у ЛШ та на 21,7% у ПШ, у СЕП – на 25,3% у ЛШ та на 20,0% у ПШ, у той час як значення параметра у МШП статистично вагомо зменшувалися на 24,0% у ЛШЧ та на 22,4% у ПШЧ.

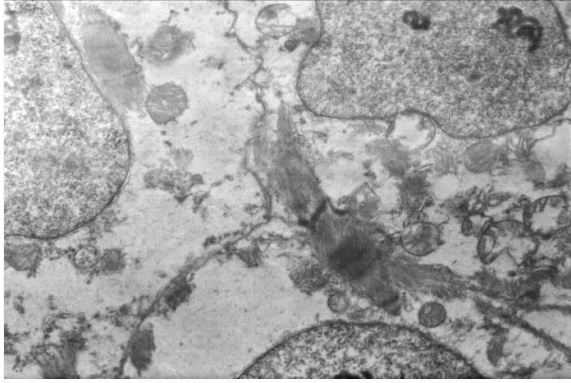


Рис. 2. Міокард згурів експериментальної групи на 16-ту добу пренатального розвитку. Фрагментація міофібрил, стоншення саркомерів, лізис актинових та міозинових філаментів. Електроннограма. $\times 6000$.

Протягом 18-20-ї доби ембріогенезу у кардіоміоцитах експериментальних тварин міофібрили виявлялися протягом усієї цитоплазми, однак розподіл міофібрил по кардіоміоциту був нерівномірний, зустрічалися ділянки, у яких були відсутні впорядковані актинові та міозинові міофіламенти, спостерігалася часткова фрагментація міофібрил з фрагментацією Z-дисків (рис. 3, 4).

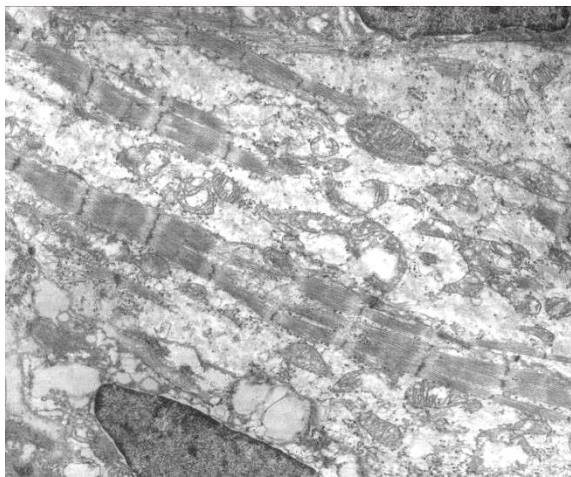


Рис. 3. Міокард згурів експериментальної групи на 18-ту добу пренатального розвитку. Різна товщина міофібрил з частковою їх фрагментацією. Електроннограма. $\times 5000$.

Було чітко видно різну товщину міофібрил. Зокрема, міофібрили, які мали товщину вдвічі більшу від норми, межували з міофібрилами, товщина яких була в 2-3 рази менша за нормальні структури.

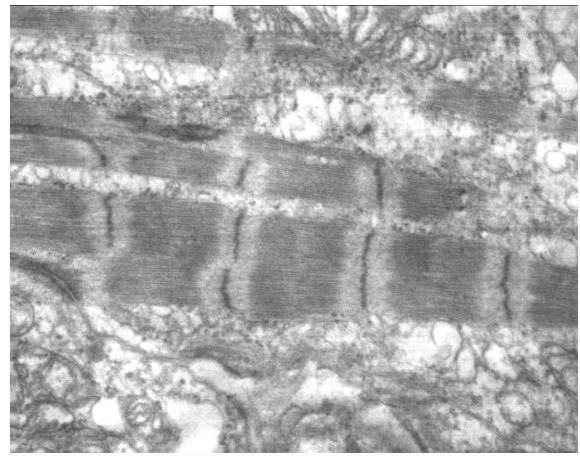


Рис. 4. Міокард згурів експериментальної групи на 20-ту добу пренатального розвитку. Фрагментація Z-дисків. Електроннограма. $\times 10000$.

Інші органели кардіоміоцитів також зазнавали суттєвих змін при дії етанолу. Мітохондрії мали різний розмір. На електроннограмі траплялися гігантські і дрібні мітохондрії. Проте більшість мітохондрій все ще зберігали свою нормальну будову (рис. 5).

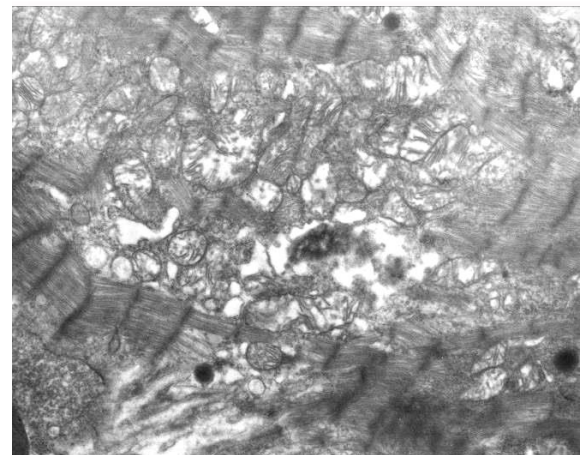


Рис. 5. Міокард згурів експериментальної групи на 20-ту добу пренатального розвитку. Гетероморфність мітохондрій.

Після дії етанолу на 18-ту добу пренатального онтогенезу величина щільності упакування в ІМЗ була статистично вагомо підвищена у ЛШ на 27,5% та у ПШ – на 23,3%, порівняно зі значеннями на 16-ту добу пренатального онтогенезу. Значення у субендокардіальній та субепікардіальній зонах достовірно не відрізнялися за відповідні значення на 16-ту добу пренатального онтогенезу.

Різниця між величинами різних частин МШП також була статистично вірогідною і становила у ЛШЧ 102%, а у ПШЧ 131%. Значення у порівнянні з нормою у СЕН зменшувалося на 40,9% у ЛШ та на 39,0% у ПШ, в ІМЗ – на 31,7% у ЛШ та на 20,7% у ПШ, у СЕП – на 32,1% у ЛШ та на 20,9% у ПШ, у ЛШЧ на 25,0% та у ПШЧ – на 21,0%.

Протягом 20-ї доби значення параметра у кардіоміоцитах після дії алкоголю статистично вагомо не відрізнялися від величин 18-ї доби розвитку, проте суттєво змінювалися у порівнянні з нормою. Так, показники достовірно зменшувалися: у СЕН на 41,0% у ЛШ та на 40,0% у ПШ, в ІМЗ – на 31,3% у ЛШ та на 21,1% у ПШ, у СЕП – на 32,5% у ЛШ та на 22,6% у ПШ, у той час як значення параметра у МШП статистично вагомо зменшувалися на 28,9% у ЛШЧ та на 20,8% у ПШЧ.

У новонароджених щурів після дії етанолу величини у субендокардіальній зоні були статистично вагомо підвищені у лівому шлуночку на 101,0% та у правому шлуночку на 42,0%, порівняно з показниками попередньої доби розвитку. Показники в інтрамуральній та субепікардіальній зонах достовірно не відрізнялися за відповідні значення на 20-у добу пренатального онтогенезу. Різниця між величинами параметра різних частин міжшлуночкової перегородки була статистично вірогідною і становила 45,9% у лівощлуночкової частині та 20,2% у правощлуночкової частині. Значення параметра в інтрамуральній зоні після дії етанолу у порівнянні з нормою зменшувалися на 35,5% ($p > 0,05$) у лівому шлуночку та на 36,0% ($p < 0,05$) у правому шлуночку.

Отже, отримані в нашому дослідженні дані про характер дезорганізації міофібрил після внутрішньоутробного впливу алкоголю узгоджуються з сучасними уявленнями про токсичну дію даного чинника на структуру та функцію кардіоміоцитів [7, 11], а кількісна характеристика змін суттєво уточнює характер патологічних перебудов скро-

ротливого апарату міокарда під час його формування на етапах пренатального розвитку [12]. На особливу увагу звертає той факт, що динаміка пригнічення саркомерогенезу та загального зниження вмісту міофібрил щільно пов'язана з деструкцією мітохондрій, як це було доведено результатами досліджень на моделях гіпоксичних станів та за умов інших токсичних впливів [2, 3, 10]. Отримані в нашій роботі результати підтверджують та деталізують загальну модель саркомерогенезу [8], зокрема з точки зору провідних ультраструктурних та молекулярно-біологічних субстратів, які найбільшою мірою чутливі до токсичної дії алкоголю в пренатальному періоді.

Підсумок

Хронічна алкогольна інтоксикація під час пренатального кардіогенезу ушкоджує скоротливий апарат кардіоміоцитів шлуночків за рахунок дезорганізації структури саркомерів, фрагментації та дезорієнтації міофібрил, значного пригнічення саркомерогенезу, зниження вмісту міофібрил, що асоційовано з деструкцією мітохондрій. Виразність змін у даних структурах залежить від зони та терміну розвитку ембріона. Найбільш істотні зміни обумовлені прямою токсичною дією етанолу і відбуваються на ранніх термінах кардіогенезу.

Перспективи подальших розробок пов'язані з вивченням наслідків пренатальної алкоголізації на структуру скоротливого апарату кардіоміоцитів щурів після народження.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Роботу проведено в рамках науково-дослідної теми «Гістогенез компонентів серцево-судинної системи людини та лабораторних тварин в нормі та за умов експерименту» (номер державної реєстрації 0118U004730).

Літературні джерела

References

1. Avtandilov GG. Meditsinskaya morfometriya: rukovodstvo [Medical morphometry: guideline]. Moscow: Meditsina; 1990. 384 p. Russian.
2. Ivanchenko MV, Tverdokhle IV. Vliyaniye vnutriutrobnoy gipoksii na geterogenitet mitokhondriy i puti yego realizatsii pri al'teratsii zheludochkovogo miokarda kryz [The influence of intrauterine hypoxia on the heterogeneity of mitochondria and the ways of its implementation during alteration of the ventricular myocardium of rats]. Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta. 2014;4(52):101-106. Russian.
3. Ivanchenko MV, Tverdokhle IV. Formuvannya mitokhondrial'noho aparata skorotlyvykh

- kardiomiotsytiv v normi ta za umov hipoksychnoho ushkozheniya kardiohenezu [Formation of the mitochondrial apparatus of contractile cardiomyocytes in normal conditions and under conditions of hypoxic damage to cardiogenesis]. Morphologia. 2013;7(1):5-20. Ukrainian.
4. Mashtalir MA, Tverdokhle IV. Gistokhimicheskiye, lektinogistokhimicheskiye i immunogistokhimicheskiye metody v embriologicheskoy issledovanii serdtsa [Histochemical, lectinohistochemical and immunohistochemical methods in the embryological study of the heart]. Morphologia. 2010;4(2):39-44. Russian.

5. Tverdokhleb IV, Shponka IS. Stereologicheskiye i lektinogistokhimicheskiye kharakteristiki morfogeneticheskikh mekhanizmov v serdtse mlekopitayushchikh [Stereological and lectinohistochemical characteristics of morphogenetic mechanisms in the mammalian heart]. *Ukrainskiy morfologichnyi almanach*. 1998;3:131-132. Russian.
6. Tverdokhlib IV, Petruk NS, Ivanchenko MV, Silkina JuV, Khripkov IS, Pertseva NO, Shevchenko KM, Goodlett TO, Malkov II, Berehovenko IM, Zinenko DYU, Galaida NO, Varin VV, inventors; State Institution «Dnipropetrovsk medical academy of the Health Ministry of Ukraine». Method of determining the coordinates of ultrastructures in transmission electron microscopy of biological objects. Ukrainian patent UA 83611. 2013 Sep 25. Int. Cl. G01N 1/28. Ukrainian.
7. Conen D. Alcohol consumption and incident cardiovascular disease: not just one unifying hypothesis. *Eur. Heart J*. 2015;36(15):897–8.
8. Drew NK, Grosberg A. Methods of myofibrillogenesis modeling. *Methods Mol. Biol*. 2015;1299:75–91.
9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe. 18 Mar 1986. 53 p.
10. Fenix AM, Neining AC, Taneja N, Hyde K, Visetsouk MR, Garde RJ, Liu B, Nixon BR, Manalo AE, Becker JR. Muscle-specific stress fibers give rise to sarcomeres in cardiomyocytes. *Elife*. 2018 Dec 12;7. Epub 2018 Dec 12.
11. Gardner JD, Mouton AJ. Alcohol effects on cardiac function. *Compr. Physiol*. 2015;5(2):791-802.
12. Geach TJ, Hirst EM, Zimmerman LB. Contractile activity is required for Z-disc sarcomere maturation in vivo. *Genesis*. 2015;53(5):299-307.
13. Hayat MA. Principles and techniques of electron microscopy: Biological applications [4th ed.]. Cambridge : Cambridge University Press; 2000. 543 p.
14. Kamran K, Khan MY, Minhas LA. Atrial and ventricular septal changes in ethanol vapour exposed chick embryos. *J. Pak. Med. Assoc*. 2015;65(3):296–9.
15. Kuo J. Electron microscopy: methods and protocols. Totowa, New Jersey : Humana Press Inc; 2007. 608 p.
16. Sanger JW, Wang J, Fan Y, White J, Mi-Mi L, Dube DK, Sanger JM, Pruyne D. Assembly and Maintenance of Myofibrils in Striated Muscle. *Handb Exp Pharmacol*. 2017;235:39-75.
17. Wang J, Fan Y, Sanger JM, Sanger JW. Non-muscle myosin II in cardiac and skeletal muscle cells. *Cytoskeleton (Hoboken)*. 2018;75(8):339-51.
18. Zile MR, Baicu CF, Ikonomidis JS. Myocardial stiffness in patients with heart failure and a preserved ejection fraction: contributions of collagen and titin. *Circulation*. 2015;131(4):1247-59.
19. Becker HC. Animal models of excessive alcohol consumption in rodents. *Curr Top Behav Neurosci*. 2013;13:355–377.

Марченко Д.Г., Твердохліб І.В. Внутрішньоклітинні перебудови скоротливого апарату міокарда шлуночків щурів на етапах пренатального онтогенезу після дії алкоголю.

РЕФЕРАТ. Обґрунтування. Відомості про формування скоротливого апарату серця і розподіл міофібрил у кардіоміоцитах за умов внутрішньоутробної інтоксикації етанолом залишаються предметом значних суперечок. **Метою** дослідження було визначення змін ультраструктури скоротливого апарату кардіоміоцитів шлуночків серця щурів під час пренатального розвитку за умов внутрішньоутробної алкогольної інтоксикації. **Методи.** Об'єктом дослідження слугували серця потомства щурів у різні терміни від народження до зрілого віку в моделі хронічної алкогольної інтоксикації материнського організму. За допомогою трансмісійної електронної мікроскопії визначені кількісні параметри міофібрил кардіоміоцитів різних зон міокарда шлуночків. **Результати.** У новонароджених щурів після дії етанолу величини у субендокардальній зоні були статистично вагомо підвищені у лівому шлуночку на 101,0% та у правому шлуночку на 42,0%, порівняно з показниками попередньої доби розвитку. Показники в інтрамуральній та субепікардальній зонах достовірно не відрізнялися за відповідні значення на 20-у добу пренатального онтогенезу. Різниця між величинами параметра різних частин міжшлуночкової перегородки була статистично вірогідною і становила 45,9% у лівошлуночкової частині та 20,2% у правошлуночкової частині. Значення параметра в інтрамуральній зоні після дії етанолу у порівнянні з нормою зменшувалися на 35,5% ($p > 0,05$) у лівому шлуночку та на 36,0% ($p < 0,05$) у правому шлуночку. **Підсумок.** Хронічна алкогольна інтоксикація під час пренатального кардіогенезу ушкоджує скоротливий апарат кардіоміоцитів шлуночків за рахунок дезорганізації структури саркомерів, фрагментації та дезорієнтації міофібрил, значного пригнічення саркомерогенезу, зниження вмісту міофібрил, що асоційовано з деструкцією мітохондрій. Виразність змін у даних структурах залежить від зони та терміну розвитку ембріона. Найбільш істотні зміни обумовлені прямою токсичною дією етанолу і відбуваються на ранніх термінах кардіогенезу.

Ключові слова: пренатальний онтогенез, щури, алкогольна інтоксикація, серце, міокард шлуночків, міофібрили, ультраструктура.

Г.С. Маслак¹
Р.М. Онисько²
І.В. Челпанова³

¹ Дніпровський державний медичний університет, Дніпро
² ТЗВО ЛОР «Львівська медична академія імені Андрея Крупинського», Львів
³ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів
Україна

Надійшла: 09.02.2024

Прийнята: 18.03.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.62-69>

УДК: 611.12:611.013:611.061.1

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ САРКОМЕРОГЕНЕЗОМ І РОЗВИТКОМ ТКАНИНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ МІОКАРДА В ЕМБРІОНАЛЬНОМУ КАРДІОГЕНЕЗИ КУРКИ

Maslak H.S.  ✉, Onysko R.M.  ✉, Chelpanova I.V.  ✉ The relationship between sarcomerogenesis and the development of tissue organization of the myocardium in embryonic chicken cardiogenesis.

Dnipro State Medical University, Dnipro; Andrey Krupynsky Lviv Medical Academy, Lviv; Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.


ABSTRACT. Background. The general basis for understanding how the limited range of sarcomere contraction ensures cardiac output during systole is the analysis of the ontogenetic formation and local features of the development of the myofibrillar structure of cardiomyocytes by comparing the phase states of the myocardium. **The purpose** of the research is to determine phase and topological features and quantitative ultrastructural characteristics of sarcomerogenesis in cardiomyocytes of chicken embryos. **Methods.** Embryos of Cobb500 crossbred chickens were studied from the beginning of the 6th day to the 21st day of incubation. Ultrastructural features of contractile cardiomyocytes in different areas of ventricular and atrial myocardium in systole and diastole were studied using transmission electron microscopy. **Results.** At the 29th stage of development of chicken embryos in diastole, immature sarcomeres had different lengths. The average length of sarcomeres was $1.86 \pm 0.09 \mu\text{m}$ in the left ventricle and $1.91 \pm 0.21 \mu\text{m}$ in the right ventricle. At the 36th stage in the state of diastole, a significant increase in the length of sarcomeres was observed in the compact myocardium of the left ventricle and left atrium, while in the right parts of the heart, the increase in Z-Z distance was less active. In the right units of the heart, sarcomeres with unequal lengths were more often found in the compact myocardium and in the trabeculae. In different areas of the myolamella and trabeculae, the degree of relaxation of sarcomeres during simulation of maximum diastole was not the same. Incomplete relaxation of sarcomeres was noted in the initial and final sections of the muscle plates. In the middle part of the trabeculae, the length of the sarcomeres was significantly longer ($1.82 \pm 0.04 \mu\text{m}$), and in the intermediate (main) part of the muscle plates of the compact ventricular myocardium, the sarcomeres were 10.4% ($p < 0.05$) longer, than in their basis. **Conclusion.** By the end of prenatal cardiogenesis, the tangential orientation of the Z-discs of myofibrils and the shape of cardiomyocytes in systole was formed and strengthened due to the mutual displacement of neighboring myolamella during the counter-directional rotation of the basal and apical parts of the left ventricle during the shortening of sarcomeres to $1.83 \pm 0.04 \mu\text{m}$. In the right ventricle and atrial myocardium, systolic contraction did not change the orthogonal orientation of telophragms and intercalated discs when sarcomeres were shortened to 1.79-1.84 μm . In the state of diastole, the orthogonal orientation of Z-discs is characteristic of contractile cardiomyocytes of all chambers when the length of sarcomeres reaches $2.17 \pm 0.07 \mu\text{m}$ in the intermediate part of the myolamella of both ventricles, $2.12 \pm 0.13 \mu\text{m}$ in the middle part of atrial and ventricular trabeculae, $2.02 \pm 0.10 \mu\text{m}$ at the base of trabeculae of all chambers and muscle plates of both ventricles. **Key words:** chicken embryo, cardiogenesis, heart, cardiomyocyte, sarcomere, histoarchitecture, ultrastructure.

Citation:

Maslak HS, Onysko RM, Chelpanova IV. [The relationship between sarcomerogenesis and the development of tissue organization of the myocardium in embryonic chicken cardiogenesis]. Morphologia. 2024;18(1):62-9. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.62-69>

 Ganna Maslak 0000-0003-3573-8606;  Onysko R.M. 0009-0004-4420-0255

 Chelpanova I.V. 0000-0001-5215-814X

✉ gannamaslak@gmail.com; Oniskoroman2022@gmail.com; ilona.med75@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

У фундаментальному дослідженні Н.М. Spotnitz з колегами [1] було вивчено значення змін діаметра шлуночкових кардіоміоцитів протягом серцевого скорочення, а також роль ковзання (зміщення) пучків волокон у забезпеченні потовщення стінки шлуночків у фазі систоли. Автори дійшли висновку, що фазова зміна товщини волокон не може пояснити стовщення стінки шлуночків під час систолічного скорочення. Також показано, що між групами міоцитів є плоскі простори сполучної тканини, які їх розмежують і забезпечують ковзання м'язових пластин відносно одна одної під час систолічного скорочення. Міокард шлуночків зазнає значних змін форми та розміру протягом серцевого циклу, причому ступінь цих змін є найбільшим у субендокардальній зоні. Хоча існують значні трансмуральні градієнти просторової деформації, характер розслаблення та скорочення міофібрил є напрочуд рівномірним по всій товщі стінки шлуночка в систолі та діастолі [2], і довжина саркомера не перевищує 2,25 мкм при нормальному скороченні серця [3].

Тривимірний аналіз показав, що це обумовлено суттєвим зрушенням між сусідніми м'язовими пластинами в субендокардальній зоні під час систоли [2, 4], а також значним геометричним перетворенням за рахунок скручування лівого шлуночка [5]. На підставі кінематичного моделювання було зроблено припущення, що систолічне скручування шлуночка та трансмуральне скорочення міофібрил є основними факторами, що формують адекватний серцевий викид у систолі [6].

Також було показано експериментально [7] та теоретично [8], що орієнтація м'язових шарів у стінці лівого шлуночка збігається з площинами максимального стиснення шлуночкової стінки. Дані наукової літератури вказують на існування двох механізмів, за допомогою яких змінюється геометрія стінки шлуночків під час серцевого циклу. При цьому міоламельярна організація міокарда виступає як центральний механізм за рахунок потовщення м'язових пластин та їх взаємного зміщення (ковзання). Дослідження, які присвячені детальному опису міоламельярної структури з урахуванням систоло-діастолічного градієнта змін, проведені лише у вільній стінці лівого шлуночка [9, 10] та при деяких патологічних станах. Також поодинокими залишаються дослідження, які присвячені вивченню механізмів ембріонального розвитку міоламельярної архітектури міокарда [11-13].

Наведені дані вказують, що незважаючи на обмежений діапазон фазових змін довжини саркомера, з яким кардіоміоцити скорочуються та розвивають силу, лівий шлуночок може забезпечувати значно більшу фракцію викиду. Той факт, що міоламельярна структура не характерна для поверхневих субепікардальних ділянок стінки лівого шлуночка, відображає відносно низький рівень

міжламельярних зрушень у цій локалізації [14, 15].

Таким чином, фазові зміни розмірів субендокардальної та інтрамуральної зон під час серцевого циклу значно більші, ніж може бути досягнуто за рахунок індивідуального локального скорочення кардіоміоцитів [16-19]. Загальною основою для розуміння того, яким чином обмежений діапазон скорочення саркомерів забезпечує серцевий викид під час систоли, є аналіз онтогенетичного утворення та локальних особливостей розвитку міофібрилярної структури кардіоміоцитів за рахунок зіставлення фазових станів міокарда.

Мета дослідження – визначення топологічних особливостей та кількісна ультраструктурна характеристика саркомерогенезу в кардіоміоцитах курячих ембріонів.

Матеріали та методи

У роботі досліджували зародки курей кросу Cobb500 від початку 10-ї доби (стадія 29 за Hamburger-Hamilton, НН) до 21-ї доби (стадія 46 за НН) інкубації. Яйця інкубували при температурі 39,4°C та відносній вологості повітря 80%. Стадію розвитку визначали за Hamburger-Hamilton [20] відповідно до рекомендацій Martinsen B.J. [13].

Дослідження виконувались у відповідності до принципів Хельсінгської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000), відповідних положень ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств згідно з положеннями «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших навчальних цілях» [21].

Стан максимальної діастолі моделювали за допомогою розчину хлориду калію: перед фіксацією серце ембріона зі збереженим серцебиттям поміщали в 50 мл розчину, що містить 20 мг КСІ при температурі 37,0°C, і витримували протягом 30 сек при зупинці серцевих скорочень з подальшою фіксацією в охолодженому 2,5%-ному розчині глутаральдегіду. Фіксацію серця ембріона у стані максимальної систоли проводили за аналогічною процедурою в середовищі, що містило 52 мг/мл хлориду барію [22].

Для ультраструктурного дослідження зразки міокарда фіксували при температурі +2°C протягом 3-4 годин у 2,5%-ному розчині глутаральдегіду (виготовленому на 0,2М фосфатному буфері (рН=7,4) з наступною постфіксацією протягом 1 години у 1%-ному забуференому (рН=7,4) розчині тетроксиду осмію («SPI», США), зневодненням у спиртах зростаючої концентрації і пропіленоксиді та виготовленням епоксидних блоків з використанням композиції епон-аралдіт. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікросомі УМТП-6М («SELMI», Україна) та розміщали на мідних опорних сітках Mesh Regular Grid 200 («SPI», США). Подвійне контрастування проводили за методом Рейнольдса [23]. Дослідження проводили за допомогою трансмісійного електронного

мікроскопа ПЕМ-100-01 («SELMI», Україна) при напрузі прискорення 65-90 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 25000 за стандартною схемою [18]. Ділянки препаратів вивчалися за модифікованим методом [24] та були фотодокументовані на монохромну плівку «Agfa» з подальшим відцифруванням сканером Canon CanoScan 9000F для планіметричного вимірювання довжини саркомерів.

Визначення статистичної значущості відмінностей проводили з урахуванням критерію t Стьюдента. У тому випадку, якщо отримане в дослідженні емпіричне розподілення не відповідало нормальному закону, оцінку відмінностей між вибірками оцінювали за допомогою непараметричного критерію Вілкоксона для пов'язаних вибірок та Манна-Уїтні для непов'язаних вибірок або із використанням рангового критерію Ван-дер-Вардена.

Результати та їх обговорення

На 29-й стадії розвитку курячих ембріонів у кардіоміоцитах шлуночків вміст міофібрил значно перевищував ступінь їх накопичення в скоротливих клітинах передсердного міокарда. Структура Z-дисків та мезофрагм свідчала про відносну незрілість міофібрил. У стані модельованої діастолі саркомери мали неоднакову довжину, що найчастіше виявлялося у клітинах компактного міокарда правого шлуночка (ПШ). Середня довжина саркомерів становила $1,86 \pm 0,09$ мкм у лівому шлуночку (ЛШ) та $1,91 \pm 0,21$ мкм у ПШ. У передсердному міокарді довжина саркомерів у діастолі помітно поступалася шлуночкам ($1,69 \pm 0,17$ мкм та $1,72 \pm 0,20$ мкм відповідно для лівої та правої камер), проте через суттєве варіювання Z-Z-відстані відмінності не мали статистично достовірної характеру. Анізотропні компоненти саркомерів мали різну електронну щільність у складі сусідніх міофібрил. Мезофрагми саркомерів помітно відставали за ступенем зрілості від телофрагм і були поліморфними на протязі міофібрил на тлі примітивних H-смуг.

У складі ядер кардіоміоцитів нуклеоплазма містила переважно деконденсований хроматин, ядерця мали чіткі межі, їхня структура вказувала на високу функціональну активність. Характерною була наявність ядер у деяких скорочувальних серцевих міоцитів, які мали виражений вигнутий контур ядерної оболонки, характерний для частково скороченого стану клітини. Це свідчило про неповне розслаблення даних клітин і може бути пов'язане, на наш погляд, з незрілістю структур гладкого ендоплазматичного ретикулу, відповідального за повноцінне депонування кальцієвих іонів під час діастолі.

На даному етапі розвитку структури гладкого ендоплазматичного ретикулу не виявлялися у вигляді характерних скупчень поблизу Z-дисків і були представлені порізненими розширеними поліморфними мембранними утвореннями

без певної локалізації в саркоплазмі шлуночкових і передсердних скоротливих кардіоміоцитів. Мітохондрії виявлялися в обмеженій кількості, причому їхня структура залежала від внутрішньоклітинної локалізації. Зокрема, у шлуночкових кардіоміоцитах поблизу ядра органели мали незначно розвинені кристи та помірну електронну щільність. Мітохондрії між міофібрилами мали ознаки більшої функціональної активності.

Міжклітинний матрикс міокарда на 29-й стадії розвитку містив незначну кількість фіброblastів і поодинокі колагенові волокна без виразної взаємної орієнтації. Найчастіше протяжні відростки фіброblastів виявлялися між стінкою гемокapіляра і кардіоміоцитом, вільно розташовуючись в аморфній речовині з низькою електронною щільністю. Шлуночкові та передсердні кардіоміоцити характеризувалися вираженим поліморфізмом, часто розгалужувалися та анастомозували один з одним у різних напрямках, формуючи протяжні адгезійні контакти.

У стані систоли загальна ультраструктура саркоплазми скоротливих клітин не відрізнялася від стану діастолі у всіх камерах. Скорочення довжини саркомерів шлуночкового міокарда становило від 8,3 до 10,2% по відношенню до стану в діастолі. У передсердних кардіоміоцитах систоло-діастолічна різниця цього параметра була ще меншою – від 3,0 до 3,5%. Зазначені відмінності не мали статистичної значущості.

На 29-й стадії розвитку Z-диски мали чітку поперечну орієнтацію у стані систоли як у шлуночках, так і в передсердях. Часто телофрагми склалися з окремих фрагментів, на своїх периферичних ділянках не мали характерної щільності та були представлені скупченнями дрібнодисперсного осміюфільного матеріалу, відбиваючи незавершений характер формування дисків. Мезофрагми виявлялися як незначні скупчення електронно-щільного матеріалу в серединних ділянках деяких саркомерів.

Зміни діаметра шлуночкових кардіоміоцитів у стані систоли по відношенню до діастолі були незначними як у компактному, так і в трабекулярному міокарді, незважаючи на значну перевагу товщини скоротливих клітин у трабекулах ЛШ. Міжклітинні простори виглядали як щілини, що варіюють по ширині, заповнені матеріалом низької електронної щільності. У трабекулярному міокарді спостерігалось помірне звуження міжтрабекулярних просторів у порівнянні зі станом діастолі.

Вивчення міокарда на 31-й та 33-й стадіях розвитку у стані максимальної діастолі виявило вищепереджувальне накопичення міофібрил у шлуночковому міокарді порівняно з передсердними кардіоміоцитами та у порівнянні з попередньою стадією розвитку. Z-диски мали високу електронну щільність, мезофрагми, навпаки, надзвичайно низьку, що характеризувало саркомери як незрілі. У

стані модельованої діастолі виявлялася неоднакова довжина саркомерів як у тонкому компактному міокарді шлуночків, так і в добре розвинутому трабекулярному. Середня довжина саркомерів не змінювалася істотно порівняно з 29-ю стадією в досліджуваних відділах серця; лише у кардіоміоцитах лівого передсердя (ЛП) спостерігалася незначне збільшення Z-Z-відстані (табл. 1,

2). При цьому саркомери суттєво варіювали за довжиною як у сусідніх міофібрилах, так і у складі однієї міофібрили. У саркомерах виявлялися численні дрібні осміофільні утворення, що свідчили про активне структуроутворення незрілих міофібрил.

Таблиця 1
Довжина саркомерів кардіоміоцитів компактного шлуночкового міокарда курячих ембріонів, мкм ($M \pm m$)

Стадія	Лівий шлуночок		Правий шлуночок	
	Діастола	Систола	Діастола	Систола
29	1,86±0,09	1,67±0,08	1,91±0,21	1,75±0,06
31	1,82±0,12	1,62±0,11	1,85±0,18	1,71±0,12
33	1,85±0,17	1,66±0,13	1,87±0,15	1,72±0,17
35	1,88±0,11	1,65±0,10	1,84±0,19	1,74±0,16
36	2,02±0,09	1,72±0,08*	1,87±0,16	1,72±0,12
38	2,07±0,09	1,80±0,06*	1,94±0,12	1,77±0,14
41	2,12±0,08	1,82±0,06*	2,10±0,07	1,80±0,12*
43	2,16±0,08	1,80±0,05*	2,11±0,09	1,80±0,07*
46	2,19±0,06	1,83±0,04*	2,15±0,08	1,82±0,08*

Примітка. * – достовірна відмінність ($p < 0,05$) значень у діастолі від відповідних за стадією значень у систолі.

Таблиця 2
Довжина саркомерів кардіоміоцитів передсердного міокарда курячих ембріонів, мкм ($M \pm m$)

Стадія	Ліве передсердя		Праве передсердя	
	Діастола	Систола	Діастола	Систола
29	1,69±0,17	1,64±0,09	1,72±0,20	1,66±0,18
31	1,73±0,19	1,66±0,09	1,75±0,23	1,63±0,16
33	1,81±0,23	1,70±0,11	1,73±0,26	1,67±0,24
35	1,85±0,16	1,71±0,15	1,78±0,22	1,71±0,19
36	1,90±0,18	1,74±0,14	1,80±0,14	1,73±0,22
38	2,04±0,16	1,75±0,12	1,93±0,15	1,74±0,18
41	2,11±0,11	1,75±0,07*	2,02±0,09	1,76±0,15
43	2,14±0,14	1,77±0,05*	2,10±0,09	1,75±0,08*
46	2,12±0,13	1,79±0,05*	2,13±0,08	1,78±0,05*

Примітка. * – достовірна відмінність ($p < 0,05$) значень у діастолі від відповідних за стадією значень у систолі.

Ядра кардіоміоцитів мали ультраструктурні ознаки високої активності. Як і раніше, виявлялися серцеві міоцити з ядрами різної конфігурації, що додатково свідчило про різний ступінь діастолічного розслаблення клітин.

Протягом 31-33-ї стадій розвитку структури гладкого ендоплазматичного ретикулуму залишалися слабо організованими відносно міофібрил і визначалися у вигляді різних поліморфних утворень без упорядкованої організації в саркоплазмі кардіоміоцитів як у шлуночках, так і в передсердях. Кількість мітохондрій порівняно з 29-ю стадією розвитку помітно зростала. Органели поблизу міофібрил збільшувалися і містили добре розвинений апарат крист і матрикс помірної електронної щільності.

Ультраструктурне дослідження міокарда в стані систоли показало суттєву гетероморфність міофібрил як за товщиною, так і за складом та ступенем зрілості саркомерів у всіх камерах серця на 31-й та 33-й стадіях розвитку. Слід зазначити, що фрагментованість матеріалу Z-дисків спостерігалася лише у складі клітин передсердного міокарда, проте скупчення осміофільного тонкодисперсного матеріалу на периферії телофрагм виявлялися також і в кардіоміоцитах шлуночків. Н-смуги і структура мезофрагм ще більшою мірою свідчили про відносну незрілість міофібрил, що було помітніше виражено в компактному міокарді ПШ.

Скорочення довжини саркомерів у стані модельованої систоли по відношенню до діастолі

становило від 7,6% до 11,0% у шлуночковому міокарді і від 3,5% до 6,9% у передсердних кардіоміоцитах.

На 35-й стадії розвитку курячих ембріонів тривало активне накопичення міофібрил у саркоплазмі кардіоміоцитів, більш виражене в шлуночках при порівнянні з передсердями. У стані діастолі добре візуалізувалися типові структури саркомерів, що свідчило про значно більш зрілі міофібрили порівняно з початковими етапами дослідження. Тим не менш, на даному етапі розвитку в стані максимальної діастолі спостерігалися саркомери з різною довжиною. Більшою мірою це було характерним для передсердних скоротливих кардіоміоцитів. Також відзначалася істотна гетероморфність Z-дисків і мезофрагм, частина з яких мали вигляд повністю сформованих структур, а частина з них – комплексів з різною щільністю і варіабельною осміофілією.

Ядра кардіоміоцитів містили нуклеоплазму з переважанням деконденсованого хроматину, ядрця мали чіткі межі, їхня структура вказувала на високу функціональну активність. Ядерна оболонка більшості клітин мала високий вміст ядерних пор, що вказувало на зростання транспортних процесів між ядром та саркоплазмою. Ультраструктура органел на 35-й стадії розвитку значно відрізнялася від початкових етапів дослідження. Зокрема, елементи гладкого ендоплазматичного ретикулуму групувалися поблизу Z-дисків і були представлені неширокими шліноподібними мембранними утвореннями у шлуночкових міоцитах, однак у клітинах передсердь подібні структури не виявлялися. Кількість мітохондрій не зростала суттєво в порівнянні з попередньою стадією, проте ці органели мали більш розвинені кристи і формували значні скупчення навколо ядра.

При моделюванні систоли в міофібрил кардіоміоцитів виявлялися поліморфні Z-диски, частина з яких мали зигзагоподібну форму, що свідчило про структурне дозрівання телофрагм. Тим не менш, про обмежений характер цього дозрівання можна було судити з того, що Z-диски під час систоли розташовувалися на різних рівнях внаслідок зсуву сусідніх міофібрил за їх недостатньої інтеграції елементами цитоскелета. Крім того, частина матеріалу телофрагм, як і на попередніх стадіях, була представлена осміофільним тонкодисперсним матеріалом на їх периферії. Структура мезофрагм також залишалася відносно незрілою як у шлуночках, так і, особливо, в передсердях. При морфометрії довжини саркомерів в систолі, що моделюється, і розрахунку систолодіастолічного градієнта даного параметра ми не виявили істотних змін порівняно з попередньою стадією розвитку і по відношенню до початкової 29-ї стадії.

На 36-й стадії у стані модельованої діастолі

спостерігалася суттєве наростання довжини саркомерів у скоротливих клітинах компактного міокарда ЛШ та в кардіоміоцитах ЛП, тоді як у ПШ і ПП збільшення Z-Z-відстані було менш активним на даних стадіях розвитку. Поряд із цим у правих відділах серця частіше виявлялися саркомери з неоднаковою довжиною як у компактному міокарді, так і у складі трабекул, проте гетероморфність сусідніх міофібрил у цілому виявлялася значно меншою мірою, ніж на попередніх стадіях розвитку. Привертала увагу така обставина: у різних ділянках міоламель і трабекул ступінь розслаблення саркомерів при моделюванні максимальної діастолі був неоднаковим. Зокрема, у місцях відходження м'язових трабекул та їх прикріплення до вільної стінки шлуночків та передсердь визначалися саркомери із найменшою довжиною. Подібне неповне розслаблення саркомерів відзначалося у початкових і кінцевих ділянках м'язових пластин. У середньому, в основі міоламель та трабекул Z-Z-відстань у стані діастолі складала $1,73 \pm 0,05$ мкм. У серединній частині трабекул довжина саркомерів була помітно більшою ($1,82 \pm 0,04$ мкм), а в проміжній (основній) частині м'язових пластин компактного шлуночкового міокарда саркомери були на 10,4% ($p < 0,05$) довшими, ніж у їхній основі.

На 36-й стадії розвитку ультраструктура кардіоміоцитів свідчила про істотне об'ємне переважання міофібрил над іншими органелами. У складі саркомерів Z-диски мали високу та рівномірну електронну щільність, фрагментовані телофрагми виявлялися рідко та переважно у передсердних кардіоміоцитах. Дрібні осміофільні утворення на тлі рівномірної електронної щільності ізотропних та анізотропних ділянок саркомерів виявлялися у незначних кількостях, що вказувало на більшу зрілість міофібрил у порівнянні з попередніми стадіями розвитку.

У стані модельованої систоли на даному етапі розвитку була характерною наявність Z-дисків, що відхиляються від перпендикулярної орієнтації відносно міофіламентів. Така картина спостерігалася в компактному міокарді обох шлуночків, але не в шлуночкових трабекулах і не передсердному міокарді.

На 36-й стадії розвитку відбувалося незначне подовження саркомерів у компактному міокарді ЛШ, проте систоло-діастолічний градієнт досягав величини 0,30 мкм, тобто 14,9% від величини Z-Z-відстані у діастолі, що склало різницю між систолою та діастолою. У міокарді ПШ та передсердях не виявлялося статистично значущих змін параметра порівняно з попередньою стадією розвитку та по відношенню до початкової 29-ї стадії. При цьому в різних ділянках міоламель і трабекул рівень скорочення саркомерів при моделюванні максимальної систоли, на відміну від діастолі, був рівномірним.

На 38-й стадії розвитку у складі міофібрил Z-

диски мали значну електронну щільність, рівномірно розподілену протягом диска. Фрагментовані телофрагми не виявлялися як у шлуночкових скорочувальних клітинах, так і в передсердних кардіоміоцитах. Дрібні осміофільні утворення на тлі рівномірної електронної щільності ізотропних та анізотропних ділянок саркомерів виявлялися у незначних кількостях, що вказувало на більшу зрілість міофібрилу порівняно з попередніми стадіями розвитку. У стані діастолі телофрагми та ме-

зофрагми мали виразну ортогональну спрямованість по відношенню до міофіламентів у всіх відділах ембріонального серця.

При моделюванні максимальної діастолі найменша Z-Z-відстань виявлялася в кардіоміоцитах основи міоламелл та трабекул. У серединній частині трабекул та у проміжній частині м'язових пластин компактного шлуночкового міокарда саркомери були достовірно довшими, ніж у їх основі (табл. 3).

Таблиця 3

Довжина саркомерів кардіоміоцитів у різних локалізаціях міоламелл та трабекул міокарда курячих ембріонів у діастолі, мкм (M±m)

Стадія	Основа міоламелл і трабекул	Проміжна частина міоламелл	Серединна частина трабекул
36	1,73±0,05	1,91±0,06*	1,82±0,04
38	1,76±0,07	2,01±0,08*	1,98±0,06*
41	1,82±0,09	2,09±0,06*	2,04±0,08*
43	1,94±0,08	2,13±0,08	2,06±0,08
46	2,02±0,10	2,17±0,07	2,12±0,13

Примітка. * – достовірна відмінність ($p < 0,05$) від значень параметра в основі міоламелл і трабекул.

На відміну від діастолі, у стані систоли спостерігалася виражена тангенціальна орієнтація Z-дисків у складі міофібрил кардіоміоцитів ЛШ. Найбільшою мірою це виявлялося у тих ділянках м'язових пластин, які належали до перимізії і були звернені до периваскулярного простору. Нелінійне розширення прошарків перимізії у цих просторах призводило до формування вигнутих контурів кардіоміоцитів. У правошлуночкових кардіоміоцитах, а також у скоротливих клітинах обох передсердь при моделюванні систоли зберігалася переважно ортогональна орієнтація телофрагм та мезофрагм.

На 38-й стадії розвитку відбувалося незначне подовження саркомерів в компактному міокарді ЛШ, проте систоло-діастолічний градієнт вказував на достовірну різницю між систолою і діастолю. У міокарді ПШ та передсердях не виявлялося статистично значущих змін параметра порівняно з попередньою стадією розвитку та по відношенню до початкової 29-ї стадії. Різниця між діастолічним та систолічним значеннями довжини саркомерів не перевищувала порога статистичної значущості. У різних ділянках міоламелл та трабекул ступінь скорочення саркомерів при моделюванні максимальної систоли був рівномірним.

У стані модельованої систоли на 41-й та 43-й стадіях розвитку посилювалася тангенціальна орієнтація Z-дисків та мезофрагм у міофібрилах кардіоміоцитів ЛШ. Навпаки, у ПШ та в обох передсердях скоротливі структури серцевих міоцитів характеризувалися переважно ортогональною орієнтацією телофрагм та мезофрагм щодо поздовжньої вісі міофібрил.

Довжина скорочених саркомерів стабілізувалася у складі шлуночкового та передсердного міокарда, причому за рахунок більш повноцінного розслаблення саркомерів у діастолі величина фазового градієнта їх довжини в період 41-43-ї стадії розвитку досягала статистично значущого рівня не лише у ЛШ, як на попередній стадії, але й у ПШ і в передсердях, складаючи величину від 0,30 до 0,37 мкм.

Дослідження ембріонального серця на заключній 46-й стадії ембріогенезу показало добре сформовані структури саркомерів і відносно зрілість міофібрил. Z-диски та мезофрагми мали однорідну електронну щільність на всьому протяжі, міофібрили займали значний обсяг шлуночкових та передсердних скоротливих клітин, саркомери на протяжності міофібрил та у сусідніх міофібрилах мали однакову довжину.

Ортогональна орієнтація Z-дисків була характерною для скоротливих кардіоміоцитів всіх камер серця в стані діастолі, проте довжина саркомерів була неоднаковою в різних локалізаціях. Найбільший ступінь розслаблення саркомерів (2,17±0,07 мкм) був характерним для проміжної (основної) частини міоламелл обох шлуночків, меншою мірою подовжувалися саркомери в серединній частині передсердних і шлуночкових трабекул (2,12±0,13 мкм), найменша діастолічна Z-Z-відстань (2,02±0,10 мкм) спостерігалася в основі трабекул усіх камер серця, а також у базальних частинах міоламелл обох шлуночків.

Ядра кардіоміоцитів містили ознаки помірної активності, більша частина гетерохроматину виявлялася на внутрішній поверхні ядерної оболонки, ядерця мали добре окреслені межі та чітку

структурованість. Ядерна оболонка більшості клітин мала більш високий вміст ядерних пор, ніж на попередніх стадіях розвитку. Отже, на заключному етапі ембріогенезу на тлі відносного зниження активності нуклеоплазми спостерігалось значне зростання інтенсивності транспорту між ядром і саркоплазмою. Мітохондрії між міофібрилами набували довгастої форми, містили добре розвинені кристи, помірно електроннощільний матрикс. У кардіоміоцитах шлуночків міжміофібрилярні мітохондрії часто формували скупчення в кілька рядів. Ознаки функціональної активності мітохондрій у навколядерних ділянках кардіоміоцитів були менш вираженими. У передсердних клітинах мітохондрії мали невеликий розмір і розташовувалися поодиноці.

У стані систоли довжина скорочених саркомерів варіювала дуже незначно і становила в середньому $1,83 \pm 0,04$ мкм. Систолю-діастолічний градієнт довжини саркомерів у ЛШ досягав $0,36 \pm 0,03$ мкм, що становило 16,4% від діастолічної Z-Z-відстані. У ПШ і передсердному міокарді систолічне скорочення не змінювало ортогональної орієнтації телофрагм і вставних дисків при однорідному скороченні саркомерів в межах 1,79-1,84 мкм. Фазовий градієнт довжини саркомерів за величиною можна порівняти з показниками ЛШ.

Підсумок

Таким чином, до кінця ембріонального розвитку курячих зародків формувалася і посилювалася тангенціальна орієнтація Z-дисків міофібрил та форми кардіоміоцитів у стані систоли за рахунок взаємного зміщення сусідніх міоламелл у ході протиспрямованого обертання базальної та апікальної частин ЛШ при скороченні саркомерів до $1,83 \pm 0,04$ мкм. У ПШ і передсердному міокарді систолічне скорочення не змінювало ортогональної орієнтації телофрагм і вставних дисків при скороченні саркомерів до 1,79-1,84 мкм. У стані діастолі ортогональна орієнтація Z-дисків характерна для скоротливих кардіоміоцитів всіх камер при досягненні довжини саркомерів $2,17 \pm 0,07$ мкм – у проміжній частині міоламелл обох шлуночків, $2,12 \pm 0,13$ мкм – у серединній частині передсердних і шлуночкових трабекул, $2,02 \pm 0,10$ мкм – в основі трабекул усіх камер та м'язових пластин обох шлуночків.

Перспективи подальших досліджень полягають у морфологічному дослідженні постнатального розвитку скоротливого апарату міокарда.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

Літературні джерела References

1. Spotnitz HM, Spotnitz WD, Cottrell TS. Cellular basis for volume related wall thickness changes in the rat left ventricle. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1974;6:317-31.
2. Torrent-Guasp F, Kocica M, Corno F. Systolic ventricular filling. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2004;25:376-86.
3. Weisman HB, Bush DE, Mannisi JA. Cellular mechanisms of myocardial infarct expansion. *Circulation.* 1988;78:186-201.
4. Kwan J. 3D geometry of a normal tricuspid annulus during systole: A comparison study with the mitral annulus using real-time echocardiography. *Eur. J. Echocardiography.* 2007;283:375-83.
5. Arts T, Costa KD, Covell JW, McCulloch AD. Relating myocardial laminar architecture to shear strain and muscle fiber orientation. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2001;280:2222-9.
6. Qyen N, Poulsen G, Boyd H. National time trends in congenital heart defects. *Amer. Heart J.* 2009;157(3):467-73.
7. Costa KD, Takayama Y, McCulloch AD, Covell JW. Laminar fiber architecture and three-dimensional systolic mechanics in canine ventricular myocardium. *Am. J. Physiol.* 1999;276:595-607.
8. Chen J, Liu W, Zhang H. Regional ventricular wall thickening reflects changes in cardiac fiber and sheet structure during contraction: quantification with diffusion tensor MRI. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2005;289:1898-907.
9. Cheng A, Langer F, Rodriguez F. Transmural sheet strains in the lateral wall of the ovine left ventricle. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2005;289:1234-41.
10. Gilbert SH, Benson AP, Li P. Localisation of left ventricular sheet structure: integration with current models of cardiac fibre, sheet and band structure. *Regional Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2007;32:231-49.
11. Damon BJ, Rémond MC, Bigelow MR. Patterns of muscular strain in the embryonic heart wall. *Dev. Dyn.* 2009;238(6):1535-46.
12. Ewald AJ, McBride H, Reddington M. Imaging microscopy, an automated method for visualizing whole embryo samples in three dimensions at high resolution. *Dev. Dyn.* 2002;12:369-75.
13. Martinsen BJ. Reference guide to the stages of chick heart embryology. *Dev. Dyn.*

2005;233:1217–37.

14. Costa KD, May-Newman K, Farr D. Three-dimensional residual strain in midanterior canine left ventricle. *Am. J. Physiol.* 1997;273:1968-76.

15. Zhou J, Shu Y, Lü S. The spatiotemporal development of intercalated disk in three-dimensional engineered heart tissues based on collagen/matrigel matrix. *PLoS One.* 2013;8(11):814-20.

16. Helm PA, Younes L, Beg MF et al. Evidence of structural remodeling in the dyssynchronous failing heart. *Circ. Res.* 2006;98:125-32.

17. Buckberg GD. Stonehenge and the heart: similar construction. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2006;29:286-90.

18. Harrington KB, Rodriguez F, Cheng A. Direct measurement of transmural laminar architecture in the anterolateral wall of the ovine left ventricle: new implications for wall thickening mechanics. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2005;288:1324-30.

19. Dokos S, Smaill BH, Young AA, LeGrice JJ. Shear properties of passive ventricular myocardium. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2002;283:2650-9.

20. Hamburger V. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J. Morphol.* 1951;88(1):49-92.

21. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe. 18 Mar 1986. 53 p.

22. Jacobs RE, Fraser KE. Magnetic resonance microscopy of embryonic cell lineages and movements. *Science.* 1994;263:681–4.

23. Kuo J. Electron microscopy: methods and protocols. Totowa, New Jersey : Humana Press Inc; 2007. 608 p.

24. Tverdokhlib IV, Petruk NS, Ivanchenko MV, Silkina JuV, Khripkov IS, Pertseva NO, Shevchenko KM, Goodlett TO, Malkov II, Berehovenko IM, Zinenko DYu, Galaida NO, Varin VV, inventors; State Institution «Dnipropetrovsk medical academy of the Health Ministry of Ukraine». Method of determining the coordinates of ultrastructures in transmission electron microscopy of biological objects. Ukrainian patent UA 83611. 2013 Sep 25. Int. Cl. G01N 1/28. Ukrainian.

Маслак Г.С., Онисько Р.М., Челпанова І.В. Взаємозв'язок між саркомерогенезом і розвитком тканинної організації міокарда в ембріональному кардіогенезі курки.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Загальною основою для розуміння того, яким чином обмежений діапазон скорочення саркомерів забезпечує серцевий викид під час систоли, є аналіз онтогенетичного утворення та локальних особливостей розвитку міофібрилярної структури кардіоміоцитів за рахунок зіставлення фазових станів міокарда. **Мета** дослідження – визначення фазових і топологічних особливостей та кількісна ультраструктурна характеристика саркомерогенезу в кардіоміоцитах курячих ембріонів. **Методи.** У роботі досліджували зародки курей кросу Cobb500 від початку 6-ї доби до 21-ї доби інкубації. За допомогою трансмісійної електронної мікроскопії вивчали ультраструктурні особливості скоротливих кардіоміоцитів у різних ділянках шлуночкового та передсердного міокарда у стані систоли та діастоли. **Результати.** На 29-й стадії розвитку курячих ембріонів у стані діастоли незрілі саркомери мали різну довжину. Середня довжина саркомерів становила $1,86 \pm 0,09$ мкм у лівому шлуночку та $1,91 \pm 0,21$ мкм у правому шлуночку. У передсердному міокарді довжина саркомерів поступалася параметрам шлуночків. На 36-й стадії у стані діастоли спостерігалось суттєве наростання довжини саркомерів у компактному міокарді лівого шлуночка та лівого передсердя, тоді як у правих відділах серця збільшення Z-Z-відстані було менш активним. У правих відділах серця частіше виявлялися саркомери з неоднаковою довжиною у компактному міокарді та в трабекулах. У різних ділянках міоламелл і трабекул ступінь розслаблення саркомерів при моделюванні максимальної діастоли був неоднаковим. Зокрема, у місцях відходження м'язових трабекул та їх прикріплення до вільної стінки шлуночків та передсердь визначалися саркомери із найменшою довжиною. Неповне розслаблення саркомерів відзначалося у початкових і кінцевих ділянках м'язових пластин. У середньому, в основі міоламелл та трабекул Z-Z-відстань у стані діастоли складала $1,73 \pm 0,05$ мкм. У середній частині трабекул довжина саркомерів була помітно більшою ($1,82 \pm 0,04$ мкм), а в проміжній (основній) частині м'язових пластин компактного шлуночкового міокарда саркомери були на 10,4% ($p < 0,05$) довшими, ніж у їхній основі. **Підсумок.** До кінця пренатального кардіогенезу формувалася і посилювалася тангенціальна орієнтація Z-дисків міофібрил та форми кардіоміоцитів у стані систоли за рахунок взаємного зміщення сусідніх міоламелл у ході протиспрямованого обертання базальної та апікальної частин лівого шлуночка при скороченні саркомерів до $1,83 \pm 0,04$ мкм. У правому шлуночку і передсердному міокарді систолічне скорочення не змінювало ортогональної орієнтації телофрагм і вставних дисків при скороченні саркомерів до $1,79$ - $1,84$ мкм. У стані діастоли ортогональна орієнтація Z-дисків характерна для скоротливих кардіоміоцитів всіх камер при досягненні довжини саркомерів $2,17 \pm 0,07$ мкм – у проміжній частині міоламелл обох шлуночків, $2,12 \pm 0,13$ мкм – у середній частині передсердних і шлуночкових трабекул, $2,02 \pm 0,10$ мкм – в основі трабекул усіх камер та м'язових пластин обох шлуночків.

Ключові слова: зародок курки, кардіогенез, серце, кардіоміоцит, саркомер, гістоархітектура, ультраструктура.

С.П. Новіков¹
А.В. Поліянц²
І.В. Твердохліб³

¹ КНП «Міська клінічна лікарня №4» ДМР, Дніпро

² Київська обласна клінічна лікарня, Київ

³ Дніпровський державний медичний університет, Дніпро, Україна

² ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

Надійшла: 12.02.2019

Прийнята: 05.03.2019

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.70-77>

УДК 616-089.5-036.17

ЗНАЧЕННЯ КОРЕКЦІЇ ЕРИТРОПОЕЗУ В ПЕРЕДОПЕРАЦІЙНІЙ ПІДГОТОВЦІ ПРИ ХІРУРГІЧНОМУ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ З КОЛОРЕКТАЛЬНИМ РАКОМ

Novikov S.P. ✉, Poliiants A.V.  ✉, Tverdokhlib I.V.  **Significance of erythropoiesis correction in preoperative preparation in the surgical treatment of patients with colorectal cancer.**

Dnipro city multi-clinical hospital № 4, Dnipro; Kyiv Regional Clinical Hospital, Kyiv; Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Anemic syndrome, which accompanies the development of pathology in patients with colorectal cancer, can cause serious early postoperative complications. The question of how preoperative preparation activities influence the state of the intestinal structures and the clinical situation in general is relevant. Of particular importance in this situation is the correction of anemic syndrome before surgery, using hematopoietic stimulants. **Objective.** The purpose of the study is to analyze the dynamics of erythropoiesis and changes in tissue and cell ultrastructure in intraoperative colon biopsy specimens after stimulation of erythropoiesis in preoperative preparation in the surgical treatment of patients with colorectal cancer. **Methods.** The study of red bone marrow and the wall of the large intestine using transmission electron microscopy. **Results.** Most patients with colorectal cancer are characterized by the development of signs of ineffective erythropoiesis with a moderate slowdown in the differentiation of erythroblasts and a delay in the release of mature erythrocytes into the systemic circulation. Stimulation of erythropoiesis with the help of epoetin leads to an increase in the functional activity of the central macrophages of the erythropoietic islets of the red bone marrow and the enhancement of their intercellular association with maturing erythroid cells. This is accompanied by the formation of a large number of full-fledged erythrocytes, an increase in the numerical density of cells of the erythroid series and the normalization of their ultrastructure. **Conclusion.** Stimulation of erythropoiesis with the help of epoetin in the preoperative period causes the inhibition of endothelial dysfunction due to the restriction of dystrophic and destructive changes in endothelial cell organelles, stabilization of their membranes, prevention of arteriole spasm, erythrocyte stasis and erythrocyte phenomena. As a result, the phenomena of infiltration, perivascular and interstitial edema in the composition of the membranes of the intestinal wall are much less pronounced than in the group of patients without preoperative activation of erythropoiesis.


Key words: colorectal cancer, erythropoiesis stimulation, red bone marrow, large intestine, transmission electron microscopy.

Citation:

Novikov SP, Poliiants AV, Tverdokhlib IV. [Significance of erythropoiesis correction in preoperative preparation in the surgical treatment of patients with colorectal cancer]. Morphologia. 2024;18(1):70-7. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.70-77>

 Poliiants A.V. 0000-0003-2611-0294

 Tverdokhlib I.V. 0000-0002-8672-3773

✉ nova73@ua.fm; poliyants@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

За даними ВООЗ, у світі щорічно реєструється понад 500 тис. випадків колоректального раку. У

структурі онкосмертності населення України колоректальний рак посідає 4 місце (6,3%) серед чоловічого населення та 2 місце серед жінок (8,7%). Провідним методом у лікуванні раку прямої кишки досі

залишається хірургічний. Дані втручання відносяться до групи з високим ступенем травматичності, оскільки вимагають проведення втручань, що супроводжуються лімфодиссекцією, формуванням трансплантатів для проведення сфінктерозберігаючих операцій. Останнім часом змістилися погляди у бік радикалізму щодо операбельності пацієнтів із злоякісними новоутвореннями органів черевної порожнини на пізніх стадіях, збільшилася кількість розширених радикальних втручань, що стосуються деяких стресогенних органів і тканин. Чим масивніше пошкодження тканин, тим більше виражені запальна реакція, що його супроводжує, ступінь крововтрати і інтенсивність післяопераційного больового синдрому [1-4].

Крім того, одним з найважливіших факторів, який необхідно враховувати у хворих з колоректальним раком, є анемічний синдром, який не тільки супроводжує розвиток патології у даних хворих, але і може стати причиною серйозних ранніх післяопераційних ускладнень. Поліпшення віддалених результатів лікування раку прямої кишки може бути досягнуто за рахунок поліпшення діагностики цього захворювання з одного боку, і розробки методів адекватної передопераційної підготовки – з іншого боку. У зв'язку з цим стає актуальним питання, як впливають заходи передопераційної підготовки на стан структур кишечника і клінічну ситуацію загалом [5]. Особливого значення в цій ситуації набуває корекція анемічного синдрому ще до проведення оперативного втручання за допомогою стимуляторів гемопоєзу.

Еритропоєтин відіграє роль фактора, що стимулює мітоз еритроїдних клітин-попередниць, і гормону, що стимулює еритропоєз. Епоєтин-альфа, який виробляється за генноінженерною технологією, ідентичний еритропоєтину людини. Після введення епоєтину-альфа кількість еритроцитів, ретикулоцитів, рівень гемоглобіну та швидкість поглинання заліза наростають. В цілому, за допомогою культур клітин людського кісткового мозку і при використанні інших сучасних технологій було доведено, що епоєтин-альфа вибірково стимулює еритропоєз [6-8].

При цьому в деяких контрольованих дослідженнях еритропоєтину не показали поліпшення загальної виживаності або зниження ризику прогресування пухлини у пацієнтів з анемією, асоційованою з раком. Важливе питання: у яких клінічних ситуаціях варто віддати перевагу переливанню крові для лікування анемії у пацієнтів, хворих на рак, у післяопераційному періоді. Рішення про застосування рекомбінантного еритропоєтину повинно ґрунтуватися на оцінці користі-ризiku за участю конкретного пацієнта, який повинен також взяти до уваги специфічний клінічний контекст. Фактори, які необхідно врахувати при такій оцінці, повинні включати тип пухлини та її стадію, ступінь анемії, очікувану тривалість життя та бажання самого пацієнта [11, 12].

Враховуючи, що пряме ультраструктурне дослідження товстого кишечника і клітин червоного кісткового мозку є найбільш точним інструментом для оцінки їх патоморфологічних змін [4, 5], представляється актуальним електронномікроскопічне вивчення інтраопераційних біоптатів тих ділянок товстої кишки, що належать до неопластично ураженої колоректальної зони, а також еритроїдних кісткомозкових клітин в умовах передопераційної підготовки при радикальних втручаннях з приводу колоректального раку.

Мета

Аналіз динаміки еритропоєзу і змін тканинної та клітинної ультраструктури в інтраопераційних біоптатах товстої кишки після стимуляції еритропоєзу в передопераційній підготовці при хірургічному лікуванні хворих з колоректальним раком.

Матеріали та методи

Досліджено 20 пацієнтів, яким показано радикальне оперативне втручання з приводу колоректального раку. Пацієнти були поділені на дві клінічні групи. У 1-й групі при проведенні операції здійснювалася комбінована анестезія з використанням севофлурану та епідуральної аналгезії. Технічно пункцію епідурального простору проводили на рівні L₁ - L₂ з подальшою катетеризацією епідурального простору в краніальному напрямку. Індукція: фентаніл 5,0 мкг/кг, пропофол – 1,5-2,0 мг/кг, міоплегія – дитилін 2 мг/кг. Підтримку анестезії проводили за допомогою наркотичної станції Leon (HEINEN, Austria), де створювали МАК севофлюрану 0,5-0,6 в потоці киснево-повітряної суміші 0,8-1,0 л/хв у комбінації з болосним введенням фентанілу 0,2 мг/год. Епідурально вводився 0,25% розчин бупівакаїну в об'ємі 12-15 мл із вмістом 0,05 мг фентанілу. За 30 хв до закінчення оперативного втручання внутрішньовенно вводилися 1000 мг парацетамолу. У 2-й групі за 5 діб до операції пацієнтам підшкірно вводили стимулятор еритропоєзу – еритропоєтин людини рекомбінантний Емавейл («Юрія-Фарм», Україна). У дослідження не включали пацієнтів за наявності тяжких коронарних, периферійно-артеріальних, каротидних або церебро-судинних захворювань, а також після інфаркту міокарда або інсульту. Для електронномікроскопічного дослідження під час радикального оперативного втручання з ділянок макроскопічно незміненої товстої кишки, що належать до неопластично ураженої колоректальної зони, забирали біоптати розміром 1 мм³. Для аналізу еритроїдних клітин виконували аспірацію червоного кісткового мозку за допомогою стандартної пункції. Зразки протягом двох годин фіксували при +2°C в 3% розчині глютарового альдегіду, приготовленому на 0,2М фосфатному буфері (pH 7,4). Матеріал переносили для постфіксації в 1% забуферений (pH 7,4) розчин тетраоксиду осмію ("SPI", США) на одну годину. Зневоднювали зразки за допомогою пропиленок-

сида в розчинах зростаючої концентрації. Для виготовлення епоксидних блоків використовували композицію епон-аралдит. Ультратонкі зрізи отримували на ультрамікромомі УМТП-6М (SELMІ, Україна). Дослідження проводилися за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-100-01 ("SELMІ", Україна) при прискорювальній напрузі 65-90 кВ та первинних збільшеннях від 2000 до 40000. Загалом, електронно-мікроскопічне дослідження проводили за стандартною схемою [13-15]. Дослідження було проведено з урахуванням принципів медичної та біологічної етики [16].

Результати та їх обговорення

У хворих з колоректальним раком ультраструктура клітин еритропоетичного ряду мала низку морфологічних особливостей. Зокрема, проеритробласти у складі стерального пунктату містили велике округле ядро з хроматином переважно в деконденсованому стані. Ядришкоутворюючі райони нуклеоплазми були гетероморфними, у кожному з них переважали фібрилярні центри, гранулярні компоненти зустрічалися рідко. У вузькому обідку цитоплазми спостерігалось невелика кількість мембран гранулярного ретикулуму, полісоми були відсутні, мітохондрії були дрібними та нечисленними. Базофільні еритроblastи поступалися за розмірами проеритробластам, мали велику кількість гетерохроматину, містили в основному одне або два малих ядерця з помірною кількістю гранул. Фібрилярних центрів було від 3 до 8 у вигляді фібрил завтовшки 2-5 нм. Вони були зміщені на периферію ядер. Їхня форма мала складно розгалужену конфігурацію. Ядерцеві вакуолі – світлі зони всередині ядерця, що беруть участь у депонуванні, процесингу та транспорті рибосомної РНК – виявлялися в помірній кількості. Частина еритроblastів знаходилася на різних стадіях апоптозу (рис. 1).

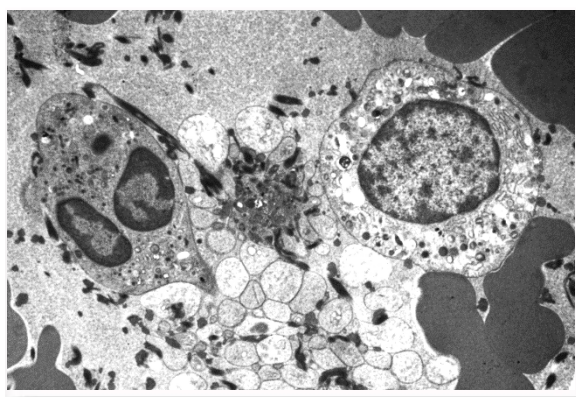


Рис. 1. Ультраструктура базофільного еритроblastа та апоптоз еритроїдної клітини червоного кісткового мозку. Перша клінічна група. Стеральний пунктат. Електроннограма. $\times 6000$.

У поліхроматофільних еритроblastах ядерця були практично позбавлені гранулярного компонента і представлені фібрилярними центрами еліптичної форми, оточеними вираженим шаром щільного фібрилярного компонента, представленого рибонуклеопroteїновими нитками товщиною 4-8 нм, до складу яких входить новостворена прерибосомальна РНК. Ядерцеві вакуолі зустрічалися у значній кількості.

У ядрах поліхроматофільних еритроblastів спостерігалось від 1 до 4 ядер. Клітини мали ядро округлої форми, хроматин у вигляді великих згрупованих гранул, переважав гетерохроматин. Цитоплазма мала помірну електронну щільність, що пов'язано з типовим розвитком гранулярної ендоплазматичної сітки, нечисленні полірибосоми, що свідчило про обмеження перебігу процесів синтезу гемоглобіну. Поодинокі мітохондрії були невеликими, округлої форми, кристи деструктовані, збережена лише зовнішня мембрана. В оксифільних еритроblastах різко скорочувалися структури нуклеолонемних ядерцев порівняно з проеритробластами, проте обсяг гемоглобін-містких ділянок цитоплазми зростав незначно. Поруч із цим у клітинних структурах виявлялися ознаки дегенерації: протоплазма містила численні вакуолі, відбувалася дисоціація у дозріванні ядра і протоплазми (рис. 2).

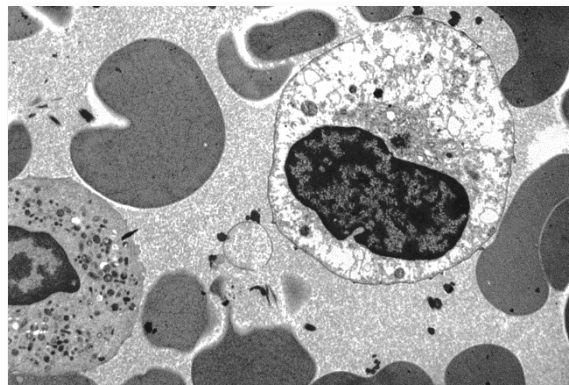


Рис. 2. Ультраструктура оксифільного еритроblastа червоного кісткового мозку. Перша клінічна група. Стеральний пунктат. Електроннограма. $\times 10000$.

Важливо відзначити, що процеси, які пов'язані з формуванням рибосом, характеризуються чіткою просторовою впорядкованістю і розвиваються в спеціалізованій області ядра еритроїдної клітини, де концентруються інтенсивно транскрибовані гени і продукти їх активності, а також здійснюються різні стадії процесингу рибосомної РНК до їх складання. Молекулярні події, пов'язані з біогенезом рибосом, відбуваються у структурній організації ядерця. За нашими даними, у хворих з колоректальним раком на тлі анемічного синдрому спостерігається розвиток ознак неефективного еритропоезу з помірним уповільненням ди-

ференціювання еритробластів та затримкою виходу зрілих еритроцитів у системну циркуляцію.

У стернальному пунктаті хворих 1-ї клінічної групи часто виявлялися ретикулоцити з великою кількістю дрібнодисперсного електроннощільного матеріалу, що свідчило про повільний темп термінального дозрівання еритроцитів. Іноді спостерігалися ретикулоцити із залишками ядра в результаті незавершеного класматозу. Також виявляли мегалоцити, що є додатковою ознакою неефективного еритропоезу у хворих з колоректальним раком.

Особливу увагу в дослідженні привернуло вивчення ультраструктури макрофагів, які в нашому дослідженні постійно виявлялися у складі стернальних пунктатів, будучи обов'язковим клітинним компонентом еритропоетичних острівців кісткового мозку. Центральні макрофаги острівців виділяють ростові чинники, за допомогою сіалоадгезинів вони утримують навколо себе еритроїдні клітини, забезпечуючи їх залізом за рахунок наявності в цитоплазмі трансферину; також макрофаги виробляють еритропоетин і фагоцитують ядра, що виходять з еритроцита в процесі дозрівання.

У хворих 1-ї клінічної групи при ультраструктурному дослідженні була виявлена висока лізосомальна активність макрофагів з появою великої кількості вторинних лізосом різних розмірів та електронної щільності. Більшість макрофагів містили по кілька фагоцитованих пікнотичних ядер еритробластів, в окремих спостереженнях – апоптотично змінені форми еритроїдних клітин. У цитоплазмі макрофагів визначалися розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки, помірна кількість вільних полісом, дрібні щільні сферичні мітохондрії з підвищеною функціональною активністю (рис. 3).

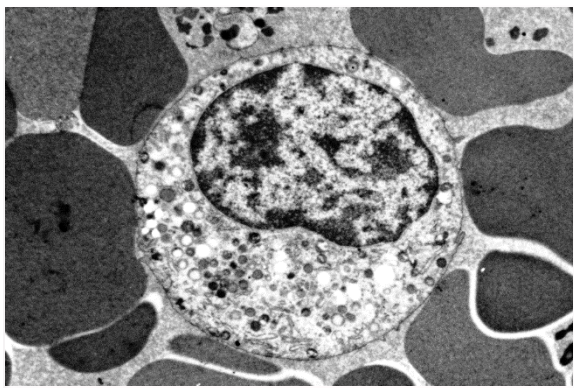


Рис. 3. Ультраструктура центрального макрофага червоного кісткового мозку. Перша клінічна група. Стернальний пунктат. Електроннограма. $\times 8000$.

При інтерпретації зазначених змін важливо враховувати, що стимулюючий ефект макрофагів за рахунок продукції колонієстимулюючих фак-

торів еритропоезу у звичайних умовах проявляється при вмісті до 10% моноцитарної популяції від загального числа клітин в еритропоетичних острівцях, тоді як при перевищенні цього рівня спостерігається зворотний ефект. Центральні макрофаги острівців, секретуючи стимулюючі та інгібуючі еритропоез речовини, виконують роль локального регулятора продукції еритроцитів, орієнтуючись при цьому на загальний кисневий запит організму. Це дозволяє розглядати центральні макрофаги як клітини, відповідальні за формування кровотворного мікрооточення, що підтримує формування еритроїдного пулу. Фагоцитарна активність макрофага значна – пошкоджені еритроцити повністю фагоцитуються за 10 хвилин; висока лізосомальна активність і рівень кислої фосфатази цитоплазми дозволяє макрофагу за добу фагоцитувати до 16 ядер, перетравлювати їх за 40 хвилин, причому неможливо навіть виявити залишки ядер, що говорить про швидке виділення продуктів їх розпаду з клітини.

Очевидно, на тлі анемічного синдрому у хворих з колоректальним раком відбувається збільшення кількості центральних макрофагів і наростання їх фагоцитарної активності, що в кінцевому підсумку призводить до пригнічення проліферації еритроїдних клітин і посилення дисбалансу між проліферативними та диференціувальними процесами в рамках еритропоезу.

У нашому дослідженні у хворих 1-ї клінічної групи в інтраопераційних біоптатах товстого кишечника виявлялася збережена структура кишкової стінки, проте під розширеною епітеліальною базальною мембраною в ділянках скупчення бокалоподібних клітин формувалися невеликі за обсягом зони інтерстиційного набряку у складі власної пластинки слизової оболонки. Поодинокі гладкі міоцити в цих зонах мали ознаки надмірного скорочення. У їх цитоплазмі спостерігалися мозаїчні дистрофічні порушення на тлі помірної гіперплазії мембран гранулярної ендоплазматичної сітки, появи форм мітохондрій, що діляться, і збільшення числа рибосом і полісом. Стовпчасті епітеліоцити та клітини Панета мали ознаки активації внутрішньоклітинного метаболізму, що має, на наш погляд, компенсаторний характер. Незначна частина колоноцитів, навпаки, піддавалася внутрішньоклітинній деструкції (рис. 4).

Характерною у цій клінічній групі пацієнтів була наявність звужених гемокапілярів, заповнених деформованими еритроцитами. У більшості спостережень плазматичні мембрани еритроцитів мали суттєві ушкодження. Як правило, еритроцити своїми розпушеними поверхнями перебували у тісному взаємозв'язку з дезорганізованими частинами люмінальної поверхні ендотеліальних клітин. У цих ділянках цитоплазма ендотеліальних клітин була витонченою та насиченою осміофільними гомогенними масами. Навколо вузьких спустошених гемокапілярів спостерігалися великі

зони периваскулярного набряку та ексудації з характерною нейтрофільною інфільтрацією. Аналогічні зони виявлялися у складі підслизової основи навколо спазмованих артеріол з помірними проявами стазу та розширених венул, що іноді містили складні еритроцитів і фестончасті ендотеліальні стінки. Дистрофічні та деструктивні зміни органел ендотеліальних клітин вказували на суттєву ендотеліальну дисфункцію, а тканинні прояви описаних мікроциркуляторних порушень стосувалися всіх оболонок стінки товстої кишки поблизу ураженої колоректальної зони (рис. 5).

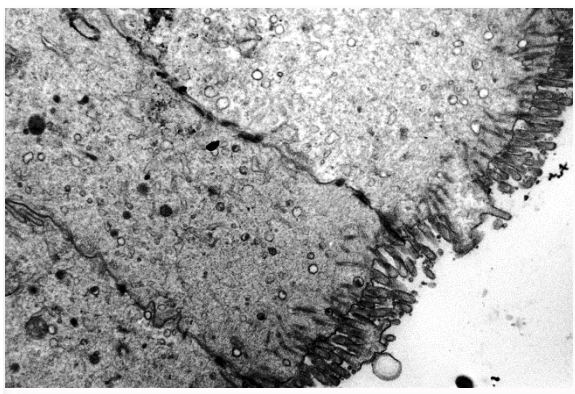


Рис. 4. Помірні прояви внутрішньоклітинної деструкції колоноцитів слизової оболонки товстої кишки. Перша клінічна група. Інтраопераційний біопат. Електронограма. $\times 8000$.

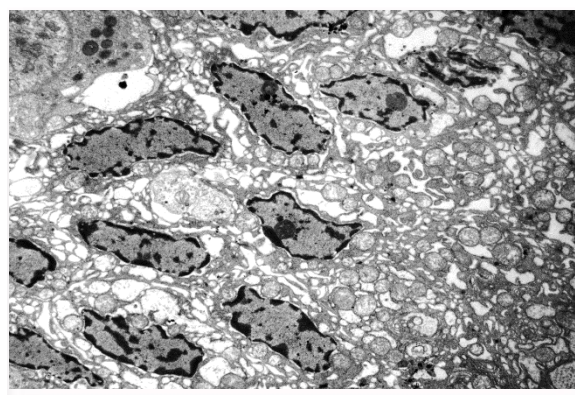


Рис. 5. Ультраструктура м'язової оболонки товстої кишки. Ділянка апоптотично змінених міоцитів. Перша клінічна група. Інтраопераційний біопат. Електронограма. $\times 3000$.

У хворих з колоректальним раком 2-ї клінічної групи через 5 діб після стимуляції еритропоезу епоетином-альфа спостерігалася помітна активація проліферативної активності проеритробластів, а також базофільних та поліхроматофільних еритробластів. Істотно змінювалася ультраструктура ядерець. На тлі мозаїчно організованої нуклеоплазми даних еритроїдних клітин закономірно зростала щільність ядерцеутворюючих районів та фібрилярних центрів. У ядрах базофільних еритробластів спостерігалася велика кількість

дрібнозернистих структур гранулярного компонента та ядерцевих вакуолей, що відповідають за депонування, процесинг та транспорт рибосомної РНК із нуклеоплазми (рис. 6).

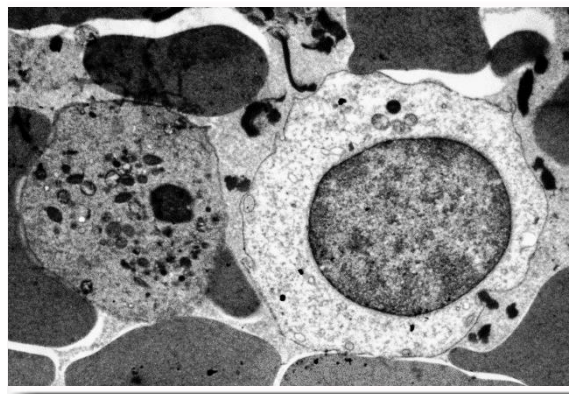


Рис. 6. Ультраструктура поліхроматофільного еритробласта червоного кісткового мозку. Клазматоз ядра з еритроїдної клітини. Друга клінічна група. Стернальний пунктат. Електронограма. $\times 8000$.

Оксифільні еритробласти поступалися за розмірами проеритробластам, мали велику кількість гетерохроматину, містили в основному одне або два малих ядерця з помірною кількістю гранул. Фібрилярних центрів було від 3 до 8 у вигляді фібрил товщиною 2-5 нм. Вони були зміщені на периферію ядер. Їхня форма мала складно розгалужену конфігурацію. Ядерцеві вакуолі (світлі зони всередині ядерця, що беруть участь у депонуванні, процесингу та транспорті рибосомної РНК) виявлялися в помірній кількості. У великих активних ядрах поліхроматофільних еритробластів спостерігалася від 2 до 6 ядер. Цитоплазма мала значну електронну щільність, добре розвинений гранулярний ретикулум, велику кількість полірибосом та активних мітохондрій. Обсяг цитоплазми із вмістом гемоглобіну суттєво наростав у порівнянні з 1-ю клінічною групою. Ознаки дегенерації та апоптотичні зміни дозріваючих еритроїдних клітин спостерігалися у поодиноких випадках.

У стернальному пунктаті хворих після стимуляції еритропоезу ретикулоцити мали характерну зернисто-сітчасту структуру цитоплазми. Мегалоцити виявляли рідко. Зрілі еритроцити мали нормальну конфігурацію. В основі спостережуваних нами змін еритропоезу знаходиться ряд особливостей. По-перше, стимуляція еритропоезу завжди поєднується з активацією в кістковому мозку процесів аеробного окислення: для регенерації еритрона на фоні анемії характерно збільшення швидкості споживання кисню клітинами, інтенсивності дихання і окислювального фосфорилування в їх мітохондріях, вкорочення шляху дифузії кисню від капіляра до клітини, збільшення швидкості кровообігу в кістковому мозку, обумо-

влених збільшенням його капіляризації за рахунок розкриття нефункціонуючих капілярів (ефекти метаболітів циклу Кребса, жирних кислот). Важлива роль цих змін належить еритропоетину, що підвищує проникність мембран клітин кісткового мозку для кисню. По-друге, анемічний синдром, викликаючи гіпоксію нирки, активує в її тканині метаболізм арахідонової кислоти, метаболіти якої (простаглінін), виступаючи як тригер для системи аденілатциклази, збільшують продукцію циклічного аденозинмонофосфату, що призводить до послідовної активації протеїнкінази і фосфорилування гідролази, що забезпечує посилення біосинтезу еритропоетину у нирці. По-третє, за умов кисневого дефіциту кількісно збільшується явище перескоку термінального поділу, що призводить до утворення макроцитів, але для основної поліферуючої частини еритрона характерно збільшення числа поділів з укороченням генераційного циклу для всіх здатних до поділу еритроїдних клітин. У кістковому мозку з'являються еритропоетичні острівці, що містять 40-50 еритроїдних клітин.

При вивченні ультраструктури макрофагів у складі стернальних пунктатів після стимуляції еритропоезу епоетином-альфа спостерігалася їх помірна лізосомальна активність, вміст у цитоплазмі поліморфних вторинних лізосом був незначним. Деякі макрофаги містили одне або два фагоцитовані ядра еритробластів (рис. 7). Апоптотичні тілця еритроїдних клітин виявлялися у поодиноких випадках. Цитоплазма центральних макрофагів містила добре розвинений гранулярний ендоплазматичний ретикулум, помірну кількість вільних полісом, невеликі сферичні мітохондрії з помірною щільністю крист та осміофільним матриксом (рис. 8). На відміну від спостережень у 1-й клінічній групі, після стимуляції еритропоезу спостерігалися часті мітози клітин моноцитарного ряду.

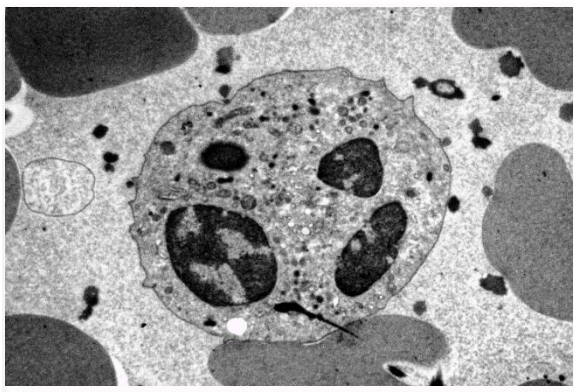


Рис. 7. Ультраструктура центрального макрофага червоного кісткового мозку. Фагоцитоз ядер еритробластів та апоптотичних тілець еритроїдних клітин. Друга клінічна група. Стернальний пунктат. Електроннограма. $\times 8000$.

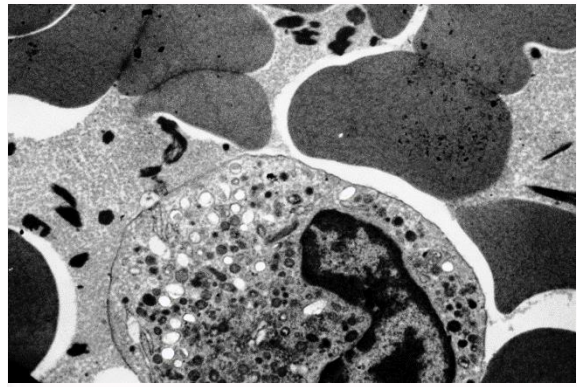


Рис. 8. Ультраструктура центрального макрофага червоного кісткового мозку. Друга клінічна група. Стернальний пунктат. Електроннограма. $\times 10000$.

На тлі анемічного синдрому при пухлинному процесі в кістковому мозку створюються умови для залучення його макрофагів до еритропоезу. Це зумовлено як появою нових моноцитарних клітин в еритропоетичних острівцях, так і вимушеним збільшенням повторної реконструкції інволютивних острівців для нової хвилі еритропоезу. Можливо, що це пов'язано зі збільшенням афінитету макрофагів кісткового мозку до колонієутворювальних одиниць еритропоезу та ранніх еритроїдних клітин під впливом еритропоетину. Підтримка фагоцитарної активності центральних макрофагів еритропоетичних острівців і процесів протеолізу їх лізосомними протеїназами знижує комплементарність моноцитарних клітин до навколишніх еритроїдних клітин, що призводить до посиленого виходу в кров ретикулоцитів, що вивільняються з острівців. Крім того, еритропоетин посилює проліферацію не тільки еритроїдних клітин в острівцях, але й їх центральних макрофагів, що підтверджувалося появою численних мітозів моноцитарних клітин. У хворих 2-ї клінічної групи ступінь інтерстиційного набряку у складі власної пластинки слизової оболонки був помірним. У клітинах кишкового епітелію внутрішньоклітинна деструкція зустрічалася нечасто (рис. 9).

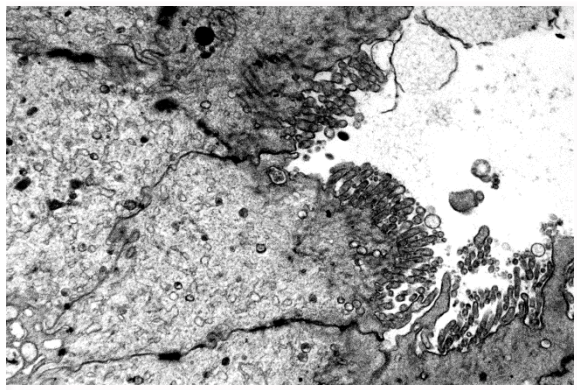


Рис. 9. Ультраструктура епітеліальної пластинки слизової оболонки товстої кишки. Друга клінічна група. Інтраопераційний біоптат. Електроннограма. $\times 8000$.

Гемокапіляри власної пластинки слизової оболонки мали нормальний просвіт і були заповнені незміненими еритроцитами. Цитоплазма ендотеліальних клітин мала стабільну морфологічну структуру. Периферичні зони ендотеліоцитів містили характерні фенестри. Мікрворсинки, що вказують на розвиток гіпоксії, не виявлялися. Стан ядер, мітохондрій, гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, структур комплексу Гольджі ендотеліальних клітин більшості гемокапілярів свідчив про відсутність вираженої ендотеліальної дисфункції. У просвітах фенестрованих гемокапілярів спостерігався нормальний вміст еритроцитів без ознак сладжування. Навколо гемокапілярів зрідка виявлялися незначні за площею ділянки периваскулярного набряку та ексудації без нейтрофільної інфільтрації тканини (рис. 10). Запальна інфільтрація активованими лімфоцитами, опасистими клітинами та макрофагами була відсутня. Лімфоїдні утворення підслизової основи були без особливостей. Просвіти венул залишалися без ознак стазу, сладжу еритроцитів. Їхні стінки мали типову структуру. Артеріоли не мали ознак спазму і періартеріолярного набряку, деякі з них були помірно розширеними і повнокровними.

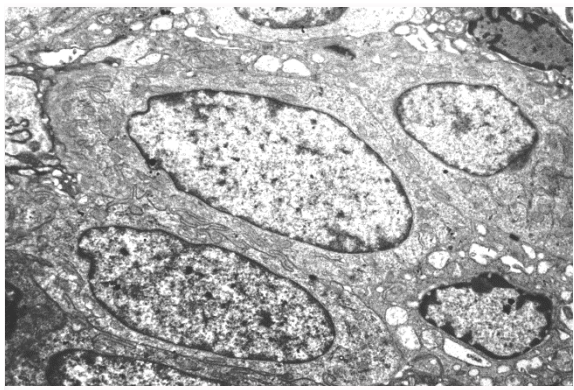


Рис. 10. Ультраструктура м'язової оболонки товстої кишки. Друга клінічна група. Інтраопераційний біоптат. Електроннограма. $\times 4000$.

Підсумок

Для більшості хворих з колоректальним раком характерний розвиток ознак неефективного еритропоезу з помірним уповільненням диференціювання еритробластів та затримкою виходу зрілих еритроцитів у системну циркуляцію. Стимуляція еритропоезу за допомогою епоетину призводить до підвищення функціональної активності центральних макрофагів еритропоетичних острівців червоного кісткового мозку і посилення їх міжклітинної асоціації з еритроїдними клітинами, що дозрівають. Це супроводжується формуванням великої кількості повноцінних еритроцитів, збільшенням чисельної щільності клітин еритроїдного ряду і нормалізацією їх ультраструктури. Стимуляція еритропоезу за допомогою епоетину в передопераційному періоді зумовлює стримання ендотеліальної дисфункції за рахунок обмеження дистрофічних та деструктивних змін органел ендотеліальних клітин, стабілізації їх мембран, запобігання спазму артеріол, явищ стазу та сладжу. Як наслідок, явища інфільтрації, периваскулярного та інтерстиційного набряку у складі оболонок кишкової стінки виражені набагато меншою мірою, ніж у групі хворих без передопераційної активації еритропоезу.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з аналізом морфології кишечника при різних підходах при хірургічному лікуванні хворих з колоректальним раком.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Роботу проведено в рамках науково-дослідної теми «Гістогенез компонентів серцево-судинної системи людини та лабораторних тварин в нормі та за умов експерименту» (номер державної реєстрації 0118U004730).

Літературні джерела

References

1. American Cancer Society. Colorectal Cancer Facts & Figures 2014-2016. Atlanta: American Cancer Society. 2014. 32 p.
2. [Bulletin of national cancer registry of Ukraine 2023]. Vol. 24. Ukrainian.
3. Ovechkin AM, Sviridov SV. [Post-operative pain and pain management: state of the art]. Emergency medicine. 2011;6:20-31. Russian.
4. Novikov SP, Chebanov KO, Kirillova LA, Petruk NS, Frolov KB, Tverdokhle IV. [Optimization of anesthetic management of surgical treatment of colorectal cancer: clinical and morphological parallels]. Morphologia. 2016;10(3):23-30. Russian.
5. Novikov SP, Kirillova LA, Novikova PS, Tverdokhle IV. [Optimization of anesthetic management of surgical treatment of colorectal cancer. Part III: clinical and morphological aspects]. Morphologia. 2018;12(1):29-36. Russian.
6. Zakharov YuM. Regulation of erythropoiesis in the erythroblast islands of the bone marrow. Neuroscience and Behavioral Physiology. 2011;97(9):980-94.
7. An X, Schulz VP, Li J, Wu K, Liu J, Xue F, Hu J. Global transcriptome analyses of human and murine terminal erythroid differentiation. Blood. 2014;123:3466-77.
8. McGrath KE, Catherman SC, Palis J. Deline-

ating stages of erythropoiesis using imaging flow cytometry. *Methods*. 2017;112:68–74.

9. Kuhrt D, Wojchowski DM. Emerging EPO and EPO receptor regulators and signal transducers. *Blood*. 2015;125:3536–41.

10. Kim A, Nemeth E. New insights into iron regulation and erythropoiesis. *Curr. Opin. Hematol*. 2015;22:199–205.

11. Hiradfar A, Banihosseinian M. The efficacy of recombinant human erythropoietin in treatment chemotherapy induced anemia in children diagnosed with a solid cancer. *Iran J Ped Hematol Oncol*. 2014;4(4):151-9.

12. Torre LA, Bray F, Siegel RL. Global cancer statistics. *Cancer J. Clin*. 2015;4:65-87.

13. Mironov AA, Komissarchik YuYa, Mironov VA. *Metodyi elektronnoy mikroskopii v biologii i meditsine: Metodicheskoe rukovodstvo*. [Electron microscopy methods in biology and medicine : Methodological Guide]. St. Petersburg: Science; 1994. 400

p. Russian.

14. Kuo J. *Electron microscopy: methods and protocols*. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc. 2007. 608 p.

15. Tverdokhlib IV, Petruk NS, Ivanchenko MV, Silkina JuV, Khripkov IS, Pertseva NO, Shevchenko KM, Goodlett TO, Malkov II, Berehovenko IM, Zinenko DYu, Galaida NO, Varin VV, inventors; State Institution «Dnipropetrovsk medical academy of the Health Ministry of Ukraine». Method of determining the coordinates of ultrastructures in transmission electron microscopy of biological objects. Ukrainian patent UA 83611. 2013 Sep 25. Int. Cl. G01N 1/28. Ukrainian.

16. Mishalov VD, Chaikovsky JuB, Tverdokhle IV. [About legal, legislative, ethical standards and requirements at performance scientific morphological researches]. *Morphologia*. 2007;1(2):108-15. Ukrainian.

Новіков С.П., Поліянц А.В., Твердохліб І.В. Значення корекції еритропоезу в передопераційній підготовці при хірургічному лікуванні хворих з колоректальним раком.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Анемічний синдром, який супроводжує розвиток патології у хворих з колоректальним раком, може стати причиною серйозних ранніх післяопераційних ускладнень. Є актуальним питання про те, як впливають заходи передопераційної підготовки на стан структур кишечника і клінічну ситуацію в цілому. Особливе значення в цій ситуації набуває корекція анемічного синдрому ще до проведення оперативного втручання за допомогою стимуляторів гемопоезу. **Мета** дослідження – аналіз динаміки еритропоезу і змін тканинної і клітинної ультраструктури в інтраопераційних біоптатах товстої кишки після стимуляції еритропоезу в передопераційній підготовці при хірургічному лікуванні хворих з колоректальним раком. **Методи.** Проведено вивчення червоного кісткового мозку і стінки товстого кишечника за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії. **Результати.** Для більшості хворих з колоректальним раком характерний розвиток ознак неефективного еритропоезу з помірним уповільненням диференціювання еритробластів і затримкою виходу зрілих еритроцитів у системну циркуляцію. Стимуляція еритропоезу за допомогою епоетину призводить до підвищення функціональної активності центральних макрофагів еритропоетичних острівців червоного кісткового мозку і посилення їх міжклітинної асоціації з дозріваючими еритроїдними клітинами. Це супроводжується формуванням великої кількості повноцінних еритроцитів, збільшенням чисельної щільності клітин еритроїдного ряду і нормалізацією їх ультраструктури. **Підсумок.** Стимуляція еритропоезу за допомогою епоетину в передопераційному періоді обумовлює стримування ендотеліальної дисфункції за рахунок обмеження дистрофічних і деструктивних змін органел ендотеліальних клітин, стабілізації їх мембран, запобігання спазму артеріол, явищ стазу і сладжа еритроцитів. Як наслідок, явища інфільтрації, периваскулярного й інтерстиційного набряку в складі оболонки кишкової стінки виражені набагато меншою мірою, ніж у групі хворих без передопераційної активації еритропоезу.

Ключові слова: колоректальний рак, стимуляція еритропоезу, червоний кістковий мозок, товстий кишечник, трансмісійна електронна мікроскопія.

О.М. Усова

Дніпровський державний
медичний університет
Дніпро, Україна



Надійшла: 24.02.2024

Прийнята: 20.03.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.78-82>

УДК: 616.98:578.834]-06:616.214.8-008-07:611.018.7

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА РОЛІ РЕЦЕПТОРІВ TMPRSS2 ТА ACE-2 У РОЗВИТКУ ОЛЬФАКТОРНИХ РОЗЛАДІВ ПРИ ІНФІКУВАННІ КОРОНАВІРУСОМ SARS-COV-2

Usova O.M.   Comparative assessment of the role of TMPRSS2 and ACE-2 receptors in the development of olfactory disorders in infection with coronavirus SARS-CoV-2.

Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.


ABSTRACT. Background. Today, evidence of the impact of the SARSCoV-2 coronavirus not only on the cells of the olfactory epithelium, but also on the components of the deeper parts of the olfactory system (olfactory bulbs and the olfactory area of the cerebral cortex), indicates the expression of proteins by the cells of the olfactory epithelium that contribute to further penetration of the virus. An urgent problem is the lack of comprehensive studies of the role of morphological and immunological features of various parts of the olfactory system in the occurrence of olfactory disorders and insufficient understanding of the relationship between their duration and the localization of cells affected by the SARS-CoV-2 coronavirus. The **objective** of the study is to clarify the feasibility of studying the role of TMPRSS2 receptors and comparing it with the role of ACE-2 receptors localized on the components of the olfactory epithelium in the development of olfactory disorders in the Coronavirus Disease 2019 caused by SARS-CoV-2. **Methods.** This study was performed using autopsy material, namely fragments of the mucous membrane of the upper parts of the nasal cavity (olfactory epithelium), obtained from 10 deceased (6 women and 4 men) aged 53 to 79 years with a laboratory-confirmed diagnosis of "Coronavirus Disease 2019" (polymerase chain reaction) and olfactory disorders of various degrees in the anamnesis. Mucosal samples were stained both with hematoxylin and eosin, and using an immunohistochemical method with antibodies to transmembrane serine protease-2 (TMPRSS2) and angiotensin-converting enzyme (ACE-2). **Results.** As a result of this study, the number of OMP-positive cells in sections of the olfactory epithelium was on average 46.5 in the field of view at 200x magnification (35.0-59.0), ACE-2-positive cells - 38.5 in the field of view at magnification 200x (21.0-55.0), TMPRSS2-positive - 81 in the field of view at 200x magnification (63.0-96.0). **Conclusion.** Studying the role of TMPRSS2 and ACE-2 receptors localized on olfactory epithelial cells in the development of olfactory disorders in the 2019 coronavirus disease caused by SARS-CoV-2 will provide a better scientific understanding of the development of disease-specific symptoms.

Key words: odorants, smell, olfactory epithelium, coronavirus disease 2019, COVID-19, coronavirus infection, SARS-CoV-2, TMPRSS2, ACE-2.

Citation:

Usova O.M. [Comparative assessment of the role of TMPRSS2 and ACE-2 receptors in the development of olfactory disorders in infection with coronavirus SARS-CoV-2]. *Morphologia*. 2024;18(1):78-82. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.78-82>

 Usova O.M. 0000-0001-8505-2309

 dr.olgausova@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

На сьогоднішній день зберігається актуальність розвитку ольфакторних розладів різного ступеня вираженості та тривалості у якості ключової симптоматики коронавірусної хвороби 2019, спричиненої SARS-CoV-2 [1-2]. Наразі є докази впливу коронавірусу SARSCoV-2 не лише на клітини ольфакторного епітелію носової порожнини, але й на складові більш глибоких відділів ольфакторної системи (ольфакторних цибулин та ольфакторної ділянки кори головного мозку), що свідчить про експресію клітинами ольфакторного

епітелію протеїнів, які сприяють проникненню вірусу далі [3]. Нагальною проблемою є брак комплексних досліджень ролі морфологічних та імунологічних особливостей різних відділів ольфакторної системи у виникненні ольфакторних розладів та недостатнє розуміння взаємозв'язку між їх тривалістю та локалізацією клітин, уражених коронавірусом SARS-CoV-2 [4-5].

Вже встановлено, що провідну роль у розвитку клінічних проявів коронавірусної хвороби 2019 відіграють рецептори TMPRSS2 та ACE-2 [6-7], локалізовані на клітинах тканин внутрішніх

органів, так як вірус SARS-CoV-2 проникає у клітини шляхом взаємодії з клітинними протеїнами: спайковий глікопротеїн на поверхні вірусу спочатку розщеплюється набором клітинних протеаз, включаючи фермент TMPRSS2 [8], а далі перетворюється на S1 і S2 субодиниці, після чого субодиниця S1 зв'язується з рецептором ACE2 на поверхні клітини, тоді як субодиниця S2 прикріплена до клітинної мембрани. Фермент TMPRSS2 також сприяє проникненню вірусу в клітину шляхом розщеплення частини білка рецептора ACE2 [6]. Також відомо, що експресія рецепторів TMPRSS2 в легенях, передміхуровій залозі, шлунково-кишковому тракті, печінці, серці та рогівці вище, ніж в інших тканинах, з чим можна пов'язати розвиток критичних ускладнень коронавірусної хвороби саме в цих органах [9-11]. Та чи є вони вагомим чинником виникнення ольфакторних розладів?

Метою цієї роботи є з'ясування доцільності вивчення ролі рецепторів TMPRSS2 та порівняння її з роллю рецепторів ACE-2, локалізованих на клітинах ольфакторного епітелію, у розвитку ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019, спричиненій SARS-CoV-2.

Матеріали та методи

У даній науковій роботі проведено ретроспективний аналіз аутопсійного матеріалу, а саме слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини (ольфакторного епітелію), отриманого у 10 померлих (6 жінок та 4 чоловіка) віком від 53 до 79 років з діагнозом «Коронавірусна хвороба 2019», підтвердженим лабораторно (якісне виявлення РНК вірусу SARS-CoV-2 методом полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛП) у реальному часі (РТ) з детекцією таргетних генів N, E, RdRP за допомогою флуоресцентної мітки) та ольфакторними розладами різного ступеня в анамнезі. Для контролю була створена група з 9 померлих (3 жінки та 6 чоловіків) віком від 59 до 68 років з лабораторно спростованим діагнозом «Коронавірусна хвороба 2019». Дослідження схвалено комісією з біоетики ДДМУ (витяг з протоколу засідання № 7 від 28 жовтня 2020 р.) та проведено відповідно до принципів біоетики, викладених у Гельсінській декларації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людей» та «Загальній декларації про біоетику та права людини (ЮНЕСКО)». Для морфологічного дослідження зразки слизової оболонки фіксували у 10% нейтральному забуференому формаліні, зневоднювали та занурювали у парафін. Морфологічне дослідження проводилося на базі Міжкафедральної морфологічної лабораторії Дніпровського державного медичного університету. З отриманих парафінових блоків з тканиною було зроблено тонкі зрізи товщиною 4 мкм. Далі, після депарафінізації та регідратації, зрізи фарбували стандартно гематоксиліном та еозином та з використанням імуногістохімічного методу згідно з протоколом TermoScientific

(США) з антитілами до трансмембранної серинової протеази-2 (TMPRSS2) та протоколом RnDsystems з антитілами до ольфакторного маркерного протеїну (OMP) та ангіотензин-перетворюючого ензиму (ACE-2). Цифрові фотографії були отримані за допомогою кольорової камери ZEISS AxioCam 512 під мікроскопом Axio Imager.A2 (збільшення $\times 100/200/400$).

Статистичний аналіз та графічна презентація результатів дослідження виконувалися з використанням пакету комп'ютерної програми Microsoft Excel 2016 (Office16ProPlusVL MAK edition №00339-21520-30133-AA867). Дані описової статистики наведені у форматі «середнє арифметичне \pm стандартне відхилення» ($M \pm SD$) або із значенням медіани та міжквартильного інтервалу ($Me (Q1-Q3)$) залежно від розподілу ознаки [12].

Результати та їх обговорення

Ольфакторні клітини є видозміненими біполярними нейронами, розташованими умовно на поверхні тіла людини. Ці клітини у нормі експресують рецептори до ольфакторного маркерного протеїну (OMP), який є специфічним для них, тому виконання імуногістохімічного дослідження з використанням антитіл до OMP є важливим в цій роботі, так як позитивна реакція є маркером правильного забору саме фрагментів слизової оболонки носової порожнини, вистелених ольфакторним епітелієм [13]. У результаті аналізу кількості OMP-позитивних клітин у зрізах ольфакторного епітелію хворих на коронавірусну хворобу 2019 (якісне виявлення РНК вірусу SARS-CoV-2 методом полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛП) у реальному часі (РТ) з детекцією таргетних генів N, E, RdRP за допомогою флуоресцентної мітки) у середньому складала 46,5 у полі зору при збільшенні 200x (35,0-59,0) (Рис. 1.Б), що було меншим за кількість клітин в цій ділянці у зразках контролю (померлі з патологіями, не пов'язаними з інфікуванням SARS-CoV-2 та ольфакторними розладами) - 67,56 клітин (63,00-75,00). До складу ольфакторного епітелію також входять ще два види клітин: суспендулярні та базальні. Суспендулярні клітини виконують опорну функцію, а також забезпечують життєздатність та нормальне функціонування ольфакторних нейронів, вони експресують рецептори до ангіотензин-перетворюючого ензиму (ACE-2) [14-15], а кількість ACE-2-позитивних клітин у нашій роботі у середньому становила 38,5 у полі зору при збільшенні 200x (21,0-55,0) (Рис. 1.В), у зразках контролю - 56 клітин (53,00-64,00) (табл. 1).

Тобто бачимо зменшення кількості OMP-позитивних та ACE-2-позитивних клітин у зразках слизової оболонки носової порожнини хворих на коронавірусну хворобу 2019 (тест Манна-Уїтні, $p < 0,05$), що може бути пов'язано як з безпосереднім впливом коронавірусу SARS-CoV-2 на ольфакторні рецепторні клітини, їх пошкодженням та загибеллю, так і опосередкованою дією вірусу на

ці клітини шляхом первинного впливу на суспендирувальні клітини та вторинним порушенням опори та трофіки ольфакторних рецепторних клітин [13]. При виконанні дослідження з антитілами до трансмембранної сериної протеази-2 (TMPRSS2) встановлено, що майже всі клітинні елементи ольфакторного епітелію мають рецептори до TMPRSS2 на своїй поверхні (у середньому - 81 у полі зору при збільшенні 200x (63,0-96,0)) (Рис.1.Г), що підтверджує вплив наявності

рецепторів TMPRSS2 на фіксацію коронавірусу SARS-CoV-2 на цих клітинах та його інвазію у глибші відділи ольфакторної системи, іншими словами входними воротами для коронавірусу SARS-CoV-2 у клітини людини можуть бути рецептори ACE2 при додатковому сприянні рецепторів TMPRSS2, тому клітини з наявною експресією рецепторів до ACE2 і TMPRSS2 мають здатність зв'язувати вірус і є особливо чутливими до даної хвороби [7].

Таблиця 1
Кількість OMP-позитивних та ACE-2-позитивних клітин ольфакторного епітелію слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини хворих з діагнозом «Коронавірусна хвороба 2019», підтвердженим лабораторно (ПЛР), та контрольної групи

	OMP	ACE-2
Хворі на коронавірусну хворобу 2019	46,5 (35,0-59,0)	38,5 (21,0-55,0)
Контрольна група	67,56 (63,00-75,00)	56 (53,00-64,00)

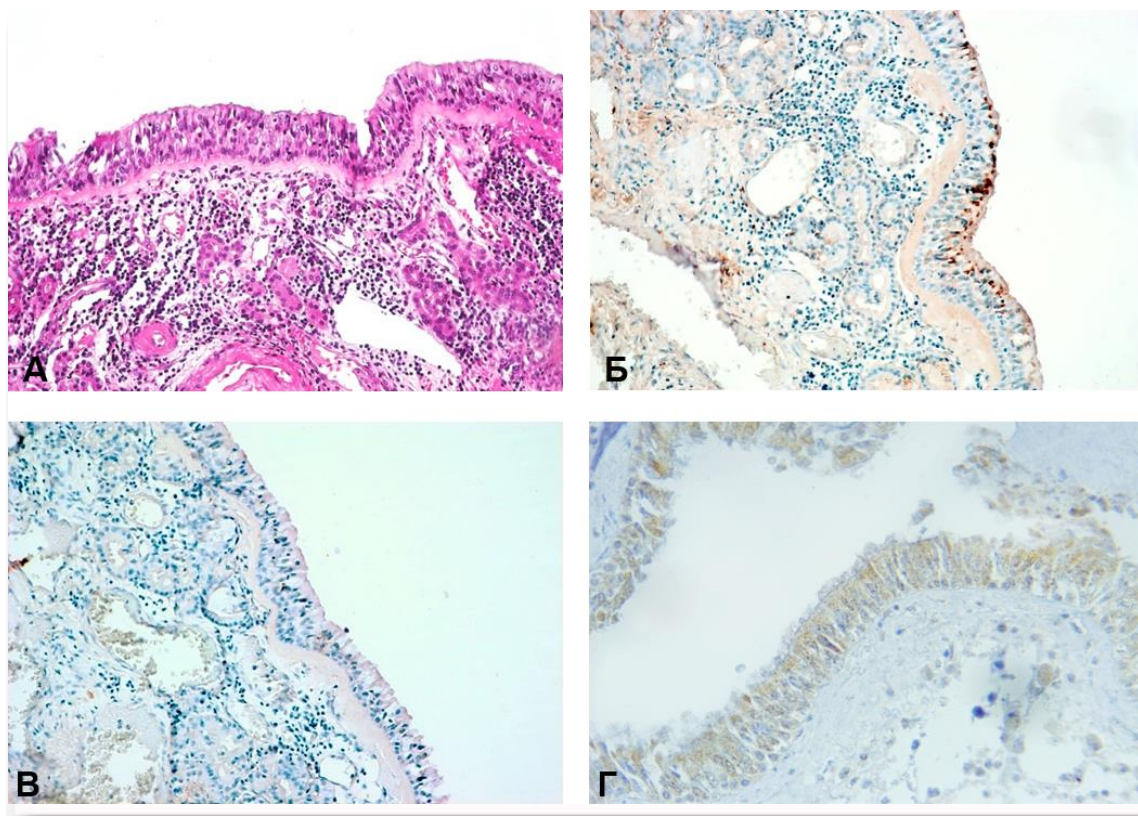


Рис. 1. А. Зразок слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини, вистеленої ольфакторним епітелієм, з загальними ознаками гострих запальних змін; матеріал хворого на коронавірусну хворобу 2019, Г+Е, 200x. Б. Експресія рецепторів до ольфакторного маркерного протеїну (OMP) ольфакторними рецепторними клітинами хворого на коронавірусну хворобу 2019, OMP, 200x. В. Експресія рецепторів до ангіотензин-перетворюючого ензиму (ACE-2) суспендирувальними клітинами ольфакторної ділянки хворого на коронавірусну хворобу 2019, ACE-2, 200x. Г. Експресія рецепторів до трансмембранної сериної протеази-2 (TMPRSS2) клітинами ольфакторної ділянки хворого на коронавірусну хворобу 2019, TMPRSS2. ×400.

Також у ході морфологічного дослідження було виявлено загальні риси гострих респіраторних вірусних інфекцій: ознаки запальних змін слизової оболонки верхніх дихальних шляхів з вираженою інфільтрацією слизової оболонки та

підслизового шару мононуклеарними клітинами, розширенням та повнокров'ям кровоносних судин, потовщенням підслизового шару за рахунок набряку та вогнищевою десквамацією епітелію

(Рис.1.А). Тож слід враховувати, що набряк тканин, підвищена секреторна функція та десквамація епітеліальних клітин також відіграють певну роль у виникненні ольфакторних розладів, як спричиняючи їх самостійно та і підсилюючи вже існуючий ефект впливу коронавірусу SARS-CoV-2. При обмірковуванні та опрацюванні результатів дослідження варто враховувати, що середній вік померлих з лабораторно підтвердженим діагнозом «Коронавірусна хвороба 2019» та ольфакторними розладами в анамнезі складав $66,1 \pm 8,14$ років, що свідчить про наявність супутньої патології, яка також може впливати на порушення нюху (ішемічні, склеротичні та метастатичні зміни ольфакторної ділянки слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини).

Висновки

1. Виникнення ольфакторних розладів за умов інфікування коронавірусом SARS-CoV-2 є специфічним саме для цього інфекційного агенту та може бути спричиненим або первинним зруйнуванням ольфакторних рецепторних клітин (ОМР-позитивних), або початковим зруйнуванням суспендулярних клітин ольфакторного епітелію (АСЕ-2-позитивних) з наступною дисфункцією вже ольфакторних клітин.

2. Рецептори до ангіотензин-перетворюючого ензиму (АСЕ-2) на поверхні клітинних складових ольфакторного епітелію виступають мішенню для коронавірусу SARS-CoV-2 та відіграють

значну роль у патогенезі виникнення ольфакторних розладів.

3. Рецептори до трансмембранної серинової протеази-2 (TMPRSS2) знаходяться на поверхні клітинних складових ольфакторного епітелію (як ольфакторних рецепторних клітин, так і суспендулярних клітин) і мають вплив на фіксацію коронавірусу SARS-CoV-2 та його інвазію у більш глибокі відділи ольфакторної системи, а тому мають значення у розвитку ольфакторних розладів та потребують подальшого більш детального вивчення.

Перспективи подальших розробок полягають у вивченні структурно-функціональних особливостей елементів ольфакторного епітелію в умовах інфікування коронавірусом SARS-CoV-2.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Роботу виконано в рамках науково-дослідної теми «Клінічні, морфологічні та молекулярно-генетичні підходи у діагностиці та лікуванні коронавірусної хвороби (COVID-19) та її ускладнень, оцінка ризиків прогресування та вивчення особливостей постморбідної реабілітації хворих: мультисистемний аналіз» (номер державної реєстрації 0120U105652) за рахунок власних коштів, а також за підтримки наукової діяльності здобувачів Дніпровським державним медичним університетом.

Літературні джерела References

1. Williams FMK, Freidin MB, Mangino M. Self-reported symptoms of COVID-19 including symptoms most predictive of SARS-CoV2 infection, are heritable. *Med Rxiv preprint*. 2020;23:316-321. doi:10.1101/2020.04.22.20072124.

2. Tong JY, Wong A, Zhu D. The prevalence of olfactory and gustatory dysfunction in COVID-19 patients: a systematic review and metaanalysis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020;163:3-11. doi:10.1177/0194599820926473.

3. Xydakis MS, Dehgani-Mobaraki P, Holbrook EH. Smell and taste dysfunction in patients with COVID-19. *Lancet Infect Dis*. 2020;20:1015-1016. doi:10.1016/S1473-3099(20)30293-0.

4. Mosaad AA, Noha A. Dysosmia in Recovered COVID-19 Patients. *J Craniofac Surg*. 2023;34:843-844. doi:10.1097/SCS.00000000000009008.

5. Vaira LA, Salzano G, Fois AG. Potential pathogenesis of ageusia and anosmia in COVID-19 patients. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2020;10:1103-1104. doi:10.1002/alar.22593.

6. Yaghoobi A, Lord JS, Rezaiezhadeh JS, Yeka-

ninejad MS, Amini M, Izadi P. TMPRSS2 polymorphism (rs12329760) and the severity of the COVID-19 in Iranian population. *Plos One*. 2023;18(2):e0281750. doi:10.1371/journal.pone.0281750.

7. Bilinska K, Jakubowska P, Von Bartheld C. Expression of the SARS-CoV-2 Entry Proteins, ACE2 and TMPRSS2, in Cells of the Olfactory Epithelium: Identification of Cell Types and Trends with Age. *ACS Chemical Neuroscience*. 2020;11:1555-1562. doi:10.1021/acscchemneuro.0c00210.

8. David A, Parkinson N, Peacock TP, Pairo-Castineira E, Khanna T, Cobat A, Tenesa A, Sancho-Shimizu V. A common TMPRSS2 variant has a protective effect against severe COVID-19. *Curr Res Transl Med*. 2022;70(2):103333. doi:10.1016/j.retram.2022.103333.

9. Singh H, Choudhari R, Nema V, Khan AA. ACE2 and TMPRSS2 polymorphisms in various diseases with special reference to its impact on COVID-19 disease. *Microb Pathog*. 2021;150:104621. doi:10.1016/j.micpath.2020.104621.

10. Senapati S, Banerjee P, Bhagavatula S,

Kushwaha PP, Kumar S. Contributions of human ACE2 and TMPRSS2 in determining host-pathogen interaction of COVID-19. *J Genet.* 2021;100(1):12. doi:10.1007/s12041-021-01262-w.

11. Zhang Y, Sun S, Du C, Hu K, Zhang C, Liu M, Wu Q, Dong N. Transmembrane serine protease TMPRSS2 implicated in SARS-CoV-2 infection is autoactivated intracellularly and requires N-glycosylation for regulation. *J Biol Chem.* 2022;298(12):102643. doi:10.1016/j.jbc.2022.102643.

12. Strahova OP, Androsov OI. [Statistical methods of processing the results of medical and biological research]. Lviv; 2021. 164 p. Ukrainian.

13. Butowt R, Von Bartheld C. Anosmia in COVID-19: Underlying Mechanisms and Assessment of an Olfactory Route to Brain Infection. *The Neuroscientist.* 2021;27:582-603. doi:10.1177%2F1073858420956905.

14. Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, Li T, Chen Q. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa.

Int J Oral Sci. 2020;12:8. doi:10.1038/s41368-020-0074-x.

15. Ziegler CGK, Allon SJ, Nyquist SK, Mbanjo IM, Miao VN, Tzouanas CN, Cao Y, Yousif AS, Bals J, Hauser BM, Feldman J, Muus C, Wadsworth MH 2nd, Kazer SW, Hughes TK, Doran B, Gatter GJ, Vukovic M, Taliaferro F, Mead BE, Guo Z, Wang JP, Gras D, Plaisant M, Ansari M, Angelidis I, Adler H, Sucre JMS, Taylor CJ, Lin B, Waghay A, Mitsialis V, Dwyer DF, Buchheit KM, Boyce JA, Barrett NA, Laidlaw TM, Carroll SL, Colonna L, Tkachev V, Peterson CW, Yu A, Zheng HB, Gideon HP, Winchell CG, Lin PL, Bingle CD, Snapper SB, Kropski JA, Theis FJ, Schiller HB, Zaragosi LE, Barbry P, Leslie A, Kiem HP, Flynn JL, Fortune SM, Berger B, Finberg RW, Kean LS, Garber M, Schmidt AG, Lingwood D, Shalek AK, Ordovas-Montanes J. SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. *Cell.* 2020;181:1016-35. doi:10.1016/j.cell.2020.04.035.

Усова О.М. Порівняльна оцінка ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2 у розвитку ольфакторних розладів при інфікуванні коронавірусом SARS-CoV-2.

РЕФЕРАТ. Актуальність. На сьогоднішній день докази впливу коронавірусу SARS-CoV-2 не лише на клітини ольфакторного епітелію носової порожнини, але й на складові більш глибоких відділів ольфакторної системи (ольфакторних цибулин та ольфакторної ділянки кори головного мозку), свідчать про експресію клітинами ольфакторного епітелію протеїнів, які сприяють проникненню вірусу далі. Нагальною проблемою є брак комплексних досліджень ролі морфологічних та імунологічних особливостей різних відділів ольфакторної системи у виникненні ольфакторних розладів та недостатнє розуміння взаємозв'язку між їх тривалістю та локалізацією клітин, уражених коронавірусом SARS-CoV-2. **Метою** дослідження є з'ясування доцільності вивчення ролі рецепторів TMPRSS2 та порівняння її з роллю рецепторів ACE-2, локалізованих на клітинах ольфакторного епітелію, у розвитку ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019, спричиненій SARS-CoV-2. **Методи.** Для дослідження використано аутопсійний матеріал, а саме фрагменти слизової оболонки верхніх відділів носової порожнини (ольфакторного епітелію), отримані у 10 померлих (6 жінок та 4 чоловіків) віком від 53 до 79 років з діагнозом «Коронавірусна хвороба 2019», підтвердженим лабораторно (полімеразна ланцюгова реакція) та ольфакторними розладами різного ступеня в анамнезі. Зразки слизової оболонки фарбували стандартно гематоксиліном та еозином та з використанням імуногістохімічного методу з антитілами до трансмембранної сериної протеази-2 (TMPRSS2) і ангіотензин-перетворюючого ензиму (ACE-2). **Результати.** В результаті проведеної роботи кількість OMP-позитивних клітин у зрізах ольфакторного епітелію у середньому складала 46,5 у полі зору при збільшенні 200x (35,0-59,0), ACE-2-позитивних клітин - 38,5 у полі зору при збільшенні 200x (21,0-55,0), TMPRSS2-позитивних - 81 у полі зору при збільшенні 200x (63,0-96,0). **Підсумок.** Вивчення ролі рецепторів TMPRSS2 та ACE-2, локалізованих на клітинах ольфакторного епітелію, у розвитку ольфакторних розладів при коронавірусній хворобі 2019, спричиненій SARS-CoV-2, дасть краще наукове розуміння виникнення специфічної для даної хвороби симптоматики.

Ключові слова: одоранти, нюх, ольфакторний епітелій, коронавірусна хвороба 2019, COVID-19, коронавірусна інфекція, SARS-CoV-2, TMPRSS2, ACE-2.

P.A. Kobeza



Dnipro State Medical
University
Dnipro, Ukraine

Надійшла: 26.02.2024
Прийнята: 18.03.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.83-88>

UDC: 577.142.2:616.12-008.331.1

SARCOMERE. THE STRUCTURAL UNIT OF THE MYOFIBRILLAR COMPLEX OF TYPICAL CARDIOMYOCYTES. ISOMETRIC ASPECTS OF SARCOMERE ORGANIZATION

Kobeza P.A.   Sarcomere. The structural unit of the myofibrillar complex of typical cardiomyocytes. Isometric aspects of sarcomere organization.

Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. Background. The complexity of understanding the structure and function of cardiomyocytes in the myocardium is a fundamental problem in the field of heart morphology. Sarcomeres are the main structural and functional units of myofibrils. Understanding the organization and dynamics of sarcomeres in cardiomyocytes is crucial for establishing the mechanisms responsible for the process of forming the contractile system of cardiomyocytes. **Objective.** The main purpose of this study is a review of literary sources that complement and expand the essential findings about the construction of myofibrils and their components when studied by effective methods of microscopic techniques. **Materials.** Literature review databases, systematic search of primary sources related to the research topic. Methods of visual examination of the components of sarcomeres and elements of their organization. **Results.** Transmission electron microscopy provides high-resolution imaging of sarcomeres, which is necessary for detailed analysis of their ultrastructure, including visualization of sarcomere components such as Z-discs, M-lines, thick and thin filaments. Morphometric methods are crucial for studying the compaction and orientation of myofibrils in cardiomyocytes. **Conclusion.** Morphometric methods provide valuable information about the structural remodeling of myofibrils in response to physiological stimuli or pathological conditions. These techniques are needed to improve our understanding of the mechanisms underlying muscle contraction and to develop methods to study cardiac remodeling processes in response to the adaptive response.


Key words: sarcomere, actin and myosin, contraction, cardiomyocyte, electron microscopy.

Citation:

Kobeza PA. Sarcomere. The structural unit of the myofibrillar complex of typical cardiomyocytes. Isometric aspects of sarcomere organization. *Morphologia*. 2024;18(3):83-8.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.83-88>

 Kobeza P.A. 0000-0003-1113-4007

 kobeza.pavel@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Background

The complex structure and function of cardiomyocytes in the myocardium have long been of interest to histologists and researchers in the field of cardiac morphology [1]. Sarcomeres, the main structural and functional units of myofibrils, are among the fundamental units contributing to the contractile properties of heart muscle [2]. Understanding the organization and dynamics of sarcomeres in cardiomyocytes is critical to elucidating the morphological subtleties

underlying cardiac function and dysfunction [3]. **Objective.** The main goal of this study is to investigate and elucidate the organization, composition and functional significance of sarcomeres in myofibrils of cardiomyocytes in cardiac muscle. Through comprehensive histological analysis and advanced imaging techniques, we aim to provide a detailed understanding of the spatial arrangement, molecular components, and dynamic properties of sarcomeres in the context of cardiac morphology. **Relevance of the study.** The

importance of this study lies in its contribution to fundamental knowledge of cardiac histology and morphology [4]. By revealing the structural complexities of sarcomeres in cardiomyocytes, our study aims to provide insight into the mechanisms underlying cardiac contraction and relaxation [5]. Such insight is essential for advancing our understanding of cardiac physiology and pathophysiology, paving the way for future research efforts to unravel the complex interplay between morphological changes and functional changes in cardiac muscle.

Materials and methods

Literature Review Databases: Researchers often utilize specialized literature review databases such as PubMed, Scopus, Web of Science, or Google Scholar to search for relevant scientific articles, reviews, and meta-analyses. These databases allow for advanced search functionalities, including keyword searches, filters based on publication date and journal, and citation tracking. **Systematic Searching:** Systematic searching involves following a structured approach to identify relevant literature on a specific topic. This method typically includes defining search terms and criteria, conducting searches across multiple databases, screening search results based on predetermined inclusion and exclusion criteria, and critically appraising selected studies for inclusion in the review. **Hand-searching:** Hand-searching involves manually searching through the reference lists of relevant articles, reviews, and textbooks to identify additional sources that may not have been captured through electronic databases. This method helps to uncover older or less widely indexed literature and can provide valuable supplementary information for the review.

The Results and discussion

The sarcomere is the basic unit of contraction in striated muscle, including both cardiac and skeletal muscle [6]. It is characterized by a highly organized structure consisting of overlapping thin and thick filaments, as well as specific protein complexes that regulate contraction [7]. Although the basic morphology of sarcomeres in cardiac and skeletal muscle is similar [8], there are important differences that reflect their distinct functions and physiological properties [9]. The morphological structure of the sarcomere includes the localization of basic elements: Z-discs (or Z-lines) are dense protein bands that bisect the sarcomere and anchor thin filaments. They are composed of proteins such as α -actinin and connect adjacent sarcomeres, providing structural stability and facilitating force transmission during contraction. Thin filaments consist mainly of actin, as well as regulatory proteins such as tropomyosin and troponin. These filaments extend inward from the Z-discs and mix with the thick filaments. Thick filaments are composed mainly of myosin, which is responsible for generating force during muscle contraction. Myosin molecules arranged in a checkerboard pattern, with their heads

(containing ATPase activity) protruding outwards towards thin filaments. The M-line is a protein structure located in the center of the sarcomere where adjacent thick filaments are attached. It provides structural support and helps maintain the alignment of thick strands during shortening. Titin is a large elastic protein that extends from the Z-disc to the M-line, running along a thick filament. It ensures the elasticity of the sarcomere and contributes to its passive mechanical properties [10]. **Sarcomere length:** Sarcomere length can vary depending on muscle type and physiological conditions [11]. In skeletal muscle, sarcomeres are typically longer (~2.0-2.4 μm) compared to cardiac muscle sarcomeres (~1.6-2.2 μm).

Differences between the sarcomeres of cardiac and skeletal muscles preserved in the ultrastructural organization. While the sarcomeres of both cardiac and skeletal muscle exhibit striation due to the arrangement of thin and thick filaments, the pattern of striation may be more regular in skeletal muscle, reflecting its highly organized structure and precise arrangement of sarcomeres [12]. Cardiac muscle sarcomeres are connected end-to-end by special junctions called intercalated discs, which contain gap junctions and desmosomes. These structures provide rapid electrical conduction and mechanical coupling between cardiomyocytes, facilitating coordinated cardiac contraction. Cardiomyocytes have a higher density of mitochondria compared to skeletal muscle fibers, reflecting the high energy demand of the heart [13]. This difference in mitochondrial density can affect the distribution and organization of sarcomeres in the cell. Structural differences between cardiac and skeletal muscle sarcomeres reflect their distinct functions. Cardiac muscle sarcomeres are adapted for rhythmic and coordinated contraction to pump blood, whereas skeletal muscle sarcomeres are optimized for voluntary movements and force generation. **Formula for the structure of a sarcomere:** Sarcomere Length (SL) = $1/2$ Length of A-band + Length of I-band. **Sarcomere Length (SL):** This is the distance between two adjacent Z-lines. By measuring the sarcomere length, we can assess how the length changes during muscle contraction, which is crucial for studying its function. **Length of A-band:** This is the distance between adjacent M-lines, determined by the length of the thick myosin filaments. The length of the A-band remains constant during muscle contraction, indicating that the thick filaments remain unchanged in length. **Length of I-band:** This is the distance between adjacent A-bands, determined by the length of the thin actin filaments. The length of the I-band changes during muscle contraction as the thin filaments move toward the center of the sarcomere [14, 15]. These parameters help us understand the structural features of the sarcomere and its role in the process of muscle contraction [16].

Methods of visual examination of sarcomere components and elements of their organization [17]. **Electron microscopy (EM):** Transmission electron

microscopy (TEM) and scanning electron microscopy (SEM) provide high-resolution images of sarcomeres, which are necessary for detailed analysis of their ultrastructure. TEM, in particular, allows visualization of sarcomere components such as Z-discs, M-lines, thick and thin filaments [18]. Immunofluorescence staining: Immunofluorescence staining combined with fluorescence microscopy is critical for visualizing the spatial distribution and organization of sarcomeres in cardiomyocytes. This method allows the localization of specific sarcomere proteins such as actin, myosin, troponin and titin, providing insight into their location and interactions [19]. Confocal microscopy: Confocal microscopy provides improved optical sectioning and resolution compared to conventional fluorescence microscopy, enabling three-dimensional visualization of sarcomeres. This method is indispensable for studying the spatial organization of sarcomeres in the complex three-dimensional architecture of cardiomyocytes [20]. Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET): FRET is valuable for studying proximity and interactions between sarcomeric proteins, providing insight into their structural organization and dynamics. By measuring the transfer of energy between fluorophores attached to specific proteins, FRET can elucidate molecular interactions within sarcomeres [21]. X-ray diffraction: X-ray diffraction provides information about the molecular arrangement of sarcomere proteins in myofibrils. This technique is important for studying the structural organization of sarcomeres at the atomic level, including the orientation and distance between thick and thin filaments [22]. Atomic force microscopy (AFM): AFM enables high-resolution nanoscale imaging of sarcomeres, providing insight into their mechanical properties and organization. AFM is particularly useful for studying the topography and elasticity of sarcomeres in situ, which contributes to our understanding of cardiac muscle biomechanics [23]. Electronic tomography. Electron tomography makes it possible to reconstruct three-dimensional images of sarcomeres, offering a detailed view of their structural organization and connections with other cellular components [24]. This method is necessary to study the organization of sarcomeres in the complex architecture of cardiomyocytes. Western blotting: Western blotting is valuable for analyzing the expression levels of sarcomere proteins, providing insight into their abundance and potential changes in disease states [25]. This method is indispensable for studying changes in the composition of sarcomeres associated with cardiac pathologies. Cryo-electron microscopy (Cryo-EM): Cryo-EM allows examination of sarcomeres in their native state without the need for chemical fixation, preserving their structural integrity [26]. This method is necessary for studying dynamic processes in sarcomeres and for recording temporal interactions between sarcomere proteins.

Protein-protein interaction studies: Techniques such as co-immunoprecipitation and yeast two-hybrid

assays are invaluable for studying interactions between sarcomere proteins [27]. These techniques provide insight into the complex network of protein-protein interactions that govern the assembly, organization, and function of sarcomeres. Morphometric methods play a crucial role in the study of myofibril shortening in cardiac myocytes (cardiomyocytes) [28]. These methods, which involve the quantitative analysis of cellular structures and dimensions, are indispensable for understanding the mechanisms underlying muscle contraction and understanding the morphological changes associated with various physiological and pathological conditions. An important requirement for the use of morphometric methods in the study of myofibril contraction is the accurate measurement of sarcomere parameters. Sarcomeres are the basic contractile units of muscle, consisting of overlapping thin (actin) and thick (myosin) filaments. The length, width and location of sarcomeres directly affect the contractile properties of muscle fibers. Morphometric techniques such as transmission electron microscopy (TEM) and immunofluorescence staining combined with confocal microscopy allow precise measurements of sarcomere length, Z-line spacing, and filament density. These quantitative measurements are important for assessing the structural integrity of sarcomeres and understanding how changes in sarcomere morphology affect muscle function [29].

The molecular mechanism of muscle contraction and relaxation involves the interaction between actin and myosin filaments within the sarcomeres of muscle fibers. This process, known as the sliding filament theory, describes how actin and myosin filaments slide past each other, leading to muscle contraction, and how they disengage to allow for muscle relaxation. Upon muscle stimulation, calcium ions are released from the sarcoplasmic reticulum into the cytoplasm of the muscle cell. Calcium ions bind to the regulatory protein troponin, causing it to change shape and move tropomyosin away from the myosin-binding sites on the actin filaments. With the binding sites exposed, myosin heads (cross-bridges) on the thick filaments bind to specific binding sites on the actin filaments, forming cross-bridges [30].

Energy stored in the myosin heads is released, causing them to change shape and exert force on the actin filaments. This results in the sliding of the actin filaments over the myosin filaments towards the center of the sarcomere, shortening the sarcomere and generating muscle contraction. After the power stroke, ATP binds to the myosin heads, causing them to detach from the actin filaments. The ATP is then hydrolyzed to ADP and inorganic phosphate, providing energy for the next cycle of cross-bridge formation and power stroke. When the muscle is no longer stimulated, calcium ions are actively transported back into the sarcoplasmic reticulum, reducing the calcium ion concentration in the cytoplasm. With the decrease in calcium ion concentration, troponin returns to its original shape, allowing tropomyosin to

once again cover the myosin-binding sites on the actin filaments, preventing cross-bridge formation. Any remaining cross-bridges detach from the actin filaments, and the myosin heads return to their resting conformation. Without the formation of new cross-bridges, the sarcomeres passively return to their resting length due to the elasticity of the titin filaments and other structural proteins [31]. The molecular mechanism of actin-myosin interaction during muscle contraction and relaxation involves a series of highly coordinated steps, including cross-bridge formation, power stroke generation, ATP hydrolysis, and detachment of myosin heads [32]. This intricate process ensures precise control of muscle contraction and relaxation in response to physiological stimuli. Morphometric methods are crucial for studying the compaction and orientation of myofibrils in cardiomyocytes. Cardiac muscle fibers characterized by a highly organized arrangement of myofibrils that align in register to optimize force transmission during contraction. Morphometric techniques, such as image analysis software and 3D reconstruction, allow researchers to quantify the density, orientation, and distribution of myofibrils in cardiomyocytes [33]. By analyzing these morphometric parameters, researchers can assess the degree of compaction and alignment of myofibrils that are necessary for efficient force generation and contraction of the heart muscle.

Conclusion

1. Morphometric methods provide valuable information about the structural remodeling of myofibrils in response to physiological stimuli or patholog-

ical conditions. For example, during cardiac hypertrophy or heart failure, myofibrils undergo structural changes, including changes in size, shape, and organization. Morphometric analysis allows us to quantify these structural changes, providing valuable information about the remodeling process and its impact on cardiac function. In addition, morphometry methods can be used to evaluate the effectiveness of therapeutic interventions aimed at modulating the structure and function of myofibrils in modeling pathomorphological conditions and studying adaptive reactions of cardiac muscle.

2. The necessity of using morphometry methods in the study of myofibril contraction of cardiac myocytes is due to their ability to provide quantitative data on sarcomere parameters, to evaluate the compaction and orientation of myofibrils, as well as to evaluate structural remodeling in response to physiological and pathological stimuli. These techniques needed to improve our understanding of the mechanisms underlying muscle contraction and to develop methods to study cardiac muscle remodeling processes in response to adaptive responses.

Information on conflict of interest

There are no potential or apparent conflicts of interest related to this manuscript at the time of publication and not anticipated.

Sources of funding

It is a fragment of the scientific research work «Histogenesis of the components of the cardiovascular system of humans and laboratory animals in normal and experimental conditions» (state registration No. 0118U004730).

References

1. Lehman SJ, Crocini C, Leinwand LA. Targeting the sarcomere in inherited cardiomyopathies. *Nat Rev Cardiol.* 2022;19(6):353-63. doi: 10.1038/s41569-022-00682-0. Epub 2022 Mar 18. PMID: 35304599; PMCID: PMC9119933.
2. Pettinato AM, Ladha FA, Hinson JT. The Cardiac Sarcomere and Cell Cycle. *Curr Cardiol Rep.* 2022;24(6):623-30. doi: 10.1007/s11886-022-01682-9. Epub 2022 Apr 5. PMID: 35380383.
3. Wang Z, Grange M, Wagner T, Kho AL, Gautel M, Raunser S. The molecular basis for sarcomere organization in vertebrate skeletal muscle. *Cell.* 2021;184(8):2135-50. doi: 10.1016/j.cell.2021.02.047. Epub 2021 Mar 24. PMID: 33765442; PMCID: PMC8054911.
4. Tsukamoto O. Direct Sarcomere Modulators Are Promising New Treatments for Cardiomyopathies. *Int J Mol Sci.* 2019;21(1):226. doi: 10.3390/ijms21010226. PMID: 31905684; PMCID: PMC6982115.
5. Nayak A, Amrute-Nayak M. SUMO system - a key regulator in sarcomere organization. *FEBS J.* 2020;287(11):2176-90. doi: 10.1111/febs.15263. Epub 2020 Mar 13. PMID: 32096922.
6. Watkins H. Time to Think Differently About Sarcomere-Negative Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation.* 2021;143(25):2415-17. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.121.053527. Epub 2021 Jun 21. PMID: 34152793.
7. Henderson CA, Gomez CG, Novak SM, Mi-Mi L, Gregorio CC. Overview of the Muscle Cytoskeleton. *Compr Physiol.* 2017;7(3):891-944. doi: 10.1002/cphy.c160033. PMID: 28640448; PMCID: PMC5890934.
8. Toepfer CN, Garfinkel AC, Venturini G, Wakimoto H, Repetti G, Alamo L, Sharma A, Agarwal R, Ewoldt JK, Cloonan P, Letendre J, Lun M, Olivetto I, Colan S, Ashley E, Jacoby D, Michels M, Redwood CS, Watkins HC, Day SM, Staples JF, Padrón R, Chopra A, Ho CY, Chen CS, Pereira AC, Seidman JG, Seidman CE. Myosin Sequestration Regulates Sarcomere Function, Cardiomyocyte Energetics, and Metabolism, Informing the Pathogenesis of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation.* 2020;141(10):828-42. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.042339. Epub 2020 Jan 27. Erratum

- in: *Circulation*. 2020 Mar 10;141(10):e645. PMID: 31983222; PMCID: PMC7077965.
9. Li J, Sundnes J, Hou Y, Laasmaa M, Ruud M, Unger A, Kolstad TR, Frisk M, Norseng PA, Yang L, Setterberg IE, Alves ES, Kalakoutis M, Sejersted OM, Lanner JT, Linke WA, Lunde IG, de Tombe PP, Louch WE. Stretch Harmonizes Sarcomere Strain Across the Cardiomyocyte. *Circ Res*. 2023;133(3):255-70. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.123.322588. Epub 2023 Jul 4. PMID: 37401464; PMCID: PMC10355805.
10. Nguyen PD, Gooijers I, Camprostrini G, Verkerk AO, Honkoop H, Bouwman M, de Bakker DEM, Koopmans T, Vink A, Lamers GEM, Shakked A, Mars J, Mulder AA, Chocron S, Bartscherer K, Tzahor E, Mummery CL, de Boer TP, Bakkers J. Interplay between calcium and sarcomeres directs cardiomyocyte maturation during regeneration. *Science*. 2023;380(6646):758-64. doi: 10.1126/science.abo6718. Epub 2023 May 18. PMID: 37200435.
11. Pettinato AM, Ladha FA, Hinson JT. The Cardiac Sarcomere and Cell Cycle. *Curr Cardiol Rep*. 2022;24(6):623-30. doi: 10.1007/s11886-022-01682-9. Epub 2022 Apr 5. PMID: 35380383.
12. Lookin O, de Tombe P, Boulali N, Gergely C, Cloitre T, Cazorla O. Cardiomyocyte sarcomere length variability: Membrane fluorescence versus second harmonic generation myosin imaging. *J Gen Physiol*. 2023;155(4):e202213289. doi: 10.1085/jgp.202213289. Epub 2023 Jan 25. PMID: 36695814; PMCID: PMC9930136.
13. Ahmed RE, Tokuyama T, Anzai T, Chanthra N, Uosaki H. Sarcomere maturation: function acquisition, molecular mechanism, and interplay with other organelles. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2022;377(1864):20210325. doi: 10.1098/rstb.2021.0325. Epub 2022 Oct 3. PMID: 36189811; PMCID: PMC9527934.
14. Gerdes AM. How to improve the overall quality of cardiac morphometric data. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015;309(1):9-14. doi: 10.1152/ajpheart.00232.2015. Epub 2015 May 8. PMID: 25957219.
15. Sjöström M, Angquist KA, Bylund AC, Fridén J, Gustavsson L, Scherstén T. Morphometric analyses of human muscle fiber types. *Muscle Nerve*. 1982;5(7):538-53. doi: 10.1002/mus.880050708. PMID: 6292711.
16. Cury DP, Dias FJ, Sosthenes MC, Dos Santos Haemmerle CA, Ogawa K, Da Silva MC, Mardegan Issa JP, Iyomasa MM, Watanabe IS. Morphometric, quantitative, and three-dimensional analysis of the heart muscle fibers of old rats: transmission electron microscopy and high-resolution scanning electron microscopy methods. *Microsc Res Tech*. 2013;76(2):184-95. doi: 10.1002/jemt.22151. Epub 2012 Nov 24. PMID: 23180425.
17. Fanin M, Nascimbeni AC, Angelini C. Muscle atrophy in Limb Girdle Muscular Dystrophy 2A: a morphometric and molecular study. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2013;39(7):762-71. doi: 10.1111/nan.12034. PMID: 23414389.
18. Squire J. Special Issue: The Actin-Myosin Interaction in Muscle: Background and Overview. *Int J Mol Sci*. 2019;20(22):5715. doi: 10.3390/ijms20225715. PMID: 31739584; PMCID: PMC6887992.
19. Dittloff KT, Spanghero E, Solís C, Banach K, Russell B. Transthyretin deposition alters cardiomyocyte sarcomeric architecture, calcium transients, and contractile force. *Physiol Rep*. 2022;10(5):15207. doi: 10.14814/phy2.15207. PMID: 35262277; PMCID: PMC8906053.
20. Pasqualin C, Gannier F, Yu A, Malécot CO, Bredeloux P, Maupoil V. SarConfoCal: simultaneous sarcomere length and cytoplasmic calcium measurements for laser scanning confocal microscopy images. *Bioinformatics*. 2017;33(5):789-90. doi: 10.1093/bioinformatics/btw754. PMID: 28011776.
21. Wang J, Fan Y, Sanger JM, Sanger JW. Nonmuscle myosin II in cardiac and skeletal muscle cells. *Cytoskeleton (Hoboken)*. 2018;75(8):339-51. doi: 10.1002/cm.21454. PMID: 29781105; PMCID: PMC6249054.
22. Nicolas JD, Bernhardt M, Schlick SF, Tiburcy M, Zimmermann WH, Khan A, Markus A, Alves F, Toischer K, Salditt T. X-ray diffraction imaging of cardiac cells and tissue. *Prog Biophys Mol Biol*. 2019;144:151-65. doi: 10.1016/j.pbio-molbio.2018.05.012. Epub 2018 Jun 18. PMID: 29914693.
23. Usukura E, Narita A, Yagi A, Sakai N, Uekusa Y, Imaoka Y, Ito S, Usukura J. A Cryosectioning Technique for the Observation of Intracellular Structures and Immunocytochemistry of Tissues in Atomic Force Microscopy (AFM). *Sci Rep*. 2017;7(1):6462. doi: 10.1038/s41598-017-06942-1. PMID: 28743939; PMCID: PMC5526917.
24. Camors EM, Roth AH, Alef JR, Sullivan RD, Johnson JN, Purevjav E, Towbin JA. Progressive Reduction in Right Ventricular Contractile Function Attributable to Altered Actin Expression in an Aging Mouse Model of Arrhythmogenic Cardiomyopathy. *Circulation*. 2022;145(21):1609-24. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.049261. Epub 2022 Apr 19. PMID: 35437032; PMCID: PMC9133220.
25. Bradshaw M, Paul DM. After the revolution: how is Cryo-EM contributing to muscle research? *J Muscle Res Cell Motil*. 2019;40(2):93-98. doi: 10.1007/s10974-019-09537-7. Epub 2019 Jul 13. PMID: 31302812; PMCID: PMC6726666.
26. Dadson K, Hauck L, Billia F. Molecular mechanisms in cardiomyopathy. *Clin Sci (Lond)*. 2017;131(13):1375-92. doi: 10.1042/CS20160170. PMID: 28645928.
27. Mouton J, Loos B, Moolman-Smook JC, Kinnear CJ. Ascribing novel functions to the sarcomeric protein, myosin binding protein H (MyBPH) in cardiac sarcomere contraction. *Exp Cell Res*.

- 2015;331(2):338-51. doi: 10.1016/j.yexcr.2014.11.006. Epub 2014 Nov 18. PMID: 25449695.
28. Poole DC, Batra S, Mathieu-Costello O, Rakusan K. Capillary geometrical changes with fiber shortening in rat myocardium. *Circ Res*. 1992;70(4):697-706. doi: 10.1161/01.res.70.4.697. PMID: 1551196.
29. Cury DP, Dias FJ, Sosthenes MC, Dos Santos Haemmerle CA, Ogawa K, Da Silva MC, Mardegan Issa JP, Iyomasa MM, Watanabe IS. Morphometric, quantitative, and three-dimensional analysis of the heart muscle fibers of old rats: transmission electron microscopy and high-resolution scanning electron microscopy methods. *Microsc Res Tech*. 2013;76(2):184-95. doi: 10.1002/jemt.22151. Epub 2012 Nov 24. PMID: 23180425.
30. Telley IA, Denoth J. Sarcomere dynamics during muscular contraction and their implications to muscle function. *J Muscle Res Cell Motil*. 2007;28(1):89-104. doi: 10.1007/s10974-007-9107-8. Epub 2007 May 26. PMID: 17530424.
31. Burbaum L, Schneider J, Scholze S, Bötcher RT, Baumeister W, Schwille P, Plitzko JM, Jasnin M. Molecular-scale visualization of sarcomere contraction within native cardiomyocytes. *Nat Commun*. 2021;12(1):4086. doi: 10.1038/s41467-021-24049-0. PMID: 34215727; PMCID: PMC8253822.
32. Lange S, Pinotsis N, Agarkova I, Ehler E. The M-band: The underestimated part of the sarcomere. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2020;1867(3):118440. doi: 10.1016/j.bbamcr.2019.02.003. Epub 2019 Feb 7. PMID: 30738787; PMCID: PMC7023976.
33. De Souza Leite F, Rassier DE. Sarcomere Length Nonuniformity and Force Regulation in Myofibrils and Sarcomeres. *Biophys J*. 2020;119(12):2372-7. doi: 10.1016/j.bpj.2020.11.005. Epub 2020 Nov 18. PMID: 33217382; PMCID: PMC7822744.

Кобеза П.А. Саркомер. Структурна одиниця міофібрилярного комплексу типових кардіоміоцитів. Аспекти ізометризації в організації саркомера.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Складність розуміння структури і функції кардіоміоцитів у міокарді є фундаментальною проблематикою у галузі морфології серця. Саркомери основні структурні та функціональні одиниці міофібрил. Розуміння організації та динаміки саркомерів у кардіоміоцитах має вирішальне значення для встановлення механізмів, що є відповідальними за процес формування скоротливої системи кардіоміоцитів. **Мета.** Основною метою цього дослідження є огляд літературних джерел, які доповнять і розширять істотне уявлення про будову міофібрил і їх компонентів при дослідженні різними методами мікроскопічної техніки. **Матеріал.** Бази даних огляду літератури, систематичний пошук першоджерел пов'язаних із тематикою дослідження. **Методи візуального дослідження** компонентів саркомерів та елементів їх організації. **Результати.** Трансмійсна електронна мікроскопія забезпечує зображення саркомерів з високою роздільною здатністю, які необхідні для детального аналізу їх ультраструктури, зокрема дозволяє візуалізувати такі компоненти саркомерів, як Z-диски, M-лінії, товсті та тонкі філаменти. Морфометричні методи мають вирішальне значення для вивчення ущільнення та орієнтації міофібрил у кардіоміоцитах. **Підсумок.** Морфометричні методи дають цінну інформацію про структурне ремоделювання міофібрил у відповідь на фізіологічні стимули або патологічні стани. Ці методи необхідні для покращення нашого розуміння механізмів, що лежать в основі скорочення м'язів, і для розробки методів вивчення процесів ремоделювання серцевого м'яза у відповідь на адаптаційну реакцію.

Ключові слова: саркомер, актин і міозин, скорочення, кардіоміоцит, електронна мікроскопія.

О.Є. Маєвський¹
І.В. Твердохліб²

¹ Київський національний
університет імені Тараса
Шевченка, Київ

² Дніпровський державний
медичний університет,
Дніпро, Україна

Надійшла: 16.02.2024

Прийнята: 12.03.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.89-94>

УДК 611.778.018

СПОЛУЧНОТКАНИННІ КЛІТИНИ ШКІРИ: ГЕТЕРОГЕНІТЕТ ФІБРОБЛАС- ТІВ І ЗАГАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ЇХ СУ- БПОПУЛЯЦІЙ

Maievskiy O.Ye.  , Tverdokhlib I.V.   **Connective tissue cells of the skin: heterogeneity of fibroblasts and general properties of their subpopulations.**

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv; Dnipro State Medical University, Dnipro, Ukraine.

ABSTRACT. Directing of experimental and clinical research requires integration of information on morphological and functional features of organs and tissue structures. One of the examples of such integration is the analysis of the histophysiology of the skin, in particular dermal fibroblasts – a mandatory cellular component of the dermis. They not only synthesize and organize the components of the extracellular matrix of the dermis, but also interact with each other and with other types of cells, playing a decisive role in the regulation of skin histophysiology. Other resident cells include epidermal, vascular, and nerve cells. In addition, the skin contains various cells of hematogenous origin. They contain a constitutive population of dendritic cells and a more dynamic population of leukocytes, which includes monocytes (macrophages), neutrophils, and lymphocytes. Dermal fibroblasts are a dynamic and diverse population of cells whose functions in skin in many respects remain unknown. Normal adult human skin contains at least three distinct subpopulations of fibroblasts, which occupy unique niches in the dermis. Fibroblasts from each of these niches exhibit distinctive differences when cultured separately. Specific differences in fibroblast histophysiology are evident in papillary dermal fibroblasts, which reside in the superficial dermis, and reticular fibroblasts, which reside in the deep dermis. Both of these subpopulations of fibroblasts differ from the fibroblasts that are associated with hair follicles. Fibroblasts engage in fibroblast-epidermal interactions during hair development and in interfollicular regions of skin. They also play an important role in cutaneous structural transformations.


Key words: skin, fibroblasts, cell subpopulations, histophysiological properties.

Citation:

Maievskiy OYe, Tverdokhlib IV. [Connective tissue cells of the skin: heterogeneity of fibroblasts and general properties of their subpopulations]. *Morphologia*. 2024;18(1):89-94. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.1.89-94>

 Tverdokhlib I.V. 0000-0002-8672-3773

 Maievskiy O.Ye. 0000-0002-9128-1033

 maevskyaalex8@gmail.com; ivt@dmu.edu.ua

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Проведення експериментальних і клінічних досліджень потребує інтеграції відомостей про морфологічні та функціональні особливості органів і тканинних структур. Одним з прикладів такої інтеграції є аналіз гістофізіології шкіри, зокрема дермальних фібробластів – обов'язкового клітинного компонента дерми. Вони не тільки синтезують і організують компоненти екстрацелюлярного матрикса дерми, але також взаємодіють один з одним і з іншими типами клітин, відіграючи визначальну роль у регуляції гістофізіології шкіри. Інші резидентні клітини включають епідермальні, судинні і нервові клітини [1-3]. Крім того, шкіра

містить різні клітини гематогенного походження. Вони містять у собі конститутивну популяцію дендритних клітин і більш динамічну популяцію лейкоцитів, до складу якої входять моноцити (макрофаги), нейтрофіли і лімфоцити [4, 5].

Дермальні фібробласти представлені гетерогенною популяцією клітин, що обумовлені їх локалізацією в дермі. Дві субпопуляції фібробластів розташовуються в різних шарах дерми: папілярному і ретикулярному. Культивовані фібробласти кожного з цих шарів мають різні характеристики. Третя група зв'язана з волосяними фолікулами. Ці клітини містяться в області дермальних сосочків фолікула й уздовж його осі [6]. Ймовірно, можуть

існувати й інші субпопуляції дермальних фіброblastів, проте головна увага цього огляду – характеристика субпопуляцій фіброblastів, що демонструють стійкі та чітко виражені розходження гістофізіологічних властивостей.

Папілярні і ретикулярні дермальні фіброblastи

Товщина папілярного шару дерми коливається у межах 300-400 мкм. Ця величина не постійна і залежить від таких факторів, як вік і анатомічне місце розташування. Як правило, поверхнева частина папілярного шару утворює структуру, подібні до гірського хребта – сосочки дерми, що містять мікросудинні і нервові компоненти, що підстиляють епідерміс. Дермальні сосочки значно збільшують площу поверхні для епітеліально-мезенхімних взаємодій і доставки розчинних молекул до епідерміса. Судинне сплетення, rete subpapillare, визначає нижню межу папілярного шару. Ретикулярний шар дерми простирається від цього поверхневого судинного сплетення до більш глибокого судинного сплетення, rete cutaneum, що слугує межею між дермою і гіподермою. Волоссяні фолікули й асоційовані з ними клітини розташовуються в сітчастому шарі, закінчуючись у гіподермі, збагаченій адипоцитами.

Механічний поділ шкіри на папілярний і ретикулярний шари дозволяє створювати культури експлантованих клітин кожного шару. Папілярні фіброblastи діляться більш швидкими темпами, ніж поруч розташовані ретикулярні фіброblastи. Ретикулярні дермальні фіброblastи, що розсіяні в сіті колагену I-го типу, скорочують їх швидше, ніж це роблять папілярні дермальні фіброblastи. Папілярні клітини при розростанні в культурі з утворенням моношару досягають більш високої щільності, частково внаслідок обмеженої контактної інгібіції [7, 8].

Відмінності позаклітинного матрикса

Папілярні і ретикулярні шари дерми відрізняються за складом і за організацією екстрацелюлярного матрикса. Папілярний шар характеризується тонкими, слабо організованими пучками колагенових волокон, що складаються, насамперед, з колагенів I і III типу, що контрастує з товстими, чітко організованими пучками волокон у ретикулярній дермі. Колагенові пучки волокон у папілярному шарі дерми містять більше колагену типу III, ніж такі в ретикулярному шарі дерми. Інші молекули матрикса також по-різному розподілені між папілярним і ретикулярним шарами дерми. Імуногістохімічні дослідження нормальної зрілої шкіри висвітлили структурні і композиційні розходження у вмісті протеогліканів. Протеоглікан декорин інтенсивно експресується в папілярному шарі, але інакше розподілений між пучками колагенових волокон у ретикулярній стромі. На противагу йому, версикан зв'язується з мікрофібрилами папілярного шару, але більш екстенсивно

виражений у складі еластичних волокон ретикулярного шару. Нефібрилярний колаген XII і XVI типів, поряд з тенасцином С, характерний для папілярної дерми; в той же час колаген IV типу і тенасцин Х переважно обмежені ретикулярною дермою [8, 9].

В експериментальних дослідженнях проведений аналіз питання, чи виробляють культури папілярних і ретикулярних фіброblastів різні кількості і типи позаклітинних матриксних молекул, що могло б пояснювати виявлені розходження у шкірі. Зокрема, у досліджах з культурами моношару E.Schonherr та співавтори [9] знайшли, що папілярні дермальні фіброblastи секретують значно більшу кількість декорина, ніж відповідні ретикулярні клітини; крім того з'ясувалося, що папілярні фіброblastи містять більшу кількість мРНК декорина. На противагу цьому, обидві клітинні субпопуляції продукують рівні кількості біглікана. За результатами іншого дослідження, розташовані поруч папілярні і ретикулярні фіброblastи відрізняються за відносними рівнями протеогліканів декорина і версикана, що вони синтезують [7].

Фіброblastи, що походять з верхніх, середніх і більш глибоких третин дерми, продукують різні кількості мРНК для α -1 колагена XVI nbge [9]. Навпроти, S.Tajima і S.Pinnell [10] визначили кількість колагена I і III типів у моношарових культурах, щоб з'ясувати, чи можна за відмінностями у синтетичній здатності пояснювати відповідні розходження, які спостерігаються *in vivo*. Вони не знайшли ніяких відмінностей у синтезі колагена I і III типів цими двома популяціями культуральних клітин, хоча вони відзначили підвищену кількість проколагена типу I у культуральному середовищі папілярних фіброblastів. Таким чином, культури папілярних і ретикулярних фіброblastів демонструють стійкі розходження у продукції деяких, але не усіх, молекул позаклітинного матрикса.

Формування базальної мембрани

Епідерміс шкіри щільно зрощений з підлеглою дермою за допомогою складної мультимолекулярної структури – базальної мембрани. Організація базальної мембрани як морфологічно сформованої структури забезпечується спільними зусиллями кератиноцитів і фіброblastів [11]. M.Marinkovich [12] вивчив клітинне походження різних молекул базальної мембрани, досліджуючи еквіваленти шкіри, які містять кератиноцити бика і дермальні фіброblastи людини, з певним різновидом антитіл. Колаген IV і VII типів, а також ламінін-1, синтезовані фіброblastами, виявилися в лінійній залежності від дермально-епідермальних контактів. Кератиноцити також виробляють і організовують колаген IV і VII типів, багато типів ламінінів і перлекан. В інших дослідженнях було доведено, що фіброblastи є основним джерелом ентактину [11-12].

Слід зауважити, що спільне культивування фібробластів і кератиноцитів змінює активність обох типів клітин. Кератиноцити індукують експресію трансформуючого фактора росту (TGF- β 2) дермальними фібробластами. Фібробласти регулюють продукцію ламінінів і колагенів VII типу кератиноцитами, можливо опосередковано через TGF- β 2 [13]. Кінетика формування базальної мембрани також була вивчена в органотипічних спільно культивованих моделях, у яких фібробласти або були включені, або відсутні. Певні компоненти базальної мембрани поступово з'являлися в дермально-епідермальних контактах, проте кінетика даного процесу змінювалась у залежності від наявності або відсутності фібробластів. Зокрема, продукція колагена IV типу, ламініна-1 і колагена VII типу кератиноцитами, культивованими без фібробластів, було значно загальмоване або було відсутнє. На стороні дерми встановлені рівні мРНК колагена IV типу у фібробластах були значно збільшені в присутності кератиноцитів. Отже, це дослідження свідчить про те, що елементи синтезу базальної мембрани спільно регулюються фібробластами і кератиноцитами [13].

Не всі дермальні фібробласти взаємодіють з кератиноцитами в однаковому ступені при формуванні базальної мембрани. Було доведено, що міофібробласти, отримані з ділянок рани, не підтримують диференціювання кератиноцитів і формування базальної мембрани, також як і нормальних дермальних фібробластів. Була порівняна здатність поруч розташованих папілярних і ретикулярних дермальних фібробластів підтримувати утворення базальної мембрани. Папілярні дермальні фібробласти стимулювали утворення базальної мембрани швидше в присутності ретикулярних фібробластів. Тому автори припускають, що фібробласти, які межують з епідермісом, можуть або продукувати більшу кількість позаклітинних матричних компонентів базальної мембрани, або виробляти розчинні фактори, що впливають на кератиноцити, для відновлення базальної мембрани [7].

Міжклітинні зв'язки й інтерфолікулярні дермальні фібробласти

Фібробласти беруть участь у паракринних і аутокринних взаємодіях у шкірі. Була створена культуральна система, у якій охарактеризовані мезенхімні клітини, що підтримують ріст зрілих кератиноцитів людини [3]. Це дозволило провести ідентифікацію мезенхімних факторів, що регулюють проліферацію кератиноцитів, включаючи фактор росту кератиноцитів (KGF-1). Це – представник сімейства фактора росту фібробластів, що синтезується винятково мезенхімними клітинами. З іншого боку, рецептор до KGF-1 експресують, а отже і реагують на KGF-1, лише епітеліальні клітини. Фібробласти також виробляють інші фактори, що регулюють проліферацію культуральних кератиноцитів і загоєння ран.

Вони включають гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (GM-CSF), фактор росту фібробластів 10 типу (також відомий як KGF-2), паратирод-гормон зв'язуючий білок, фактор росту гепатоцитів або фактор, що розсіює (HGF/SF), епідермальний фактор росту (EGF) та, нарешті, інтерлейкін 6 (IL-6) [3, 14, 15].

Фібробласти виробляють фактори росту (цитокіни), що відіграють істотну роль у загоєнні ран, модулюючи активність кератиноцитів. Виявилось, що спільне культивування фібробластів і кератиноцитів призводить до підвищення рівнів мРНК KGF-1, IL-6 і GM-CSF. Рівень мРНК KGF-1 і кількість білка, продукovanого культованими фібробластами в середовище культури, позитивно регулювалися обробкою цих клітин IL-1. KGF-1 у свою чергу збільшував продукцію IL-1 кератиноцитами. Таким чином, в ситуаціях, де співіснують дермальні фібробласти і кератиноцити, встановлюється своєрідна паракринна петля [16].

Розчинні фактори, що синтезуються фібробластами, не мають індуктивних властивостей відносно інтерфолікулярних кератиноцитів. Проте, ці фактори можуть модулювати певні аспекти формування епідермальних структур. Надмірна експресія KGF-1 веде до гіперпроліферації епідерміса, що може бути результатом посиленої проліферації базальних кератиноцитів і пригнічення термінального диференціювання [17]. У великих кількостях KGF-1 може також обумовлювати згладжування базальної поверхні епідерміса. На противагу цьому, надмірна експресія GM-CSF призводить до підвищення рівня апоптоза культивованих кератиноцитів, а суперекспресія KGF-2 може прискорювати диференціювання кератиноцитів [18]. Ці спостереження дозволили сформулювати гіпотезу, що епідермальна відповідь на молекули, синтезовані фібробластами, залежить від співвідношення цих факторів. Було запропоновано, що співвідношення між KGF-1 і GM-CSF, що потрапляють до епідермальних клітин, визначає статус цієї епітеліальної тканини. Поряд розташовані папілярні і ретикулярні дермальні фібробласти значно відрізняються за продукцією KGF-1 і GM-CSF у середовище культури: як правило, відношення GM-CSF до KGF-1 вище у папілярних фібробластів, ніж у відповідних ретикулярних клітин. Таким чином, ці дві субпопуляції клітин виявляють тонкі розходження в проліферації та диференціюванні епідерміса [17, 18].

Дермальні фібробласти, зв'язані з волосяними фолікулами

Волосяні фолікули – похідні шкіри, сформовані переважно клітинами епідермального походження, проте мезенхімні клітини дерми відіграють життєву роль у їхньому формуванні в ембріональній шкірі і не менш істотну роль у регулюванні їхнього циклічного росту і стадій регресу у

зрілій шкірі [19]. В ембріональному періоді взаємні індуктивні події між відокремленими дермальними й епідермальними клітинами відбуваються за чітким просторово-часовим характером. Вважається, що спочатку гіпотетичний сигнал, що виходить від дерми, стимулює формування стовщених епідермальних плакод [20, 21]. Диференційовані епідермальні клітини забезпечують другий сигнал, що стимулює обмежені мезенхімні клітини до ущільнення і формування певної групи клітин безпосередньо під епідермальними плакодами. Ці клітини стимулюють проліферацію епідермальних клітин у плакодах, що веде до появи волосяних фолікулів глибоко в дермальному матриксі [21]. Водночас з цим стиснуті мезенхімні клітини синтезують протеази, що очищають шлях для їхнього вrostання усередину фолікулів. Як тільки подовження завершується, кератиноцити в області матриксу (в основі фолікула) огортають клітини дермальних сосочків і залишають вузький отвір, через який проходять судини і нерви [22]. Коненсовані мезенхімні клітини також призводять до збільшення другої популяції дермальних клітин протягом періоду, у якому фолікули активно втручаються до дермального матриксу. Ці дермальні клітини формують тканини тонкої сполучної піхви навколо фолікула [17-22].

Фібробласти в регенерації шкірної рани

Фібробласти відіграють критичну роль у регенерації шкірних ран. Ці клітини притягнуті до ділянок рани локальною продукцією факторів росту (цитокінів), таких як фактор росту тромбоцитів. Перша хвиля фібробластів проникає в ділянку рани по ходу судин, що врастають. Ці клітини диференціюються в спеціалізований, але функціонально динамічний і тимчасовий тип клітин – так звані міофібробласти.

Міофібробласти у відповідь на фактори, що виробляються моноцитами (макрофагами), синтезують тимчасовий матрикс рани, який збагачений на ембріональний фібронектин і гіалуронову кислоту. Ці клітини також відіграють провідне значення для стягування рани. Міофібробласти зникають з ділянки рани, очевидно, за рахунок апоптозу, і згодом замінюються другою хвилею фібробластів, що ініціюють формування колагенового матриксу. Проте, ця їхня здатність призводить до формування рубцевих тканин [23]. Необхідно підкреслити, що ембріональна шкіра відновлюється без формування рубця [24]. Це обумовлено, головним чином, розходженнями фенотипів ембріональних і зрілих фібробластів. Низький рівень продукції цитокінів ембріональними клітинами, особливо TGF- β 1, ймовірно, є головною причиною відсутності формування рубцевих тканин. Аномальні за фенотипом фібробласти також, очевидно, роблять внесок у фіброзні порушення типу утворення келоїдних структур і склеродерми. На більш пізніх стадіях процесу істотну роль відігра-

ють сигнали типу TGF- β 1 і фактор росту сполучної тканини [23-25].

Дермальні еквіваленти як біологічні моделі

Використання тривимірних органотипових культур для вивчення тканиноспецифічного моделювання у даний час істотно розвивається. Еквіваленти шкіри і дерми були серед перших взірців таких органотипових культур. Ці культури забезпечують засіб для базових досліджень біології шкіри, тестування агентів для місцевого застосування, а також як шкірна трансплантація. Наприклад, старіння шкіри під впливом факторів навколишнього середовища (зокрема, хронічного ультрафіолетового опромінення) обумовлює потребу в додаткових косметологічних засобах, проте і викликає підвищений ризик виникнення онкологічних процесів у шкірі.

F. Bernerd і D. Asselineau [26] дослідили ефекти ультрафіолетової радіації на моделі штучного еквівалента шкіри і довели, що клітини „загару” утворювалися в епідермісі в результаті гострого опромінення майже в такий же спосіб, як це відбувається в натуральній шкірі. Крім того, негативна регуляція маркерів диференціювання кератиноцитів відбувалася в короткий термін часу після впливу ультрафіолета В-спектру. Ці ситуації були відновлені в еквівалентах шкіри, існування яких підтримувалося в культурі протягом тривалого періоду часу. В іншому дослідженні вони виявили, що опромінення А-спектром ультрафіолетової радіації викликає реакції, специфічні для дермального компартмента шкірного еквівалента. Фібробласти у поверхневих відділах дермального компонента шкірної моделі зазнавали апоптотичних змін і зникали з конструкції. Після цього відбувалася стимуляція проліферації фібробластів на дні моделі шкіри, а також їх міграція у поверхневі ділянки структури. Це супроводжувалося збільшенням синтезу матриксних металопротеїназ резидентними фібробластами, що, можливо, дозволило клітинам мігрувати в межах колагенового гелю [26].

M. Michel із співробітниками [27] досліджували штучні еквіваленти шкіри як потенційні інструменти для черезшкірного транспорту речовин. Вони знайшли, що поглинання хімічних агентів залежить від товщини епідерміса і особливо його рогового шару. Цей процес, відтворений при використанні мишей, не був цілком еквівалентний тому, що спостерігається у людини, але виявився цілком достатнім для використання як ефектної моделі для біологічних, фармакологічних і біохімічних дослідів. Увага дослідників до моделей шкіри, що містять інші типи клітин (типу імункомпетентних, судинних ендотеліальних та інших), могла б також скласти адекватне підґрунтя для розуміння загальнобіологічних, хронологічних і адаптаційно-репараційних процесів у шкірі [26-28].

Заклучні зауваження

Фібробласти представлені різноманітними популяціями клітин. Фенотипові розходження виявляються в різних напрямках: продукції й організації екстрацелюлярного матрикса, синтезі факторів росту (цитокінів), участі у запальних реакціях [8, 14, 21]. У межах локалізації різноманітність фібробластів визначається їх взаємовідношенням у контексті епідермальних структур: папілярні, ретикулярні й асоційовані з волосяними фолікулами фібробласти відрізняються один від одного. Інший тип різноманітності заснований на анатомічному місці розташування в межах тіла: інтерфолікулярні фібробласти скальпа, лица, тулуба, кінцівок і так далі, демонструють тонкі відмінності. Менше в даний час відомо про ці розходження між фібробластами в межах однієї локалізації. Н.У.Chang з співавторами [29] показали, що дермальні фібробласти людини, отримані з різних анатомічних ділянок, експресують різні гомеобох фактори транскрипції. Сімейство транскрипційних факторів AP-1 є важливим для регуляції тих молекул, які регулюють епітеліально-мезенхімальну взаємодію, клітинну проліферацію і продукцію екстрацелюлярного матрикса. Папілярні і ретикулярні дермальні фібробласти відрізняються за цими характеристиками, тому подальші дослідження, зв'язані з цим сімейством факторів, могли б допомогти у розумінні розходжень між субпопуляціями дермальних фібробластів [17, 29].

Розмаїтість фібробластів у шкірі піднімає низку питань, для відповіді на які необхідно провести додаткові серії експериментальних досліджень. Індуктивні впливи від епідерміса призводять до диференціювання фібробластів, асоційованих з волосяними фолікулами, однак фактори або події, що приводять до диференціювання папілярних і ретикулярних клітин, залишаються не-

відомими. Крім того, залишається вкрай обмеженим наше уявлення про фізіологічні характеристики, що відрізняють папілярні фібробласти від ретикулярних. Додаткова інформація в цьому напрямку розширить наше розуміння функції фібробластів у шкірі. У даний час обмежені відомості про значення гомеобох генів сімейства AP-1 і їхню регуляцію у визначенні гетерогенітету фібробластів. Зростаючої впевненості додають нові дослідження із застосуванням тривимірних еквівалентів шкіри для біологічних і клінічних цілей, що дозволить враховувати характеристики того або іншого різновиду фібробластів при їх диференційованій індукції або використанні в конкретних ситуаціях.

Отже, необхідно зауважити, що термін «дермальний фібробласт» є надмірним спрощенням. У дійсності, дермальні фібробласти – динамічна, різноманітна та поліфункціональна популяція клітин. Це означає, що ми повинні бути більш уважними, даючи визначення популяції дермальних фібробластів, що використовуються в експериментальних і клінічних дослідженнях, а також у викладанні базових дисциплін. Ми лише починаємо розуміти функцію цих клітин у визначенні структури й організації шкіри та її складних міжклітинних взаємодіях. У подальшому належить виконати багато експериментальної роботи для розуміння і більш повної оцінки різних субпопуляцій фібробластів у складі шкіри.

Перспективи подальших розробок передбачають обов'язкове врахування гетерогенітету клітин сполучної тканини шкіри під час оцінки впливу різних екзогенних і ендогенних факторів на її гістофізіологічний стан.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела References

1. Angel P, Szabowski A. Function of AP-1 target genes in mesenchymal-epithelial cross-talk in skin. *Biochem Pharmacol.* 2018;64:949-56.
2. Detmar M. Molecular regulation of angiogenesis in the skin. *J Invest Dermatol.* 1996;106:207-8.
3. Werner S, Smola H. Paracrine regulation of keratinocyte proliferation and differentiation. *Trends Cell Biol.* 2017;11:143-6.
4. Nestle FO, Nickoloff BJ. A fresh morphological and functional look at dermal dendritic cells. *J Cutan Pathol.* 1995;22:385-92.
5. Lugovic L, Lipozenovic J, Jakic-Razumovic J. Atopic dermatitis: immunophenotyping of inflammatory cells in skin lesions. *Int J Dermatol.* 2018;40:489-94.
6. Jahoda CAB, Reynolds AJ. Hair follicle dermal sheath cells: unsung participants in wound healing. *Lancet.* 2019;358:1445-8.
7. Sorrell JM, Baber MA, Caplan AI. Construction of a Bilayered dermal equivalent containing human papillary and reticular dermal fibroblasts: use of fluorescent vital dyes. *Tissue Eng.* 1996;2:39-49.
8. Sorrell JM, Carrino DA, Baber MA. A monoclonal antibody which recognizes a glycosaminoglycan epitope in both dermatan sulphate and chondroitin sulphate proteoglycans of human skin. *Histochem J.* 1999;31:549-58.
9. Akagi A, Tajima S, Ishibashi A. Expression of type XVI collagen in human skin fibroblasts: enhanced expression in fibrotic skin diseases. *J Invest Dermatol.* 1999;113:246-250.

10. Tajima S, Pinnell SR. Collagen synthesis by human skin fibroblasts in culture: studies of fibroblasts explanted from papillary and reticular dermis. *J Invest Dermatol.* 1981;77:410-2.
11. Moulin V, Auger FA, Garrel D, Germain L. Role of wound healing myofibroblasts on re-epithelialization of human skin. *Burns.* 2000;26:3-12.
12. Marinkovich MP, Keene DR, Rimbberg CS, Burgeson RE. Cellular origin of the dermal-epidermal basement membrane. *Dev Dyn.* 1993;197:255-67.
13. Monical PL, Kefalides NA. Coculture modulates laminin synthesis and mRNA levels in epidermal keratinocytes and dermal fibroblasts. *Exp Cell Res.* 1994;210:154-9.
14. Rubin JS, Bottaro DP, Chedid M. Keratinocyte growth factor. *Cell Biol Int.* 1995;19:399-411.
15. Bernerd F, Asselineau D. Successive alteration and recovery of epidermal differentiation and morphogenesis after specific UVB-damages in skin reconstructed in vitro. *Dev Biol.* 1997;183:123-38.
16. Szabowski A, Maas-Szabowski N, Andrecht S. c-Jun and JunB antagonistically control cytokine-regulated mesenchymal-epidermal interaction in skin. *Cell.* 2000;103:745-55.
17. Andreadis ST, Hamoen KE, Yarmush ML, Morgan JR. Keratinocyte growth factor induces hyperproliferation and delays differentiation in a skin equivalent model system. *FASEB J.* 2001;15:898-906.
18. Suzuki K, Yamanishi K, Mori O. Defective terminal differentiation and hypoplasia of the epidermis in mice lacking the Fgf10 gene. *FEBS Lett.* 2000;481:53-6.
19. Kulesa H, Turk G, Hogan BLM. Inhibition of Bmp signaling affects growth and differentiation in the anagen hair follicle. *EMBO J.* 2000;19:6664-74.
20. Botchkarev VA. Bone morphogenetic proteins and their antagonists in skin and hair follicle biology. *J Invest Dermatol.* 2003;120:35-47.
21. Botchkarev VA, Botchkareva NV, Roth W. Noggin is a mesenchymally derived stimulator of hair-follicle induction. *Nat Cell Biol.* 1999;1:158-64.
22. Millar SE. Molecular mechanisms regulating hair follicle development. *J Invest Dermatol.* 2002;118:216-25.
23. Gailit J, Clark RAF. Wound repair in the context of extracellular matrix. *Curr Opin Cell Biol.* 1994;6:717-25.
24. Adzick NS, Lorenz HP. Cells, matrix, growth factors, and the surgeon. The biology of scarless fetal wound repair. *Ann Surg.* 1994;220:10-8.
25. Agren MS, Steenfors HH, Dabelsteen S. Proliferation and mitogenic response to PDGF-BB of fibroblasts isolated from chronic venous leg ulcers is ulcer-age dependent. *J Invest Dermatol.* 1999;112:463-9.
26. Bernerd F, Asselineau D. UVA exposure of human skin reconstructed in vitro induces apoptosis of dermal fibroblasts: subsequent connective tissue repair and implications in photoaging. *Cell Death Differ.* 1998;5:792-802.
27. Michel M, Germain L, Auger FA. Anchored skin equivalent cultured in vitro: a new tool for percutaneous absorption studies. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 1993;29:834-7.
28. Ponc M. Skin constructs for replacement of skin tissues for in vitro testing. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002;54:19-30.
29. Chang HY, Chi JS, Dudoit S. Diversity, topographic differentiation, and positional memory in human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99:12877-82.

Масвський О.С., Твердохліб І.В. Сполучнотканинні клітини шкіри: гетерогенітет фібробластів і загальні властивості їх субпопуляцій.

РЕФЕРАТ. Проведення експериментальних і клінічних досліджень потребує інтеграції відомостей про морфологічні та функціональні особливості органів і тканинних структур. Одним з прикладів такої інтеграції є аналіз гістофізіології шкіри, зокрема дермальних фібробластів – обов'язкового клітинного компонента дерми. Вони не тільки синтезують і організують компоненти екстрацелюлярного матрикса дерми, але також взаємодіють один з одним і з іншими типами клітин, відіграючи визначальну роль у регуляції гістофізіології шкіри. Інші резидентні клітини включають епідермальні, судинні і нервові клітини. Крім того, шкіра містить різні клітини гематогенного походження. Вони містять у собі конститутивну популяцію дендритних клітин і більш динамічну популяцію лейкоцитів, до складу якої входять моноцити (макрофаги), нейтрофіли і лімфоцити. Дермальні фібробласти – динамічна і різноманітна популяція клітин, функції яких у шкірі залишаються невідомими в багатьох відношеннях. Нормальна зріла шкіра людини містить, принаймні, три різні субпопуляції фібробластів, що займають характерні локуси в дермі. Фібробласти кожного з цих локусів демонструють характерні відмінності при відокремленому культивуванні. У папілярних дермальних фібробластах, що розташовані в поверхневій дермі, і в ретикулярних фібробластах, що містяться в глибокій дермі, виявляються специфічні гістофізіологічні відмінності. Обидві ці субпопуляції фібробластів відрізняються від фібробластів, що асоційовані з волоссяними фолікулами. Фібробласти беруть участь у фібробласт-епідермальних взаємодіях під час розвитку волосся й в інтерфолікулярних ділянках шкіри. Вони також відіграють важливу роль у структурних перебудовах шкіри.

Ключові слова: шкіра, фібробласти, клітинні субпопуляції, гістофізіологічні властивості.

Загальні вимоги

Дана інформація складена на основі «Єдиних вимог до рукописів, що подаються в біомедичні журнали», з якими автори можуть ознайомитися детальніше на сайті <http://www.ICMJE.org>.

Журнал «Morphologia» публікує оглядові і проблемні статті, лекції, оригінальні статті, короткі повідомлення, рецензії та відгуки на публікації, посібники і монографії, матеріали з методології наукових досліджень, анонси, новини, повідомлення, презентації, а також матеріали з хроніки та історії в галузі морфології.

Редакція розглядає матеріали публікацій з дотриманням [авторських прав](#) і [етичних норм наукової публікації](#).

Редакція приймає матеріали, які надаються українською або англійською мовами.

При поданні рукопису автори повинні урахувати та розкрити потенційні конфлікти інтересів або чітко заявити про їх відсутність (більш детальну інформацію можна знайти в розділі «D. Конфлікт інтересів» [«Єдиних вимог до рукописів, що подаються в біомедичні журнали»](#)).

За наявності в рукописі інформації, що ідентифікує особу учасників дослідження, слід надати їх письмовий дозвіл на публікацію.

У рукописах має бути чітко позначена відповідність принципам біоетики, що викладені в [Декларації Хельсінкі](#) та Законі України [«Про захист тварин від жорстокого поводження»](#) (№ 1759-VI від 15.12.2009) або в аналогічних документах національного рівня інших держав.

Технічні вимоги до рукопису

Обсяг оглядової, проблемної статті або лекції повинен становити від 12 до 36 сторінок машинопису, оригінальної статті від 8 до 24 сторінок, включаючи ілюстративний матеріал, інших матеріалів за узгодженням з редакцією.

Текст друкується через 1,5 інтервали, розмір шрифту 14, гарнітура Times New Roman. Відступ абзацу 10 мм. Береги з усіх боків по 20 мм.

Стаття повинна бути виконана у форматі RTF або «документ Microsoft Word».

Структура рукопису:

- УДК
- Назва статті (без абревіатур)
- Автор(и): ініціали, прізвище
- ORCID ідентифікатори авторів
- E-mail відповідального автора
- Офіційна назва установи, місто (для кожного автора)
- Дані про зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами, фондами, інституціями, грантами (за їх наявності)
- Реферат українською та англійською мовами.
- Текст статті

Реферат до статті (правила оформлення)

Реферати українською та англійською мовами потрібно надавати обсягом від 1800 до 2200 знаків та структурувати за такими рубриками: назва статті, прізвища та ініціали авторів, їх місце роботи, актуальність (Background), мета

(Objective), методи (Methods), результати (Results), підсумок або висновки (Conclusion), ключові слова (Key words).

У зв'язку з обробкою метаданих кожної статті журналу наукометричними базами звертаємо увагу авторів на особливу важливість ретельного оформлення назв установ і прізвищ авторів, так як від цього залежить успішність їх ідентифікації та розрахунку наукометричних показників.

У тексті оригінальної статті варто додержуватись послідовності обов'язкових складових:

- Вступ
- Мета
- Матеріали та методи
- Результати та їх обговорення
- Підсумок (або висновки)
- Перспективи подальших розробок
- Літературні джерела (див. Додаток)

У тексті статті всі фізичні величини та одиниці слід наводити за SI, терміни згідно з анатомічною та гістологічною номенклатурами, назви хвороб за діючою Міжнародною класифікацією хвороб, лікарські препарати за Міжнародними непатентованими назвами (INN).

Всі скорочення при їх першому згадуванні повинні бути розшифровані. Використання скорочень у назві статті та рефераті не дозволяється.

Посилання на першоджерела в тексті статті треба здійснювати наведенням у квадратних дужках порядкового номера у списку літературних джерел. Можливе також посилання у вигляді: «...на думку І.І. Іванова та співавторів [8], R.T.

Smith з колегами [12]...». Посилання на кілька першоджерел у тексті статті розділяються таким чином: «...[2, 4, 6-8]».

Стаття може містити діаграми, графіки та таблиці, що побудовані внутрішніми засобами редактора MS Word. Для позначення приміток рекомендовано використовувати наступні елементи у відповідній послідовності: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡. Фотоілюстрації подаються в електронному варіанті окремими файлами у форматі JPEG або TIFF; роздільна здатність має складати не менше ніж 150 точок на дюйм. У тексті статті рисунки потрібно розташовувати після першого посилання на них, підписи до рисунків наводити мовою оригіналу статті й обов'язково англійською.

Рукопис повинен бути ретельно відредагований авторами. Всі статті підлягають процедурі рецензування.

Для первинної експертизи рукопис і відомості про авторів (установи, посади, наукові ступені та вчені звання авторів) потрібно надсилати за адресою: morphology@dmu.edu.ua.

У разі прийняття статті на цю ж адресу надсилається відсканована копія «Авторської згоди» з підписом відповідального автора.

Додаток

Літературні джерела (правила і приклади оформлення списку)

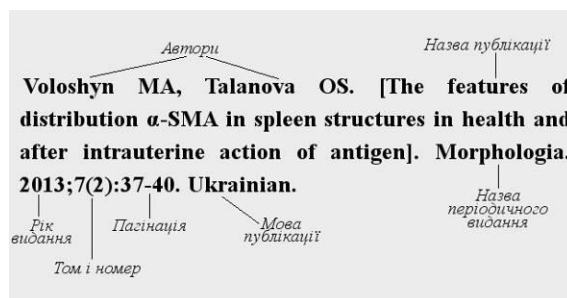
Всі літературні посилання, які наведені в роботі, обов'язково повинні бути представлені в списку першоджерел у порядку використання (посилань) у тексті. Скорочення назв журналів наводяться згідно зі стандартами Index Medicus (http://www.wsulibs.wsu.edu/general/journal_abbreviations.html). За достовірність даних, наведених у бібліографічному списку, відповідає автор.

Кожне використане бібліографічне джерело має бути позначене у тексті статті (у квадратних дужках). Посилання на неопубліковані роботи або матеріали на правах рукопису (дисертації, автореферати) не допускаються.

Кожне джерело у списку необхідно оформлювати у форматі міжнародного стандарту Vancouver reference style (NLM/PubMed). У разі наявності в мережі Інтернет електронної копії цитованого документа бажано в кінці бібліографічного посилання розміщувати URL адресу документа; за наявності слід також вказувати DOI або PMID статті. При оформленні посилань на періодичні видання, що мають кілька варіантів назви, слід віддавати перевагу англійській.

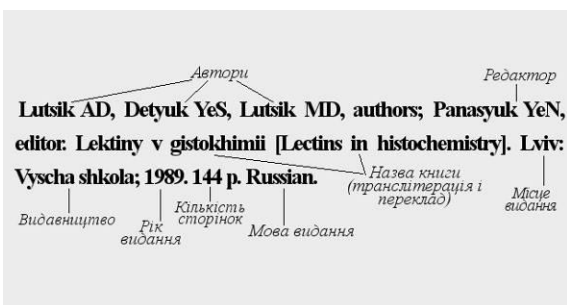
Коротка інструкція по оформленню типових літературних посилань відповідно до міжнародних вимог [Vancouver reference style \(NLM/PubMed\)](#).

Оформлення посилання на статтю, опубліковану в періодичному виданні:



Необхідно вказувати всіх авторів, відокремлювати їх один від одного комою і пробілом. Ініціали вказуються після прізвища, знаками пунктуації не розділяються. Повні імена авторів не наводяться. Після переліку авторів ставиться крапка і пробіл. Назва публікації наводиться англійською мовою у квадратних дужках. Після назви статті ставиться крапка і пробіл. Для статті англійською мовою назва вказується без квадратних дужок. Назва періодичного видання наводиться англійською мовою або транслітерацією назви символами латинського алфавіту. Допускається наводити зареєстроване скорочення назви періодичного видання. Після назви видання ставиться крапка і пробіл. Інформація про видання: рік видання відокремлюється крапкою з комою, потім наводиться номер тому, в круглих дужках вказується номер журналу, після двокрапки приводиться діапазон сторінок. Для статті, що опублікована не англійською мовою, в кінці сформованого посилання вказується мова оригіналу. Додаткова інформація про статтю номери DOI PubMed ID та ін.

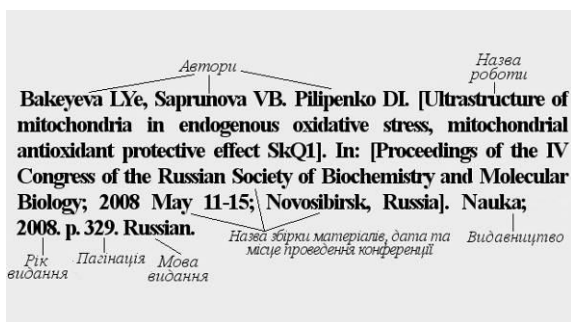
Оформлення посилання на книгу:



Необхідно вказувати всіх авторів, відокремлювати їх один від одного комою і пробілом. Ініціали вказуються після прізвища, знаками пунктуації не розділяються. Повні імена авторів не наводяться. Автори першого і другого порядків розділяються крапкою з комою і пробілом. Автори другого порядку редактори, перекладачі. Після переліку авторів ставиться крапка і пробіл. Назва книги: наводиться транслітерація назви

книги і/або переклад назви книги англійською мовою в квадратних дужках. Якщо книга видана англійською мовою, назва її в квадратні дужки не береться. Після назви книги ставиться крапка і пробіл. Номер видання (у форматі 1st, 2nd, 3rd, 4th тощо), додаткова інформація про видання: виправлене (rev.), доповнене (enl.), стереотипне (repr.) та інш. Зверніть увагу перше видання вказується тільки в тому випадку, якщо достовірно відомо про подальші перевидання і Ви цитуєте саме перше видання. Місце видання вказується місто, в круглих дужках за необхідності вказується країна. Після зазначення місця публікації ставиться двокрапка і пробіл. Видавництво наводиться транслітероване латиницею або його англійська назва. Після видавництва ставиться крапка з комою і пробіл. Рік видання, після вказівки його ставиться крапка і пробіл. Обсяг книги в сторінках (наприклад, 568 p.), після зазначення його ставиться крапка і пробіл. Для книги, що опублікована не англійською мовою, в кінці посилання вказується мова оригіналу.

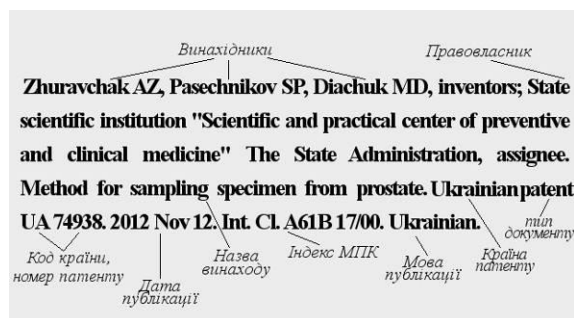
Оформлення посилання на матеріали конференції:



Необхідно вказувати всіх авторів, відокремлювати їх один від одного комою і пробілом. Ініціали вказуються після прізвища, знаками пунктуації не розділяються. Повні імена авторів не наводяться. Після переліку авторів ставиться крапка і пробіл. Назва публікації наводиться англійською мовою у квадратних дужках. Після назви статті ставиться крапка і пробіл. Для матеріалів англійською мовою назва вказується без квадратних дужок. Сполучна фраза «In:». Назва збірника матеріалів конференції, а також назва конференції наводяться англійською мовою у квадратних дужках. Для матеріалів, що видавались англійською мовою, дужки не ставляться.

Після назви ставиться крапка і пробіл. Слід зазначити максимально повні відомості про конференцію дати проведення, місце проведення та ін. Видавництво зазначається місто видання і назва видавництва транслітерацією латиницею або англійською назвою. Після зазначення видавництва ставиться крапка з комою і пробіл. Рік видання, після нього ставиться крапка і пробіл. Діапазон сторінок, після нього ставиться крапка і пробіл. Для матеріалів, що опубліковані не англійською мовою, в кінці сформованого посилання вказується мова оригіналу.

Оформлення посилання на патент:



Необхідно вказувати всіх авторів, відокремлювати їх один від одного комою і пробілом. Ініціали вказуються після прізвища, знаками пунктуації не розділяються. Повні імена авторів не наводяться. Після переліку авторів ставиться кома і зазначається *inventor* або *inventors*, ставиться крапка з комою і пробіл. Правовласник вказується ім'я (правила аналогічні таким для винахідників) або назва організації, потім після коми вказується *assignee*, потім ставиться крапка точка і пробіл. Наводиться назва винаходу, після нього ставиться крапка і пробіл. Вказується країна реєстрації, а також тип документа (патент), код країни і номер патенту. Всі елементи розділяються пробілами, наприкінці ставиться крапка і пробіл. Вказується дата публікації інформації про видачу патенту, потім крапка з пробілом. Індекс (індекси) Міжнародної патентної класифікації наводяться після *Int. Cl.*, Якщо їх більше одного розділяються крапкою з комою. Після зазначення всіх індексів ставиться крапка і пробіл. Для матеріалів, виданих не англійською мовою, в кінці сформованого посилання вказується мова оригіналу.

Адреса редакції: 49005, Україна, м. Дніпро, вул.Севастопольська, 19.
 Редакція журналу «Morphologia».
 Тел.: 0974584284.
 E-mail: morphology.ivt@gmail.com

AUTHOR GUIDELINES

General requirements

This information is based upon the "Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals" which authors can find online www.ICMJE.org.

Journal «Morphologia» publishes reviews and topical articles, lectures, original papers, case reports, review and comments on publications, manuals and monographs, materials in research methodology, announcements, news, reports, presentations, and materials on the history and chronicles in morphology.

Editorial office examines materials of publications in compliance with [copyright](#) and [ethical norms](#). Editorial Board accepts the materials written in English and Ukrainian languages.

When submitting a manuscript, authors should consider and disclose potential [conflicts of interest](#) or

clearly state their absence (more information can be found in section «D. Conflicts of Interest» of the "[Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals](#)").

In the case when submitted manuscript contains personally identifiable information of study participants authors should provide their written permission to publish such materials.

In the manuscripts should be clearly indicated compliance with the principles of bioethics set in the [Declaration of Helsinki](#) and in the Law of Ukraine "[About protection of animals from violent behavior](#)" (№ 1759 -VI 15 Dec 2009) or equivalent documents of the national level of other countries.

Technical requirements for the manuscripts

Size of Review, critical articles or lectures should be from 12 up to 36 typewritten pages, original articles from 8 up to 24 pages, including illustrations, other publications on consideration with the editorial office.

The text is printed with 1.5 line spacing, font size 14, Times New Roman. Paragraph indent 10 mm, all margins 20 mm.

Article must be done in RTF or «document Microsoft Word».

The structure of the manuscript:

- UDC
- Title of the article (no abbreviations)
- Author (s): initials, surname
- ORCID identifier of every author
- e-mail of the responsible author
- The official name of the institution (affiliation), the city
- Data about communication of publication with the planned research project, foundation source, institutions, grants (if available)
- Summary in English language
- Text of the article

Abstract of the article

(Design rules)

Extended abstract (from 1800 up to 2200 symbols) in English should be submitted with next mandatory elements: title of the article, Family name and first names of all authors, their affiliations, the actuality of research (Background), purpose (Objective), methods (Methods), results (Results), conclusions (Conclusion), keywords (Key words).

Because of the processing of the metadata of each article by scientometric databases authors

should pay especial attention to the particular importance of careful designation of names of institutions and authors, as it affects the success of their identification and calculation by scientometric indicators.

In the text of the original article authors should follow the sequence of mandatory components:

- o Background
- o Purpose
- o Materials and Methods
- o Results and discussion
- o The conclusion (or conclusions)
- o Prospects for further investigations
- o References (see Appendix)

In the text of the article all the physical units should be given in system SI, terms according to the anatomical and histological nomenclature, names of diseases according to the current International Classification of Diseases, drugs at the International Nonproprietary Name (INN).

All abbreviations at their first mention must be decrypted. Use of abbreviations in the title and abstract is not allowed.

A citation of the original documents in the text of the manuscript should be implemented in square parentheses indicating the sequence number in the list of references. Acceptable also to cite as: according to I.I.Ivanova et al. [8], RT Smith and colleagues [12]. Citations of several primary sources in the text should be separated as follows: [2, 4, 6-8]".

Article may contain diagrams, graphs and tables constructed by internal means of MS Word. To denote footnotes, it is recommended to use the elements in the following order: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡. Photoillustrations are submitted electronically as separate files in JPEG or TIFF with minimal resolution 150

dpi. The text of the article should include drawings after the first reference to them, figure captions need to be done in the original language and in English mandatory.

The manuscript should be carefully edited by the authors. All articles are subjected to peer [review procedure](#).

For primary expertise manuscript and information about the author (affiliation, position, scientific degrees and academic titles of authors) should be sent to e-mail at: morphology@dmu.edu.ua. In case of article acceptance a scanned copy of the "[Copyright Agreement](#)" with the signature of the responsible author is sent to editorial office.

Appendix

References (Rules and examples of the list)

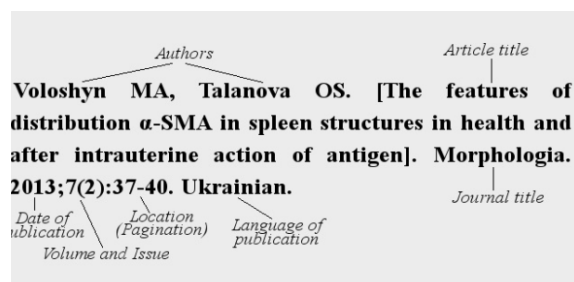
All references cited in the paper must be arranged in a list in order of their first mentioning in the text. Abbreviations of journal titles are provided in accordance with the standards of [Index Medicus](#). The author is responsible for the accuracy of the data provided in the bibliography.

Each used bibliographic source must be designated in the text (in square parentheses). References to unpublished work or materials as a manuscript (dissertations, reports) are not allowed.

Each source in the list should be composed an international standard format [Vancouver reference style \(NLM/PubMed\)](#). In case of presence of the electronic copy of the cited document in the Internet, it is desirable to place the URL of the document at the end of the reference, also indicate the DOI and PMID of the article if it is available. When citing periodicals, with more than one title, preference should be given to English one.

Quick start guide on the arrangement of standard references in accordance with international requirements of [Vancouver reference style](#).

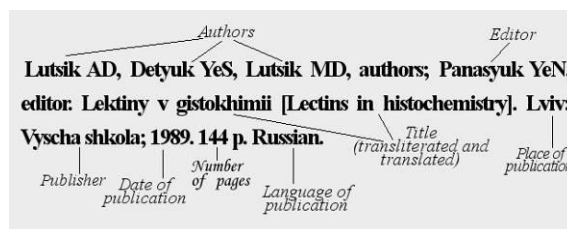
Reference to an article published in a periodical:



All authors should be indicated, separate them with a comma and a space. Initials are placed after the surnames, they are not separated by punctuation. Full names of the authors are not given. After the list of authors put a dot and a space. Article title written in English is given in square parentheses. After the title

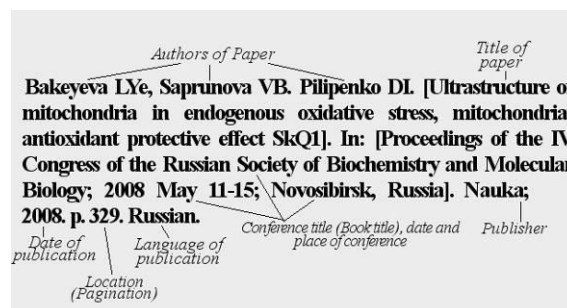
of the article put a dot and a space. For publications originally written in English title is not placed in square parentheses. Indicate journal title in English or by transliteration with symbols of the latin alphabet. It is possible to use the registered abbreviation of the periodical title. The title of the journal is preceded by a point and a space. Publication Information: year of publication separated by a semicolon, and then the volume number, the number of issue, placed in parentheses and after them put the colon and pagination. Additional information about the article DOI, PubMed ID, and so on could be added at the end.

Reference to a book:



All authors should be indicated, separate them with a comma and a space. Initials are placed after the surnames, they are not separated by punctuation. Full names of the authors are not given. The authors of the first and second range are separated by semicolon. The authors of the second range editors, translators. After the list of authors put a dot and a space. Book title: original name in English or transliteration/translation with the symbols of latin alphabet in square parentheses. After book title there is a dot and a space. Number of issue (in format 1st, 2nd, 3rd, 4th), additional information about issue reviewed (rev.), enlarged (enl.), representational (repr.) etc. The first edition is mentioned only in case of assured existence of more than one editions of this book. Place of publication specify the city and if it is important country in parentheses. After specifying the place of publication there is a colon and a space. Publisher indicated in Latin transliteration or in its English name. After publisher there is a semicolon and a space. Year of publication, after pointing it put a dot and a space.

Reference to a conference materials:

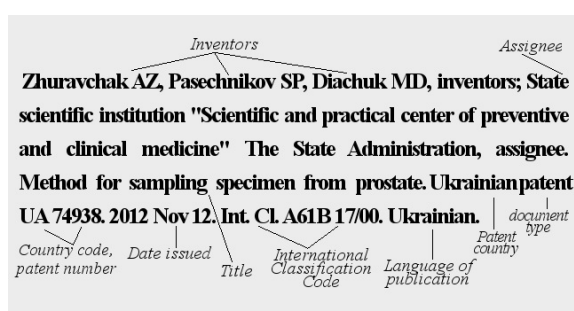


All authors should be indicated, separate them with a comma and a space. Initials are placed after the surnames, they are not separated by punctuation. Full names of the authors are not given. After the list of

authors put a dot and a space. Publication title written in English is given in square parentheses. For publications originally written in English title is not placed in square parentheses. After the title of the publication put a dot and a space. Connecting phrase «In:». Name of the conference written in English in square parentheses. For the conferences originally named in English the name is not placed in square parentheses. After the title, put a dot and a space. The most comprehensive data about the conference should be indicated dates, place and so on. Publisher the city of the publication and publisher name transliterated with Latin alphabet or English name. After specifying a publisher put a semicolon and a space. Year of publication with a dot and a space. For materials published not in English, at the end of the reference indicate the original language.

surnames, they are not separated by punctuation. Full names of the authors are not given. After list of authors (inventors) put the comma and word '*inventor*' or '*inventors*', then the semicolon and space. Assignee put the name of person (the same rules as for the inventor) or the name of organization, then put comma and the word '*assignee*', than dot and space. The title of the invention; put a dot and a space after it. Index(es) of the International Patent Classification given after Int. Cl., If more than one separated by a semicolon. After specifying all the indices put a dot and a space. For materials not published in English at the end of the reference indicates the original language.

Reference to a patent:



All authors should be indicated, separate them with a comma and a space. Initials are placed after the

Address of the editorial office: 49005, Ukraine, Dnipro, Sevastopolska str., 19.
 Editorial office of the journal «Morphologia».
 Tel.: +380974584284.
 E-mail: morphology.ivt@gmail.com



Handwritten text in a cursive script, likely Latin, located below the anatomical drawing. The text is arranged in several lines and appears to be a descriptive or explanatory passage related to the brain's anatomy. The script is dense and difficult to decipher without specialized knowledge of the language.