

Вищий державний навчальний заклад України
«Буковинський державний медичний університет»
Всеукраїнська громадська організація
«Асоціація неонатологів України»



ISSN 2226-1230 (Print)
ISSN 2413-4260 (Online)

Том VI, №3(21), 2016

НЕОНАТОЛОГІЯ, ХІРУРГІЯ ТА ПЕРИНАТАЛЬНА МЕДИЦИНА

Щоквартальний медичний науково-практичний журнал Видається з 2011 р. Свідоцтво про державну реєстрацію Серія КВ №18106-6906 від 2.09.2011 р.

Засновники: Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет»
Всеукраїнська громадська організація «Асоціація неонатологів України»

Рішенням Атестаційної колегії Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України №893 від 04.07.2013 р. видання внесено до Переліку наукових фахових видань України, рекомендованих для публікації результатів дисертаційних робіт.

Журнал включений у каталоги та наукометричні бази: «URAN», Google Scholar, WorldCat, eLIBRARY, Science library index (Meadow Springs, Mandurah State, Australia), Directory of Research Journals Indexing (DRJI)

НЕОНАТОЛОГІЯ, ХІРУРГІЯ И ПЕРИНАТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА медицинский научно-практический журнал NEONATOLOGY, SURGERY AND PERINATAL MEDICINE medical scientific journal

Key title: Neonatologîâ, hîrurgîâ ta perinatal'na medicina (Online)
Abbreviated key title: Neonatol. hîr. perinat. med. (Online)

ГОЛОВНІ РЕДАКТОРИ:

Знаменська Тетяна Костянтинівна – д.м.н., професор, заступник директора з перинатальної медицини ДУ "Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України", завідувач відділення неонатології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», Президент Всеукраїнської громадської організації «Асоціація неонатологів України», заслужений лікар України
Бойчук Тарас Миколайович – д.м.н., професор, ректор Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»

Заступники головного редактора:

Івашук О.І. – д.м.н., професор, проректор з наукової роботи та міжнародних відносин Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»
Годованець Ю.Д. – д.м.н., професор кафедри педіатрії, неонатології та перинатальної медицини Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»

Наукові консультанти:

Антипкін Ю.Г. – академік НАМН України, д.м.н., професор, директор ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України»
Резніков О.Г. – член-кореспондент НАН, академік НАМН України, д.м.н., професор, завідувач відділом ендокринології репродукції і адаптації ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»
Гречаніна О.Я. – член-кореспондент НАМН України, д.м.н., професор, директор Українського інституту клінічної генетики ВДНЗ «Харківський державний медичний університет МОЗ України»
Дронова В.Л. – д.м.н., перший заступник директора з науково-організаційної роботи ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України»
Шуцько Є.Є. – д.м.н., професор, завідувач кафедри неонатології НМАПО ім. П.Л. Шупика, головний позаштатний неонатолог МОЗ України
Горбатюк О.М. – д.м.н., професор кафедри дитячої хірургії НМАПО ім. П.Л. Шупика
Задорожна Т.Д. – д.м.н., професор, завідувач лабораторії патоморфології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України»

Наукові редактори розділів журналу:

неонатологія – **Клименко Т.М.**, д.м.н., професор
неонатальна хірургія – **Лосев О.О.**, д.м.н., професор
акушерство та гінекологія – **Юзько О.М.**, д.м.н., професор
пренатальна діагностика – **Лук'янова І.С.**, д.м.н., професор
педіатрія – **Нечитайло Ю.М.**, д.м.н., професор
медична генетика – **Горovenko Н.Г.**, член-кореспондент НАМН України, д.м.н., професор
клінічна фармакологія, патофізіологія – **Ципкун А.Г.**, д.м.н., професор
патоморфологія – **Давиденко І.С.**, д.м.н., професор
етика, деонтологія, перинатальна психологія – **Чебан В.І.**, д.м.н., професор

ЗМІСТ

РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЙНИХ
ТА НАУКОВО – ДОСЛІДНИХ РОБІТ

НЕОНАТОЛОГІЯ

<i>А. Куртяну</i> РЕЗУЛЬТАТИ РОЗВИТОКУ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ У НЕДОНОШЕНИХ ДІТЕЙ З ВІШК І ПЕРИВЕНТРИКУЛЯРНА ЛЕЙКОМАЛЯЦІЯ.....	5
<i>А.О. Меньшикова, Д.О. Добрянський</i> ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ РЕСПІРАТОРНОГО ДИСТРЕС-СИНДРОМУ У НЕДОНОШЕНИХ НОВОНАРОДЖЕНИХ ЗАЛЕЖНО ВІД ВИДУ ДИХАЛЬНОЇ ПІДТРИМКИ.....	13
<i>П.С. Русак, С.П. Лапоног, Ю.Р. Вайсберг, І.А. Сергейко, Л.І. Моренець, В.Г. Рижук, Н.П. Русак</i> ВИЗНАЧЕННЯ МАРКЕРІВ РОЗВИТКУ НЕКРОТИЗУЮЧОГО ЕНТЕРОКОЛІТУ В УМОВАХ ОБЛАСНОГО ПЕРИНАТАЛЬНОГО ЦЕНТРУ.....	19
<i>О.С.Яблонь, О. В.Мазулов</i> ВМІСТ СУРФАКТАНТНОГО ПРОТЕЇНУ В У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЯК МАРКЕР УРАЖЕННЯ ДИХАЛЬНОЇ СИСТЕМИ У НЕДОНОШЕНИХ ДІТЕЙ.....	25
<i>Ю.Д. Годованець, О.С. Годованець, О.В. Курик, Т.А. Дроник</i> РЕЗУЛЬТАТИ ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ГЕПАТОБІЛІАРНОЇ СИСТЕМИ У НОВОНАРОДЖЕНИХ, ЯКІ ЗАГІНУЛИ ВНАСЛІДОК ПЕРИНАТАЛЬНИХ ПРИЧИН.....	30
<i>М.О. Гончарь, Т.О.Тесленко, І.Ю.Кондратова, А.Д.Бойченко</i> СТАН ЦЕНТРАЛЬНОЇ ГЕМОДИНАМІКИ У НОВОНАРОДЖЕНИХ ІЗ СУДОМНИМ СИНДРОМОМ.....	37

ПЕДІАТРІЯ

<i>І.М. Ячник</i> ДІАГНОСТИЧНА ЦІННІСТЬ ІL-2, ІL-6, ІL-8, TNFA ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ СЕПСИСА ТА ЙОГО УСКЛАДНЕНЬ У ДІТЕЙ	41
--	----

НЕОНАТАЛЬНА ХІРУРГІЯ ТА АНЕСТЕЗІОЛОГІЯ

<i>О.М. Горбатюк</i> СИНДРОМ КОРОТКОЇ КИШКИ У НЕМОВЛЯТ: СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА ПРОБЛЕМУ ЗА ДАНИМИ ЛІТЕРАТУРНОГО ОГЛЯДУ І ВЛАСНОГО ДОСВІДУ.....	48
<i>К.Т. Берцун</i> ОПТИМІЗАЦІЯ ШТУЧНОЇ ВЕНТИЛЯЦІЇ ЛЕГЕНЬ У НОВОНАРОДЖЕНИХ З СИНДРОМОМ ІНТРААБДОМІНАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ З УРАХУВАННЯМ МЕХАНІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЛЕГЕНЬ.....	56

ПЕРИНАТАЛЬНА МЕДИЦИНА

<i>І.Р. Ніцович, А.В. Семеняк</i> ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ТА ЛІКУВАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО ВАГІНОЗУ У ВАГІТНИХ.....	61
<i>О.А. Ночвіна</i> КОРЕКЦІЯ ПСИХОНЕВРОЛОГІЧНИХ СТАНІВ У ЖІНОК З СИНДРОМОМ ХРОНІЧНОГО ТАЗОВОГО БОЛЮ.....	65

АНАЛІТИЧНІ ОГЛЯДИ

<i>С.В. Білецька., Ю.Б. Гречаніна, О.Я. Гречаніна</i> РОЛЬ ДЕФІЦИТУ ВІТАМІНУ D В ЕТІОПАТОГЕНЕЗІ РОЗЛАДІВ АУТИСТИЧНОГО СПЕКТРУ.....	72
---	----

CONTENTS

RESULTS THESIS
AND SCIENTIFIC - RESEARCH

NEONATOLOGY

<i>A. Curteanu</i> NEURODEVELOPMENTAL OUTCOMES IN PRETERM INFANTS WITH INTRAVENTRICULAR HEMORRHAGE AND PERIVENTRICULAR LEUKOMALACIA.....	5
<i>A.O. Menshykova, D.O. Dobryanskyy</i> THE COURSE OF RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME IN PRETERM INFANTS DEPENDING ON THE TYPE OF RESPIRATORY SUPPORT.....	13
<i>P.Rysak, S.Laponog, Y.Vaysberg, I.Sergeyko, L.Morenec, V.Rizhyk, N.Rysak</i> NECROTIZING ENTEROCOLITIS IN NEWBORN. DEFINITION OF "MARKERS" FOR THE DEVELOPMENT NECROTIZING ENTEROCOLITIS IN NEWBORNS OF REGIONAL PERINATAL CENTER.....	19
<i>O.Yablon, O.Mazulov</i> SURFACTANT PROTEIN B LEVEL IN SERUM OF PRETERM NEONATES AS MARKER OF DAMAGE OF RESPIRATORY TRACT.....	25
<i>Y.D. Godovanets., O.S. Godovanets., O.V. Kouric, T.A. Dronyk</i> THE RESULTS OF PATHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF THE HEPATOBILIARY SYSTEM IN NEWBORNS WHO DIED IN PERINATAL CAUSES.....	30
<i>M.Gonchar, T.Teslenko, I.Kondratova, A.Boychenko</i> CONDITION OF CENTRAL HEMODYNAMICS IN NEWBORNS WITH CONVULSIONS.....	37

PEDIATRICS

<i>I.M. Yachnyk</i> THE DIAGNOSTIC VALUE OF THE ІL-2, ІL-6, ІL-8, TNFA FOR DIAGNOSIS OF SEPSIS AND ITS COMPLICATIONS IN CHILDREN.....	41
--	----

NEONATAL SURGERY AND ANESTHESIOLOGY

<i>O.M.Gorbatyuk</i> SHORT BOWEL SYNDROME IN INFANTS: MODERN VIEWS ON PROBLEM ACCORDING TO LITERATURE AND OWN EXPERIENCE.....	48
<i>K.T Bertsun</i> OPTIMIZATION MECHANICAL VENTILATION BY STUDYING THE MECHANICAL PROPERTIES OF THE LUNGS IN NEWBORNS WITH THE SYNDROME OF INTRA-ABDOMINAL HYPERTENSION.....	56

PERINATAL MEDICINE

<i>I.R. Nitsovych, A.V. Semenyak</i> FEATURES AND TREATMENT OF BACTERIAL VAGINOSIS IN WOMEN.....	61
<i>O.A. Nochvina</i> CORRECTION OF NEUROPSYCHIATRIC STATES IN WOMEN WITH CHRONIC PELVIC PAIN SYNDROME.....	65

ANALYTICAL REVIEWS

<i>S.V. Beletskaia., Y.B Grechanina, O.J. Grechanina</i> THE ROLE OF VITAMIN D DEFICIENCY IN THE ETIOPATHOGENESIS OF AUTISM SPECTRUM DISORDERS.....	72
--	----

УДК: 616.36-053.31-06-076

Ю.Д. Годованець, О.С. Годованець,
О.В. Курик, Т.А. Дроник

Вищий державний навчальний заклад України
«Буковинський державний медичний університет»
(м. Чернівці, Україна)

РЕЗУЛЬТАТИ ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ГЕПАТОБІЛІАРНОЇ СИСТЕМИ У НОВОНА- РОДЖЕНИХ, ЯКІ ЗАГИНУЛИ ВНАСЛІДОК ПЕРИНАТАЛЬНИХ ПРИЧИН

Резюме. Клітинна смерть є необхідним і важливим елементом формування і функціонування багатоклітинних організмів, оскільки разом з процесами проліферації і диференціювання є найбільш важливим станом життєдіяльності клітин. Реалізація факторів перинатального ризику за умов гіпоксії є основою формування тяжких форм перинатальної патології у новонароджених дітей.

Представлені результати патоморфологічних досліджень імуногістохімічних досліджень печінки новонароджених, які померли внаслідок перинатальних причин, у тому числі, дані імуногістохімічних досліджень. Обговорюються патогенетичні основи формування апоптозу гепатоцитів. Вивчення основ формування апоптозу печінки в новонароджених дітей є суттєвим доповненням до розуміння тяжкості перебігу нозологічної патології в ранньому неонатальному періоді.

Ключові слова: новонароджені діти, печінка, апоптоз.

Вступ

Клітинна смерть є необхідним і важливим елементом формування і функціонування багатоклітинних організмів, оскільки разом з процесами проліферації і диференціювання є найбільш важливим станом життєдіяльності клітин [1,2,3]. Реалізація факторів перинатального ризику за умов гіпоксії є основою формування тяжких форм перинатальної патології у новонароджених дітей. Одним з найважливіших механізмів ураження тканини печінки при гіпоксії є пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) та білків. Накопичено значний науковий матеріал щодо співвідношень оксидативного стресу (ОС), програмованої загибелі клітин і фіброгенезу [2,4]. За умов патологічного пологового ОС в організмі новонародженого виникає дисбаланс прооксидантної (ПОС) та антиоксидантної систем (АОС). Підвищена активація окисно-відновних реакцій викликає генерацію активних форм кисню (АФК), які мають високу реакційну здатність, запускають процеси окисної модифікації білків (ОМБ), ліпідів, нуклеїнових кислот та вуглеводів [7]. Багаточисельні біологічні субстанції, що мають ендокринний та/або аутокринний вплив, є певними окремими ланками патогенезу процесів регенерації або апоптозу клітин печінки [3,6,7].

Мета дослідження

Вивчення деяких ланок патогенезу формування апоптозу печінки в новонароджених, які загинули внаслідок перинатальних причин, на основі результатів морфологічних, зокрема імуногістохімічних методів дослідження.

Матеріал і методи

Проведено вивчення імуногістохімічних особливостей печінки 20 новонароджених, які померли внаслідок перинатальних причин. У зв'язку з необхідністю збереження для імуногістохімічних досліджень цілісності антигенів у структурах печінки виконували ранні розтини померлих дітей – через 2 години після встановлення факту біологічної смерті. Свіжий матеріал (шматочки печінки, обережно вирізані новим лезом для гоління)

фіксували впродовж 22 годин у нейтральному забуференому 10% водному розчині формаліну, після чого здійснювали зневоднювання у висхідній батареї етанолу і заливку в парафін. Парафінові зрізи завтовшки 5 мкм монтували на спеціальні неімуногенні предметні скельця SuperFrost®Plus (Germany). Після депарафінізації зрізів та проведення послідовних етапів біотинового і пероксидазного блоку (для нейтралізації ендogenous біотину та пероксидази) здійснювали імуногістохімічне визначення антигенів Bcl-2, Вах та PCNA за допомогою первинних моноклональних антитіл до цих протеїнів та стрептавідин-біотинової системи візуалізації LSAB2 (пероксидазна мітка + діамінобензидин) виробника DakoCytomation (Denmark). Максимально дотримувалися стандартизації протоколів кожної методики для всіх зрізів. Виконували позитивні та негативні контролю. Дофарбування ядер здійснювали за допомогою гематоксиліну Майєра, причому при визначенні PCNA використовували адаптовану зменшену експозицію для кращої візуалізації позитивної PCNA-реакції в клітинних ядрах у вигляді коричневого забарвлення. Підраховували процент PCNA-позитивних ядер гепатоцитів. Кількісні дослідження інтенсивності зафарбовування ядер або цитоплазми проводили наступним чином. Спочатку отримували цифрові копії (формат цифрової інформації – «Tagged Image File Format») оптичного зображення печінкової тканини при використанні об'єктива мікроскопа x40. Цифрові копії зображення аналізували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми «ВидеоТест – Розмер 5,0» (ООО «Видеотест», м. Санкт-Петербург, Росія). Аналіз здійснювався на підставі зондових замірів (площа круглого зонда – 4 мкм²) інтенсивності забарвлення з отриманням величин показника «середня оптична щільність» (у відносних одиницях). Окрім імуногістохімічних реакцій, з оглядовою метою виконували забарвлення гістологічних зрізів гематоксиліном і еозином. З метою приблизної оцінки інтенсивності процесів апоптозу підраховували на площі 22100 мкм² кількість структур, ідентифікованих як апоптозні тільця та ядер з маргінацією хрома-

тину печінкової тканини.

Статистична обробка отриманих результатів проведена з використанням пакету прикладних програм «STATGRAPHICS» (2001).

Результати досліджень та їх обговорення

У ході наукової роботи проведено аналіз 20 історій розвитку доношених новонароджених дітей, які загинули внаслідок перинатальних причин, з яких 9 осіб – чоловічої статі (45,0%) та 11 осіб – жіночої статі (55,0%). Середні показники маси тіла дітей склали $3026,5 \pm 85,36$ г, довжини тіла – $51,9 \pm 0,44$ см, обводу голови – $33,6 \pm 0,38$ см, обводу огруддя – $31,8 \pm 0,46$ см. Десять осіб з цієї групи новонароджених мали ознаки морфо-функціональної незрілості ($50,0 \pm 11,18\%$).

Вивчення особливостей соматичного анамнезу, перебігу вагітності та пологів у матерів показало, що в переліку соматичних захворювань переважали такі нозологічні форми, як дифузний зоб – 4 випадки (20,0%), хронічний пієлонефрит – 4 випадки (20,0%), хронічний холецистит – 2 випадки (25,0%); «інша» патологія в поодиноких випадках була представлена нейро-циркуляторною дистонією, варикозним розширенням вен нижніх кінцівок та нейродермітом. 25,0% жінок мали в анамнезі гострі респіраторно-вірусні захворювання. Серед гінекологічних захворювань у 5 випадках був діагностований кольпіт (25,0%).

Серед особливостей перебігу гестаційного періоду в жінок відмічено анемію – 14 випадків (70,0%), плацентарну недостатність – 11 випадків (55,0%), загрозу переривання вагітності в різних термінах – 8 випадків (40,0%) та обтяжений акушерський анамнез – 4 випадки (20,0%); інша патологія складала 4 випадки (20,0%). Пологи переважно протікали фізіологічним шляхом, лише в 4 випадках була застосована за медичними показаннями операція кесарева розтину (20,0%). У 7 жінок були відмічені ускладнення під час пологів (35,07%), у тому числі, спостерігалось передчасне відшарування плаценти, ранній вилив навколоплідних вод, гостра гіпоксія плоду та синдром дисфункції посліду.

Оцінка клінічної адаптації у дітей за шкалою Апгар показала за середніми показниками на першій хвилині – $5,5 \pm 0,59$ балів, на п'ятій хвилині – відповідно $5,6 \pm 0,75$ балів. Тяжкість стану дітей після народження була зумовлена у 7 випадках – асфіксією тяжкого ступеня (35,0%); у 5 випадках – СДР (25,0%); у 3 випадках – аспіраційним синдромом (15,0%); у 5 випадках – постгіпоксичним ураженням ЦНС тяжкого ступеня (25,07%). Супутня патологія була представлена в 11 новонароджених гіпоксичним ураженням ЦНС (55,0%); у 10 дітей – вродженою пневмонією (50,0%); у 5 дітей – внутрішньочерепним крововиливом (25,1%). У 5 новонароджених був виставлений діагноз вродженої вади серця (?) (25,0%); 7 дітей народилися з ознаками переносності (35,0%); у 9 випадках у дітей була загроза реалізації внутрішньоутробного інфікування (45,0%). Клінічні прояви патології супроводжувалися значною неврологічною симптоматикою, респіраторними розладами, порушеннями мікроциркуляції та гемостазу. Додаткові параклінічні методи дослідження вказували на наявність

значних метаболічних порушень, що характеризували зміни функціонального стану основних систем органів, які підтримують гомеостаз, у тому числі, гепатобіліарної системи (ГБС).

Серед ознак патології ГБС у переважній більшості випадків спостерігалися набряки (90,0%), парез кишечника (90,0%), жовтяниця (60,0%) та геморагічний синдром (55,0%). Характерним для дітей цієї групи було збільшення розмірів печінки, при цьому нижній край печінки виступав з-під краю реберної дуги в середньому на $3,8 \pm 0,23$ см. У 6 новонароджених (30,0%) було виявлено гепатолієнальний синдром. Загибель новонароджених була констатована на першому тижні життя.

За результатами патоморфологічних досліджень новонароджених, які загинули внаслідок перинатальних причин, були виявлені певні макро- та мікроскопічні зміни печінки. Так, за даними досліджень, у всіх дітей було відмічено збільшення лінійних розмірів печінки, блискучість та темно-коричневий або темно-червоний колір поверхні розрізу (35,0%); щільна консистенція (15,0%). Жовчний міхур був не змінений, грушоподібної форми, вмщував оливкового кольору жовч (45,0%), слизова його була бархатистою; в усіх випадках відмічено вільну прохідність позапечінкових жовчних ходів.

При мікроскопічних дослідженнях з оглядовою метою виконували забарвлення гістологічних зрізів гематоксиліном і еозином. Відмічено характерне поєднання зернистої та гідропічної дистрофії гепатоцитів (90,0%), розширення та повнокров'я синусоїдів та центральних вен (80,0%), стаз крові (25,0%). У 30,0% випадків серед гепатоцитів спостерігалися вогнища екстрамедулярного кровотворення; у 20,0% випадків відмічалось нерівномірне розширення просторів Діссе та дисконплексація печінкових балок.

Важливу роль у підтримці органного гомеостазу відіграє апоптоз. За допомогою апоптозу з організму видаляються пошкоджені та чужорідні клітини. Йому відводиться важливе місце в ембріогенезі, коли проходить видалення клітин, які вже виконали свою функцію [7,8]. Таким чином, механізм апоптозу направлений на попередження можливості з'явлення патології в постембріональному розвитку органів та тканин. Однак, якщо процес апоптозу виходить з-під контролю, загибель клітин набуває непередбачуваного характеру [9]. Це, відповідно, спричинює порушення функціонування органів та систем. Важливість вивчення механізмів апоптозу пов'язана не тільки з науковими проблемами. Можливість впливу на перебіг апоптозу дозволить створити нові лікарські засоби, що надасть змогу оптимізувати результати лікування багатьох захворювань.

Морфологічно початкова стадія апоптозу характеризується агрегацією ядерного хроматину у вигляді великих часточок, розташованих біля внутрішньої поверхні ядерної мембрани. Контури ядра змінюються та набувають неправильної форми, після чого ядро поділяється на декілька фрагментів, які вмщують частинки хроматину. У цитоплазмі та органелах також відмічаються певні зміни; цитоплазма стає конденсованою. У подальшому проходить утворення апоптозних ті-

лець, кожне з яких обмежено мембраною. Деякі з них вміщують один або декілька фрагментів ядра, які оточені обводом конденсованої цитоплазми. На кінцевому етапі найчастіше апоптозні тільця фагоцитуються макрофагами або ж видаляються за допомогою інших механізмів.

До важливих ланок апоптозу відноситься активація деяких протеаз [10]. Найбільш дослідженими на сьогодні є каспази, які утворюють ферментний каскад. Перелік існуючих каспаз включає ефектори (ферменти, які безпосередньо гідролізують структурні білки) та індуктори – каспази, які приймають апоптотичний сигнал і передають його на ефекторні каспази. Мішенями каспаз - ефекторів є білки, деградація яких спричинює незворотні зміни в клітині. Дія каспаз специфічна, за їх впливом деградують тільки певні білки та до фрагментів певної довжини. Поява таких фрагментів білків є біохімічним маркером апоптозу [9,10]. Ключовою ланкою апоптозу є фрагментація ДНК, яка проходить у декілька етапів з утворенням спочатку великих, а потім маленьких складових. Здійснення різних типів деградації ДНК пов'язують з появою активності ендонуклеаз. На заключному етапі клітина втрачає свою цілісність та знешкоджується макрофагами. Морфологічні та біохімічні зміни в клітинах, підданих апоптозу, мають подібну характеристику, незважаючи на те, до якого органу вони відносяться [10].

Процеси передачі сигналів, які ініціюють апоптоз, до ефекторних механізмів, що призводять до загибелі клітин, знаходяться під контролем за рахунок взаємодії рецепторних білків [384, 388]. Найбільш вивченими з них є білки сімейства Bcl-2, серед яких є індуктори апоптозу (Bad, Bax, Bcl-Xs, Bcl-2) та інгібітори апоптозу (Bcl-2, Bcl-XL). Білки сімейства Bcl-2 знаходяться у динамічній рівновазі, утворюючи гомо- і гетеродимери, що відповідно впливає на розвиток апоптозу. Важасться, що співвідношення активних форм цих білків і визначає долю клітини. Втручання у співвідношення індуктор/інгібітор сімейства Bcl-2 може бути перспективним для визначення долі клітини [9,11,12].

Оскільки виконувалися ранні розтини дітей (не більше 2 годин після встановленого факту смерті), було можливим провести імуногістохімічне дослідження печінкової тканини з визначенням антигенів Bcl-2, Bax та PCNA за допомогою моноклональних антитіл до цих протеїнів та стрептавідин-біотинової системи візуалізації LSAB2 (пероксидазна мітка + діамінобензидин) виробника DakoCytomation (Denmark) з метою дослідження деяких механізмів регуляції апоптозу гепатоцитів та проліферації клітин печінки.

Стосовно антигену Bax, який володіє проапоптотичною дією, була знайдена відмінність його експресії в цитоплазмі гепатоцитів залежно від наявності чи відсутності дистрофічного процесу в цих клітинах. Зокрема, при відсутності дистрофічного процесу експресія антигену Bax у цитоплазмі гепатоцитів відмічалася лише в окремих гепатоцитах (рис.1).

Експресія при цьому носила виражений характер, інтенсивність забарвлення цитоплазми таких гепатоцитів за комп'ютерно-денситометричними даними складала в середньому $0,48 \pm 0,062$ відн. одиниць. При наявності ж поєданої зернистої та гідропічної дистрофії у гепатоцитах відмічалася регулярна експресія антигену Bax, яка завжди носила дрібногранулярний характер (рис.2).

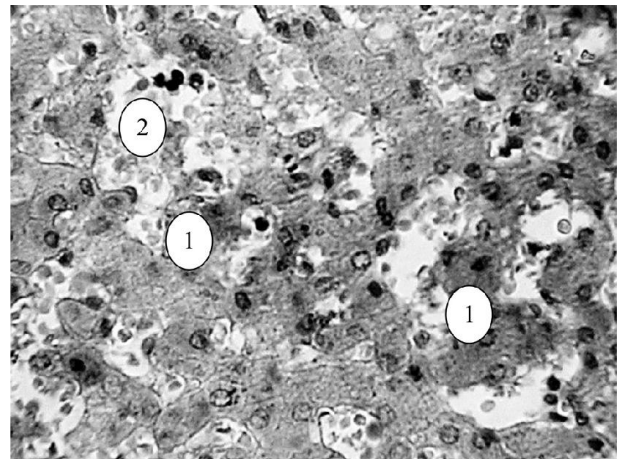


Рис.1. Печінка померлого новонародженого. Ділянки печінкової тканини без ознак гідропічної дистрофії гепатоцитів. Більшість гепатоцитів Bax-негативні, їх цитоплазма фоново профарбована гематоксиліном. 1) В окремих гепатоцитах має місце позитивна реакція на протеїн Bax. 2) Синусоїди розширені, повнокровні. Імуногістохімічне визначення протеїну Bax, дофарбування клітинних ядер гематоксиліном Майєра. x800.

Інтенсивність забарвлення цитоплазми таких гепатоцитів за комп'ютерно-денситометричними даними складала в середньому $0,29 \pm 0,031$ відн. одиниць.

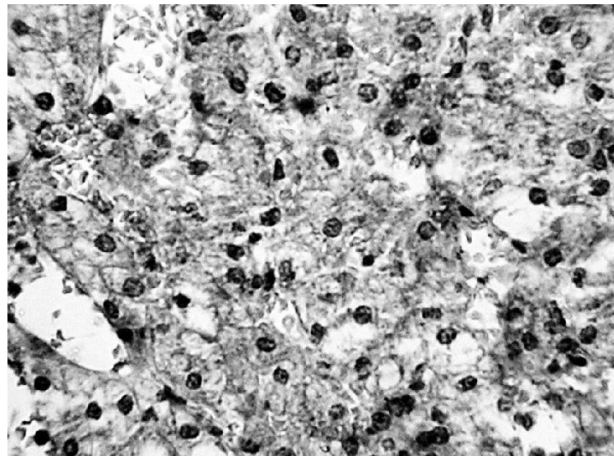


Рис.2. Печінка померлого новонародженого. Ділянки печінкової тканини з ознаками гідропічної дистрофії гепатоцитів. Гепатоцити Bax-позитивні (зернистий характер розподілу протеїну Bax), їх цитоплазма не профарбована гематоксиліном через дистрофічний процес. Синусоїди розширені. Імуногістохімічне визначення протеїну Bax, дофарбування клітинних ядер гематоксиліном Майєра. x800.

Цікавим фактом було те, що в печінці всіх померлих новонароджених мала місце значна експресія антигену Bax у цитоплазмі епітеліоцитів жовчних протоків портальних трактів (рис.3). Часто ці епітеліоцити підлягали десквамації, інколи вона була масивною. Такий виражений десквамативний процес у жовчних протоках може бути причиною внутрішньопечінкового холестазу (рис.4).

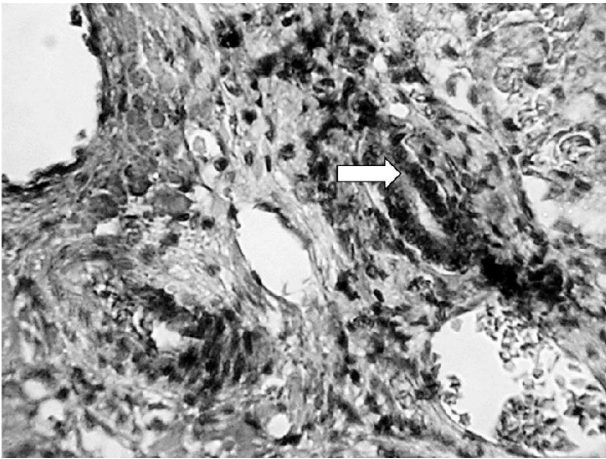


Рис.3. Печінка померлого новонародженого. Ділянка портального тракта. Експресія протеїну Vax в епітелії жовчних протоків (вказано стрілкою). Імуногістохімічне визначення протеїну Vax, дофарбування клітинних ядер гематоксилином Майєра. x800.

Стосовно протеїну Bcl-2 слід зазначити відсутність його експресії як у цитоплазмі гепатоцитів, так і в цитоплазмі епітелію жовчних протоків. У випадках поєднання високої експресії антигену Vax при відсутності експресії антигену Bcl-2 можна застосувати термін «проапоптотичний стан». Чи буде цей стан реалізований до рівня фрагментації ДНК, буде залежати від повноти каспазного каскаду реакцій, які мають завершуватися активізацією ендонуклеаз. У наших дослідженнях не було знайдено великої кількості морфологічних об'єктів, які можна було би описати як апоптотичні тільця, а також гепатоцитів з характерною маргінацією ядерного хроматину, яка виникає як початковий морфологічний прояв апоптозу. Це означає, що в печінці померлих новонароджених включаються певні механізми протидії апоптозу, які потребують подальшого поглибленого вивчення (рис.5).

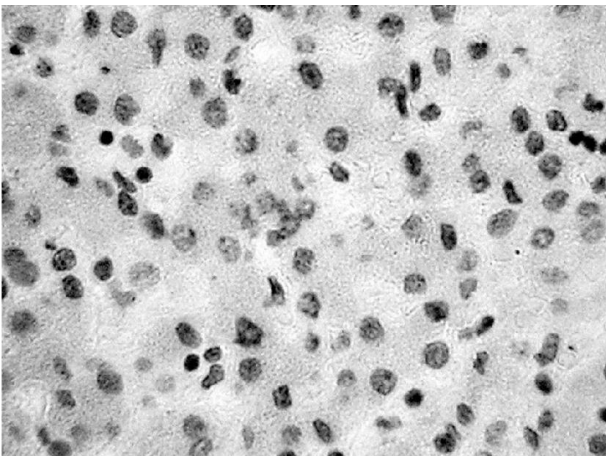


Рис.5. Печінка померлого новонародженого. Експресія протеїну Bcl-2 в гепатоцитах негативна. Цитоплазма гепатоцитів фоново профарбована гематоксилином. Імуногістохімічне визначення протеїну Bcl-2, дофарбування клітинних ядер гематоксилином Майєра. x900.

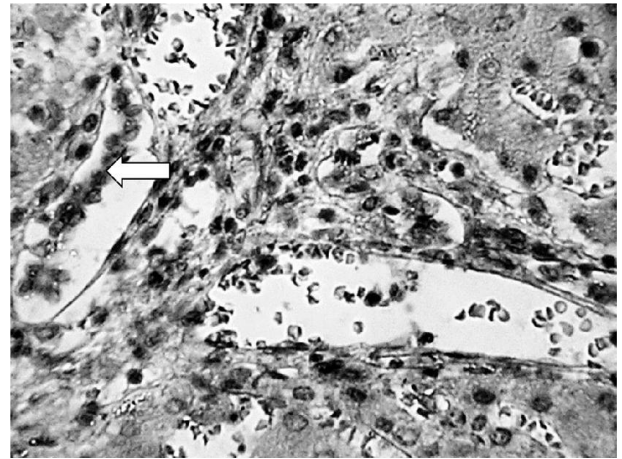


Рис.4. Печінка померлого новонародженого. Ділянка портального тракта. Експресія протеїну Vax в десквамованому епітелії жовчних протоків (вказано стрілкою). Імуногістохімічне визначення протеїну Vax, дофарбування клітинних ядер гематоксилином Майєра. x800.

Експресія антигену PCNA спостерігалася в ядрах гепатоцитів та ядрах клітин, які входили до складу вогнищ екстрамедулярного кровотворення. В одних випадках експресія антигену PCNA в гепатоцитах була знайдена з невеликою частотою – у діапазоні 0,4-1,8% (рис.6), у інших випадках частота була більшою – в діапазоні 3,1-4,8% (рис.7). Залежності від конкретної патології печінки не відмічалось. У вогнищах екстрамедулярного кровотворення більшість клітин проявляли значну експресію антигену PCNA (рис.8). Тоді, коли трактовка експресії антигену PCNA у вогнищах екстрамедулярного кровотворення є достатньо чіткою (ці клітини енергійно проліферують), експресія антигену PCNA в ядрах гепатоцитів не є такою однозначною.

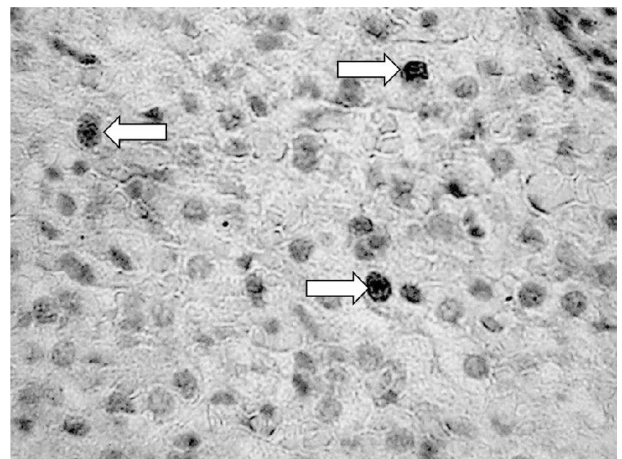


Рис.6. Печінка померлого новонародженого. Окремі гепатоцити з позитивною експресією в ядрах протеїну PCNA (найбільш темні ядра – вказано стрілками). Імуногістохімічне визначення протеїну PCNA та адаптоване низькоконтрастне дофарбування клітинних ядер гематоксилином Майєра. x900.

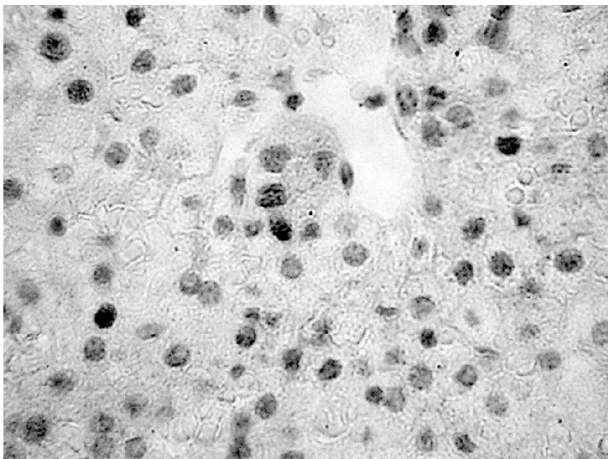


Рис.7. Печінка померлого новонародженого. Порівняно висока частота гепатоцитів з експресією в ядрах протеїну PCNA (найбільш темні ядра). Імуногістохімічне визначення протеїну PCNA, адаптоване низькоконтрастне дофарбування клітинних ядер гематоксиліном Майєра. x900.

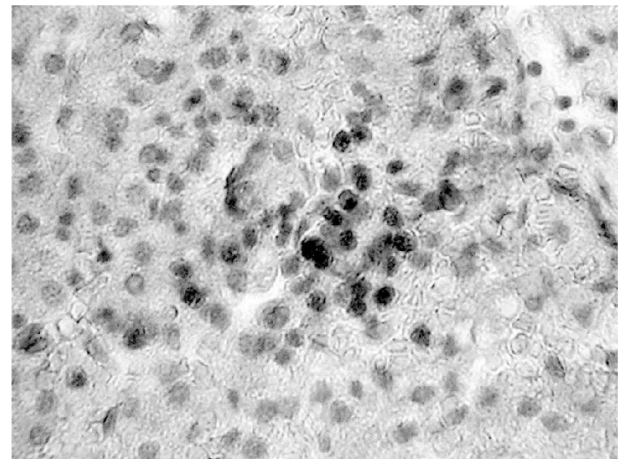


Рис.8. Печінка померлого новонародженого. Острівцеві юстамедулярного кровотворення з клітинами з високою експресією в ядрах протеїну PCNA (найбільш темні ядра). Імуногістохімічне визначення протеїну PCNA, адаптоване низькоконтрастне дофарбування клітинних ядер гематоксиліном Майєра. x900.

Проліферативний клітинний нуклеарний антиген (PCNA - від англ. «Proliferating Cell Nuclear Antigen») – це протеїн, який є кофактором для ДНК-полімерази-дельта в S-фазу та під час синтезу ДНК при її репарації в разі пошкодження. Оскільки період напівжиття PCNA складає 20 годин, він може визначатися в клітинах також у G0-фазі. Таким чином, PCNA не можна асоціювати тільки з мітотичним циклом і проліферацією, тож для правильної оцінки сутності результатів імуногістохімічної реакції на PCNA потрібно враховувати тип клітини, де він визначається, та рівень експресії цього антигену. Гепатоцити, які у новонародженого можуть проліферувати, є одночасно і зручною мішенню для різних чинників, що здатні викликати пряме пошкодження ДНК, наприклад, вільні радикали. Оскільки рівень експресії антигену PCNA в ядрах гепатоцитів (оптична щільність ділянок забарвлення - $0,41 \pm 0,04$ відн. одиниць) не відрізнявся ($p > 0,05$) за середніми показниками від рівня експресії антигену PCNA в ядрах клітин у вогнищах екстремедулярного кровотворення (оптична щільність ділянок забарвлення - $0,44 \pm 0,07$ відн.одиниць), скоріше можна думати, що більша частота ядер гепатоцитів з експресією антигену PCNA вказує на підсилення процесів проліферації гепатоцитів.

Від апоптозу залежить багато процесів, які реалізуються на органному та системному рівнях. Це зумовлює існування патології, пов'язаної з порушеннями на рівні ініціації та реалізації апоптозу. Важливим є участь механізмів апоптозу у хворих, які знаходяться в критичному стані. За сучасними уявленнями, в основі формування поліорганної недостатності при критичному стані полягає SIRS, який являє собою неспецифічну відповідь організму на будь-яке пошкодження. У формуванні SIRS і відповідно ПОН, провідна роль надається імунологічним порушенням. На початковому етапі SIRS реєструється підвищення рівня прозапальних цитокінів (TNF- α , IL1, IL 6, IL 8), з гіперпродукцією яких пов'язують виник-

нення шоку, респіраторного дистрес-синдрому, синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові. У подальшому відмічається збільшення кількості протизапальних цитокінів (IL4, IL10, IL13), які на відміну від прозапальних цитокінів, спричиняють депресію імунної системи. Виникає стан імунологічної недостатності, коли моноцити і макрофаги не здатні продукувати прозапальні цитокіни. Депресія імунітету супроводжується розвитком ПОН. АОСЗ новонароджених за умов гіпоксії неспроможна активно протидіяти продуктам ПОЛ та ОМБ, наслідком чого є порушення внутрішньоклітинного обміну, активності ферментів та дестабілізація мембран. Механізми апоптозу гепатоцитів у новонароджених дітей на фоні тяжкої патології раннього неонатального періоду представлені на рис. 6.1.

Таким чином, у новонароджених дітей, які померли внаслідок перинатальних причин, відмічені певні особливості патоморфології печінки та жовчовивідних шляхів. Так, за даними макроскопічної характеристики, спостерігалось збільшення лінійних розмірів печінки, блискучість та темно-коричневий або темно-червоний колір поверхні розрізу, щільна консистенція. Змін жовчного міхура не відмічалось, в усіх випадках виявлено вільну прохідність позапечінкових жовчних ходів.

За даними мікроскопічних досліджень гістологічних зрізів відмічено характерне поєднання зернистої і гідропічної дистрофії гепатоцитів, розширення та повнокров'я синусоїдів та центральних вен, стаз крові вогнища екстремедулярного кровотворення, у деяких випадках – нерівномірне розширення просторів Діссе та дисконфлексія печінкових балок.

Механізм апоптозу відіграє важливу роль у підтримці органного гомеостазу. За допомогою апоптозу з організму видаляються пошкоджені та чужорідні клітини. Механізм апоптозу направлений на попередження можливості з'явлення патології в постембріональному розвитку органів і тканин. Якщо процес апоптозу виходить з-під

контролю, загибель клітин набуває непопереджувального характеру [7,11]. Процеси передачі сигналів, які ініціюють апоптоз, до ефекторних механізмів, що призводять до загибелі клітин, знаходяться під контролем взаємодії рецепторних білків. Найбільш вивченими з них є білки сімейства Bcl-2, серед яких є індуктори апоптозу (Bad, Bax, Bcl-Xs) та інгібітори апоптозу (Bcl-2, Bcl-XL).

У ході наукової роботи було проведено імуногістохімічне дослідження печінкової тканини новонароджених з визначенням антигенів Bcl-2, Bax та PCNA за допомогою моноклональних антитіл до цих протеїнів та стрептавідин-біотинової системи візуалізації LSAB2 (пероксидазна мітка + діамінобензидин) виробника DakoCytomation (Denmark) з метою дослідження деяких механізмів регуляції апоптозу гепатоцитів та проліферації клітин печінки.

Стосовно антигену Bax, який має проапоптоичну дію, була знайдена відмінність його експресії в цитоплазмі гепатоцитів залежно від наявності чи відсутності дистрофічного процесу в цих клітинах. Зокрема, при відсутності дистрофічного процесу експресія антигену Bax у цитоплазмі гепатоцитів відмічалася лише в окремих гепатоцитах. Експресія при цьому носила виражений характер, інтенсивність забарвлення цитоплазми таких гепатоцитів за комп'ютерно-денситометричними даними складала в середньому $0,48 \pm 0,062$ відн. одиниць. При наявності ж поєднаної зернистої та гідропічної дистрофії у гепатоцитах відмічалася регулярна експресія антигену Bax, яка завжди носила дрібногранулярний характер. Інтенсивність забарвлення цитоплазми таких гепатоцитів за комп'ютерно-денситометричними даними складала в середньому $0,29 \pm 0,031$ відн. одиниць.

В печінці всіх померлих новонароджених мала місце значна експресія антигену Bax у цитоплазмі епітеліоцитів жовчних протоків порталних трактів. Часто ці епітеліоцити підлягали десквамації, інколи вона була масивною. Такий виражений десквамативний процес у жовчних протоках може бути причиною внутрішньопечінкового холестазу.

Стосовно протеїну Bcl-2 слід зазначити відсутність його експресії як у цитоплазмі гепатоцитів, так і в цитоплазмі епітелію жовчних протоків. У випадках поєднання високої експресії антигену Bax при відсутності експресії антигену Bcl-2 можна застосувати термін „проапоптотичний стан”. Чи буде цей стан реалізований до рівня фрагментації ДНК, буде залежати від повноти

каспазного каскаду реакцій, які мають завершуватися активізацією ендонуклеаз.

Експресія антигену PCNA спостерігалася в ядрах гепатоцитів та ядрах клітин, які входили до складу вогнищ екстрамедулярного кровотворення. В одних випадках експресія антигену PCNA в гепатоцитах була знайдена з невеликою частотою – у діапазоні 0,4-1,8%, у інших випадках частота була більшою – в діапазоні 3,1-4,8%. Залежності від конкретної патології печінки не відмічалася. У вогнищах екстрамедулярного кровотворення більшість клітин проявляли значну експресію антигену PCNA. Тоді, коли трактовка експресії антигену PCNA у вогнищах екстрамедулярного кровотворення є достатньо чіткою (ці клітини енергійно проліферують), експресія антигену PCNA в ядрах гепатоцитів не є такою однозначною.

Висновки

1. У новонароджених дітей, які померли внаслідок перинатальних причин, відмічені певні особливості патоморфології печінки та жовчовивідних шляхів.

2. За даними макроскопічної характеристики спостерігалася збільшення лінійних розмірів печінки, блискучість та темно-коричневий або темно-червоний колір поверхні розрізу, щільна консистенція. Змін жовчного мішура не відмічалася, в усіх випадках виявлено ліьну прохідність позапечінкових жовчних ходів.

3. За даними мікроскопічних досліджень гістологічних зрізів відмічено характерне поєднання зернистої і гідропічної дистрофії гепатоцитів, розширення та повнокров'я синусоїдів та центральних вен, стаз крові вогнища екстрамедулярного кровотворення, у деяких випадках – нерівномірне розширення просторів Діссе та дисконкомплексія печінкових балок.

4. При дослідженні печінкової тканини імуногістохімічними методами виявлена значна експресія антигену Bax за відсутності експресії антигену Bcl-2, що свідчить за переважання у клітинах печінки «проапоптотичних» за недостатності «протиапоптотичних» механізмів. Більша частота ядер гепатоцитів з експресією антигену PCNA вказує на підсилення процесів проліферації гепатоцитів.

5. Залежності імуногістохімічних характеристик клітин печінки та жовчовивідних шляхів від нозологічних форм перинатальної патології не виявлено.

Література

1. Бондаренко Г.І. Програмована смерть. Апоптоз і некроз: загальні риси і відмінності (огляд літератури)// Перинатологія і педіатрія.-2001.-№2.-С.45-47.
2. Гарбузенко Д.В., Попов Г.К. Механизмы регуляции регенерации печени//Рос.журнал гастр., гепатол., колопр.-2001.-№1.-С.21-25.
3. Nikolettou V. et al. Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. – 2013. – Т. 1833. – №. 12. – С. 3448-3459.
4. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике // Цитокины и воспаление.-2003.-Т.2,№3.-С.20-35.
5. Bowen I.D., Bowen S.M. Mitosis and Apoptosis // New Book Information.-1997.-V.10.-P.8-10.
6. Luedde T., Kaplowitz N., Schwabe R. F. Cell death and cell death responses in liver disease: mechanisms and clinical relevance //Gastroenterology. – 2014. – Т. 147. – №. 4. – С. 765-783. e4.
7. Wang K. Molecular mechanisms of hepatic apoptosis //Cell death & disease. – 2014. – Т. 5. – №. 1. – С. e996.
8. Diehl-Jones WL, Askin DF. The neonatal liver, Part 1: embryology, anatomy, and physiology. Neonatal Netw. - 2002. - Vol.21, № 2. -P.5-12.
9. He G. W. et al. PGAM5-mediated programmed necrosis of hepatocytes drives acute liver injury //Gut. – 2016. – С. gutjnl-2015-311247.
10. Guicciardi M. E. et al. Cellular inhibitor of apoptosis (cIAP)-mediated ubiquitination of phosphofurin acidic cluster sorting protein 2 (PACS-2) negatively regulates tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) cytotoxicity //PloS one. – 2014. – Т. 9. – №. 3. – С. e92124.
11. Guicciardi M. E. et al. Apoptosis and necrosis in the liver //Comprehensive Physiology. – 2013.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ
И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЙ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ
СИСТЕМЫ У НОВОРОЖДЕННЫХ,
ПОГИБШИХ В РЕЗУЛЬТАТЕ
ПЕРИНАТАЛЬНЫХ ПРИЧИН**

*Ю.Д. Годованец, А.С. Годованец,
Е.В. Курик, Т.А. Дроник*

**Высшее государственное учебное заведение
Украины «Буковинский государственный
медицинский университет»
(г.Черновцы, Украина)**

Резюме. Клеточная смерть является необходимым и важным элементом формирования и функционирования многоклеточных организмов, поскольку вместе с процессами пролиферации и дифференцировки является наиболее важным состоянием жизнедеятельности клеток. Реализация факторов перинатального риска в условиях гипоксии является основой формирования тяжелых форм перинатальной патологии у новорожденных детей.

Представлены данные иммуногистохимических исследований печени новорождённых, умерших вследствие перинатальных причин. Обсуждаются патогенетические основы формирования апоптоза гепатоцитов. Изучение основ формирования апоптоза печени у новорождённых детей является существенным дополнением для понимания тяжести течения нозологической патологии в раннем неонатальном периоде.

Ключевые слова: новорождённый, печень, апоптоз.

**THE RESULTS OF PATHOLOGICAL
AND IMMUNOHISTOCHEMICAL
STUDY OF THE HEPATOBILIARY
SYSTEM IN NEWBORNS
WHO DIED IN PERINATAL
CAUSES**

*Y.D. Godovanets, O.S. Godovanets,
O.V. Kouric, T.A. Dronyk*

**Higher education institution
in Ukraine «Bukovinian
State Medical University»
(Chernivtsi, Ukraine)**

Summary. Cell death is a necessary and important element in the formation and functioning of multicellular organisms, because together with the processes of proliferation and differentiation is the most important state of cell activity. Implementation of the perinatal risk factors for hypoxic conditions is the basis for the formation of severe perinatal pathology in newborns.

The findings of immunohistochemical studies of the liver of newborns which died due to perinatal causes are presented. The pathogenetical principles of the apoptotic formation of hepatocytes are discussed. The study of the principles of the apoptotic formation in the liver of newborns is an essential contribution to the understanding of the severity of the course of nosologic pathology at an early stage of the neonatal period.

Key words: newborn, liver, apoptosis.