

ГІСТОПАТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЯЄЧКА У ДІТЕЙ З СУБКОМПЕНСОВАНОЮ ІШЕМІЄЮ ПРИ ЙОГО ГОСТРОМУ ПЕРЕКРУТІ

¹Волос Л. І. <https://orcid.org/0000-0002-1733-589X>

²Горбатюк О. М. <https://orcid.org/0000-0003-3970-8797>

³Веселий М. Ю. <https://orcid.org/0000-0002-4340-4924>

³Веселий С. В. <https://orcid.org/0000-0001-7988-8214>

⁴Лавров Д. В. <https://orcid.org/0000-0003-2940-3375>

⁵Гладкий А. П. <https://orcid.org/0000-0002-3085-9399>

⁵Усенко Т. В. <https://orcid.org/0000-0001-5477-4739>

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

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

³Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К. Гусака Національної Академії медичних наук України,
м. Київ, Україна

⁴«Обласне територіальне медичне об'єднання м. Краматорськ», Україна

⁵«Регіональний медичний центр родинного здоров'я» Дніпропетровської обласної ради, м. Дніпро, Україна

Liliya.volos@gmail.com

Актуальність. Гострий перекрут яєчка є урологічним невідкладним станом серед хлопчиків-підлітків та молодих чоловіків, який характеризується повертанням та скручуванням сім'яного канатика разом з судинами, що знаходяться у ньому, навколо вертикальної або горизонтальної осі. Виникнення цього стану призводить до ішемії яєчка, а своєчасна діагностика та відповідне лікування мають вирішальне значення для запобігання втрати органу.

Ціль: Дослідити гістопатологічні зміни та імуногістохімічні особливості яєчок у дітей з гострим перекрутом у терміни від 6,1 до 12 годин від початку клінічних симптомів.

Матеріали та методи. Проведене гістологічне, гістохімічне та імуногістохімічне дослідження біоптатів тканин яєчок, взятих під час операції деторсії та орхіопексії у терміни від 6,1 до 12 годин від початку клінічних симптомів гострого однобічного перекруту у 7 хворих.

Результати. За нашими даними, з кожною годиною захворювання у терміни від 6,1 до 12 годин після гострої тугої торсії яєчка, спостерігалася негативна динаміка змін морфологічних структур ураженої статеві гонади. Якщо на межі 6–7 години від початку захворювання ми спостерігали зворотні пошкодження тканин яєчка майже у 100% випадків, то у хворих з 12-годинним перекрутом осередкові незворотні зміни у яєчку діагностувалися майже у 28,6% випадків. Морфологічними ознаками втрати життєздатності була осередкова загибель інкреторних (стероїдогенез) та ексреторних (сперматогенез) клітин яєчка, тяжкі ушкодження сперматогенного епітелію сім'яних каналців. Морфологічно спостерігалися великі крововиливи і дифузне просякання кров'ю інтерстиціуму, тромби, поодинокі лейкоцити, визначалися пікноз ядер сперматогенного епітелію і злущування клітин, діагностувалися деформовані сім'яні каналці з їх частковим або повним спустошенням. У деяких полях зору відсутні клітини Лейдіга або діагностувалися клітини-тіні, особливо навколо спустошених та некротизованих каналців. Проте невелика кількість клітин сперматогенного епітелію в сім'яних каналцях характеризувалася ШИК-позитивною реакцією на глікоген та глікопротеїни, що означало їх функціональну збереженість.

Висновки. Встановлено, що зі збільшенням часу гострого повного перекруту яєчка розвиваються прогресуючі морфологічні зміни в гонаді. У хворих з 12-годинним перекрутом осередкові незворотні зміни у яєчку діагностувалися майже у 28,6% випадків, характеризувалися вогнищевою загибеллю інкреторних (стероїдогенез) та ексреторних (сперматогенез) клітин яєчка, ушкодженням клітин сперматогенного епітелію.

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 з початку захворювання та більше).

Ключові слова: перекрут (заворот, торсія) яєчка, сім'яні каналці, клітини Лейдіга, гістопатологія, імуногістохімія.

Актуальність. Перекрут (заворот) яєчка, або перекрут сім'яного канатика, є серйозною, несподіваною і часто небезпечною ситуацією, яка потребує негайних дій та невідкладної хірургічної операції [1]. Ця патологія переважно вражає хлопчиків у період статевого дозрівання, призводить до травми яєчка та безпліддя [2]. У структурі невідкладної патології чоловічої статевої гонади перекрут яєчка становить, за різними даними, від 7% до 30% [3, 4]. Залежно від часу, градусу завороту і довжини сім'яного канатика («тугий» і «нетугий» перекрут яєчка) порушення структури та функції яєчка мають різний ступінь виразності. Це визначає прогноз відносної життєздатності чоловічої статевої гонади та її функціональної збереженості [5]. Життєздатність яєчок значно знижується через 6 годин після появи симптомів, тож рання діагностика має ключове значення [1]. Інфаркт яєчка може виникнути вже через 4–6 годин після перекруту, залежно від тривалості симптомів і градусу перекруту сім'яного канатика [6]. При хірургічній корекції протягом 6 годин після початку перекруту яєчка показники порятунку яєчка становлять 90–100%. У разі виконання операції у терміни 6–12 годин шанс дитини на повне одужання зменшується до 70%, тоді як протягом 12–24 годин показники порятунку становлять тільки 10–20% [7–9]. Після 24 годин після початку захворювання надії на збереження життєздатності органу майже немає [10]. Однак точні ознаки життєздатності ураженого яєчка в разі критичної ішемії внаслідок його перекруту досі відсутні [9]. У даний час дослідження морфогенезу, тобто динаміки змін морфологічних структур у процесі перебігу захворювання, морфофункціональних порушень, що настають при зміні кровопостачання яєчка внаслідок завороту, представляє великий практичний інтерес, тому що нема єдиної думки щодо характеру та ступеня цих змін у гонаді. Перекрут яєчка викликає пошкодження тканини та сперматогенезу через різні гіпотетичні механізми; однак існує консенсус того, що наслідки ішемії, ішемічно-реперфузійного пошкодження та окислювального стресу викликають найбільш руйнівні наслідки [11]. Подальше вирішення

проблеми діагностики та лікування перекруту гонади багато в чому залежить від цілеспрямованих морфологічних досліджень та вивчення морфогенезу цього захворювання з погляду чинника часу.

Ціль: Дослідити гістопатологічні зміни та імуногістохімічні особливості яєчок у дітей з гострим перекрутом у терміни від 6,1 до 12 годин від початку клінічних симптомів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Проведене гістологічне, гістохімічне та імуногістохімічне дослідження біоптатів тканин яєчок, взятих у терміни від 6,1 до 12 годин від початку клінічних симптомів гострого одностороннього перекруту під час операції деторсії та орхіопексії у 7 хворих. Дослідження проведене 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.

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 активних 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 перекрутті яєчка.

Нами оцінено стан клітин сперматогенного епітелію та інтерстиціальної тканини. Критерієм для визначення ступеня ушкодження був один із варіантів морфологічних змін сім'яних каналців [12].

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 одичних клітин у просвіт каналців, набряк та розпушування 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

У попередніх наших дослідженнях було показано, що ішемія тривалістю до 6 годин від початку клінічних симптомів характеризується помірним ступенем пошкодження яєчка, а деторсія, виконана протягом цього часу, дозволяє зберегти гонаду у 100% випадків.

Проведене нами теперішнє морфологічне дослідження показало, що припинення кровообігу в яєчку більше 6 годин при тестикулярній торсії 360–720° викликає парез судинної стінки. Кровоносні та лімфатичні судини розширені, міжканальцева строма набрякла (рис. 1а,б). Клітини Лейдіга збільшені, їх цитоплазма вакуолізована з нерівномірним забарвленням. У деяких полях зору ядра клітин Лейдіга зменшені, їх цитоплазма різко еозинофільна, при імуногістохімічному типуванні (ІГХТ) визначається різний рівень експресії кальретиніну (рис. 1б). Ішемія понад шість годин призводить до деформації частини сім'яних каналців, діаметр яких у середньому зменшується, співвідношення між інтерстиціальною та каналцевою тканиною збільшується за рахунок набряку інтерстиціуму. Власна оболонка сім'яних каналців складчаста, розпушена, подекуди зруйнована, особливо при торсії 360–720° спостерігається тяжкий ступінь їх пошкодження. Сім'яні каналці з легким ступенем ушкодження сперматогенного епітелію при торсії 360° характеризуються вираженим розпушенням його шарів, при цьому власна оболонка каналців добре візуалізується, особливо при ІГХТ з гладком'язовим актином, що говорить про наявність на базальній мембрані кількох шарів м'яких клітин – міофібробластів (рис. 1в). При гістохімічному забарвленні альціановим синім визначається наявність кислих мукополісахаридів (глікозаміногліканів – ГАГ), що говорить про секреторну активність сперматогенного епітелію і клітин Сертолі (рис. 1г), відсутність порушень у синтезі протеогліканів і глікозаміногліканів. у сперматогенезі. Проте у частині каналців виявлено значне порушення сперматогенезу. Кількість статевих клітин зменшується, просвіт каналців звужений. Відбувається масивне відторгнення клітин від власної оболонки, зміщення їх у просвіт каналців (важкий ступінь ушкодження), частина сперматоцитів демонструє ядерну конденсацію та фрагментацію, частина сперматид утворює багатоядерні кластери. Діагностується осередкове зменшення сперматоцитів на стадії пахітени та сперматид на різних стадіях сперміогенезу.

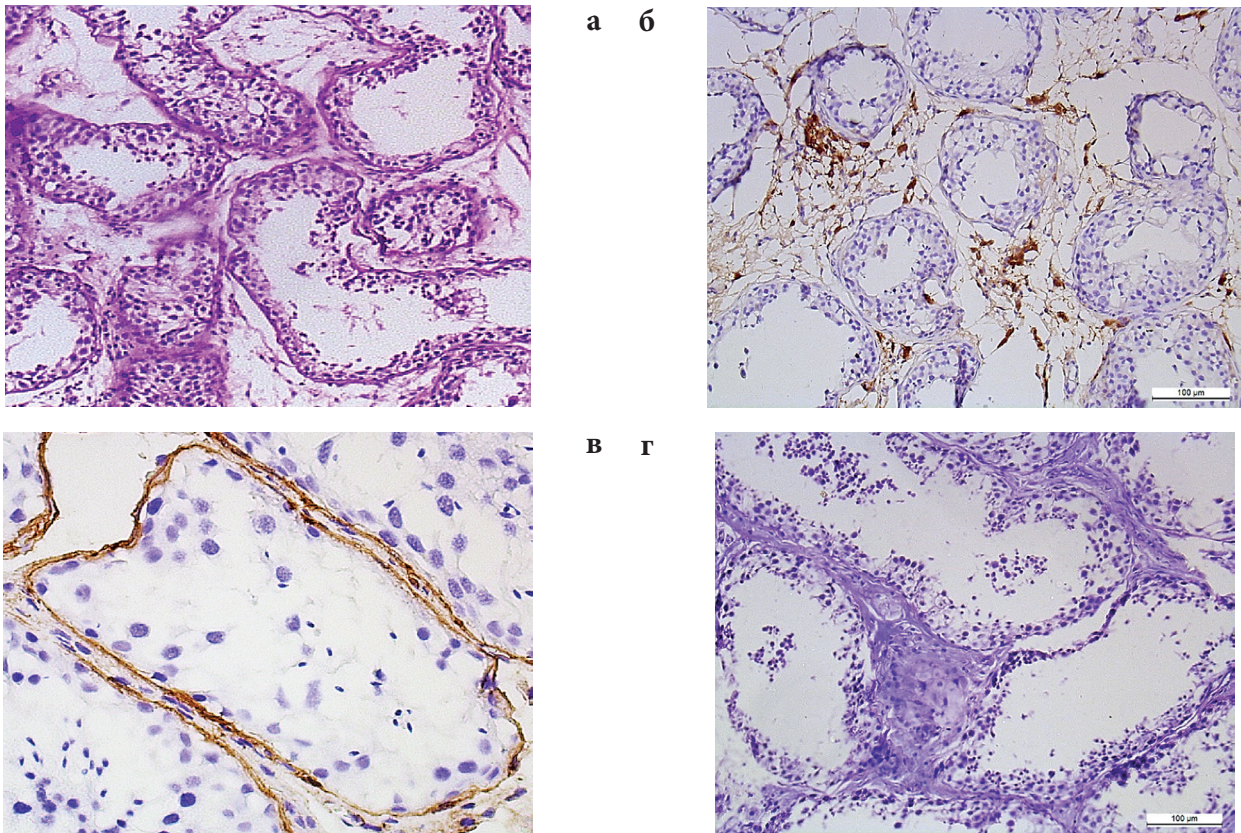


Рис. 1. Стан сім'яних каналців після 6-годинної ішемії та тестикулярної торсії 360°. Інтерстиціальний набряк, деформація частини сім'яних каналців (а,б), дегенерація клітин Лейдига (б), власна оболонка каналців збережена (в), деструкція сперматогоній та сперматоцитів першого порядку, осередкова десквамація клітин від власної оболонки, зміщення їх у просвіт каналців (г).

Забарвлення гематоксиліном та еозином (а) $\times 200$; ІГХТ MAT до кальретинину (calretinin) (Clone: SP13, Thermo scientific) (б) $\times 200$; ІГХТ MAT до SMA (Clone Ab-1, Master diagnostica) (в) $\times 400$; забарвлення альціановим синім (г) $\times 200$

Ішемія тривалістю до 12 годин у результаті тестикулярної торсії на 360° призводить до помітних морфологічних змін гонади. Діаметр каналців, які частково зберегли свою структуру, зменшений, у ядрах сперматогенних клітин явища пікнозу та вакуолізація цитоплазми. У частині каналців сперматогенез відбувається лише до утворення сперматид. Більш помітним стає зменшення загальної кількості сперматогенних клітин різних генерацій (рис. 2а), особливо сперматоцитів на стадії пахітени та сперматид. У деяких каналцях сперматогенні клітини заповнюють їх нерівномірно, а в деяких з них виявляються лише поодинокі, що прилягають до базальної мембрани, сперматогонії та клітин Сертолі. Власна оболонка подекуди зруйнована.

На фоні незначної частини каналців, які ще зберігають сперматогенез, виділяються каналці

(37%) з важкими пошкодженнями сперматогенного епітелію, в яких визначається злуцування всіх типів генеративних клітин, крім клітин Сертолі, що характеризуються каріопікнозом і вираженою вакуолізацією цитоплазми, а також з'являються спустошені каналці (рис. 2б).

Інтерстиціальний простір розширений, співвідношення між інтерстиціальною тканиною та паренхімою органу збільшене. Спостерігаються набряк, дифузне просякання кров'ю інтерстиціуму з одиничними лейкоцитами, тромби мікрогемодиркуляторного русла (рис. 2в). Структура деяких клітин Лейдига порушена, одні – деформовані, з пікнотичними ядрами та неоднорідною цитоплазмою, інші збільшені у розмірі. У деяких полях зору спостерігається відсутність клітин Лейдига або клітини-тіні, особливо навколо спустошених та некротизованих каналців (рис. 2г).

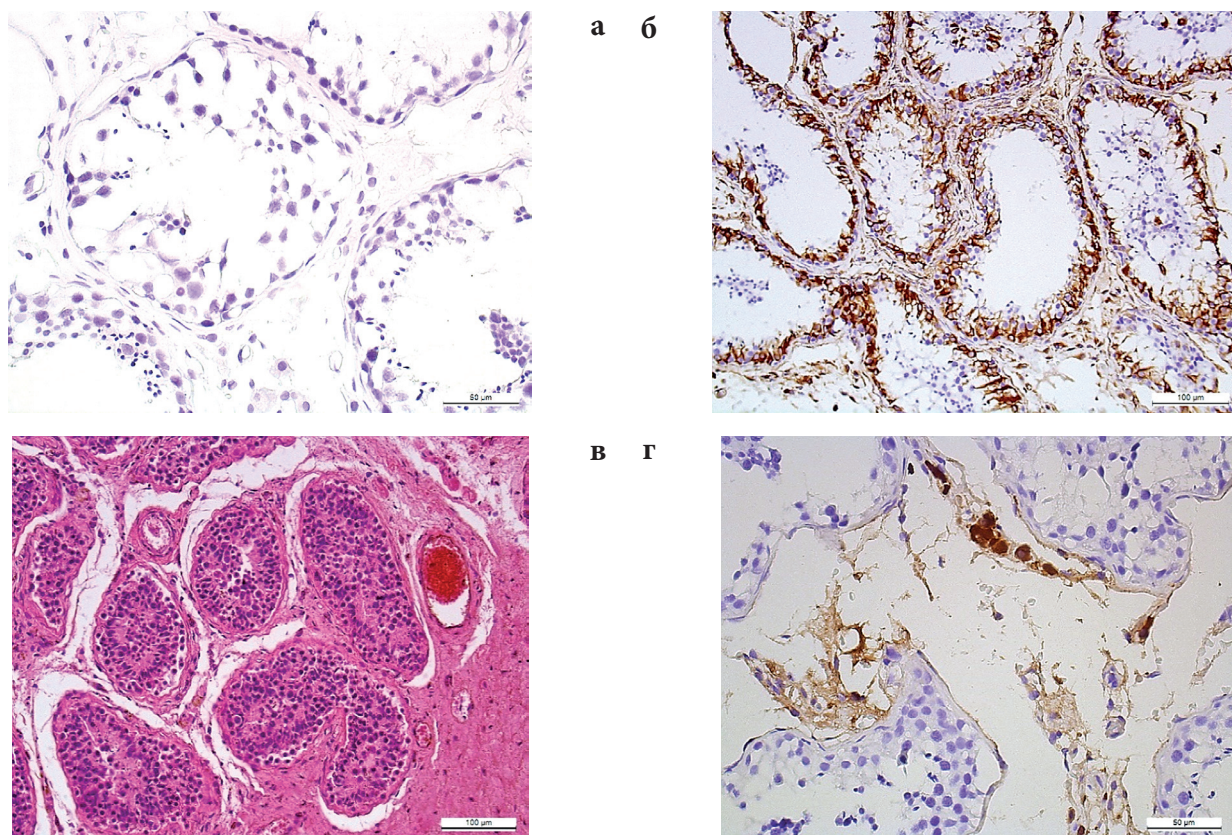


Рис. 2. Стан сім'яних каналців внаслідок ішемії тривалістю до 12 годин та тестикулярної торсії 360°.

Сперматогенні клітини заповнюють сім'яні каналці нерівномірно, у деяких з них діагностуються поодинокі сперматогонії, клітини Сертолі та сперматоцити (а); злущування генеративних клітин, крім Сертолі, спустошення частини каналців (б); набряк, дифузне просякання кров'ю інтерстиціуму, тромби (в); поодинокі клітини Лейдіга та клітини-тіні (г).

Забарвлення: ІГХТ МАТ CD117/c-kit (Diagnostic Biosystem) (а) $\times 400$; ІГХТ МАТ до vimentin (Clone SP20, Thermo scientific) (б) $\times 200$; забарвлення гематоксиліном та еозином (в) $\times 200$; ІГХТ МАТ до кальретиніну (calretinin) (Clone: SP13, Thermo scientific) (г) $\times 400$

Ішемія тривалістю до 12 годин при тестикулярній торсії 360–720° супроводжувалася тяжкими ушкодженнями сперматогенного епітелію каналців і значним руйнуванням власної оболонки. Крім руйнування, мало місце скупчення білкових мас в інтерстиціальній тканині, розпад клітин сперматогенного епітелію, відшарування сперматогенного епітелію від власної оболонки (рис. 3а,в). Спеціальні методики забарвлення препаратів дають можливість детально візуалізувати морфологічні зміни, що відбуваються під впливом тривалої ішемії в каналцях з помірними і тяжкими пошкодженнями, а також у частково збережених каналцях. Застосування гістохімічного методу за Массоном дозволяє ідентифікувати колагенові волокна, що входять до складу стінки сім'яних каналців. При цьому колагенові волокна за-

барвлюються в синій колір, а цитоплазма клітин сперматогенного епітелію – у червоний (рис. 3б). Крім колагену та мінеральних солей, до складу тканини тестикул входять нейтральні та сульфатовані глікопротеїни, глікоген. При аналізі гістохімічних реакцій відзначається незначне посилення інтенсивності реакції на нейтральні глікопротеїни та сульфатовані протеоглікани у сполучнотканинних структурах тестикул (рис. 3в). Глікоген і глікопротеїни можуть бути виявлені за допомогою ШІК-реакції в окремих збережених клітинах сперматогенного епітелію, зокрема, в цитоплазмі сперматогоній. Крім того, глікоген також виявляється у цитоплазмі сперматоцитів та сустентоцитів, але має місце слабка ШІК-позитивна амілазореzистентна реакція у цитоплазмі сустентоцитів (рис. 3в). Глікоген забарвлюється в інтенсивний

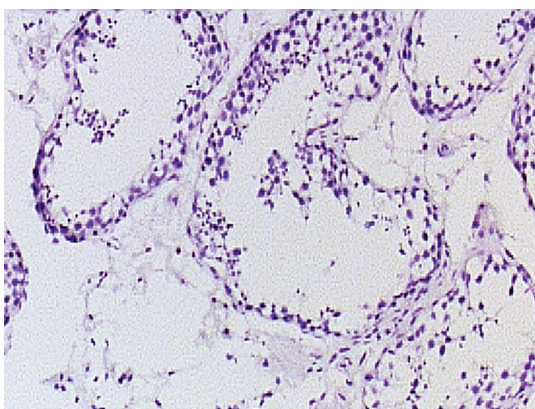
червоно-пурпурний колір, ядра – у темно-синій. У сперматидях виявляються нейтральні глікопротеїни, причому в поодиноких непошкоджених каналцях, що відносяться до 4–5 стадій циклу сперматогенного епітелію, вміст нейтральних глікопротеїнів більший, ніж при інших стадіях.

Перекрут яєчка є частим урологічним невідкладним станом серед хлопчиків-підлітків та молодих чоловіків, швидко призводить до ішемії, що в свою чергу спричинює втрату статевих клітин. Своєчасна діагностика та відповідне лікування перекруту яєчка мають вирішальне значення для запобігання необоротного пошкодження і забезпечення виживання гонад [13]. Від появи симптомів до хірургічного втручання з порятунку яєчок проходить 4 години, інколи 6 і більше годин [14]. Подальше звільнення перекруту викликає реперфузійне ушкодження, яке спричиняє подальше пошкодження ішемізованого яєчка. У даний час проводяться експериментальні дослідження з перекруту-деторсії яєчка. Ішемія-реперфузія яєчка викликає утворення активних форм кисню, прозапальних цитокінів, рекрутування нейтрофілів, перекисне окислення ліпідів, аноксію та апоптоз, які несуть у собі значний ризик подальшого безпліддя [13].

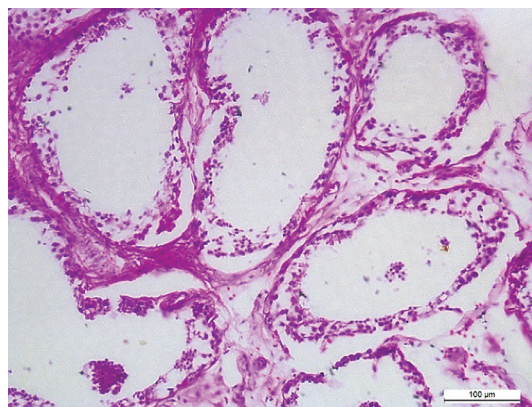
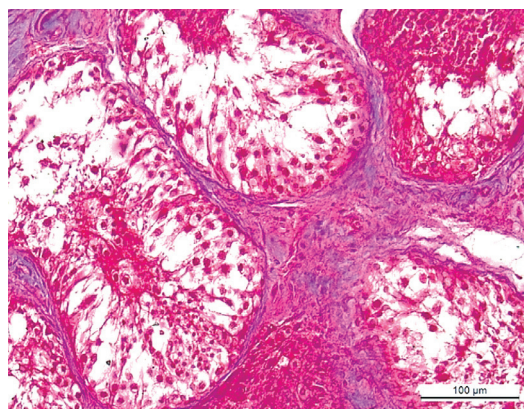
У клінічній практиці рішення про виконання деторсії або орхідектомії залежить від ступеня ішемії та некрозу. Дослідження Rogorelić Z. зі співавтор. (2016) показали, що врятувати яєчко малоймовірно в більшості випадків, якщо перекрут триває більше 6 годин, тому орхідектомія є рекомендованим варіантом [8]. Однак, окрім тривалості перекруту, ступінь торсії є ще одним фактором, пов'язаним з ішемією яєчка та клінічними результатами [5, 15]. Результати дослідження Sharp V.J. та ін. (2013) демонструють, що існує вікно від чотирьох до восьми годин, перш ніж відбудеться незворотне ішемічне пошкодження. Затримка лікування може призвести до зниження фертильності або може вимагати орхідектомію [16]. Таким чином, своєчасне виявлення перекруту яєчка і точна оцінка життєздатності яєчок є вирішальними для оперативного клінічного втручання та вибору відповідних методів лікування.

Термін протікання гострого перекруту яєчка, коли шанс на збереження яєчка залишається сумнівним, називається критичною ішемією. 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 з початку захворювання та більше).

У нашому дослідженні ми мали на меті визначити стан сім'яних каналців за умов субкомпенсованої ішемії (6,1–12 годин з початку захворювання) та тестикулярної торсії 360–720°, так як гістопатологічні зміни є золотим стандартом для оцінки ступеня ураження гонади. Стан гонади за термін 6–12-годинної тривалості перекруту характеризувався осередковою загибеллю інкреторних (стероїдогенез) та екскреторних (сперматогенез) клітин яєчка, сім'яні каналці здебільшого з тяжкими ушкодженнями сперматогенного епітелію. Морфологічно спостерігалися великі крововиливи і дифузне просякання кров'ю інтерстиціуму, тромби, поодинокі лейкоцити, визначалися пікноз ядер сперматогенного епітелію і злущування клітин, також з'являлися деформовані сім'яні каналці з їх частковим або повним спустошенням. У деяких полях зору спостерігалася відсутність клітин Лейдіга або візуалізувалися клітини-тіні, особливо навколо спустошених та некротизованих каналців. Проте деяка кількість клітин сперматогенного епітелію в сім'яних каналцях характеризувалася ШІК-позитивною реакцією на глікоген та глікопротеїни, що означало їх функціональну збереженість. При деторсії, проведеної через 6–12 годин від початку клінічних симптомів гострого перекруту, збереження життєздатності яєчка становило близько 70%. Отримані дані свідчать про посилення деструктивних процесів у яєчках у міру збільшення тривалості дії ішемічного фактора і ступеня тестикулярної торсії та вказують на те, що відновлення кровообігу має бути досягнуте якнайшвидше від початку симптомів захворювання для збереження сперматогенезу.



а б



в

Рис. 3. Стан сім'яних канальців внаслідок ішемії тривалістю до 12 годин при тестикулярній торсії 540°. Скупчення білкових мас в інтерстиціальній тканині (а), часткове руйнування власної оболонки та відторгнення клітин сперматогенного епітелію сім'яних канальців (б, в); вміст нейтральних глікопротеїнів у клітинах сперматогенного епітелію (в). Забарвлення: ІГХТ МАТ CD117/c-kit (Diagnostic Biosystem) (а) $\times 200$; забарвлення за Массоном (б) $\times 200$; ШИК-реакція (в) $\times 200$

За даними клінічних досліджень Wiener S.L. (1990) нездатність виправити перекрут сім'яного канатика при ішемії яєчка протягом 2–4 годин може призвести до втрати функції яєчка та атрофії яєчка [17]. Adam S. Howe із співавт. (2017) змогли вивести окремі формули для визначення життєздатності перекрученого яєчка на основі тривалості симптомів та ступеня перекруту [5]. Для дітей пубертатного віку з перекрутом яєчка $<360^\circ$ тривалість симптомів є відносно великою. Високе післяопераційне виживання гонад є однією з клінічних особливостей дослідження, за даними Xiang Guo з співавт. [18]. Ризик втрати яєчка дуже високий, якщо є затримка в початковій діагностиці перекруту. Основною метою лікування гострого перекруту яєчка має бути запобігання втрати особисто яєчка, а не лікування симптомів [19], при цьому застосування ультразвукової доплерографії не повинно призводити до непотрібної затримки термінового хірургічного лікування із застосуванням деторсії та двобічної орхіопексії [20].

ВИСНОВКИ

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 з початку захворювання та більше).

Проведене нами комплексне морфологічне, в тому числі гістохімічне та імуногістохімічне дослідження гонад у дітей при гострому 6–12-годинному перекруті і ступені торсії $360\text{--}720^\circ$ дозволило отримати нові дані про характер змін, що виникають в умовах гострої ішемії, у клітинах сперматогенного епітелію, компонентах гематотестикулярного бар'єру, клітинах Лейдіга та Сертолі.

Ступінь тестикулярної торсії та тривалість симптомів є прогностичними факторами порятунку яєчка при епізодах перекруту. Якщо на межі 6–7 годин з початку захворювання ми спостерігали зворотні пошкодження тканин

майже у 100% препаратів, то у хворих з 12-годинним перекутом осередкові незворотні зміни у яечку були майже у 28,6% випадків. Ішемія характеризувалася осередковою загибеллю інкреторних (стероїдогенез) та екскреторних (сперматогенез) клітин яечка, сім'яні канальці здебільшого спостерігалися з тяжкими ушкодженнями сперматогенного епітелію. Проте деяка кількість клітин сперматогенного епітелію в сім'яних канальцях характеризувалася ШІК-позитивною реакцією на глікоген та глікопротеїни, що означало їх функціональну збереженість.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

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

REFERENCES

- Schick MA, Sternard BT. Testicular Torsion. [Updated 2022 Jun 21]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. Available on: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448199/>
- Lacy A, Smith A, Koefman A, Long B. High risk and low prevalence diseases: Testicular torsion. *Am J Emerg Med.* 2023; 66:98-104. DOI: 10.1016/j.ajem.2023.01.031.
- Palmer LS, Palmer JS. Management of abnormalities of the external genitalia in boys. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Partin AW, et al., editors. *Campbell-Walsh urology.* 11th ed. Philadelphia: Elsevier 2016; 3384-97.
- Sheth KR, Keays M, Grimsby GM, Granberg CF, Menon VS, DaJusta DG, Ostrov L, Hill M, Sanchez E, Kuppermann D, Harrison CB, Jacobs MA, Huang, Burgu B, Hennes H, Schlomer BJ, Baker LA. Diagnosing Testicular Torsion before Urological Consultation and Imaging: Validation of the TWIST Score. *J Urol.* 2016;195(6):1870-6. DOI: 10.1016/j.juro.2016.01.101.
- Howe AS, Vasudevan V, Kongnyuy M, Rychik K, Thomas LA, Matuskova M, Friedman SC, Gitlin JS, Reda EF, Palmer LS. Degree of twisting and duration of symptoms are prognostic factors of testis salvage during episodes of testicular torsion. *Transl Androl Urol.* 2017;6(6):1159-1166. DOI: 10.21037/tau.2017.09.10.
- Munden MM, Trautwein LM. Scrotal pathology in pediatrics with sonographic imaging. *Curr Probl Diagn Radiol.* 2000;29(6):185-205. DOI: 10.1016/s0363-0188(00)90013-6.
- Keays M, Rosenberg H. Testicular torsion. *CMAJ.* 2019;191(28): E792. DOI: 10.1503/cmaj.190158.
- Pogorelić Z, Mustapić K, Jukić M, Todorić J, Mrkljić 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.
- Веселий М.Ю., Веселий С.В. Рання реабілітація критичної ішемії яечка у дітей з його гострим перекутом. *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина.* 2021; Т. XI, 4 (42): 40-44. DOI: 10.24061/2413-4260.XI.4.42.2021.7.
- Lorenzo E, Derchi, Michele Bertolotto, Massimo Valentino, Alchiede Simonato. The Acute Scrotum. *Ultrasound Clinics.* 2013; 8 (4): 531-544. DOI: 10.1016/j.cult.2013.06.001.
- Alawamlh O.A.H, Flannigan R, Hayden R, Goldstein M, Li PS, Lee RK. Testicular Torsion and Spermatogenesis. In: Cheng, C., Sun, F. (eds) *Molecular Mechanisms in Spermatogenesis. Advances in Experimental Medicine and Biology,* 2021; 1381. DOI: 10.1007/978-3-030-77779-1_14.
- 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.
- 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.
- Martin HA, Noble M. Consideration of Testicular Torsion in Young Males with Abdominal Pain Is Essential: A Case Review. *J Emerg Nurs.* 2021;47(1):186-191. DOI: 10.1016/j.jen.2020.09.006.
- Yecies T, Bandari J, Schneck F, Cannon G. Direction of Rotation in Testicular Torsion, and Identification of Predictors of Testicular Salvage. *Urology.* 2018; 114:163-166. DOI: 10.1016/j.urology.2017.11.034.
- Sharp VJ, Kieran K, Arlen AM. Testicular torsion: diagnosis, evaluation, and management. *Am Fam Physician.* 2013;88(12):835-40.
- Wiener SL. Testicular Pain. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. *Clinical Methods: The*

- History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd ed. Boston: Butterworths; 1990. Chapter 186.
18. Guo X, Sun L, Lei W, Li S, Guo H. Management of testicular torsion <math><360^\circ</math> in children: a single-center, retrospective study. *J Int Med Res.* 2020;48(4):300060519895861. DOI: 10.1177/0300060519895861.
19. Kumar V, Matai P, Prabhu SP, Sundeept PT. Testicular Loss in Children Due to Incorrect Early Diagnosis of Torsion. *Clin Pediatr (Phila).* 2020;59(4-5):436-438. DOI: 10.1177/0009922820903037.
20. Estremadoyro V, Meyrat BJ, Birraux J, Vidal I, Sanchez O. Diagnostic et prise en charge de la torsion testiculaire chez l'enfant [Diagnosis and management of testicular torsion in children]. *Rev Med Suisse.* 2017;13(550):406-410.

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES AND IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE TESTICLE IN CHILDREN WITH SUBCOMPENSATED ISCHEMIA DURING ACUTE TORSION

¹Volos L.I., ²Gorbatyuk O.M., ²Veselyi M.Yu., ³Veselyi S.V., ⁴Lavrov D.V., ⁴Hladkiy O.P., ⁴Usenko T.V.

¹Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

²Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Ukraine

³Institute of urgent and recovery surgery named after V.K. Gusak, Kyiv, Ukraine

⁴Communal non-profit enterprise «Regional Territorial Medical Association of Kramatorsk», Ukraine

⁵Regional medical centre of family health, Dnipropetrovsk regional council, Dnipro, Ukraine

Liliya.volos@gmail.com

Background. Acute testicular torsion is a urological emergency in adolescent boys and young men characterized by twisting of the spermatic cord, along with its vessels, around a vertical or horizontal axis. The occurrence of this condition leads to testicular ischemia, and timely diagnosis and appropriate treatment are critical to prevent loss of the organ.

Aim: to investigate the histopathological changes and immunohistochemical characteristics of testicles in children with acute torsion within 6.1 to 12 hours from the onset of clinical symptoms.

Materials and methods. A histological, histochemical, and immunohistochemical study of testicular tissue biopsies taken during detorsion and orchiopexy surgery within 6.1 to 12 hours from the onset of clinical symptoms of acute unilateral torsion in 7 patients was conducted.

Results. According to our data, with each hour of the disease in the period from 6.1 to 12 hours after acute torsion of the testicle, negative dynamics of changes in the morphological structures of the affected genital gonad were observed. If at the limit of 6–7 hours from the onset of the disease, we observed reversible damage to testicular tissues in almost 100% of cases, then in patients with 12-hour torsion, irreversible focal changes in the testicle were diagnosed in almost 28,6% of cases. Morphological signs of loss of viability were focal death of incretory (steroidogenesis) and excretory (spermatogenesis) cells of the testis, severe damage to the spermatogenic epithelium of the seminiferous tubules. Morphologically, large hemorrhages and diffuse blood penetration of the interstitium, thrombi, single leukocytes were observed, pyknosis of the nuclei of the spermatogenic epithelium and desquamation of cells were determined, and deformed seminiferous tubules with their partial or complete devastation were diagnosed. In some histological slides, Leydig cells were absent or shadow cells were diagnosed, especially around devastated and necrotic tubules. However, a small number of cells of the spermatogenic epithelium in the seminiferous tubules were characterized by a PAS-positive reaction to glycogen and glycoproteins, which meant their functional preservation.

Conclusion. It was established that progressive morphological changes in the gonad develop with increasing time of acute complete testicular torsion. In patients with 12-hour torsion, irreversible focal changes in the testicle were diagnosed in almost 28,6% of cases, characterized by focal death of incretory (steroidogenesis) and excretory (spermatogenesis) cells of the testicle, damage to cells of the spermatogenic epithelium.

With the aim of unifying and systematizing pathological changes in the testicle by its torsion depending on the time since the onset of the disease, we propose to disintegrate testicular ischemia as compensated (the first 6 hours from the onset of the disease), subcompensated ischemia (6.1–12 hours from the onset of the disease) and critical ischemia (12.1–24 hours or more from the onset of the disease).

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