

# GEORGIAN MEDICAL NEWS

---

ISSN 1512-0112

№ 7-8 (280-281) Июль-Август 2018

---

ТБИЛИСИ - NEW YORK



ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Медицинские новости Грузии  
საქართველოს სამედიცინო სიახლენი

# GEORGIAN MEDICAL NEWS

**No 7-8 (280-281) 2018**

Published in cooperation with and under the patronage  
of the Tbilisi State Medical University

Издается в сотрудничестве и под патронажем  
Тбилисского государственного медицинского университета

გამოიცემა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტთან  
თანამშრომლობითა და მისი პატრონაჟით

**ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ  
ТБИЛИСИ - НЬЮ-ЙОРК**

**GMN: Georgian Medical News** is peer-reviewed, published monthly journal committed to promoting the science and art of medicine and the betterment of public health, published by the GMN Editorial Board and The International Academy of Sciences, Education, Industry and Arts (U.S.A.) since 1994. **GMN** carries original scientific articles on medicine, biology and pharmacy, which are of experimental, theoretical and practical character; publishes original research, reviews, commentaries, editorials, essays, medical news, and correspondence in English and Russian.

**GMN** is indexed in MEDLINE, SCOPUS, PubMed and VINITI Russian Academy of Sciences. The full text content is available through EBSCO databases.

**GMN: Медицинские новости Грузии** - ежемесячный рецензируемый научный журнал, издаётся Редакционной коллегией и Международной академией наук, образования, искусств и естествознания (IASEIA) США с 1994 года на русском и английском языках в целях поддержки медицинской науки и улучшения здравоохранения. В журнале публикуются оригинальные научные статьи в области медицины, биологии и фармации, статьи обзорного характера, научные сообщения, новости медицины и здравоохранения.

Журнал индексируется в MEDLINE, отражён в базе данных SCOPUS, PubMed и ВИНТИ РАН. Полнотекстовые статьи журнала доступны через БД EBSCO.

**GMN: Georgian Medical News** – საქართველოს სამედიცინო სიახლენი – არის ყოველთვიური სამეცნიერო სამედიცინო რეცენზირებადი ჟურნალი, გამოიცემა 1994 წლიდან, წარმოადგენს სარედაქციო კოლეგიისა და აშშ-ის მეცნიერების, განათლების, ინდუსტრიის, ხელოვნებისა და ბუნებისმეტყველების საერთაშორისო აკადემიის ერთობლივ გამოცემას. GMN-ში რუსულ და ინგლისურ ენებზე ქვეყნდება ექსპერიმენტული, თეორიული და პრაქტიკული ხასიათის ორიგინალური სამეცნიერო სტატიები მედიცინის, ბიოლოგიისა და ფარმაციის სფეროში, მიმოხილვითი ხასიათის სტატიები.

ჟურნალი ინდექსირებულია MEDLINE-ის საერთაშორისო სისტემაში, ასახულია SCOPUS-ის, PubMed-ის და ВИНТИ РАН-ის მონაცემთა ბაზებში. სტატიების სრული ტექსტი ხელმისაწვდომია EBSCO-ს მონაცემთა ბაზებიდან.

## **МЕДИЦИНСКИЕ НОВОСТИ ГРУЗИИ**

Ежемесячный совместный грузино-американский научный электронно-печатный журнал  
Агентства медицинской информации Ассоциации деловой прессы Грузии,  
Академии медицинских наук Грузии, Международной академии наук, индустрии,  
образования и искусств США.  
Издается с 1994 г., распространяется в СНГ, ЕС и США

### **НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР**

Лаури Манагадзе

### **ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР**

Нино Микаберидзе

### **ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА**

Николай Пирцхалаишвили

### **НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ**

**Зураб Вадачкориа - председатель Научно-редакционного совета**

Михаил Бахмутский (США), Александр Геннинг (Германия), Амиран Гамкрелидзе (Грузия),  
Константин Кипиани (Грузия), Георгий Камкамидзе (Грузия),  
Паата Куртанидзе (Грузия), Вахтанг Масхулия (Грузия), Тамара Микаберидзе (Грузия),  
Тенгиз Ризнис (США), Реваз Сепиашвили (Грузия), Дэвид Элуа (США)

### **НАУЧНО-РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ**

**Лаури Манагадзе - председатель Научно-редакционной коллегии**

Архимандрит Адам - Вахтанг Ахаладзе, Амиран Антадзе, Нелли Антелава, Тенгиз Асатиани,  
Гия Берадзе, Рима Бериашвили, Лео Бокерия, Отар Герзмава, Лиана Гогиашвили, Нодар Гогебашвили,  
Николай Гонгадзе, Лия Дваладзе, Манана Жвания, Ирина Квачадзе,  
Нана Квирквелия, Зураб Кеванишвили, Гурам Кикнадзе, Палико Кинтраиа, Теймураз Лежава,  
Джанлуиджи Мелотти, Караман Пагава, Мамука Пирцхалаишвили, Анна Рехвиашвили,  
Кеннет Уолкер, Рамаз Хецуриани, Рудольф Хохенфеллнер, Кахабер Челидзе,  
Тинатин Чиковани, Арчил Чхотуа, Рамаз Шенгелия

Website:

[www.geomednews.org](http://www.geomednews.org)

The International Academy of Sciences, Education, Industry & Arts. P.O.Box 390177,  
Mountain View, CA, 94039-0177, USA. Tel/Fax: (650) 967-4733

**Версия:** печатная. **Цена:** свободная.

**Условия подписки:** подписка принимается на 6 и 12 месяцев.

**По вопросам подписки обращаться по тел.: 293 66 78.**

**Контактный адрес:** Грузия, 0177, Тбилиси, ул. Асатиани 7, III этаж, комната 313  
тел.: 995(32) 254 24 91, 995(32) 222 54 18, 995(32) 253 70 58

Fax: +995(32) 253 70 58, e-mail: [ninomikaber@hotmail.com](mailto:ninomikaber@hotmail.com); [nikopir@dgmholding.com](mailto:nikopir@dgmholding.com)

**По вопросам размещения рекламы обращаться по тел.: 5(99) 97 95 93**

© 2001. Ассоциация деловой прессы Грузии

© 2001. The International Academy of Sciences,  
Education, Industry & Arts (USA)

## **GEORGIAN MEDICAL NEWS**

Monthly Georgia-US joint scientific journal published both in electronic and paper formats of the Agency of Medical Information of the Georgian Association of Business Press; Georgian Academy of Medical Sciences; International Academy of Sciences, Education, Industry and Arts (USA).

Published since 1994. Distributed in NIS, EU and USA.

### **SCIENTIFIC EDITOR**

Lauri Managadze

### **EDITOR IN CHIEF**

Nino Mikaberidze

### **DEPUTY CHIEF EDITOR**

Nicholas Pirtskhalaishvili

### **SCIENTIFIC EDITORIAL COUNCIL**

#### **Zurab Vadachkoria - Head of Editorial council**

Michael Bakhmutsky (USA), Alexander Gënning (Germany),  
Amiran Gamkrelidze (Georgia), David Elua (USA), Konstantin Kipiani (Georgia),  
Giorgi Kamkamidze (Georgia), Paata Kurtanidze (Georgia),  
Vakhtang Maskhulia (Georgia), Tamara Mikaberidze (Georgia), Tengiz Riznis (USA),  
Revaz Sepiashvili (Georgia)

### **SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD**

#### **Lauri Managadze - Head of Editorial board**

Archimandrite Adam - Vakhtang Akhaladze, Amiran Antadze, Nelly Antelava,  
Tengiz Asatiani, Gia Beradze, Rima Beriashvili, Leo Bokeria, Kakhaber Chelidze,  
Tinatin Chikovani, Archil Chkhotua, Lia Dvaladze, Otar Gerzmava, Liana Gogiashvili,  
Nodar Gogebashvili, Nicholas Gongadze, Rudolf Hohenfellner, Zurab Kevanishvili,  
Ramaz Khetsuriani, Guram Kiknadze, Paliko Kintraia, Irina Kvachadze, Nana Kvirkvelia,  
Teymuraz Lezhava, Gianluigi Melotti, Kharaman Pagava, Mamuka Pirtskhalaishvili,  
Anna Rekhviashvili, Ramaz Shengelia, Kenneth Walker, Manana Zhvania

### **CONTACT ADDRESS IN TBILISI**

GMN Editorial Board  
7 Asatiani Street, 3<sup>th</sup> Floor  
Tbilisi, Georgia 0177

Phone: 995 (32) 254-24-91  
995 (32) 222-54-18  
995 (32) 253-70-58  
Fax: 995 (32) 253-70-58

### **CONTACT ADDRESS IN NEW YORK**

NINITEX INTERNATIONAL, INC.  
3 PINE DRIVE SOUTH  
ROSLYN, NY 11576 U.S.A.

Phone: +1 (917) 327-7732

### **WEBSITE**

[www.geomednews.org](http://www.geomednews.org)

## К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ!

При направлении статьи в редакцию необходимо соблюдать следующие правила:

1. Статья должна быть представлена в двух экземплярах, на русском или английском языках, напечатанная через **полтора интервала на одной стороне стандартного листа с шириной левого поля в три сантиметра**. Используемый компьютерный шрифт для текста на русском и английском языках - **Times New Roman (Кириллица)**, для текста на грузинском языке следует использовать **AcadNusx**. Размер шрифта - **12**. К рукописи, напечатанной на компьютере, должен быть приложен CD со статьей.

2. Размер статьи должен быть не менее десяти и не более двадцати страниц машинописи, включая указатель литературы и резюме на английском, русском и грузинском языках.

3. В статье должны быть освещены актуальность данного материала, методы и результаты исследования и их обсуждение.

При представлении в печать научных экспериментальных работ авторы должны указывать вид и количество экспериментальных животных, применявшиеся методы обезболивания и усыпления (в ходе острых опытов).

4. К статье должны быть приложены краткое (на полстраницы) резюме на английском, русском и грузинском языках (включающее следующие разделы: цель исследования, материал и методы, результаты и заключение) и список ключевых слов (key words).

5. Таблицы необходимо представлять в печатной форме. Фотокопии не принимаются. **Все цифровые, итоговые и процентные данные в таблицах должны соответствовать таковым в тексте статьи.** Таблицы и графики должны быть озаглавлены.

6. Фотографии должны быть контрастными, фотокопии с рентгенограмм - в позитивном изображении. Рисунки, чертежи и диаграммы следует озаглавить, пронумеровать и вставить в соответствующее место текста **в tiff формате**.

В подписях к микрофотографиям следует указывать степень увеличения через окуляр или объектив и метод окраски или импрегнации срезов.

7. Фамилии отечественных авторов приводятся в оригинальной транскрипции.

8. При оформлении и направлении статей в журнал МНГ просим авторов соблюдать правила, изложенные в «Единых требованиях к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», принятых Международным комитетом редакторов медицинских журналов -

<http://www.spinesurgery.ru/files/publish.pdf> и [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

В конце каждой оригинальной статьи приводится библиографический список. В список литературы включаются все материалы, на которые имеются ссылки в тексте. Список составляется в алфавитном порядке и нумеруется. Литературный источник приводится на языке оригинала. В списке литературы сначала приводятся работы, написанные знаками грузинского алфавита, затем кириллицей и латиницей. Ссылки на цитируемые работы в тексте статьи даются в квадратных скобках в виде номера, соответствующего номеру данной работы в списке литературы. Большинство цитированных источников должны быть за последние 5-7 лет.

9. Для получения права на публикацию статья должна иметь от руководителя работы или учреждения визу и сопроводительное отношение, написанные или напечатанные на бланке и заверенные подписью и печатью.

10. В конце статьи должны быть подписи всех авторов, полностью приведены их фамилии, имена и отчества, указаны служебный и домашний номера телефонов и адреса или иные координаты. Количество авторов (соавторов) не должно превышать пяти человек.

11. Редакция оставляет за собой право сокращать и исправлять статьи. Корректур авторам не высылаются, вся работа и сверка проводится по авторскому оригиналу.

12. Недопустимо направление в редакцию работ, представленных к печати в иных издательствах или опубликованных в других изданиях.

**При нарушении указанных правил статьи не рассматриваются.**

## REQUIREMENTS

Please note, materials submitted to the Editorial Office Staff are supposed to meet the following requirements:

1. Articles must be provided with a double copy, in English or Russian languages and typed or computer-printed on a single side of standard typing paper, with the left margin of **3** centimeters width, and **1.5** spacing between the lines, typeface - **Times New Roman (Cyrillic)**, print size - **12** (referring to Georgian and Russian materials). With computer-printed texts please enclose a CD carrying the same file titled with Latin symbols.

2. Size of the article, including index and resume in English, Russian and Georgian languages must be at least 10 pages and not exceed the limit of 20 pages of typed or computer-printed text.

3. Submitted material must include a coverage of a topical subject, research methods, results, and review.

Authors of the scientific-research works must indicate the number of experimental biological species drawn in, list the employed methods of anesthetization and soporific means used during acute tests.

4. Articles must have a short (half page) abstract in English, Russian and Georgian (including the following sections: aim of study, material and methods, results and conclusions) and a list of key words.

5. Tables must be presented in an original typed or computer-printed form, instead of a photocopied version. **Numbers, totals, percentile data on the tables must coincide with those in the texts of the articles.** Tables and graphs must be headed.

6. Photographs are required to be contrasted and must be submitted with doubles. Please number each photograph with a pencil on its back, indicate author's name, title of the article (short version), and mark out its top and bottom parts. Drawings must be accurate, drafts and diagrams drawn in Indian ink (or black ink). Photocopies of the X-ray photographs must be presented in a positive image in **tiff format**.

Accurately numbered subtitles for each illustration must be listed on a separate sheet of paper. In the subtitles for the microphotographs please indicate the ocular and objective lens magnification power, method of coloring or impregnation of the microscopic sections (preparations).

7. Please indicate last names, first and middle initials of the native authors, present names and initials of the foreign authors in the transcription of the original language, enclose in parenthesis corresponding number under which the author is listed in the reference materials.

8. Please follow guidance offered to authors by The International Committee of Medical Journal Editors guidance in its Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals publication available online at: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)  
[http://www.icmje.org/urm\\_full.pdf](http://www.icmje.org/urm_full.pdf)

In GMN style for each work cited in the text, a bibliographic reference is given, and this is located at the end of the article under the title "References". All references cited in the text must be listed. The list of references should be arranged alphabetically and then numbered. References are numbered in the text [numbers in square brackets] and in the reference list and numbers are repeated throughout the text as needed. The bibliographic description is given in the language of publication (citations in Georgian script are followed by Cyrillic and Latin).

9. To obtain the rights of publication articles must be accompanied by a visa from the project instructor or the establishment, where the work has been performed, and a reference letter, both written or typed on a special signed form, certified by a stamp or a seal.

10. Articles must be signed by all of the authors at the end, and they must be provided with a list of full names, office and home phone numbers and addresses or other non-office locations where the authors could be reached. The number of the authors (co-authors) must not exceed the limit of 5 people.

11. Editorial Staff reserves the rights to cut down in size and correct the articles. Proof-sheets are not sent out to the authors. The entire editorial and collation work is performed according to the author's original text.

12. Sending in the works that have already been assigned to the press by other Editorial Staffs or have been printed by other publishers is not permissible.

**Articles that Fail to Meet the Aforementioned  
Requirements are not Assigned to be Reviewed.**

## ავტორთა საქმრადლებოლ!

რედაქციაში სტატიის წარმოდგენისას საჭიროა დავიცვათ შემდეგი წესები:

1. სტატია უნდა წარმოადგინოთ 2 ცალად, რუსულ ან ინგლისურ ენებზე, დაბეჭდილი სტანდარტული ფურცლის 1 გვერდზე, 3 სმ სიგანის მარცხენა ველისა და სტრიქონებს შორის 1,5 ინტერვალის დაცვით. გამოყენებული კომპიუტერული შრიფტი რუსულ და ინგლისურენოვან ტექსტებში - **Times New Roman (Кириллица)**, ხოლო ქართულენოვან ტექსტში საჭიროა გამოვიყენოთ **AcadNusx**. შრიფტის ზომა – 12. სტატიას თან უნდა ახლდეს CD სტატიით.

2. სტატიის მოცულობა არ უნდა შეადგენდეს 10 გვერდზე ნაკლებს და 20 გვერდზე მეტს ლიტერატურის სიის და რეზიუმეების (ინგლისურ, რუსულ და ქართულ ენებზე) ჩათვლით.

3. სტატიაში საჭიროა გაშუქდეს: საკითხის აქტუალობა; კვლევის მიზანი; საკვლევი მასალა და გამოყენებული მეთოდები; მიღებული შედეგები და მათი განსჯა. ექსპერიმენტული ხასიათის სტატიების წარმოდგენისას ავტორებმა უნდა მიუთითონ საექსპერიმენტო ცხოველების სახეობა და რაოდენობა; გაუტკივარებისა და დაძინების მეთოდები (მწვავე ცდების პირობებში).

4. სტატიას თან უნდა ახლდეს რეზიუმე ინგლისურ, რუსულ და ქართულ ენებზე არანაკლებ ნახევარი გვერდის მოცულობისა (სათაურის, ავტორების, დაწესებულების მითითებით და უნდა შეიცავდეს შემდეგ განყოფილებებს: მიზანი, მასალა და მეთოდები, შედეგები და დასკვნები; ტექსტუალური ნაწილი არ უნდა იყოს 15 სტრიქონზე ნაკლები) და საკვანძო სიტყვების ჩამონათვალი (key words).

5. ცხრილები საჭიროა წარმოადგინოთ ნაბეჭდი სახით. ყველა ციფრული, შემავსებელი და პროცენტული მონაცემები უნდა შეესაბამებოდეს ტექსტში მოყვანილს.

6. ფოტოსურათები უნდა იყოს კონტრასტული; სურათები, ნახაზები, დიაგრამები - დასათაურებული, დანომრილი და სათანადო ადგილას ჩასმული. რენტგენოგრაფიის ფოტოსურათები წარმოადგინეთ პოზიტიური გამოსახულებით **tiff** ფორმატში. მიკროფოტოსურათების წარწერებში საჭიროა მიუთითოთ ოკულარის ან ობიექტივის საშუალებით გადიდების ხარისხი, ანათალების შედეგების ან იმპრეგნაციის მეთოდი და აღნიშნოთ სურათის ზედა და ქვედა ნაწილები.

7. სამამულო ავტორების გვარები სტატიაში აღინიშნება ინიციალების თანდართვით, უცხოურისა – უცხოური ტრანსკრიპციით.

8. სტატიას თან უნდა ახლდეს ავტორის მიერ გამოყენებული სამამულო და უცხოური შრომების ბიბლიოგრაფიული სია (ბოლო 5-8 წლის სიღრმით). ანბანური წყობით წარმოდგენილ ბიბლიოგრაფიულ სიაში მიუთითეთ ჯერ სამამულო, შემდეგ უცხოელი ავტორები (გვარი, ინიციალები, სტატიის სათაური, ჟურნალის დასახელება, გამოცემის ადგილი, წელი, ჟურნალის №, პირველი და ბოლო გვერდები). მონოგრაფიის შემთხვევაში მიუთითეთ გამოცემის წელი, ადგილი და გვერდების საერთო რაოდენობა. ტექსტში კვადრატულ ფხიხლებში უნდა მიუთითოთ ავტორის შესაბამისი N ლიტერატურის სიის მიხედვით. მიზანშეწონილია, რომ ციტირებული წყაროების უმეტესი ნაწილი იყოს 5-6 წლის სიღრმის.

9. სტატიას თან უნდა ახლდეს: ა) დაწესებულების ან სამეცნიერო ხელმძღვანელის წარდგინება, დამოწმებული ხელმოწერითა და ბეჭდით; ბ) დარგის სპეციალისტის დამოწმებული რეცენზია, რომელშიც მითითებული იქნება საკითხის აქტუალობა, მასალის საკმაობა, მეთოდის სანდოობა, შედეგების სამეცნიერო-პრაქტიკული მნიშვნელობა.

10. სტატიის ბოლოს საჭიროა ყველა ავტორის ხელმოწერა, რომელთა რაოდენობა არ უნდა აღემატებოდეს 5-ს.

11. რედაქცია იტოვებს უფლებას შეასწოროს სტატია. ტექსტზე მუშაობა და შეჯერება ხდება საავტორო ორიგინალის მიხედვით.

12. დაუშვებელია რედაქციაში ისეთი სტატიის წარდგენა, რომელიც დასაბეჭდად წარდგენილი იყო სხვა რედაქციაში ან გამოქვეყნებული იყო სხვა გამოცემებში.

აღნიშნული წესების დარღვევის შემთხვევაში სტატიები არ განიხილება.

Содержание:

|                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Gurgenidze M., Datuashvili G.</b><br>DESARDA TECHNIQUE FOR INGUINAL HERNIA REPAIR .....                                                                                                                                             | 7  |
| <b>Костюк К.Р., Ломадзе В.Л., Васильев Н.С.</b><br>ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА<br>С ЛЕВОДОПА-ВЫЗВАННЫМИ ДВИГАТЕЛЬНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ .....                                                                                | 11 |
| <b>Идрисова Л.Э., Солопова А.Г., Савченко А.А., Макацария А.Д., Чуканова Е.М., Алипов В.И., Капанадзе Д.Л.</b><br>РЕАБИЛИТАЦИЯ ПОСЛЕ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ .....                                                       | 17 |
| <b>Karalashvili L., Mardaleishvili K., Uhryn M., Chakhunashvili D., Kakabadze Z.</b><br>CURRENT CONDITION AND CHALLENGES IN TREATMENT<br>OF NON-HEALING WOUND AFTER RADIATION THERAPY (REVIEW) .....                                   | 23 |
| <b>Оразбаев Б.А., Джирзановский Т., Буkenov A.M., Мусулманбеков К.Ж.</b><br>ЛЕЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ФОРМ РАКА ГРУДНОГО ОТДЕЛА ПИЩЕВОДА .....                                                                                          | 29 |
| <b>Гевкалюк Н.А., Сидярук Н.И., Пында М.Я., Пудяк В.Е., Крупей В.Я.</b><br>СОСТОЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ<br>ПОЛОСТИ РТА ПРИ ГРИППОЗНОМ СТОМАТИТЕ У ДЕТЕЙ<br>В КОНЦЕПЦИИ ОБЩНОСТИ МАЛТ-СИСТЕМЫ .....      | 34 |
| <b>Накудашвили З.К., Барбакадзе И.Дж., Мачавариани М.Г., Енукидзе М.Г., Делибашвили Д.Г., Саникидзе Т.В.</b><br>СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ<br>ДЛЯ ЗУБНОГО ПРОТЕЗИРОВАНИЯ НА МОДЕЛЯХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ..... | 41 |
| <b>Kostiuk T., Koval Ie., Tyshko D., Koval M.</b><br>ANALYSIS OF DIAGNOSTICS AND NEWEST PATHOGENESIS ASPECTS<br>OF TEMPOROMANDIBULAR DYSFUNCTION (REVIEW) .....                                                                        | 44 |
| <b>Jaroshevskiy O., Logvinenko A., Morozova O., Lipinskaya Y.</b><br>FEATURES OF HEMODYNAMICS IN VERTEBROBASILAR ARTERIAL SYSTEM IN YOUNG PEOPLE,<br>DEPENDING ON BIOMECHANICAL DISORDERS OF THE MUSCULOSKELETAL SYSTEM .....          | 48 |
| <b>Ханюков А.А., Егудина Е.Д., Калашникова О.С., Сапожниченко Л.В.</b><br>ВЕДЕНИЕ ПАЦИЕНТОК С СИСТЕМОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ В ПРЕГЕСТАЦИОННЫЙ<br>И АНТЕНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОДЫ: ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЯ (ОБЗОР) .....                             | 54 |
| <b>Симонидзе В.Г., Самушия О.С., Гоксадзе М.Д.</b><br>АНАЛИЗ КОГНИТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ ПРИ РАЗНЫХ<br>КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМАХ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА .....                                                                                         | 61 |
| <b>Chachia L., Tkeshelashvili B., Gagaa T., Tananashvili D., Gagaa D.</b><br>THE PREVALENCE OF HIRSUTISM AND ETHNICAL PECULIARITIES OF HAIR DISTRIBUTION<br>IN GEORGIAN ADOLESCENT POPULATION IN TBILISI .....                         | 64 |
| <b>Toidze M., Tabagari S., Talakvadze T., Tvildiani L., Pkhakadze G., Tabagari-Bregvadze N.</b><br>IMPACT OF SOCIOECONOMIC STATUS ON CARDIOVASCULAR RISK IN GEORGIAN POPULATION .....                                                  | 68 |
| <b>Kapustnik V., Kostuyk I., Shelest B., Brek V., Sukhonos N.</b><br>INFLUENCE OF LEFT VENTRICULAR DIASTOLIC DYSFUNCTION AND HEART DYSSYNCHRONY<br>ON THE COURSE OF ARTERIAL HYPERTENSION WITH COMORBID PATHOLOGY .....                | 75 |
| <b>Tatishvili S., Sinita M., Jorbenadze R., Kavtaradze G., Gordeladze D.</b><br>GENDER SPECIFIC DIFFERENCES IN REPORTING DEPRESSIVE SYMPTOMS AMONG PATIENTS<br>HOSPITALIZED WITH ACUTE CORONARY SYNDROME .....                         | 80 |
| <b>Hvozdetzka M., Kozko V., Yurko K., Gavrylov A., Solomennyyk A.</b><br>FACTORS AFFECTING THE FATAL OUTCOME IN HIV-INFECTED PATIENTS<br>WITH ENCEPHALITIS .....                                                                       | 85 |
| <b>Sharikadze O., Zubchenko S., Maruniak S., Yuriev S.</b><br>INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECTS OF SYNBIOTICS ON ALLERGOPATHY FORMATION .....                                                                                        | 90 |
| <b>Lytvynets L.</b><br>CHROMOSOMAL INSTABILITY AS A CYTOGENETIC MARKER<br>IN CHILDREN WITH VARYING DEGREES OF CONTROL OF ASTHMA .....                                                                                                  | 94 |
| <b>Sorokman T., Sokolnyk S., Popelyuk O., Makarova O., Kopchuk T.</b><br>BIOMARKERS OF RENAL INJURY RISK IN CHILDREN WITH PYELONEPHRITIS .....                                                                                         | 98 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Mikeladze T., Zhorzholiani L., Saginadze L., Arveladze G., Sulaberidze I.</b><br>ASTHMA PREDICTIVE INDEX AND NITRIC OXIDE PROGNOSTIC VALUE<br>IN YOUNG CHILDREN WITH RECURRENT WHEEZING .....                                                                                                            | 104 |
| <b>Джамединова У.С.</b><br>АНАЛИЗ СОЦИАЛЬНО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА НЕДОНОШЕННОСТИ НОВОРОЖДЕННЫХ<br>ПО МАТЕРИАЛАМ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН .....                                                                                                                                                         | 107 |
| <b>Bukia N., Butskhrikidze M., Machavariani L., Kekelia G., Svanidze M.</b><br>POSSIBLE IMPLEMENTATION OF GABAergic AND GLUTAMATERGIC SYSTEMS<br>IN REALIZATION OF ANTIEPILEPTIC EFFECTS<br>OF ACOUSTIC RANGE ELECTRO – MAGNETIC FIELDS .....                                                               | 112 |
| <b>Чхандзе З.А., Шенгелия О.С., Пилишвили О.Д., Ходели Н.Г.</b><br>СОХРАНЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ОРГАНОВ ПОСРЕДСТВОМ<br>АППАРАТА ИСКУССТВЕННОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ У ДОНОРОВ<br>С НЕБЬЮЩИМСЯ СЕРДЦЕМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) .....                                                                                     | 116 |
| <b>Tsagareli N., Tsiklauri N., Kvachadze I., Tsagareli M.</b><br>ANTINOCICEPTIVE TOLERANCE TO NSAIDS PARTIALLY MEDIATED<br>VIA ENDOCANNABINOIDS IN ANTERIOR CINGULATE CORTEX OF RATS .....                                                                                                                  | 120 |
| <b>Bagmut I., Kolisnyk I., Titkova A., Petrenko T., Filipchenko S.</b><br>CONTENT OF CATECHOLAMINES IN BLOOD SERUM OF RATS UNDER FLUORIDE INTOXICATION .....                                                                                                                                                | 125 |
| <b>Тусупбекова М.М., Абатов Н.Т., Абуғалиев К.Р., Абатова А.Н., Альбертон И.Н., Асамиданов Е.М., Мусабеков И.К.</b><br>МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ЗОНЕ КОНТАКТА РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ИМПЛАНТАТОВ<br>И ТКАНИ ПОЧКИ КРЫС НА РАННИХ СРОКАХ ЭКСПЕРИМЕНТА .....                                                        | 129 |
| <b>Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.</b><br>THE ROLE OF TRANSIENT RECEPTOR POTENTIAL (trpa1) CHANNEL IN PRURITUS .....                                                                                                                                                                   | 134 |
| <b>Yurko K., Kozko V., Solomennik A., Bondar O., Sokhan A., Gavrylov A.</b><br>THE ROLE OF POLYMORPHISM ASP299GLY OF THE GENE TLR 4<br>IN PATIENTS CO-INFECTED WITH HIV/HCV .....                                                                                                                           | 138 |
| <b>Буркитбаев Ж.К., Абдрахманова С.А., Имашпаев Д.М., Утеулиев Е.С., Мырзагулова А.О., Сактапов А.К.</b><br>СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА HLA-АЛЛЕЛЕЙ ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН<br>И МИРОВОЙ БАЗЫ ДАННЫХ "ALLELE FREQUENCIES IN WORLD POPULATIONS" .....                                                          | 141 |
| <b>Gvishiani M., Gabunia L., Makharadze T., Gongadze N.</b><br>NICORANDIL EFFICACY IN THE TREATMENT OF ISCHEMIC HEART DISEASE (REVIEW) .....                                                                                                                                                                | 152 |
| <b>Dusyk A., Vernygorodskiy S., Golubovsky I., Hryhorenko A., Slobodian O.</b><br>IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS OF THE INDUCIBLE AND ENDOTHELIAL FRACTIONS<br>OF NO-SYNTHASE IN THE INTENSTINAL MUCOSA OF COLO-COLONIC ANASTOMOSIS UNDER INFLUENCE<br>OF CHRONIC STRESS AND THIOTRIAZOLINE APPLICATION ..... | 155 |
| <b>Lisnychuk N., Soroka Yu., Andriychuk I., Nebesna Z., Volkov K.</b><br>HISTOLOGICAL CHANGES IN SPLEEN UNDER CONDITIONS OF TOXIC CARCINOGENESIS .....                                                                                                                                                      | 160 |
| <b>Tsereteli M., Sidamonidze K., Tsereteli D., Malania L., Vashakidze E.</b><br>EPIDEMIOLOGY OF CARBAPENEM-RESISTANT KLEBSIELLA PNEUMONIAE IN<br>INTENSIVE CARE UNITS OF MULTIPROFILE HOSPITALS IN TBILISI, GEORGIA .....                                                                                   | 164 |
| <b>Goncharova A., Pavlov S., Kumetchko M., Berezniakova M., Yeriomenko R.</b><br>INTERACTIONS OF RANKL, OSTEOPROTEGERIN AND ADIPOKINES IN REGULATION<br>OF BONE REMODELING IN EXPERIMENTAL CHRONIC KIDNEY FUNCTION DISORDER .....                                                                           | 168 |
| <b>Belenichev I., Gorchakova N., Puzyrenko A., Kovalenko S., Bukhtiyayrova N.</b><br>SYNTHESIS OF THE NEW 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl) ACETIC ACID<br>DERIVATIVES AND ANALYSIS OF THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY<br>IN NITROSATIVE STRESS MODELS .....                        | 173 |
| <b>Толочко В.М., Адонкина В.Ю., Вакуленко Д.В., Музыка Т.Ф.</b><br>СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ<br>НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ РЫНКЕ УКРАИНЫ, РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ,<br>РЕСПУБЛИК БЕЛАРУСЬ И КАЗАХСТАН .....                                                              | 178 |
| <b>Наурзалиева А.Д., Рахыпбеков Т.К.</b><br>ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДОВ ОПЛАТЫ СТАЦИОНАРНОЙ<br>МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН .....                                                                                                                                                             | 183 |

## HAYKA

### DESARDA TECHNIQUE FOR INGUINAL HERNIA REPAIR

Gurgenidze M., Datuashvili G.

*Tbilisi State Medical University, The First University Clinic, Department of General Surgery; Department of Surgery № I, Georgia*

Worldwide, more than 20 million patients undergo inguinal hernia repair annually. The estimated lifetime risk for inguinal hernia is 27% for men and 3% for women [11]. Annual morbidity rates in various countries vary from 100 to 300 per 100,000 citizens [4]. During many years there are suggested huge amount of methods of hernioplasty. In the EHS guidelines, mesh-based techniques and endoscopic methods are recommended for treatment of symptomatic primary inguinal hernia in adult men. Shouldice method has been acknowledged to be acceptable as well [14]. In spite of this inguinal hernias with their high frequency in the whole world remain an important medical problem [15].

The problem of our age is to find an operation that is simple, does not require implantation of a foreign body like mesh and does not produce major complications during or after surgery. The aim of our study is to present a method of such a hernioplasty that provides treatment of inguinal hernias with the above-mentioned advantages. Desarda repair is based on the concept of providing a strong, mobile, and physiologically dynamic posterior wall. [5].

**Material and methods.** We represent 118 male patients who underwent hernioplasty by Desarda method between 2008 and 2017. Patients undergoing both elective and emergency surgery were included in the study. Informed consent was obtained from each patient before surgery. 84 were elective and 34 – acute patients, respectively. Hernias in 26 cases were direct, 88 – indirect. Among elective cases 2 patients had bilateral hernia. In both cases was performed hernioplasty by Desarda bilaterally. 2 elective patients had recurrent hernia. There were 12 scrotal hernias, 2 - sliding hernia. In 1 acute case there was necrosis of incarcerated intestinal loop and acute intestinal obstruction. Intestinal resection with side to side anastomosis was performed. Except of this case, in all other cases there were used spinal anesthesia (Table 1).

The age of patients was from 18 to 86 years. 33 patients were aged 70 and over. Among these 33 patients 12 had severe comorbidity of circulatory, respiratory systems and/or other diseases (Table 2).

Skin and fascia are incised through a regular oblique inguinal incision to expose the external oblique aponeurosis. The thin, filmy fascial layer covering it is kept undisturbed as far as possible. The external oblique is cut in line with the upper crux of the superficial ring, which leaves the thinned out portion in the lower leaf so a good strip can be taken from the upper leaf. The external oblique, which is thinned out as a result of aging or long standing large hernias, can also be used for repair if it is able to hold the interrupted sutures. The spermatic cord together with the cremasteric muscle is separated from the inguinal floor. The sac is excised except in small hernias where it is inverted. The medial leaf of the external oblique aponeurosis is sutured with the inguinal ligament from the pubic tubercle to the abdominal ring using 1/0 monofilament polyamide or polypropylene interrupted

sutures. The first two sutures are taken in the anterior rectus sheath where it joins the external oblique aponeurosis. The last suture is taken so as to narrow the abdominal ring sufficiently without constricting the spermatic cord. A splitting incision is made in this sutured medial leaf, partially separating a strip with a width equivalent to the gap between the muscle arch and the inguinal ligament but not more than 2 cms. This splitting incision is extended medially up to the pubic symphysis and laterally 1-2 cms beyond the internal ring. The upper free border of the strip is now sutured to the internal oblique or conjoint muscle lying close to it with interrupted sutures throughout its length with the same thread. The spermatic cord is placed in the inguinal canal and the lateral leaf of the external oblique is sutured to the newly formed medial leaf of the external oblique in front of the cord. This is followed by closure of the superficial fascia and the skin as usual.

Table 1. Patient characteristic

| Factor                         | Number of patients    |
|--------------------------------|-----------------------|
| Age:                           |                       |
| <20                            | 3 (2.5%)              |
| 20-29                          | 5 (4.2%)              |
| 30-39                          | 11 (9.3%)             |
| 40-49                          | 18 (15.3%)            |
| 50-59                          | 22 (18.6%)            |
| 60-69                          | 26 (22%)              |
| 70<                            | 33 (28%)              |
| Acute                          | 34 (28.8%)            |
| Elective                       | 84 (71.2%)            |
| Direct/among them 2 sliding    | 26 (22%)/2 (1.7%)     |
| Indirect/among them 12 scrotal | 88 (74.6%)/12 (10.2%) |
| Bilateral                      | 2 (1.7%)              |
| Recurrence                     | 2 (1.7%)              |
| BMI                            |                       |
| Normal (20-25)                 | 42 (35.6%)            |
| Overweight (26-29)             | 61 (51.7%)            |
| Obese (30-34)                  | 12 (10.2%)            |
| Morbid obese (>35)             | 3 (2.5%)              |
| Duration of hernia (months)    |                       |
| <60                            | 71 (60.2%)            |
| >60                            | 47 (39.8%)            |
| Total                          | 118 (100%)            |

We evaluated mean operating time, pain, rate and severity of postoperative complications, mean hospital stay, recurrence rate. Mean follow up period in 24% of patients was 5 years, in 42% - 3 year postoperatively. Pain was measured using the visual analog scale (VAS) with 0-30 mm signifying mild pain, 31-60 mm moderate pain, 61-90 severe pain and 91-100 excruciating pain.

Table 2. Elderly and senile patients comorbidity

| Comorbidity                                  | Number of patients |
|----------------------------------------------|--------------------|
| Diabetes mellitus                            | 4* (12.1%)         |
| Hypertonic disease                           | 6* (5%)            |
| Cardiac ischemia                             | 2 (1.7%)           |
| Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) | 3 (2.5%)           |
| Cerebrovascular disorders                    | 5* (4.2%)          |
| Total                                        | 33 (100%)          |

\* - 8 patients had 2 or more concomitant diseases

Mean operating time was 42.43±2.8 min. There were no intra-operative complications. Postoperative pain according to VAS (Mean ± SD) on day 1 was 31.27±0.86. The quantum of pain reduced significantly and patients complained of a slight discomfort rather than any pain by day 3 except one patient with simultaneous resection of the small intestine who had moderate pain. No patient had discomfort for more than 15 days after this repair. There was not a single case of the need for opioid analgesics.

Among postoperative complications there were not any severe complications. There were 22 cases (18.6%) of local hypoesthesia, 5 cases (4.2%) of seroma, 4 (3.4%) – hematoma, 4 (3.4%) – cord induraton, 3 (2.5%) – wound infections. No chronic pain, sensation of foreign body and no recurrence was observed.

Patients were freely mobile within 18-24 h after surgery (mean: 19.26 h). The mean hospital stay was 1.87 ± 0.78. Patients returned to work within 6-14 days (mean: 8.62 days) (Table 3).

Table 3. Results

|                             |               |
|-----------------------------|---------------|
| Mean operating time         | 35.43±2.8 min |
| Pain (VAS) day 1            | 31.27±0.86    |
| Postoperative complications |               |
| local hypoesthesia          | 22 (18.6%)    |
| seroma                      | 5 (4.2%)      |
| hematoma                    | 4 (3.4%)      |
| cord induraton              | 4 (3.4%)      |
| wound infections            | 3 (2.5%)      |
| Mean hospital stay          | 1.87 ± 0.78   |
| Recurrence rate             | 0             |

**Results and their discussion.** Application of the external oblique muscle aponeurosis in the form of an undetached strip (which makes the posterior wall of the inguinal canal stronger) has been established as a new concept in tissue based hernia repair. The Desarda technique is original, new, and different from the historical methods. It satisfies the principles of “no tension” presented by Lichtenstein.

There are no clear scientific evidences to prove that the mesh prosthetic repair is superior to the non-prosthetic repair in this respect. There are advantages and disadvantages associated with all types of open inguinal hernia repairs. Existing non-prosthetic repair (Bassini/Shouldice) is blamed for causing tissue tension and mesh prosthetic repair is blamed for known complications of a foreign body. Desarda method gives a strong and physiologically dynamic posterior wall. This results in a tension free repair without the use of any foreign body. Being simple to perform, it also eliminates the disadvantage of technical difficulty seen with Shouldice repair. It is also important to note that De-

sarda was the first to advocate performing the inguinal hernia repair on physiological considerations to give complete cure from hernia [2,12].

The Shouldice technique offers a recurrence rate ranging from 0.7 to 1.7% up to 15% depending on experience. The Lichtenstein method is currently the most popular open mesh repair technique with recurrence rates of around 4% in long term follow up. Lichtenstein method uses mesh implantation which has shortcomings like chronic groin pain, foreign body sensations, abdominal wall stiffness, surgical site infection etc. which interferes with daily patient activities [3]. Additionally problems like mesh migration, mesh rejection, sexual dysfunction leading to pain and impairment of sexual activity has also been reported after the mesh based hernia repair technique [1,8,15].

Shin D et al conducted urologic evaluation of patients suffering from infertility who were operated in the past by mesh repair [13]. He found unilateral or bilateral vassal obstruction with testicular atrophy or epididymal obstruction as a cause of infertility. The authors concluded that the mesh repair, especially in young reproductive age or with a solitary testicle, needs to be carefully advised regarding potential obstruction and compromise of future fertility [10].

The benchmarks against which a successful hernia surgery is evaluated are recurrence rate, rate of complications, simplicity to be performed by surgeons in training, low cost and time taken to return to normal activities [6].

Desarda method seems to satisfy the above criteria. It does not require prosthetic mesh, complicated dissection or suturing, and no use of weakened muscles or transversalis fascia for repair. The technique is easy to learn. The author claims results, which are superior or equal to Shouldice and Lichtenstein repairs, with 1.8% complication rate and 0.2% recurrence [8,9].

Posterior wall of the inguinal canal is composed of two layers. Transversalis fascia is a posterior layer and in front of it is yet another layer of the aponeurotic extensions from the Transversus Abdominis Aponeurotic Arch, inset. It is also called as the “Discontinuous part of the Transversus Abdominis Aponeurotic Arch”. The extensions from the conjoint tendon (Falx inguinalis) medially are also a part of these extensions. The aponeurotic extensions start from the transversus abdominis and get first inserted on to the inguinal ligament and iliopubic tract and then further extend for second insertion on to the pectineal bone and ligament. Thus it covers and protects the entire myopectineal orifice described by Fruchaud giving protection from inguinal as well as femoral hernias. Absence, presence or attenuation of these extensions is genetically determined and therefore hernias are commonly seen in families. Fruchaud postulated that the myopectineal orifice is inherently weak in such patients and is genetically determined [7].

The author found that either absent or deficient aponeurotic extensions meant that the posterior wall was weak, flabby and adynamic. Naturally, the posterior wall of the canal was not strong enough to give physical protection against the herniation process. The condensed part of the transversalis fascia and the aponeurotic extensions give mechanical strength to the posterior inguinal wall to resist internal abdominal blows. If aponeurotic extensions are absent, then the transversalis fascia alone cannot resist the internal blows for a long period and herniation occurs [7].

Secondly, the posterior inguinal wall and the accompanying aponeurotic extensions are physiologically dynamic. Muscular contraction of the transversus abdominis pulls this posterior wall and the aponeurotic extensions upward and laterally creating tension (increased tone) in it. The wall with increased tone in it

resists internal abdominal blows better than a wall without such increased tone. This increased tone in the posterior wall is created in gradation as per the force of contraction of the muscles. And the force of contraction of the muscle changes as per the force of the internal abdominal blow. This is important physiological phenomenon. The posterior wall should be described as an independent entity, playing an important role in the prevention of hernia formation, not only because of its physical strength but also because of its dynamic nature. Therefore, any new approach to inguinal hernia repair must consider replacing this absent or deficient aponeurotic element with any other suitable natural structure. Such a physiologically dynamic and strong posterior wall is constructed in Desarda's technique of inguinal hernia repair [6,7].

Adynamic and weak posterior wall of the inguinal canal due to absent or deficient aponeurotic extensions from the transversus abdominis aponeurotic arch is the main cause of hernia formation. Reduced strength of the muscles and binding action of the connective tissue are also important secondary factors [2,7].

After Desarda repair contraction of the external oblique muscle creates lateral tension in this strip while contraction of the internal oblique/conjoined muscle creates tension upwards and laterally, making the strip a shield to prevent any herniation. So additional strength given by the external oblique muscle to the weakened conjoined tendon to create tension in the strip and prevent reherniation is the essence of this operation. Tension created in this strip is graded. Stronger intra-abdominal blows result in stronger abdominal muscle contractions leading to increased tension in this strip to give graded protection. At rest the strip is without any tension. Thus, a strong and physiologically dynamic posterior wall is created. The aging process is minimum in the tendons and aponeurosis, so a strip of the external oblique, which is tendo-aponeurotic, is the best alternative to the mesh [10].

So the results after hernioplasty by Desarda are good and similar to the results after hernioplasty according to Lichtenstein or Shouldice. Thus, according to our experience Desarda method seems to be an attractive alternative of other methods widely adopted today. It is safe, fast, simple and easy to learn and perform with minimal complications or recurrence. Desarda repair can safely be employed as one day case surgery. This operation is based on the physiological principles, does not use a mesh, consequently it can be used effectively, as risk of mesh infection is eliminated. Also, this technique can eliminate the fear of mesh infection in diabetic patients. Indications for use of the Desarda technique include use in young patients, in contaminated surgical fields or in the presence of financial constraints. Desarda repair has the potential to become the gold standard of hernia repair in years to come. In any case large-scale longterm multi-centric trials need to be conducted to evaluate this repair further and establish this repair among the general population of surgeons.

## REFERENCES

1. Aasvang EK, Möhl B, Bay-Nielsen M, Kehlet H. Pain related sexual dysfunction after inguinal herniorrhaphy // *Pain* 2006;122 (3):258-263.
2. Ahmad I, Dwivedi A C, Srivastava S K, Singh H P, Singh A K. A Randomized Trial Comparing Lichtenstein And Desarda Technique For Open Inguinal Hernia Repair--A Study Of 100 Patient // *Journal of Dental and Medical Sciences*. 2016;15,3:17-20.
3. D'Amore L, Gossetti F, Vermeil V, Negro P. Long-term discomfort after plug and patch hernioplasty // *Hernia* 2008;12 (4):445-446.

4. Bay-Nielsen M, Kehlet H, Strand L et al. Quality assessment of 26,304 herniorrhaphies in Denmark: a prospective nationwide study // *Lancet*. 2001; 358:1124-1128.
5. Desarda MP. Physiological repair of inguinal hernia: a new technique (study of 860 patients) // *Hernia*. 2006; 10(2):143-6.
6. Desarda MP. No-mesh inguinal hernia repair with continuous absorbable sutures: a dream or reality? (a study of 229 patients) // *Saudi J Gastroenterol*. 2008 Jul;14(3):122-7.
7. Desarda MP. Concepts that Prevent Inguinal Hernia Formation – Revisited New Concepts of Inguinal Hernia Prevention // *Ann Emerg Surg* 2017;2(1):1007.
8. Gedam BS, Bansod PY, Kale VB, Shah Y, Akhtar M. A comparative study of Desarda's technique with Lichtenstein mesh repair in treatment of inguinal hernia: A prospective cohort study // *Int J Surg*. 2017; 39:150-155.
9. Jones P, Jones S, Guarnieri F, Moscatelli F, Smaldone W, Nwamba C, Desarda MP. Topic: inguinal hernia - mesh vs non mesh // *Hernia* 2015; 19 (1):265-266.
10. Neogi P, Gupta V, Tripathi N. A comparative study of outcomes of Lichtenstein repair and Desarda tissue repair in patients of inguinal hernia // *Int Surg J*. 2017 Aug;4(8):2693-2699.
11. Primates P, Goldacre MJ. Inguinal hernia repair: incidence of elective and emergency surgery, readmission and mortality // *Int J Epidemiol*. 1996;25:835-839.
12. Rodríguez P.R.I., Herrera P.P., Gonzalez O.L., Alonso J.R.C., Blanco H.S.R. A Randomized Trial Comparing Lichtenstein Repair and No Mesh Desarda Repair for Inguinal Hernia: A Study of 1382 Patients // *East Cent. Afr. J. Surg*. 2013 July/August; Volume 18 (2):18-25.
13. Shin D, Lipshultz LI, Goldstein M, Barmé GA, Fuchs EF, Nagler HM, et al. Herniorrhaphy with polypropylene mesh causing inguinal vassal obstruction: a preventable cause of obstructive azoospermia // *Ann Surg*. 2005;241(4):553-8.
14. Simons MP, Aufenacker T, Bay-Nielsen M et al. European Hernia Society guidelines on the treatment of inguinal hernia in adult patients // *Hernia*. 2009;13:343-403.
15. Szopinski J, Dabrowiecki S, Pierscinski S, Jackowski M, Jaworski M, Szuflet Z. Desarda versus Lichtenstein technique for primary inguinal hernia treatment: 3-year results of a randomized clinical trial // *World J Surg*. 2012 May;36(5):984-92.

## SUMMARY

### DESARDA TECHNIQUE FOR INGUINAL HERNIA REPAIR

Gurgenidze M., Datuashvili G.

*Tbilisi State Medical University, The First University Clinic, Department of General Surgery; Department of Surgery № 1, Georgia*

Worldwide, more than 20 million patients undergo inguinal hernia repair annually. The problem of our age is to find an operation that is simple, does not require implantation of a foreign body like mesh and does not produce major complications during or after surgery. We represent 118 male patients who underwent hernioplasty by Desarda method between 2008 and 2017. 84 were elective and 34 – acute patients, respectively. Hernias in 26 cases were direct, 88 – indirect. Among elective cases 2 patients had bilateral hernia. 2 elective patients had recurrent hernia. There were 6 scrotal hernias, 13 - sliding hernia cases among elective patients.

The age of patients was from 18 to 86 years. 33 patients were aged 70 and over. Among these 33 patients 12 had severe comorbidity of circulatory, respiratory systems and/or other diseases. Mean operating time was  $42.43 \pm 2.8$  min. There were no intraoperative complications. Postoperative pain according to VAS (Mean  $\pm$  SD) on day 1 was  $31.27 \pm 0.86$ . No patient had discomfort for more than 15 days after this repair. Among postoperative complications there were not any severe complications. No chronic pain, sensation of foreign body and no recurrence was observed. The mean hospital stay was  $1.87 \pm 0.78$ . According to our experience Desarda method seems to be an attractive alternative of other methods widely adopted today. Desarda repair has the potential to become the gold standard of hernia repair.

**Keywords:** inguinal hernia, hernioplasty, Desarda repair.

## РЕЗЮМЕ

## ЛЕЧЕНИЕ ПАХОВЫХ ГРЫЖ ПО МЕТОДУ ДЕСАРДА

Гургенидзе М.Р., Датуашвили Г.А.

*Тбилисский государственный медицинский университет, Первая университетская клиника; департамент общей хирургии, департамент хирургии №1, Грузия*

Ежегодно во всем мире более 20 миллионам пациентам выполняются операции по поводу паховых грыж. Проблема современности заключается в том, чтобы найти операцию, которая проста, не требует имплантации такого инородного тела, как сетка и не вызывает серьезных осложнений во время или после операции. В статье приведены результаты операций герниопластики методом Десарда, проведенных 118 пациентам мужского пола в период с 2008 по 2017 гг. 84 и 34 пациентам выполнены плановые и urgentные операции, соответственно. Грыжи в 26 случаях были прямыми, в 88 случаях – косыми. У 2 плановых пациентов отмечались двусторонние и еще 2 – рецидивные грыжи, у 6 плановых пациентов – скротальные, а в 13 случаях – скользящие грыжи. Возраст пациентов варьировал в пределах от 18 до 86 лет. 33 пациентам было 70 лет и старше. Среди 33 пациентов у 12 имелись тяжелые сопутствующие заболевания сердечно-сосудистой, респираторной систем и/или другие заболевания. Средняя продолжительность операции составила -  $42,43 \pm 2,8$  мин. Интраоперационных осложнений не выявлено. Послеоперационная боль по визуально-аналоговой шкале в первый послеоперационный день составила  $31,27 \pm 0,86$  (средняя  $\pm$  SD). Спустя 15 дней после операции ни у одного пациента не отмечался дискомфорт, также не

выявлено серьезных осложнений: хроническая боль, ощущение инородного тела, рецидив грыжи. Средняя продолжительность госпитализации составила  $1,87 \pm 0,78$  дней. Результаты проведенного исследования позволяют считать метод Десарда альтернативой другим, по сей день широко применяемым, методам, который в будущем может стать золотым стандартом герниопластики.

## რეზიუმე

საზარდულის თიაქრების დესარდას მეთოდით მკურნალობა

მ. გურგენიძე, გ. დათუაშვილი

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, პირველი საუნივერსიტეტო კლინიკა, ქირურგიის დეპარტამენტი; ქირურგიის №1 დეპარტამენტი, საქართველო

მსოფლიოში ყოველწლიურად 20 მილიონზე მეტ პაციენტს უკეთდება ოპერაცია საზარდულის თიაქრის გამო. თანამედროვეობის პრობლემა მდგომარეობს მარტივი, უცხო სხეულის იმპლანტაციის საჭიროების გარეშე და მნიშვნელოვანი ინტრა- და პოსტოპერაციული გართულებებისაგან თავისუფალი ოპერაციის დანერგვაში. სტატიაში აღწერილია 118 პაციენტის მკურნალობა, რომელთაც ჩაუტარდათ დესარდას მეთოდით პერნიოპლასტიკა 2008-2017 წწ. მათ შორის 84 პაციენტს ჩაუტარდა სასწრაფო, ხოლო 34-ს – გეგმიური ოპერაცია. 26 პაციენტს ჰქონდა სწორი, 88 კი – ირიბი თიაქარი. 2 გეგმიურ პაციენტს ჰქონდა ორმხრივი, 2 გეგმიურ მათგანს – რეციდიული თიაქარი. ასევე გეგმიურ პაციენტებში აღინიშნა 6 სკროტალური და 13 დაცურებული თიაქარი. პაციენტთა ასაკი შეადგენდა 16-დან 86 წწ. 33 პაციენტი იყო 70 და მეტი ასაკის. 12 მათგანს აღენიშნებოდა გულ-სისხლძარღვთა, სასუნთქი სისტემის და/ან სხვა მძიმე თანმხლები დაავადებები. ოპერაციის საშუალო ხანგრძლივობამ შეადგინა  $42.43 \pm 2.8$  წთ. არ აღინიშნა არცერთი ინტრაოპერაციული გართულება. ვიზუალური ანალოგური სკალის მიხედვით პირველი ოპერაციის შემდგომ დღეს ტკივილი იყო  $31.27 \pm 0.86$  მმ. არცერთ პაციენტს არ ჰქონდა დისკომფორტი ოპერაციიდან 15 დღის გასვლის შემდეგ. პოსტოპერაციულ პერიოდში არ იყო მძიმე გართულებათა არცერთი შემთხვევა. არ აღინიშნა ქრონიკული ტკივილი, უცხო სხეულის შეგრძნება ან რეციდივი. საწოლ-დღეთა საშუალო რაოდენობამ შეადგინა  $1.87 \pm 0.78$ . ავტორები დაასკვნან, რომ დესარდას მეთოდს აქვს პოტენციური გახდეს თიაქარპლასტიკის ოქროს სტანდარტი.

## ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА С ЛЕВОДОПА-ВЫЗВАННЫМИ ДВИГАТЕЛЬНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ

Костюк К.Р., Ломадзе В.Л., Васильев Н.С.

*Государственное учреждение «Институт нейрохирургии им. акад. А. П. Ромоданова» НАМН Украины, Киев, Украина*

На сегодняшний день болезнь Паркинсона (БП) является одним из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний центральной нервной системы (ЦНС). БП относится к хроническим прогрессирующим заболеваниям, этиопатогенез которого связан с дегенерацией нигростриарных нейронов и нарушением функции базальных ганглиев, вследствие значительного снижения концентрации дофамина в экстрапирамидных структурах головного мозга.

Согласно данным эпидемиологических исследований, 0,07-1,50% населения планеты страдают этим заболеванием. Показано, что с возрастом заболеваемость увеличивается до 4% [2]. Учитывая неуклонное увеличение продолжительности жизни населения эксперты прогнозируют, что спустя 25 лет число больных БП возрастет вдвое, что позволяет судить об актуальности исследований, направленных на поиск путей профилактики и эффективного лечения данного заболевания [3].

Клинические проявления БП разделяют на моторные и немоторные. К двигательным расстройствам относят замедленность движений (гипокинезия), тремор покоя, ригидность и постуральную неустойчивость. Симптомы БП развиваются постепенно, в дебюте заболевания вовлекая конечности одной стороны с последующим распространением симптоматики на туловище и противоположные конечности. В зависимости от преобладания того или иного симптома в клинической картине БП принято выделять следующие формы заболевания: дрожательную, акинетическую, ригидную и смешанные формы [11]. Прогностически менее благоприятными являются акинетические и акинетико-ригидные формы БП, которые характеризуются быстрым прогрессированием заболевания, ранним развитием постуральной нестабильности и деменции, что приводит к значительно ранней инвалидизации больных. К немоторным проявлениям БП относят психоэмоциональные и когнитивные нарушения, вегетативные расстройства, такие как ортостатическая гипотензия, запоры, нарушения мочеиспускания, себорей, слюнотечение, болевые синдромы [9].

Современная лечебная тактика предполагает назначение патогенетической терапии с одновременной профилактикой побочных эффектов, возникающих при длительном применении специфических противопаркинсонических препаратов, которые регулируют дофаминергический метаболизм. Эффективность терапии зависит от правильности выбора противопаркинсонического препарата с учетом формы и стадии заболевания, возраста, общесоматического и психического состояния больного. На сегодняшний день препараты леводопы являются наиболее эффективными лекарственными средствами, применяющимися для лечения БП [11]. Сроки назначения терапии препаратами леводопы зависят от темпа прогрессирования заболевания, рода профессиональной деятельности больного и его настроенности продолжать работу, а также семейно-бытового статуса. Назначать дофамин-содержащие препараты необходимо в случае развития двигательных нарушений, которые не удается купировать другими противопаркинсоническими средствами. Однако эйфория от успехов терапии этими препара-

ми в 1960-х гг. сменилась более сдержанным отношением к ним. Препараты леводопы не останавливают прогрессирование заболевания. По сей день обсуждается вопрос о токсичности леводопы, ускоряющей процесс апоптоза нигростриарных нейронов.

В большинстве случаев эффективность дофаминергической заместительной терапии удерживается в период от 4 до 6 лет. Затем возникают и прогрессируют побочные эффекты терапии в виде двигательных и недвигательных расстройств [5]. К двигательным расстройствам относятся моторные флюктуации, дискинезии и акинетический криз, к недвигательным – ортостатическая гипотензия, запоры, дисфагия, нарушения мочеотделения, когнитивные и психоэмоциональные расстройства [11].

Моторные флюктуации проявляются феноменами «истощение эффекта однократной и суточной дозы», «включение-выключение», «застывание». Первым признаком истощения эффекта дозы является ухудшение состояния в утренние часы после ночного перерыва в приеме лекарств или пропуска очередного приема препарата. Феномен «истощение эффекта дозы» характеризуется сокращением продолжительности (менее 3 часов) действия однократной дозы леводопы. При этом нарастание симптомов паркинсонизма по мере истощения дозы проходит постепенно. Другим наиболее частым проявлением моторных флюктуаций является феномен «неравномерность эффекта однократных одинаковых доз леводопы», характеризующийся тем, что первая утренняя доза леводопы в большинстве случаев оказывается более эффективной, чем последующие, особенно вечерние дозы. Это объясняется тем, что после ночного перерыва в приеме препарата повышается чувствительность дофаминергических рецепторов. Каждая последующая доза менее эффективна, так как предыдущие приемы лекарств снижают их чувствительность [4]. Феномен «включение-выключение» («ON - OFF») проявляется быстрым наступлением и быстрым прекращением эффекта однократной дозы леводопы. У большинства больных время эпизода ухудшения связано с окончанием действия дозы леводопы, реже он возникает вне связи с приемом препаратов (непредсказуемое «выключение»). При этом у некоторых больных отмечается разная выраженность феномена в течение суток. Феномен «застывание» (freezing) характеризуется внезапной утратой двигательной активности в течение нескольких секунд или минут. «Застывание» чаще наступает в период действия очередной дозы леводопы, его развитие связывают с блокадой дофаминергической активности.

Лекарственные дискинезии, вызванные леводопой, крайне разнообразны и при длительной леводопе-терапии наблюдаются в 70% случаев. Дискинезии и дистонии могут проявляться в виде хореоатетоза в мышцах плечевого пояса, шеи, мимической мускулатуры (орофациальная дистония), спастической кривошеи, торсионной дистонии, позных нарушений. В мышцах ног чаще возникают тонические дистонии стопы или икроножных мышц. Дискинезии при применении леводопы могут развиваться уже в первые годы лечения. Обычно их частота и выраженность

нарастают по мере длительности лечения и тогда они сочетаются с описанными выше моторными флуктуациями. J.A. Obeso et al. [8] предлагают выделять следующие варианты дискинезий: дискинезия действия, когда хореоформный гиперкинез возникает при выполнении каких-то определенных двигательных актов, например письма, ходьбы, в то время как все остальные действия выполняются без гиперкинеза. Дискинезии периода «включения» - на фоне действия очередной дозы. При этом, если дискинезии совпадает с максимальным эффектом лекарств, ее называют «дискинезией пика дозы», если дискинезия прослеживается на протяжении всего периода действия препарата - «дискинезия периода лечебного плато». Двухфазные дискинезии появляются непосредственно в самом начале периода «включение», после чего исчезают и возобновляются в самом конце периода действия дозы (феномен DID - dystonia-improvement-dystonia). Такая форма дискинезии проявляется баллистическими, хореоформными и медленными дистоническими гиперкинезами в мышцах ног. Дистония периода «выключение» характеризуется патологической установкой туловища, шеи, гиперкинезом мышц лица, однако может быть и генерализованной. Дискинезия без двигательного улучшения возникает после приема лекарств при отсутствии какого-либо противопаркинсонического эффекта. «Дискинезия-паркинсонизм» характеризуется появлением гиперкинезов в одной части (обычно в верхней половине) тела одновременно с развитием противопаркинсонического эффекта. Во второй половине тела остаются симптомы паркинсонизма. «Пароксизмальная» непредсказуемая дискинезия появляется в любое время, независимо от проявления лечебного эффекта леводопы.

Лекарственные дискинезии возникают у 50% больных БП спустя 5 лет после начала приема препаратов леводопы. На поздних стадиях БП у больных могут возникать длительные периоды декомпенсаций - от нескольких дней до нескольких недель, а также акинетические кризы — тяжелые эпизоды акинезии, сопровождающиеся дисфагией, вегетативными нарушениями, гипертермией, олигурией, спутанностью сознания [5,6]. Причинами декомпенсаций и акинетических кризов на поздних стадиях БП могут являться: нарушение схемы приема противопаркинсонических средств, их полная отмена («лекарственные каникулы»); прием препаратов, блокирующих ДА-рецепторы (нейролептики, циннаризин); обострение сопутствующих соматических заболеваний, а также перенесенные стрессы, операции, травмы.

С целью коррекции моторных флуктуаций и лекарственных дискинезий применяют средства, поддерживающие уровень дофамина в неповрежденных дофаминергических нейронах — ингибиторы моноаминоксидазы типа В, катехол-О-метилтрансферазы, а также агонисты дофаминовых рецепторов. Кроме того, в рамках программы коррекции моторных флуктуаций используют следующие приемы: коррекцию однократной и суточной дозы; коррекцию кратности приема лекарственных средств в течение суток; коррекцию комбинации препаратов; назначение пролонгированных и быстрорастворимых форм дофаминсодержащих средств.

Прогрессирование заболевания, низкая эффективность специфической противопаркинсонической терапии, развитие побочных эффектов от заместительной терапии обосновывают показания к проведению хирургического лечения. На сегодняшний день применяют два вида хирургических

вмешательств – деструктивные (аблятивные) и нейростимуляционные [7, 10]. К деструктивным операциям относятся стереотаксическая таламотомия, паллидотомия, субталамотомия. Проводить таламотомию рекомендовано пациентам, в клинической картине заболевания которых на первый план выступает тремор и ригидность. Мишенью для деструкции, которая имеет высокую эффективность при БП с односторонним проявлением тремора является вентральное промежуточное ядро таламуса - VIM. Паллидотомия показана больным, у которых преобладают леводopa-вызванные дискинезии. Деструктивные стереотаксические операции ассоциируются с высоким уровнем развития речевых нарушений и поступательной нестабильности, а в случае развития операционных неврологических осложнений они имеют необратимый характер.

В настоящее время приоритетным направлением хирургического лечения БП является метод хронической электростимуляции глубинных структур головного мозга с помощью имплантации внутримозговых электродов. Во время электростимуляции происходит воздействие на нейроны, которые вызывают функциональные изменения в головном мозге. Современная эра глубокой мозговой стимуляции (ГМС) была внедрена в конце XX века группой французских специалистов в университете Гренобля во главе с профессором A.L. Benabid. С тех пор нейростимуляция получила широкое распространение в мире и считается ведущим направлением лечения тяжелых форм БП, разных видов тремора, торсионной дистонии и некоторых других заболеваний нервной системы. Несколько рандомизированных исследований подтвердили высокую эффективность метода нейростимуляции при лечении БП. Показано значительное статистически достоверное улучшение двигательной активности в период отсутствия действия леводopa-препарата (период «OFF»), увеличение продолжительности периода действия леводopa-препарата (период «ON») при отсутствии вызванных леводопой дискинезий. ГМС позволяет уменьшить дозу леводопы, что способствует регрессу дискинезий. ГМС - безопасная хирургическая процедура, которую большинство больных хорошо переносят. Преимущества ГМС в сравнении с деструктивными операциями заключаются в возможности одновременного введения электрода в подкорковые структуры обоих полушарий с целью двусторонней электростимуляции, эффективности нейростимуляций при акинетичных формах заболевания, возможности коррекции локализации электрода, неинвазивной регуляции параметров стимуляции, что позволяет подобрать индивидуальную оптимальную и комфортную для больного программу стимуляции с максимально положительным эффектом и минимизацией побочных эффектов. К недостаткам нейростимуляции относятся наличие инородного тела в организме, невозможность пребывания в условиях интенсивного магнитного поля, ограниченный срок работы батареи импульсного генератора (замена батареи спустя 5-7 лет работы), а также высокая стоимость ГМС системы.

Целью исследования явился анализ эффективности деструктивных и нейростимуляционных хирургических вмешательств при лечении пациентов болезнью Паркинсона с леводopa-вызванными дискинезиями и моторными флуктуациями.

**Материал и методы.** В исследование включено 36 больных, страдающих леводopa-зависимой формой БП, у кото-

Таблица 1. Клиническая характеристика больных

| Показатель                                                                       | GPI-lesion, n=22 | STN-DBS, n=14 | Всего, n=36 |
|----------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------|-------------|
| Средний возраст, лет (M±m)                                                       | 54.7±4.2         | 60.3±6.5      | 58.0± 5.3   |
| Средняя продолжительность БП, лет (M±m)                                          | 11.4±1.5         | 9.1±2.0       | 10.2±1.7    |
| Средняя доза леводопа-терапии, мг/день (M±m)                                     | 1350.5±325.4     | 837.5±287.2   | 1053±294    |
| Средняя продолжительность леводопа-терапии, лет (M±m)                            | 7.7±2.3          | 5.8±2.0       | 6.6±2.2     |
| Средняя продолжительность леводопа-вызванных двигательных расстройств, лет (M±m) | 3.5±1.4          | 1.8±0.8       | 2.6±1.2     |
| Леводопа-вызванные дискинезии, n                                                 | 22 (100%)        | 12 (86%)      | 34 (94%)    |
| Моторные флюктуации, n                                                           | 18 (82%)         | 14 (100%)     | 32 (89%)    |

рых развились дополнительные двигательные нарушения вследствие приема леводопа-заместительной терапии. Возраст пациентов колебался в пределах от 31 до 73 лет и составил, в среднем, 56,2±3,2 г. Средняя продолжительность заболевания составила 9,8±1,1 г. Все пациенты принимали леводопа-заместительную терапию, продолжительность которой варьировала в пределах от 2 до 15 лет, в среднем, 6,5±2,2 г. Средняя доза препарата леводопы составила 1075±304,1 мг/день. Побочные эффекты заместительной терапии в виде моторных флюктуаций и леводопа-вызванных дискинезий беспокоили больных на протяжении 1-5 лет, в среднем – 2,18±0,8 лет до момента операции (таблица 1).

Нейропсихологический статус, тяжесть заболевания оценивались согласно Унифицированной шкале болезни Паркинсона - UPDRS II, шкале Хен и Яра, шкале оценки когнитивных функций – MMSE, шкале оценки депрессии Бека и Гамильтона, шкале оценки тревоги Гамильтона. Для оценки качества жизни использовался опросник PDQ-39 и шкала дневной активности Шваба и Ингланда.

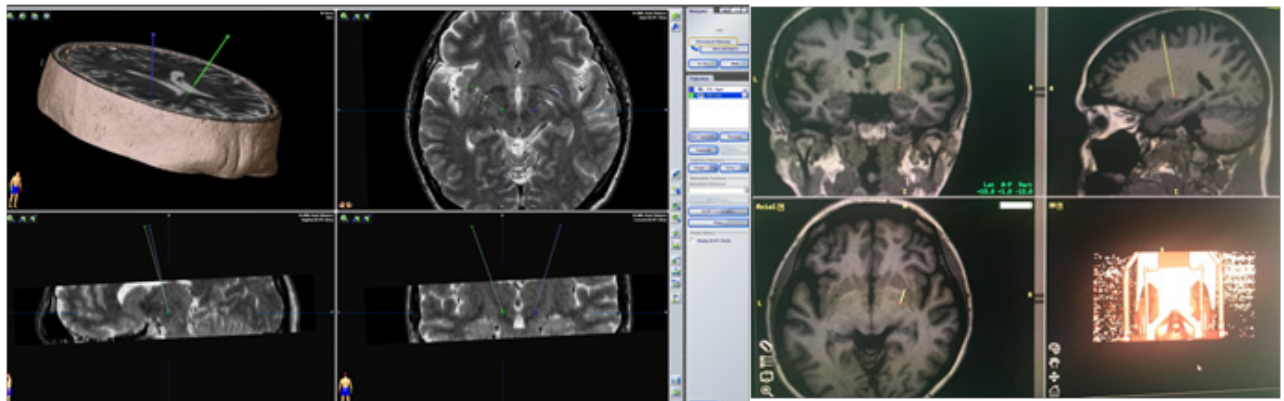
Пациенты разделены на две группы: первую группу составили 22 больных, которым проведена стереотаксическая радиочастотная паллидотомия (группа GPI-lesion), вторую группу - 14 больных, которым проведена имплантация системы для двухсторонней нейростимуляции субталамических ядер (группа STN-DBS). Показаниями для проведения операций являлись прогрессирующее течение заболевания, неэффективность или низкая эффективность специфической медикаментозной терапии, развитие побочных эффектов от леводопа-заместительной терапии, нарастание социально-бытовой дезадаптации.

Операции выполнялись на стереотаксической системе CRW Radionics (США). Координаты мишени де

рассчитывались на планирующих станциях FrameLink (Medtronic), iPlan и Element (Brainlab). Проводилась де-струкция дорсо-вентральной части внутреннего сегмента бледного шара радиочастотным электродом рабочей поверхностью диаметром 2,1 мм и длиной 3,0 мм. Одинадцати больным была имплантирована нейростимулирующая система Activa-PC (Medtronic, США) и трем пациентам - система Vercise (Boston Scientific, США) (рис 1). С целью электрофизиологического контроля правильного размещения внутримозговых электродов у 6 (42,9%) больных проводился интраоперационный микроэлектрорекоording на аппарате NeuroNav (Alpha Omega, Израиль). Параметры нейростимуляции настраивались на третий день после хирургического вмешательства.

Всем пациентам проведено контрольное обследование спустя год после операции. Катамнез прослежен от 1 до 8,5 лет после операции, в среднем, 4,1±1,1 г.

**Результаты и их обсуждение.** После операций прекращение тремора и нормализация мышечного тонуса отмечены у всех 36 больных. Гипокинезия значительно регрессировала у 33 (92%) пациентов. У большинства больных после операции отмечено увеличение двигательной активности, улучшение походки, речи. Спустя год после операции отмечено улучшение показателей по шкале UPDRS II в период «включение» на 64,5%, в период «выключение» - на 55,2%, при этом, у больных, которым проведена имплантация нейростимулирующей системы показатели шкалы UPDRS II были существенно выше в сравнении пациентами, которым проведена аблятивная операция. После операции удалось достичь существенного снижения дозы леводопа-терапии: после имплантации нейростимулирующей системы – на 48%, после паллидотомии – на 35% (таблица 2).



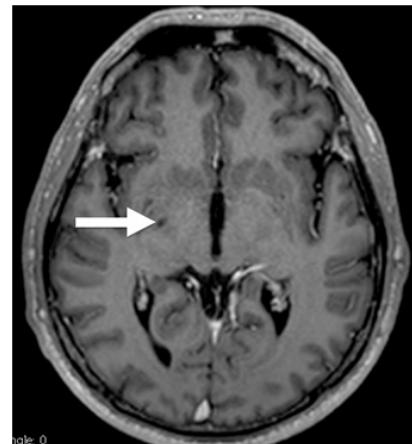
А - субталамическое ядро (STN); Б - внутренний сегмент бледного шара (GPI)  
Рис. 1. Рассчитанные координаты мишени стереотаксической операции

Таблица 2. Результаты операций

| Группы больных | Показатель                  |              |                        |                |
|----------------|-----------------------------|--------------|------------------------|----------------|
|                | Улучшение по шкале UPDRS II |              | Доза леводопы, мг/день |                |
|                | период "ON"                 | период "OFF" | до операции            | после операции |
| GPI-lesion     | 55%                         | 47%          | 1350.5                 | 880.4          |
| STN-DBS        | 74%                         | 63%          | 837.5                  | 432.6          |



А



Б

Рис. 2. А - послеоперационная спиральная КТ. Внутримозговые электроды помещены в субталамические ядра (STN).  
Б - послеоперационная МРТ. Зона деструкции медианного сегмента правого бледного шара (GPI)

Моторные флюктуации в виде феноменов «включение-выключение» и «внезапное выключение» регрессировали у всех больных после имплантации нейростимулирующей системы, в то время как после стереотаксической паллидотомии они регрессировали у 14 из 18 (77.8%) больных, у которых они имели место до операции. После паллидотомии леводопа-вызванные дискинезии прекратились у 21 из 22 (95.5%) больных. Двухсторонняя стимуляция субталамических ядер способствовала устранению леводопа-вызванных дискинезий у 11 из 12 (91.7%) пациентов.

Регресс тремора, ригидности, гипокинезии, а также моторных расстройств, связанных с длительным приемом противопаркинсонических препаратов, привели к существенному улучшению качества жизни больных, психоэмоциональной сферы, социально-бытовой дезадаптации. После операции отмечено уменьшение выраженности тревоги и депрессии, особенно у больных после имплантации нейростимулирующей системы. Показатели когнитивных функций после операции не изменились ни в одной группе больных. Контрольное обследование, проведенное спустя один год после операции, показало, что качество жизни пациентов по шкалам PDQ-39 возросло в обеих группах, практически в одинаковой степени.

Послеоперационные осложнения отмечены у 3 из 22 (13.6%) больных после стереотаксической паллидотомии. У двух больных развился парез контралатеральной нижней конечности по центральному типу, в одном случае возникла дизартрия. Во всех трех случаях неврологические нарушения имели транзиторный характер и регрессировали в течение 1-3 месяцев. У одного (7.1%) больного после имплантации нейростимулирующей системы возникла выраженная депрессия, которая была расценена, как побочное действие стимуляции субталамического ядра. После коррекции параметров стимуляции и назначения антидепрессивных препаратов депрессия регрессировала.

**Заключение.** Болезнь Паркинсона относится к наиболее

распространённым нейродегенеративным заболеваниями головного мозга, характеризуется прогредиентным течением. Несмотря на многочисленные клинические и экспериментальные исследования, по сей день не существует способа излечения от данного заболевания. Приоритетным методом лечения является лекарственная терапия в комбинации с социальной реабилитацией. Длительное применение леводопа-заместительной терапии приводит к развитию немоторных и моторных побочных эффектов лечения, которые проявляются моторными флюктуациями и леводопа-вызванными дискинезиями. Вопрос о хирургическом вмешательстве считается актуальным в случаях прогрессирования заболевания, развития побочных эффектов от специфической медикаментозной терапии, нарастания социально-бытовой дезадаптации и снижения качества жизни пациентов.

В настоящее время наиболее широко распространены нейростимуляционные операции. В то же время, аблятивные или деструктивные операции не утратили своей актуальности, поскольку они характеризуются достаточно высокой эффективностью, малой травматичностью, безопасностью и простотой выполнения. К преимуществам аблятивных операций относятся отсутствие существенных финансовых затрат и необходимости коррекции параметров стимуляции [1].

В представленной работе стереотаксическая односторонняя паллидотомия проведена 22 больным, имплантация нейростимулирующей системы для двухсторонней стимуляции субталамических ядер - 14 больным. В подавляющем большинстве оперированных больных, независимо от вида хирургического вмешательства, отмечались прекращение или значительное снижение выраженности тремора, нормализация мышечного тонуса, исправление осанки, увеличение двигательной активности, регресс моторных флюктуаций и леводопа-вызванных дискинезий. Лучшие результаты получены после стимуляции субталамических ядер. Послеопе-

рациональные осложнения отмечены у трех больных, которым проведена стереотаксическая паллидотомия.

Полученные результаты диктуют необходимость внедрения дифференцированного подхода к хирургическому лечению БП, с учетом особенностей клинического течения заболевания, возраста пациента, характера сопутствующих общесоматических и психозомоциональных расстройств. Привлечение специалистов различных специальностей, в частности неврологов, нейропсихологов, нейрохирургов, нейрофизиологов позволит разработать наиболее эффективную и безопасную хирургическую тактику для каждого пациента с БП в отдельности, требующего хирургического лечения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Anderson W.S., Clatterbuck R.E., Kobayashi K. et al. Lesions Versus Implanted Stimulators in Functional Neurosurgery in Parkinson's Disease // In Textbook of Stereotactic and Functional Neurosurgery Eds.: A.M. Lozano, Ph.L. Gildenberg, R.R. Tasker. – Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg. - 2017. - P.: 1349-1359.
2. De Lau L. M., Breteler M. M. Epidemiology of Parkinson's disease // Lancet Neurol. - 2016. - Vol. 5 (6). - P.525-535.
3. Dorsey E.R., Constantinescu R., Thompson J.P. et al. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2015 through 2030 // Neurology. - 2017. - Vol. 68 (5). - P.384-386.
4. Fahr S. Levodopa in the treatment of Parkinson's disease // Journal of Neural Transmission. Supplementa. - 2016. - Vol.71. - P.1-15.
5. Hauser R.A., McDermott M.P., Messing S. Factors associated with the development of motor fluctuations and dyskinesias in Parkinson disease // Arch Neurol – 2016. - Vol.63 (12). - P.:1756-1760.
6. Kumar N., Van Gerpen J.A., Bower J.H., Ahlskog J.E. Levodopa-dyskinesia. Incidence by age of Parkinson's disease onset // Mov. Disord. - 2015. - Vol.20. - P.342-346.
7. Laitinen L.V., Bergenheim A., Hariz M.I. Leksell's posteroventral pallidotomy in the treatment of Parkinson's disease // Journal of Neurosurgery, Special Supplements. - 2013. - Vol.112, N.2. - P.53-61.
8. Obeso J.A., Grandas F., Vaamonde J. et al. Motor complications associated with chronic levodopa therapy in Parkinson's disease // Neurology. - 2015 Vol. 39, N.11. - P.:11-19.
9. Poewe W. Non-motor symptoms in Parkinson's disease. Eur J Neurol 2015;15 Suppl 1:14-20.
10. Rodriguez-Oroz MC, Obeso JA, Lang AE et al: Bilateral deep brain stimulation in Parkinson's disease: a multicenter study with 4 year follow-up // Brain. – 2015. – Vol. 128. – P.2240-2249.
11. Wolters E.Ch., VanLaar T., Berendse H.W. Parkinsonism and Related Disorders // VU University Press Amsterdam, Amsterdam. - 2015. - 576.

## SUMMARY

### SURGICAL TREATMENT OF PARKINSON'S DISEASE WITH LEVODOPA-INDUCED MOVEMENT DISTURBANCES

Kostiuk K., Lomadze V., Vasylyv N.

SI "Institute of Neurosurgery named after acad. A. P. Romodanov of the NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Aim - to evaluate the efficacy of stereotactic pallidotomy and bilateral deep brain stimulation (DBS) of subthalamic nuclei

(STN) in patients with Parkinson disease with motor fluctuations and levodopa-induced dyskinesias.

36 patients (age range 31-73 years (mean age 56.2±3.2 years) were enrolled in study. Mean duration of PD was 9.8±1.1 years. All patients used levodopa-drugs, mean levodopa dose was 1075±304.1 mg/day. Mean duration of motor fluctuations and levodopa-induced dyskinesias before surgery was 2,18±0,8 years. Patients = were divided into 2 groups - 22 patients underwent stereotactic unilateral pallidotomy and 14 patients underwent bilateral DBS (STN target). Neurological and psychological status assessed before and after treatment by: UPDRS II, Hoehn and Yahr scale, Schwab and England scale, MMSE, Beck's Depression Inventory, Hamilton Depression Rating Scale, Hamilton Anxiety Rating Scale and PDQ-39. Surgery performed on CRW stereotactic system. Postoperative follow-up ranged from 1 to 8.5 years (mean 4.1±1.1 years).

Regression of tremor, rigidity, bradykinesia and levodopa-induced dyskinesia observed in most patients after stereotactic interventions. The best results were achieved in patients who underwent DBS. In this group UPDRS II score improved by 74% in ON period and by 63% in OFF period. After pallidotomy UPDRS II score improved by 55% in ON period and by 47% in OFF period. Levodopa-induced dyskinesia stopped in 21 from 22 (95.5%) patients who had it before surgery after unilateral pallidotomy and in 11 from 12 (91.7%) patients after DBS.

Surgical complications occurred in 3 (13.6%) case after pallidotomy, which induced transient neurological deficit.

Our results demonstrate that both stereotactic interventions – pallidotomy and DBS are effective and safe methods of treatment of PD with levodopa-induced dyskinesias and motor fluctuations. Both surgeries improve overall motor function, increased patient's mobility and improve quality of life.

**Keywords:** Parkinson's disease, levodopa-therapy, motor fluctuations, dyskinesias, stereotactic interventions, neurostimulation.

## РЕЗЮМЕ

### ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА С ЛЕВОДОПА-ВЫЗВАННЫМИ ДВИГАТЕЛЬНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ

Костюк К.Р., Ломадзе В.Л., Васильев Н.С.

Государственное учреждение «Институт нейрохирургии им. акад. А. П. Ромоданова» НАМН Украины, Киев, Украина

Целью исследования явился анализ эффективности деструктивных и нейростимуляционных хирургических вмешательств при лечении пациентов болезнью Паркинсона с леводопа-вызванными дискинезиями и моторными флюктуациями

В исследование включено 36 пациентов. Возраст пациентов варьирует в пределах от 31 до 73 лет, средний возраст - 56,2±3,2 года. Средняя продолжительность болезни Паркинсона (БП) составила 9,8±1,1 года. Все пациенты принимали леводопа-препараты, средняя доза леводопы составляла 1075±304,1 мг/день. Средняя продолжительность моторных флюктуаций и леводопа-индуцированных дискинезий до операции составила 2,18±0,8 лет. Пациенты разделены на 2 группы: 22 пациента прошли стереотаксическую одно-

стороннюю паллидотомию, 14 пациентов - двустороннюю DBS (цель STN). Неврологический и психологический статус оценивали до и после лечения: шкала UPDRS II, Hoehn и Yahr, шкала Schwab and England, MMSE, Индекс депрессии Бека, шкала оценки депрессии Гамильтона, шкала оценки беспокойства Hamilton и PDQ-39. Хирургия выполнена на стереотаксической системе CRW. Послеоперационное наблюдение варьирует в пределах от 1 до 8,5 лет, в среднем,  $4,1 \pm 1,1$  года.

Регресс тремора, скованности, брадикинезии и леводопаминдуцированной дискинезии наблюдался у большинства пациентов после стереотаксических вмешательств. Наилучшие результаты достигнуты у пациентов, перенесших DBS. В этой группе показатель UPDRS II улучшился на 74% в период ON и на 63% в период OFF. После паллидотомии показатель UPDRS II улучшился на 55% в периоде ON и на 47% в период OFF. Леводопа-индуцированные дискинезии прекратилась у 21 из 22 (95,5%) пациентов, после односторонней паллидотомии, и у 11 из 12 (91,7%) пациентов после DBS.

Хирургические осложнения произошли в 3 (13,6%) случаях после паллидотомии, что вызвало кратковременный неврологический дефицит.

Полученные результаты показывают, что стереотаксические вмешательства – как паллидотомия, так и DBS являются эффективными и безопасными методами лечения БП с леводопа вызванными дискинезиями и моторными флюктуациями. Обе операции улучшают общую двигательную функцию, повышают мобильность пациента и улучшают качество жизни.

#### რეზიუმე

ლევოდოფა-ინდუცირებული მოძრაობითი დარღვევებით მიმდინარე პარკინსონის დაავადების ქირურგიული მკურნალობა

კ. კოსტიუკი, ვ. ლომაძე, ნ. ვასილიევი

უკრაინის აკად. ა. რომოდანოვის სახელობის ნეირო-ქირურგიის ინსტიტუტი, კიევი, უკრაინა

კვლევის მიზანს შეადგენდა სტერეოტაქსისური პალიდოტომიისა და თავის ტვინის სუბთალამური ბირთვების ორმხრივი ღრმა სტიმულაციის (DBS) ეფექტურობის შეფასება პაციენტებში მოტორული ფლუქტუაციებითა და ლევოდოფა-ინდუცირებული დისკინეზიებით მიმდინარე პარკინსონის დაავადებით.

კვლევაში ჩართული იყო 31–71 წლის ასაკის 36 პაციენტი (საშუალო ასაკი –  $56,2 \pm 3,2$  წელი). პარკინსონის დაავადების ხანგრძლივობა საშუალოდ შეადგენდა  $9,8 \pm 1,1$  წელიწადს. თითოეული პაციენტი იღებდა ლევოდოფას პრეპარატს, საშუალო დღიური დოზით  $1075 \pm 304,1$  მგ. მოტორული ფლუქტუაციებისა და ლევოდოფა-ინდუცირებული დისკინეზიების მიმდინარეობა ოპერაციამდე საშუალოდ შეადგენდა  $2,18 \pm 0,8$  წ. გამოყოფილი პაციენტთა 2 ჯგუფი: 22 პაციენტს ჩაუტარდათ პალიდოტომია, 14 პაციენტს – ორმხრივი სუბთალამური ბირთვის სტიმულაცია (DBS). ნევროლოგიური და ფსიქოლოგიური სტატუსი შეფასდა პრე- და პოსტოპერაციულად შემდეგი შკალებით: UPDRS II, Hoehn и Yahr-ის შკალა, Schwab and England-ის შკალა, MMSE, ბეკის დეპრესიის ინდექსი, ჰამილტონის დეპრესიის შეფასების შკალა, ჰამილტონის შფოთვის შეფასების შკალა და PDQ-39. ქირურგიული ჩარევა შესრულდა სტერეოტაქსისური სისტემით CRW. პოსტოპერაციულ პერიოდში დაკვირვება მიმდინარეობდა 1–დან 8,5 წლამდე (საშუალოდ –  $4,1 \pm 1,1$  წელი).

სტერეოტაქსისური ჩარევის შემდგომ პაციენტების უმრავლესობას აღენიშნა ლევოდოფა-ინდუცირებული დისკინეზიების, ტრემორის, შეზოჭილობისა და ბრადიკინეზიის რეგრესი. საუკეთესო შედეგი მიღწეულია პაციენტებში, რომელთაც ჩაუტარდათ სუბთალამური ბირთვის სტიმულაცია (DBS). ამ ჯგუფში UPDRS II მაჩვენებელი გაუმჯობესდა 74%-ით ON-პერიოდში და 63%-ით OFF-პერიოდში. პალიდოტომიის შემთხვევაში UPDRS II მაჩვენებელი გაუმჯობესდა 55%-ით ON-პერიოდში და 47%-ით OFF-პერიოდში. ლევოდოფა-ინდუცირებული დისკინეზიები შეწყდა 21 (95,5%) პაციენტში 22-დან, რომელთაც ჩაუტარდათ პალიდოტომია და 11 (91,7%) პაციენტში 12-დან, რომელთაც ჩაუტარდათ ორმხრივი სუბთალამური ბირთვის სტიმულაცია (DBS). ქირურგიული გართულება განვითარდა 3 (13,6%) პაციენტში პალიდოტომიის შემდგომ, რამაც გამოიწვია ხანმოკლე ნევროლოგიური დეფიციტი.

კვლევაში აჩვენა, რომ სტერეოტაქსისური ჩარევები – პალიდოტომია და ორმხრივი სუბთალამური ბირთვის სტიმულაცია (DBS) – წარმოადგენს ეფექტურ და უსაფრთხო სამკურნალო მეთოდს პარკინსონიზმით დაავადებულ პაციენტებში მოტორული ფლუქტუაციებითა და ლევოდოფა-ინდუცირებული დისკინეზიებით. ორივე ოპერაციული ჩარევა პაციენტებში აუმჯობესებს მოტორულ ფუნქციას, დამოუკიდებლად გადაადგილების შესაძლებლობას და მათი ცხოვრების ხარისხს.

## РЕАБИЛИТАЦИЯ ПОСЛЕ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Идрисова Л.Э., Солопова А.Г., Савченко А.А., Макацария А.Д., Чуканова Е.М., Алипов В.И., Капанадзе Д.Л.

<sup>1</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение «Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», Москва; <sup>2</sup>Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Онкологический клинический диспансер №1, департамента здравоохранения г. Москвы», Россия

Согласно данным GLOBOCAN 2012, заболеваемость раком шейки матки (РШМ) во всем мире составляет 528 000 случаев, а смертность – 266 000 случаев или 7,5% всех смертей, связанных с онкологическими заболеваниями среди женщин. В России заболеваемость РШМ – 15342 на 100000 женского населения. РШМ занимает четвертое место по распространенности онкологических заболеваний среди женщин и седьмое место по заболеваемости в целом [1].

Терапевтический подход к женщинам больным раком определяется индивидуально и зависит от стадии заболевания, глубины инвазии, наличия и выраженности сопутствующей соматической патологии. В настоящее время имеется тенденция к проведению органосохраняющей терапии, однако в большинстве случаев больным показана расширенная экстирпация матки с курсом адъювантной лучевой и химиотерапии. Радикальность и тяжесть проводимого лечения приводит к развитию ряда осложнений, которые в дальнейшем во многом определяют прогноз и качество жизни (КЖ) пациенток больных РШМ [2].

Кроме осложнений, связанных с самой операцией (кровотечения, лимфорей, болевой синдром, спаечная болезнь) удаление яичников приводит к развитию индуцированной менопаузы во всех случаях, а лимфодиссекция в комплексе с химиолучевой терапией вызывает развитие лимфатического отека нижней конечности почти в 40% случаев [3,4]. При этом, если индуцированная менопауза манифестирует ярко, то в большинстве случаев лимфедема протекает в субклинической форме, снижая КЖ, однако будучи не диагностированной и не скорректированной [4].

Почти у 75% больных в послеоперационном периоде развиваются когнитивные нарушения, связанные как с гормональными изменениями в связи с индуцированной менопаузой, так и с проводимой химиотерапией, что получило название «ХемоМозг». При этом изменения носят как функциональный, так и структурный характер, клинически проявляясь в снижении концентрации, памяти, замедленном мышлении [5,6]. По данным ряда исследований, когнитивные нарушения очень тяжело воспринимаются женщинами субъективно, ограничивая работоспособность [6], отмечается перманентное чувство усталости, характерное для всех онкологических заболеваний, развитие тревожных расстройств и депрессии [7].

В отдельную проблему следует выделить нарушения половой жизни у женщин больных РШМ в послеоперационном периоде. Оперативное вмешательство и гормональные нарушения на фоне овариэктомии приводят к развитию функциональных расстройств мочеполовой системы, таких как сухость и атрофия слизистой влагалища, что приводит к диспареунии. При этом, как показали недавние исследования, большинство пациенток не всегда четко понимают причины диспареунии и не знают о способах ее коррекции. У многих женщин снижается либидо, развиваются тревожные расстройства на фоне нарушения самоидентификации, которые усугубляются проблемами в отношении с партнером, что, в свою очередь, формирует порочный круг [9].

В настоящее время показано, что заболевания сердечно-сосудистой системы являются основной причиной смерти пациенток с ранними стадиями РШМ. У этой категории больных отмечается повышенный риск развития тромботических осложнений, что связано с прокоагулянтным действием опухоли, снижением уровня эстрогенов и химиолучевой терапией. Значимым является, что эти эффекты могут накладываться на уже имеющиеся патологические состояния, например, высокий индекс массы тела (ИМТ), что необходимо учитывать при категоризации больных на группы риска тромботических осложнений. Имеются данные в пользу того, что тромбоз глубоких вен является одним из ранних симптомов рецидива РШМ [9,10].

Перечисленные нарушения значительно снижают КЖ, приводят к развитию психоэмоциональных расстройств, нарушению социализации и работоспособности. Положительный момент заключается в том, что подавляющее большинство осложнений можно полностью или почти полностью скорректировать посредством программ реабилитации. Камнем преткновения является необходимость определения предикторов развития того или иного состояния, категоризация пациенток по группам риска и своевременное начало реабилитационных мероприятий.

Целью исследования является внедрение в практику комплексного подхода к реабилитации женщин больных раком шейки матки, включающего психотерапию, фармакотерапию, физические упражнения, диагностические мероприятия и оценку его воздействия на качество жизни и работоспособность.

**Материал и методы.** В исследование включены 95 женщин в возрасте от 30 до 45 лет (средний возраст  $35 \pm 2$  лет). Критериями включения были наличие опухоли на стадии Ib–Ib<sub>2</sub> (T1bN0M0 – T2bN0M0) и перенесенное радикальное хирургическое лечение, включающее овариэктомия с адъювантной химиолучевой терапией. Критериями исключения были распространенные стадии РШМ, хроническая болезнь почек, хроническая сердечная недостаточность, нейродегенеративные заболевания, выявленные до постановки диагноза РШМ, а также химиотерапевтическое лечение, проведенное менее чем за 5 лет до настоящего исследования при наличии онкологического заболевания в анамнезе. Пациентки были рандомизированы посредством программного обеспечения на две группы: контрольную и группу комплексной реабилитации.

Из 95 пациенток, в исследование были включены 93. Одна пациентка исключена в связи с пересмотром стадии заболевания во время оперативного вмешательства, а другая в связи постановкой диагноза ХБП стадии С3а. После рандомизации экспериментальную группу составили 46 женщин, а контрольную 47. Средний индекс массы тела составил  $27,7 \text{ кг/м}^2$  в экспериментальной группе и  $27,2 \text{ кг/м}^2$  - в контрольной.

Исследование проводилось с февраля 2015 г. по март 2017 г. на базе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Онкологический клинический диспансер №1 Департамента здравоохранения г. Москвы».

Предоперационное обследование включало измерение степени отека нижней конечности и состояния венозной и лимфатической систем. Объем конечности оценивался посредством измерительной ленты в трех позициях: середина бедра, середина голени и середина стопы. Базовый уровень подвижности формировался путем определения объема пассивных движений в тазобедренном, коленном и голеностопном суставах. Данные по обеим ногам сравнивались между собой для выявления асимметрии. Пациенткам предлагалось заполнить разработанный авторами опросник субъективного ощущения отека нижней конечности, включающий следующие вопросы:

- Чувствуете ли Вы тяжесть или боль в ногах? Если да, то в какое время дня. (Для получения количественной характеристики боли использовалась визуальная аналоговая шкала. От значения «0» - отсутствие боли до значения «100» - самая сильная боль, которую вы можете представить, от значения «0» - отсутствие тяжести до значения «100» - самое сильное ощущение тяжести, которое можно представить)

- Изменился ли Ваш размер обуви? Если да, то на сколько и за какой период времени.

- Остаются ли у Вас следы от резинки носков в области лодыжек?

- Ощущаете ли Вы онемение или другие нарушения чувствительности в ногах?

- Чувствуете ли Вы ограничение подвижности в ногах, возникшее за последнее время?

На основании полученных данных формировался базовый (предоперационный) уровень отека нижних конечностей.

Базовый уровень когнитивных расстройств оценивался с помощью следующих шкал. Для получения субъективной оценки участникам исследования предложен опросник FACT-Cog (третья версия), включающий такие характеристики, как восприятие когнитивных нарушений, влияние когнитивных нарушений на КЖ, мнение окружающих. Более высокие баллы, свидетельствуют о лучшем состоянии когнитивных функций. Для более детального определения скорости мышления, памяти и концентрации внимания использовалась Монреальская шкала оценки когнитивных функций или Мока-тест. Всех пациенток информировали о возможности развития легких когнитивных нарушений в период адъювантной химиотерапии и обучали методам коррекции памяти с помощью ежедневников, органайзеров и специальных мобильных приложений. Проводились психологические тренинги, направленные на улучшение концентрации, внимания и памяти.

Базовый уровень тревожности и депрессии оценивался посредством Госпитальной шкалы тревожных расстройств (HADS).

Риск тромботических осложнений рассчитывался с использованием критериев, разработанных в ходе проспективного исследования COMPAS-CAT 2017 года, включающих следующие пункты [12]:

Онко-ассоциированные факторы риска:

- диагноз рака был поставлен менее 6 месяцев назад (4 балла)
- установка центрального венозного катетера (3 балла)
- распространенные стадии рака (2 балла).

Предрасполагающие факторы:

- факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний (5 баллов)
- за последнее время случай госпитализации с острой патологией (5 баллов)

- эпизоды венозной тромбоэмболии в анамнезе (1 балл).

Количество баллов для каждого фактора риска соответствуют предложенным в исследовании COMPAS-CAT.

Биомаркеры:

- уровень тромбоцитов  $>350 \times 10^9/\text{л}$  (2).

На основании полученных баллов пациентки были разделены на две группы тромботических осложнений: высокого ( $>7$  баллов) и низкого риска. Группа высокого риска получала эноксапарин в дозе 1 Ед/кг подкожно в течение 12 месяцев, а группа низкого риска - в течение 3 месяцев после операции. Всем участницам исследования каждые четыре месяца проводилось УЗИ глубоких вен нижних конечностей и сосудов малого таза, а каждые 12 месяцев, с целью скрининга тромбоза легочных артерий - КТ грудной клетки.

КЖ оценивалось посредством шкалы EORTC QLQ-C30.

Для контроля состояния здоровья были определены следующие биометрические показатели: ИМТ, уровень глюкозы натощак, уровень гликированного гемоглобина, артериальное давление (АД), уровень холестерина.

После сбора данных о базовых показателях первой группе проведен комплекс реабилитационных мероприятий, включающий этапы предоперационной и постоперационной реабилитации.

На этапе предоперационной реабилитации пациентки прошли психотерапевтическую консультацию, включающую т.н. «критическую интервенцию», направленную на снижение тревожности, формирование позитивного настроя, информирование об ее возможностях, исходах лечения и перспективах. Кроме индивидуальной консультации, программа психореабилитации включала групповые занятия, на которых онкогинекологические больные, находясь на разных стадиях лечения, могли поделиться опытом и переживаниями, получить поддержку. Дополнительно проводились консультации со специалистом по поводу изменений, затрагивающих половую сферу, методов профилактики и коррекции, по вопросам сохранения фертильности и возможности иметь детей после операции.

Для оптимальной коррекции лимфедемы, которая может развиваться в постоперационном периоде, пациенток обучали технике самомассажа, упражнениям на повышение подвижности в нижней конечности. Пациенткам рекомендовали изменение диеты и образа жизни, которые включали: сокращение жиров, соли и быстрых углеводов в рационе; повышение потребления овощей и фруктов; отказ от вредных привычек; снижение ИМТ; ведение активного образа жизни.

В послеоперационном периоде женщинам, вошедшим в экспериментальную группу, проводился комплекс постоперационной реабилитации.

На основании нижеприведенных критериев выявлены группы высокого и низкого риска развития лимфедемы нижних конечностей: ИМТ  $>25 \text{ кг/м}^2$ ; удаление парааортальных лимфатических узлов; формирование лимфоцеле после операции; адъювантная лучевая терапия.

Женщинам группы высокого риска назначены массаж и пассивные движения в нижней конечности, начиная с первой недели после операции с контролем объема нижней конечности дважды в неделю посредством ее измерения. Пациентам группы без факторов риска проводился только массаж с контролем объема нижних конечностей раз в неделю. Все участницы независимо от группы риска прошли обучение гигиене кожи нижних конечностей. Спустя две недели после операции все пациентки экспериментальной группы выполняли комплекс активных упражнений, включающий гимнастические упражнения и аэробику. Комплекс включал в себя обучение правиль-

ному дыханию животом, ряд упражнений на повышение диапазона активных движений, выполнявшихся в положении лежа с ногами в воздухе, и комплекс растяжки. Упражнения выполнялись дважды в неделю. В случае развития отека дополнительно использовался бандаж, состоящий из эластичных бинтов. Контроль размеров нижних конечностей проводился каждый месяц в течение первого года и каждые 3 месяца до конца исследования в обеих группах.

Кроме упражнений, направленных на профилактику отека нижней конечности, начиная со 2-3 недели после операции, пациентки дважды в неделю посещали бассейн и выполняли комплекс силовых упражнений с постепенным возрастанием нагрузки. Один раз в месяц проводились групповые эстафеты на велосипедах в летнее время и на лыжах в зимнее. Эти тренировки направлены на коррекцию психоэмоциональной сферы, усталости и слабости, на повышение выносливости и профилактику сердечно-сосудистых заболеваний.

В экспериментальной группе продолжалось психотерапевтическое лечение, которое носило индивидуальный и групповой характер. В основном применялись принципы когнитивно-бихевиоральной терапии. Основными направлениями воздействия были тревожные и депрессивные расстройства, нарушения сексуального характера, с обязательным консультированием по поводу методов коррекции диспареунии и гигиены половой сферы (использование увлажняющих кремов, лубриканта), а также восстановление и укрепление социальных связей. Кроме того они получали растительные седативные препараты на основе валерианы и пустырника.

Контроль КН проводился каждый месяц с использованием указанных выше тестов. Если у пациентки выявлялось снижение когнитивных функций, то в комплекс психотерапевтического консультирования включались упражнения и тренинги, направленные на улучшение памяти, концентрации и способности справляться со сложными задачами, используемые в терапии болезни Альцгеймера, назначался ноотропный препарат «неулептил» в субтерапевтической дозе (125 мг/сут).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием SPSS Statistics v.22.

**Результаты и их обсуждение.** Предоперационная оценка показала отсутствие лимфатического отека нижних конечностей у всех участниц исследования. Всем больным выполнено удаление ЛУ малого таза, при этом в контрольной группе у 22 пациенток удалены парааортальные ЛУ, в экспериментальной - у 19. Основываясь на представленных выше критериях, определены группы высокого и низкого риска. В группе комплексной реабилитации высокий риск развития лимфатического отека имели 26, в контрольной - 23 женщины. Спустя 4 месяца у 5 (10,6%) пациенток контрольной группы развился отек нижней конечности второй степени, при этом о субъективном ощущении тяжести в ногах сообщили 13 (27,65%). В экспериментальной группе только 7 (14,8%) женщин имели субъективные жалобы на тяжесть в ногах. Спустя 2 года от момента оперативного вмешательства у 9 пациенток контрольной группы (19,1%) развился лимфатический отек, при этом у 2 из них наблюдались необратимые изменения (3 стадия). В группе реабилитации только у одной пациентки (2,1%) развился лимфатический отек первой степени на момент окончания исследования, од-

нако выяснилось, что она не соблюдала рекомендованный режим. Различия между двумя группами статистически достоверны ( $p < 0,05$ ) и представлены на рис. 1.

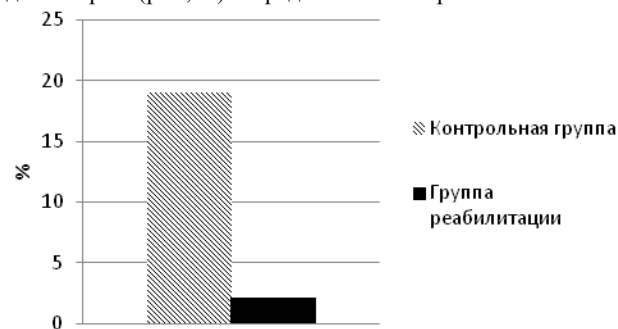


Рис. 1. Доля пациенток (%), у которых развился лимфатический отек нижней конечности на момент окончания исследования

На момент предоперационной оценки когнитивных функций средний балл по Мока-тесту в экспериментальной группе составил 28,26 (26-30; CI: = 27,78-28,73), что соответствует норме. При этом 3 пациентки набрали менее 26 баллов (25, 25, 24), что соответствует умеренным когнитивным нарушениям (КН). В контрольной группе среднее значение Мока-теста составило 28,19 (22-30; CI: = 27,7-28,7). В данной группе значения ниже 26 у двух женщин (24, 22). Средние значения FACT-Cog составили 117,06 (54 - 142; CI: = 110,72- 123,40) и 117,72 (60-141; CI: = 111,15 - 123,18). По окончании исследования были отмечены значения Мока-теста 26,85 (19 - 30, CI: = 26,0 - 27,64) и 24,02 (17 - 30; CI: = 22,5 - 25,54) для экспериментальной и контрольной групп соответственно. Таким образом, выраженность объективных симптомов КН в контрольной группе была достоверно выше ( $p < 0,05$ ). Значения по шкале FACT-Cog на момент окончания исследования составили 113,87 (60 - 142; CI: = 107,51 - 120,22) и 105,23 (55 - 134; CI: = 98,24 - 112,23). Субъективные симптомы КН также были достоверно выше в контрольной группе ( $p < 0,05$ ).

Уровень тревожности в предоперационный период составил в среднем 10,48 (2 - 19; CI: = 9,36 - 11,59) и 10,45 (2 - 20; CI: = 9,31 - 11,59) для экспериментальной и контрольной групп соответственно, что позволяет судить о наличии субклинической и клинической форм тревожности. К концу исследования получены значения для экспериментальной группы - 7,022 (1 - 19; CI: = 5,91 - 8,13) и контрольной - 11,02 (4 - 22; CI: = 9,83 - 12,22). Уровень тревожных расстройств в экспериментальной группе достоверно ниже, чем в контрольной ( $p < 0,05$ ). Кроме того, отмечается статистически достоверное снижение уровня тревожности в экспериментальной группе ( $p < 0,05$ ), при этом только 7 (15,21%) пациенток имели значения соответствующие клинически выраженным тревожным расстройствам, тогда как в контрольной группе клинически выраженные расстройства присутствовали у 32 (68%) пациенток. Значения уровня тревожных расстройств представлены на рис. 2.

Получены следующие средние уровни предоперационной депрессии по шкале HADS для контрольной и экспериментальной групп: 9,69 (2 - 17; CI: = 8,53 - 10,86) и 9,26 (3 - 15; CI: = 8,3 - 10,22), соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о субклиническом уровне депрессии у большинства участниц исследования. На момент окончания исследования были получены следующие значения 12,43 (5

– 21; CI: = 11,23 – 13,64) и 7,69 (1 -14; CI: = 6,77 – 8,62) для контрольной и экспериментальной групп соответственно. В экспериментальной группе значительно выше уровень депрессии ( $p<0,05$ ), при этом отмечается достоверное снижение в сравнении с базовым уровнем, тогда как в контрольной группе наблюдается достоверное увеличение уровня депрессии ( $p<0,05$ ). Данные представлены на рис. 3.

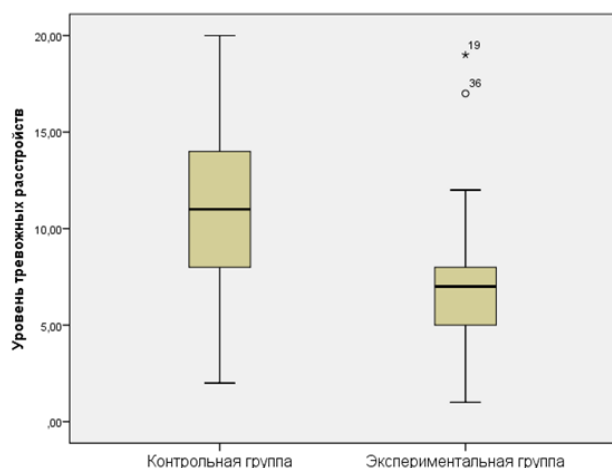


Рис. 2. Уровень тревожных расстройств на момент окончания исследования по шкале HADS

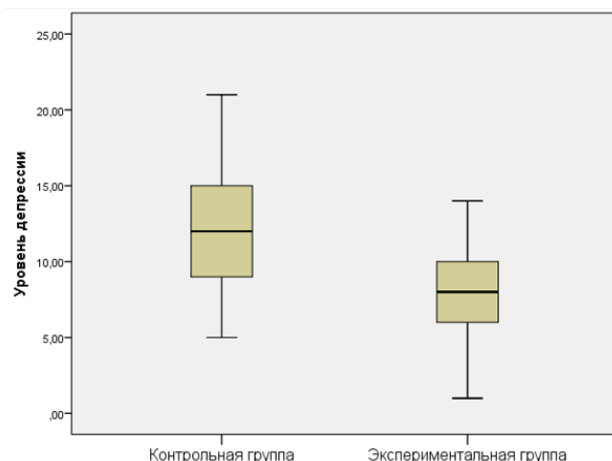


Рис. 3. Уровень депрессии на момент окончания исследования в контрольной и экспериментальной группах по опроснику HADS

Согласно приведенным выше критериям, сформированы группы высокого и низкого риска тромботических осложнений в контрольной и экспериментальной группах. В экспериментальной группе 10 (21,7%) пациенток имели высокий риск, тогда как в контрольной 16 (34%). На момент окончания исследования тромбоз глубоких вен (ТГВ) выявлен у 21 (44,7%) женщины контрольной группы и у 7 (15,22%) – экспериментальной. Таким образом, относительный риск развития ТГВ в контрольной группе составляет 2.9362 (CI = 1.3833 - 6.2324). Кроме того, у одной пациентки из контрольной группы был эпизод тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА).

Значения отдельных показателей опросника EORTC QLQ-C30 представлены в таблице.

Таблица. Данные по контрольной и экспериментальной группам согласно опроснику EORTC QLQ-C30

|                                    | Контрольная группа | Группа реабилитации |
|------------------------------------|--------------------|---------------------|
| GHS/QI Глобальный статус здоровья  | 71,5               | 75,4                |
| *PF2 Физическое функционирование   | 63,2               | 88,1                |
| *RF2 Ролевое функционирование      | 75,6               | 87,5                |
| *EF Эмоциональное функционирование | 75,4               | 88,9                |
| *CF Когнитивное функционирование   | 79,07              | 89,22               |
| *SF Социальное функционирование    | 54,3               | 71,26               |
| *FA Усталость                      | 50,21              | 69,6                |
| NV Тошнота и рвота                 | 40,4               | 44,2                |
| PA Боль                            | 42,54              | 43,1                |
| *DY Одышка                         | 60,32              | 72,8                |
| *SL Бессонница                     | 75,5               | 81,0                |
| *AP Снижение аппетита              | 49,14              | 56,5                |
| CO Запор                           | 89,9               | 88,8                |
| DI Диарея                          | 87,31              | 90,1                |
| *FI Финансовые трудности           | 50,3               | 70,44               |

\* - различия достоверны

Таким образом, в экспериментальной группе показатель КЖ был достоверно выше, а уровень усталости и социализации – ниже.

На дооперационном этапе трудоустроены 37 (78%) женщин контрольной и 35 (76%) – экспериментальной групп. В течение первого месяца после операции 45 (95,7%) пациенткам контрольной и 43 (93,47%) экспериментальной группы установлена I степень нетрудоспособности. Двум пациенткам контрольной и трем экспериментальной установлена II степень нетрудоспособности. Всем пациенткам установлена II группа инвалидности сроком на 5 лет. Спустя три месяца от начала лечения были трудоустроены 12 (26%) пациенток контрольной группы и 14 (29,7%) – экспериментальной. На момент окончания реабилитации на прежнее рабочее место или перешли на другое место работы в связи с профессиональными вредностями 7 пациенток контрольной группы и 21 экспериментальной. Таким образом, в контрольной группе трудоустроены 36,2% женщин, а в группе реабилитации показатель занятости почти достиг дооперационного уровня и составил 76,0%. Различия в показателе возврата к работе (ВКР) между двумя группами являются достоверными ( $p<0,05$ ).

Полученные результаты свидетельствуют, что использование представленного комплекса позволяет существенно повысить КЖ, а также способствует возвращению пациенток к работе и увеличению их работоспособности.

Согласно исследованию коллектива Dunberger G, а также Biglia N и соавт., лимфатический отек нижней конечности значительно снижает КЖ женщин, больных РШМ [12,13],

в результате чего развивается косметический дефект, нарушение подвижности и повышается риск развития кожных инфекций. Результаты некоторых исследований, в частности коллектива Brown JC, показали, что физическая активность снижает риск возникновения отека нижних конечностей, а согласно Fukushima T. и соавт., использование компрессионных бандажей вместе с физическими упражнениями значительно уменьшает отек в случае его возникновения [14,15]. Основываясь на этих данных, в комплекс реабилитации нами внедрены физические упражнения и массаж для профилактики лимфедемы, а в случае появления отека - бандаж. Формирование групп риска основано на данных проспективного исследования коллектива Kuroda K. [16]. Как видно из результатов проведенной работы, подобная тактика позволяет существенно снизить частоту развития отека нижней конечности. Снижение степени отека приводит к повышению КЖ пациенток и устранению дополнительного фактора, влияющего на работоспособность, как за счет болевых ощущений и дискомфорта, так и на прямую за счет ограничения подвижности.

Согласно данным Sekse RJ и соавт., среди прочих онкогинекологических заболеваний именно РШМ в наибольшей степени повышает риск развития усталости [7]. Для коррекции данного осложнения использован комплекс физических упражнений, как силовых, так и аэробных, в частности плавание и лыжи. При физических нагрузках улучшается работа сердечно-сосудистой системы, повышается сатурация крови кислородом и нормализуется психоэмоциональный фон за счет выработки эндогенных опиатов. Кроме того, диета и физические нагрузки способствуют снижению веса и стабилизации гормонального фона. Введение эстафетных соревнований в комплекс реабилитации обосновано положительными результатами использования подобного типа нагрузок у пациенток после оперативного лечения рака молочной железы (РМЖ). Согласно данным Alexandr V. и соавт. [17], стремление достижения цели во время физических нагрузок позволяет изменить отношение к болезни и перевести его в конструктивное русло.

Положительный эффект психотерапевтического воздействия за счет нормализации психоэмоциональной сферы пациентки заключается в стабилизации работы системы гипоталамус-гипофиз-надпочечники и снижении уровня кортизола, что подтверждено рядом исследований [18]. Показано, что высокий уровень кортизола ассоциирован с риском рецидива онкологических заболеваний, а также с развитием перманентной слабости и усталости [19]. Мероприятия, направленные на снижение ИМТ, сбалансированная диета, психоэмоциональная стабилизация за счет снижения уровня кортизола способствуют нормализации содержания глюкозы в крови и повышению иммунитета, что является профилактикой развития сердечно-сосудистых заболеваний и рецидивов РШМ [20].

По данным различных авторов [21], коррекция КН при РШМ значительно повышает КЖ и работоспособность. По данным Smith HR и соавт. [22], депрессивные расстройства и тревожность ассоциированы с развитием КН у пациентов с онкологическими заболеваниями, которые, как показал коллектив Hermelink K. [23], в основном, связаны со стрессом. Таким образом, профилактика и коррекция психоэмоциональных расстройств при РШМ посредством психотерапии уменьшают выраженность КН, что, в свою очередь, снижает уровень тревожности.

Показано, что как в раннем, так и позднем послеоперационном периоде пациентки, больные РШМ, имеют высокий риск тромботических осложнений, включая ТЭЛА [24]. Предложенные коллективом COMPAS-CAT критерии позволили сформировать группы риска и обоснованно провести профилактическую антикоагулянтную терапию. Выбор низкомолекулярных гепаринов, их дозировка и срок приема обоснованы результатами нескольких проспективных рандомизированных исследований [25,26]. Результаты проведенного нами исследования позволяют снизить риск развития тромботических осложнений.

**Заключение.** Разработанный нами комплекс реабилитационных мероприятий, включающий коррекцию соматических и психоэмоциональных нарушений, позволяет повысить КЖ пациенток, улучшить долгосрочный прогноз и выживаемость и способствует повышению их трудоспособности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359-86.
2. Хохлова С. В., Деньгина Н.В., Коломиец Л.А., Кравец О.А., Морхов К.Ю., Нечушкина В.М. и соавт. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака шейки матки. Злокачественные опухоли : Практические рекомендации RUSSCO. 2017; 7:158–67.
3. Marino JL, Saunders CM, Emery LI, Green H, Doherty DA, Hickey M. Nature and severity of menopausal symptoms and their impact on quality of life and sexual function in cancer survivors compared with women without a cancer history. *Menopause*. 2014;21(3):267-74.
4. Biglia N, Zanfagnin V, Daniele A, Robba E, Bounous VE. Lower Body Lymphedema in Patients with Gynecologic Cancer. *Anticancer Res*. 2017;37(8):4005-4015.
5. Janelins MC, Kohli S, Mohile SG, Usuki K, Ahles TA, Morrow GR. An update on cancer- and chemotherapy-related cognitive dysfunction: current status. *Semin Oncol*. 2011;38(3):431-8.
6. Zeng Y, Cheng ASK, Song T, et al. Subjective cognitive impairment and brain structural networks in Chinese gynaecological cancer survivors compared with age-matched controls: a cross-sectional study. *BMC Cancer*. 2017;17(1):796.
7. Sekse RJ, Hufthammer KO, Vika ME. Fatigue and quality of life in women treated for various types of gynaecological cancers: a cross-sectional study. *J Clin Nurs*. 2015;24(3-4):546-55.
8. Guntupalli SR, Sheeder J, Ioffe Y, et al. Sexual and Marital Dysfunction in Women With Gynecologic Cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2017;27(3):603-607.
9. Al-kind SG, Oliveira GH. Incidence and trends of cardiovascular mortality after common cancers in young adults: Analysis of surveillance, epidemiology and end-results program. *World J Cardiol*. 2016;8(6):368-74.
10. Shinn EH, Lenihan DJ, Urbauer DL, et al. Impact of cardiovascular comorbidity on ovarian cancer mortality. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013;22(11):2102-9.
11. Gerotziakas GT, Taher A, Abdel-razeq H, et al. A Predictive Score for Thrombosis Associated with Breast, Colorectal, Lung, or Ovarian Cancer: The Prospective COMPASS-Cancer-Associated Thrombosis Study. *Oncologist*. 2017;22(10):1222-1231.
12. Dunberger G, Lindquist H, Waldenström AC, Nyberg T, Steineck G, Åvall-lundqvist E. Lower limb lymphedema in gynecological cancer survivors--effect on daily life functioning. *Support Care Cancer*. 2013;21(11):3063-70.

13. Biglia N, Zanfagnin V, Daniele A, Robba E, Bounous VE. Lower Body Lymphedema in Patients with Gynecologic Cancer. *Anticancer Res.* 2017;37(8):4005-4015.
14. Brown JC, John GM, Segal S, Chu CS, Schmitz KH. Physical activity and lower limb lymphedema among uterine cancer survivors. *Med Sci Sports Exerc.* 2013;45(11):2091-7.
15. Fukushima T, Tsuji T, Sano Y, et al. Immediate effects of active exercise with compression therapy on lower-limb lymphedema. *Support Care Cancer.* 2017;25(8):2603-2610.
16. Kuroda K, Yamamoto Y, Yanagisawa M, et al. Risk factors and a prediction model for lower limb lymphedema following lymphadenectomy in gynecologic cancer: a hospital-based retrospective cohort study. *BMC Womens Health.* 2017;17(1):50.
17. Ng AV, Cybulski AN, Engel AA, et al. Triathlon training for women breast cancer survivors: feasibility and initial efficacy. *Support Care Cancer.* 2017;25(5):1465-1473.
18. Horowitz MA, Zunszain PA. Neuroimmune and neuroendocrine abnormalities in depression: two sides of the same coin. *Ann N Y Acad Sci.* 2015;1351:68-79.
19. Moreno-smith M, Lutgendorf SK, Sood AK. Impact of stress on cancer metastasis. *Future Oncol.* 2010;6(12):1863-81.
20. Wolkow A, Aisbett B, Reynolds J, Ferguson SA, Main LC. Relationships between inflammatory cytokine and cortisol responses in firefighters exposed to simulated wildfire suppression work and sleep restriction. *Physiol Rep.* 2015;3(11)
21. Jean-Pierre P. Management of Cancer-related Cognitive Dysfunction—Conceptualization Challenges and Implications for Clinical Research and Practice. *US oncology.* 2010;6:9-12.
22. Smith HR. Depression in cancer patients: Pathogenesis, implications and treatment (Review). *Oncol Lett.* 2015;9(4):1509-1514.
23. Hermelink K, Voigt V, Kaste J, et al. Elucidating pretreatment cognitive impairment in breast cancer patients: the impact of cancer-related post-traumatic stress. *J Natl Cancer Inst.* 2015;107(7).
24. Zhang L, Liu X, Xue Y. Analysis of deep venous thrombosis after Gynecological surgery: A clinical study of 498 cases. *Pak J Med Sci.* 2015;31(2):453-6.
25. Elyamany G, Alzahrani AM, Bukhary E. Cancer-associated thrombosis: an overview. *Clin Med Insights Oncol.* 2014;8:129-37.
26. Khorana AA, Carrier M, Garcia DA, Lee AY. Guidance for the prevention and treatment of cancer-associated venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis.* 2016;41(1):81-91.

## SUMMARY

### CERVICAL CANCER REHABILITATION: A PROSPECTIVE STUDY

**Idrisova L., Solopova A., Savchenko A., Makacarya A., Chukanova E., Alipov V., Kapanadze D.**

*Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; Oncological Clinical Health center №1 of Moscow Department of Health, Russia*

Aim - to evaluate the rehabilitation program impact on the quality of life of oncogynecological patients and to introduce this approach in clinical practice.

The study included 93 reproductive-aged women, who underwent the cervical cancer treatment. Patients were divided into two groups: the experimental group, which received rehabilitation, and the control group. The thrombotic complications risk,

lymphatic system condition, cognitive functions and anxiety level were assessed in all patients using special questionnaires, physical examination, and laboratory assessment.

The lower limbs lymphedema was observed in 19.1% of cases in the control group and in 2.1% in the experimental group ( $p < 0.05$ ). According to the Moka test data, cognitive impairment level at the end of the study was 24.02 (17-30, CI = 22.5-25.54) in the control group and 26.85 (19-30, CI = 26.0 - 27.64) in the experimental group ( $p < 0.05$ ). The cognitive impairment subjective signs were significantly higher in the control group ( $p < 0.05$ ) as well. The anxiety level at the end of the study was 7.022 (1-19, CI = 5.91-8.13) in the experimental group and 11.02 (4-22, CI = 9.83-12.22) in the control group ( $p < 0.05$ ). At the end of the study, the following depression levels were obtained: 12.43 (5 - 21; CI = 11.23 - 13.64) and 7.69 (1 - 14; CI = 6.77 - 8.62) in the control and the experimental group respectively ( $p < 0.05$ ). At the end of the study, deep vein thrombosis was observed in 21 patients in the control group (44.7%) and 7 patients in the experimental group (15.22%) ( $p < 0.05$ ). One patient from the control group had PATE. According to EORTC QLQ-C30, the quality of life and socialization level was significantly higher in the experimental group, while fatigue level was lower. At the end of the study, 36.2% and 76.0% of patients in the control and the experimental group respectively were employed.

The rehabilitation program improves the emotional and cognitive functioning, induced menopause associated somatic disorders, quality of life, and work capacity.

**Keywords:** rehabilitation; cervical cancer; lymphedema; cognitive impairment; psychotherapy; the quality of life.

## РЕЗЮМЕ

### РЕАБИЛИТАЦИЯ ПОСЛЕ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

**Идрисова Л.Э., Солопова А.Г., Савченко А.А., Макацария А.Д., Чуканова Е.М., Алипов В.И., Капанадзе Д.Л.**

*<sup>1</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение «Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», Москва; <sup>2</sup>Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Онкологический клинический диспансер №1, департамента здравоохранения г. Москвы», Россия*

Целью исследования явилась оценка степени воздействия комплекса реабилитационных мероприятий на качество жизни и работоспособность онкогинекологических больных, внедрение данного подхода в клиническую практику.

В исследовании принимали участие 93 женщины репродуктивного возраста, проходившие противоопухолевую терапию по поводу рака шейки матки. Пациентки разделены на две группы: основную, которой проводился разработанный комплекс реабилитационных мероприятий, и контрольную. Оценка риска тромботических осложнений, состояния лимфатической системы, когнитивных функций и уровня тревожности у всех больных осуществлялась посредством специальных опросников и по результатам объективных исследований и лабораторных данных.

Лимфатический отек нижней конечности развился у 19,1% пациенток контрольной группы и у 2,1% группы ре-

абилитации ( $p < 0,05$ ). По данным Мока-теста, по окончании исследования наблюдались следующие уровни когнитивных нарушений (КН): 24,02 (17 – 30; CI: = 22,5 – 25,54) в контрольной и 26,85 (19 – 30, CI: = 26,0 – 27,64) в экспериментальной группе ( $p < 0,05$ ). Субъективные симптомы КН были достоверно выше в контрольной группе ( $p < 0,05$ ). Значения уровня тревожности к концу исследования составили 11,02 (4 – 22; CI: = 9,83 – 12,22) в контрольной группе и 7,022 (1 – 19; CI: = 5,91 – 8,13) в экспериментальной ( $p < 0,05$ ). Уровень депрессии на момент окончания исследования составил 12,43 (5 – 21; CI: = 11,23 – 13,64) и 7,69 (1 – 14; CI: = 6,77 – 8,62) для контрольной и экспериментальной групп, соответственно ( $p < 0,05$ ). Тромбоз глубоких вен по окончании исследования выявлен у 21 (44,7%) пациентки контрольной и 7 (15,22%) - экспериментальной группы ( $p < 0,05$ ). У одной женщины контрольной группы выявлен эпизод тромбоэмболии легочной артерии. По данным EORTC QLQ-C30 в экспериментальной группе показатель качества жизни (КЖ) был достоверно выше, а уровень усталости и социализации - ниже. На момент окончания исследования трудоустроены 36,2% пациенток контрольной и 76,0% экспериментальной группы.

Разработанный комплекс улучшает уровень эмоционального и когнитивного функционирования, способствует положительной динамике ассоциированных с индуцированной менопаузой соматических нарушений, позволяет повысить КЖ и уровень трудоспособности пациенток.

რეზიუმე

პაციენტთა რეაბილიტაცია საშვილოსნოს ყელის კიბოს კომპლექსური მკურნალობის შემდეგ

ლ. იდრისოვა, ა. სოლოპოვა, ა. საჩენკო, ა. მაქაცარიძე, ე. ჩუკანოვა, ვ. ალიპოვი, დ. კაპანაძე

მოსკოვის ი. სენენოვის სახ. სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, მოსკოვი; «ქალაქ მოსკოვის ჯანდაცვის დეპარტამენტის ონკოლოგიური კლინიკური დისპანსერი», რუსეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ონკოლოგიურ ავადმყოფების ცხოვრების ხარისხზე და შრომისუნარიანობაზე კომპლექსური რეაბილიტაციური ზემოქმედების შეფასება და ამ ღონისძიებების დანერგვა კლინიკურ პრაქტიკაში.

კვლევაში მონაწილეობა მიიღო რეპროდუქციული ასაკის 93 ქალმა, რომლებსაც უტარდებოდათ სიმსივნის საწინააღმდეგო თერაპია საშვილოსნოს ყელის კიბოს გამო. პაციენტები დაყოფილი იყო ორ ჯგუფად: ძირითადი, რომელსაც უტარდებოდა შემუშავებული კომპლექსური რეაბილიტაციური ღონისძიებები და საკონტროლო ჯგუფი. თრომბოზიკული გართულებების რისკების შეფასება, ღიმფური სისტემის მდგომარეობის, კოგნიტური ფუნქციების და შფოთვის დარღვევების დონის განსაზღვრა ხდებოდა სპეციალური კითხვარების მეშვეობით, ასევე ობიექტური და ლაბორატორიული კვლევების საფუძველზე.

ქვედა კიდურების ღიმფური შემუშავება განუვითარდა პაციენტების 19% საკონტროლო ჯგუფში და 2,1% რეაბილიტაციის ჯგუფში ( $p < 0,05$ ). მოკატეტის მონაცემებით, კვლევის დასრულებისთანავე გამოვლინდა შემდეგი კოგნიტური დარღვევების მაჩვენებლები: 24,02 (17 – 30; CI: = 22,5 – 25,54) საკონტროლო ჯგუფში და 26,85 (19 – 30, CI: = 26,0 – 27,64) ექსპერიმენტულში ( $p < 0,05$ ). კოგნიტური დარღვევების სუბიექტური სიმპტომები ასევე მაღალი იყო საკონტროლო ჯგუფში ( $p < 0,05$ ). კვლევის დასასრულს შფოთვის დარღვევების მონაცემები შეადგენდა 11,02 (4 – 22; CI: = 9,83 – 12,22) საკონტროლო ჯგუფში და 7,022 (1 – 19; CI: = 5,91 – 8,13) ექსპერიმენტულში ( $p < 0,05$ ), ხოლო დეპრესიის დონე - 12,43 (5 – 21; CI: = 11,23 – 13,64) და 7,69 (1 – 14; CI: = 6,77 – 8,62) საკონტროლო და ექსპერიმენტულ ჯგუფებში, შესაბამისად ( $p < 0,05$ ). ღრმა ვენების თრომბოზი კვლევის დასასრულს გამოვლინდა 21 (44,7%) პაციენტს საკონტროლო და 7 (15,22%) პაციენტს ექსპერიმენტულ ჯგუფში ( $p < 0,05$ ). საკონტროლო ჯგუფის ერთ პაციენტს განუვითარდა ფილტვის არტერიის თრომბოემბოლია. EORTC QLQ-C30 მონაცემებით ცხოვრების ხარისხი ექსპერიმენტულ ჯგუფში იყო უფრო მაღალი, ხოლო დადღილობის და სოციალიზაციის მაჩვენებლები - უფრო დაბალი. კვლევის დასასრულს დასაქმებული იყო საკონტროლო ჯგუფის 36,2% პაციენტი და ექსპერიმენტულის - 76,0%.

ავტორების მიერ შემუშავებული რეაბილიტაციის კომპლექსი აუმჯობესებს ქალების ემოციურ და კოგნიტურ ფუნქციონირებას, დადებითად მოქმედებს მენოპაუზასთან დაკავშირებულ სომატურ გართულებებზე, საშუალებას იძლევა გაუმჯობესდეს პაციენტების ცხოვრების ხარისხი და შრომისუნარიანობის დონე.

## CURRENT CONDITION AND CHALLENGES IN TREATMENT OF NON-HEALING WOUND AFTER RADIATION THERAPY (REVIEW)

<sup>1</sup>Karalashvili L., <sup>1</sup>Mardaleishvili K., <sup>2</sup>Uhryn M., <sup>1</sup>Chakhunashvili D., <sup>1</sup>Kakabadze Z.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, Georgia; <sup>2</sup>Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Over the last years, the number of different etiology tumors has increased. According to the American Cancer Society, in 2018, the total of 4,750 new cases has been recorded and by the end of the year, they estimate that this number will reach 1.7 million [1]. The main tumor treatment method is the surgery, chemotherapy and radiotherapy. In this review, our main atten-

tion will be payed to the radiation therapy, which is used alone as a palliative treatment when the elimination of the tumor is not possible or in combination with other tumor treatment methods. It is used before the surgery to help shrink the tumor or after the surgery to treat any remaining cancer cells.

However, radiation therapy has quantifiable negative heal-

ing effects due to local tissue fibrosis and vascular effects [2,3]. Specifically, the irradiated tissue can become hypoxic, and fibroblasts may become dysfunctional, which can increase the wound healing complications [2,4,5].

Such wounds affect the patient's not only physical but mental health as well and productivity [6,7]. Therefore, non-healing wounds represent a significant problem for patients and remain a major challenge in modern medicine [8]. The effects of radiation on wound healing are primarily depends on the total amount of radiation exposure, and when doses larger than 50 Gy are administered the rate of wound complications are significantly increased [2,5].

Complications after radiation therapy occur in up to 60 percent of surgical patients [9]. Non-healing wounds, ulcer and fistula development indicators range between 8.5% - 24% after radiotherapy [10-12].

Irradiated wounds are often resistant to conventional treatment modalities and may often require surgical reconstructive intervention [13]. The main strategy of surgical management of the irradiated area is its generous debridement and coverage of the defect with well-vascularized non-irradiated tissue [14]. The reconstructive options usually include skin grafts, local flaps, regional flaps or free flaps [15,16]. Local flaps may be unreliable, since in some of the cases they are affected by irradiation, which increases the risk of the development of complications such as the gaping wound, skin necrosis around the graft, as well as the necrosis of the graft itself [17-19]. However, the complication rate with regional flaps is just as high as that with local flaps, and is not significantly different when analyzed according to the type of reconstructive procedure performed [20].

Recently, for the healing of non-healing wound, several novel approaches have been proposed such as using the bone marrow stem cells (BMSC), biologically active dressings, bioengineered skin equivalents and others [21-23].

#### *I. Stem cell sources for the treatment of non-healing wounds*

The process of normal wound healing requires an organized integration of the complex of biological and molecular events of cell migration and proliferation, and extracellular matrix deposition, angiogenesis and remodeling [24-26].

However, the authors have noted that the most chronic wounds have a local environment with reduced oxygen levels [27]. Hyperoxia recruits bone marrow-derived progenitor cells into ischaemic wounds [28]. The resident fibroblasts in chronic wounds may be phenotypically senescent and show decreased responsiveness to TGF and PDGF [29].

Bone marrow mesenchymal stem cell based therapy is important for promoting dermal regeneration [30,31]. Bone marrow-derived stem cell transplantation is used for the treatment of non-healing wounds because the bone marrow provides inflammatory cells and endothelial progenitor cells for healing cutaneous wounds [32,33]. Also, bone marrow stromal cells are involved in the collagen, FGF and VEGF synthesis, and they increase the angiogenesis of the chronically ischemic tissue which in turn promotes the wound healing [34-36].

Currently, the new therapeutic approaches using adult stem cells for the repair of radiation-induced tissue injury are being used.

Recent work has successfully demonstrated the preclinical benefit of systemic mesenchymal stem cell (MSC) injections for ulcerated skin and muscle restoration after high-dose irradiation [37]. The beneficial effects rely on paracrine mechanisms, by which cytokines and growth factors that are released from engrafted cells favorably influence wound healing [38,39].

#### *II. Biologically active dressings*

Throughout recent years, the wound dressings are being used for covering the non-healing wounds that should meet the minimal requirements such as: protect wound from bacteria and foreign material, absorb exudate from the wound, prevent heat and fluid loss from the wound, provide compression to minimize edema and obliterate dead space, be nonadherent to limit wound disruption, create a warm, moist and occluded environment to maximize epithelialization and minimize pain, be esthetically attractive [40].

There should not be free fragments in its structure that, if those fragments end up in the wounds, can disrupt the wound healing, these dressings should be flexible and able to provide intimate contact with an uneven surface of the wound, should be transparent so that the wound healing process can be observed and should come in various shapes and sizes, and the price should be affordable.

In the modern medicine, for the treatment of non-healing wounds, the biologically active dressings are being used that represent a composite of biologically active molecules and matrix that is created with biological, biosynthetic and synthetic materials [41,42].

For the creation of matrix, natural polysaccharides which show their advantages in biocompatibility, low toxicity, and pharmaceutical biomedical activity or hyaluronic acid (HA) matrix which in turn can be cross-linked high-molecular weight HA (HMW-HA), low-molecular-weight HA (LMW-HA) that as an additive can contain magnesium ascorbyl phosphate, epidermal growth factor (EGF), and others are being used [43-45]. Collagen dressings that are covered with fibrin and thrombin are being used for the creation of the matrix as well [46]. The disadvantages of collagen or collagen-HA composites for tissue regeneration are their rapid degradation and clearance [47]. The researchers from Thailand have used Genipin-cross-cinked silk sericin/poly (vinyl alcohol) as two-dimensional wound dressings which, as they are reporting, are biologically safe; however, for the achievement of full-fledged positive results, a lot of studies have to be performed [48].

#### *III. Skin equivalents and substitutes*

Skin equivalents and substitute are usually created through the methods of bioengineering using cells, extracellular matrixes (ECM) or both [47]. Skin substitutes can be divided into several types: acellular skin substitutes, cellular allogenic skin substitutes, and cellular autologous skin substitutes [49].

##### *III.1. Tissue engineered skin*

Recently, the advancements in cutting-edge technology from stem cell biology, nanotechnology, and various vascularization strategies have enabled the creation of a perfect bioengineered skin using various types of extracellular matrixes and cells [50]. Natural skin ECM has many functions: provides structure, organization, orientation to cells and tissues, proliferation, controlling morphogenesis, differentiation, adhesion and others [51,52]. Thus, the skin substitutes created with tissue engineering methods should at least meet three requirements: they must be safe for the patient, be clinically effective and be convenient in handling and application [53]. The amniotic membrane of the placenta is one of the best ECM for creating the bioengineered skin since the placenta is a complex organ that has rich reservoir of ECM and bioactive molecules. Also, the amniotic membrane contains various types of collagens, elastin, laminin, proteoglycans and adhesion proteins that play an important role for maintaining its integrity.

Amniotic membrane is successfully being used for the healing

of non-healing wounds not only as the ECM for the tissue engineered skin but it is also used alone without any cells seeded on it. Regulski has performed a study, in which the human amnion membrane allograft has been used for the treatment of chronic traumatic wounds, diabetic foot ulcers and venous leg ulcer, and in all patients the full closure of the wound has been achieved in 4.2 weeks on average [54]. According to the latest studies, the amniotic membrane that has been used for the treatment of diabetic foot wounds, usually the closure of the wounds is achieved about one month earlier compared to the other types of membranes [55].

In 2016, a decellularized and lyophilized human amnion/chorion membrane graft (DLHACM) has been created by us, which has been used for closing the post-laryngectomy pharyngocutaneous fistulas. The amniotic membrane is unique since it contains various growth factors such as EGF, bFGF, KGF, VEGF TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , PDGF, HGF and NGF [56-60], and it also possesses immunomodulatory, anti-microbial, anti-inflammatory, fibrogenic and angiogenic properties, as well as increasing extracellular matrix deposition [61-63].

We hypothesized that biologically active membrane created from the decellularized human amniotic membrane seeded with BMSC paracrine factors can be used for the treatment of non-healing wounds that have developed after the radiotherapy.

However, in the first stage of the study, the decellularized human amniotic membrane without paracrine factors has been used for closing post-laryngectomy pharyngocutaneous fistulas [64]. The studies have shown that DLHACM that has unique physicochemical and compositional properties of the human amnion/chorion membrane that promotes the migration of keratinocytes and various epithelial cells. Angiogenic growth factors, which are components of DLHACM grafts, also apparently contribute to significant acceleration of neovascularization and formation of granulation tissue.

The motivation for creating a biologically active membrane came from the recently published articles regarding the freeze-dried platelet-rich plasma and freeze-dried rat bone marrow mesenchymal stem cell paracrine factors for skin wound therapy [65-67]. As it is reported by the authors, micronized allogenic dermis may be used to provide a dermal matrix to stimulate tissue formation and the combination with freeze-dried platelet-rich plasma may confer additional beneficial growth factors to chronic or diabetic wounds. The freeze-drying methods are particularly suitable for enhanced wound care because of the possibility to deliver growth factors with the use of platelets, and the potential to extend the shelf-life of platelet concentrates.

As for the freeze-dried rat bone marrow mesenchymal stem cell paracrine factors for skin wound therapy, the authors have underlined that the freeze-dried BMSC represents a promising biomaterial that can be used to stimulate quality tissue formation in chronically refractory wounds. The studies that we have conducted have been focused on the reconstruction of mandibular defects with decellularized bovine bone grafts with freeze-dried BMSC paracrine factors and it has shown us that the biologically active bone grafts may be effectively used for the reconstruction of large mandibular bone defects following tumor resection [68].

**Conclusion.** Non-healing wound is a significant problem for patients and it remains a major challenge in modern medicine. Bioactive membrane which consists of decellularized human amniotic membrane and BMSC paracrine factors may be effectively used for the treatment of non-healing wounds that have developed following the radiotherapy. In the current clinical

practice, there is no single ideal graft material of choice, therefore research is ongoing within all relevant fields to establish modern wound healing protocols that may lead to the development of an ideal graft substitute. Despite the achieved positive results that were observed during the closure of non-healing wounds with biologically active membrane containing bone marrow stem cell paracrine factors, it is too early to state that the biologically active membrane is an ideal graft for the reconstruction of non-healing wounds, since it requires additional experimental and clinical studies for ascertaining positive and negative features.

## REFERENCES

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018 // *CA Cancer J Clin*. 2018 Jan; 68(1):7-30.
2. Wyatt G. Payne, Deepak K. Naidu, Chad K. Wheeler, David Barkoe, Marni Mentis, R. Emerick Salas, David J. Smith, Jr, and Martin C. Robson. Wound Healing in Patients With Cancer // *Eplasty*. 2008; 8: e9. Published online 2008 Jan 11.
3. Lia K. Jacobson, Maxwell B. Johnson, Raj D. Dedhia, Solmaz Niknam-Bienia, Alex K. Wong. Impaired wound healing after radiation therapy: A systematic review of pathogenesis and treatment // *JPRAS Open* 13 (2017) 92e105.
4. Sara Rockwell, Iwona T Dobrucki, Eugene Y. Kim, S. Tucker Marrison, Van Thuc Vu. Hypoxia and radiation therapy: Past history, ongoing research, and future promise // *Curr Mol Med*. 2009 May; 9(4): 442-458.
5. Johnson MB, Pang B, Gardner DJ, Niknam-Benia S, Soundarajan V, Bramos A, Perrault DP, Banks K, Lee GK, Baker RY, Kim GH, Lee S, Chai Y, Chen M, Li W, Kwong L, Hong YK, Wong AK8,9. Topical Fibronection Improves Wound Healing of Irradiated Skin // *Sci Rep*. 2017 Jun 20;7(1):3876.
6. Diba Maria Sebba Tosta de Souza; Fernanda Ribeiro Borges; Yara Juliano; Daniela Francescato Veiga; Lydia Masako Ferreira. Quality of life and self-esteem of patients with chronic ulcers // *Acta paul. enferm. vol.26 no.3 São Paulo* 2013.
7. Krister Järbrink, Gao Ni, Henrik Sönnnergren, Artur Schmidtchen, Caroline Pang, Ram Bajpai, Josip Car. The humanistic and economic burden of chronic wounds: a protocol for a systematic review // *Syst Rev*. 2017; 6: 15. Published online 2017 Jan 24.
8. Hanson SE, Bentz ML, Hematti P. Mesenchymal stem cell therapy for nonhealing cutaneous wounds // *Plast Reconstr Surg*. 2010 Feb; 125 (2):510-6.
9. Haubner F, Ohmann E, Pohl F, Strutz J, Gassner HG. Wound healing after radiation therapy: review of the literature // *Radiat Oncol*. 2012 Sep 24;7: 162.
10. Larson DL, Lindberg RD, Lane E, Goepfert H. Major complications of radiotherapy in cancer of the oral cavity and oropharynx. A 10 year retrospective study // *Am J Surg*. 1983 Oct;146(4):531-6.
11. Francesco Puccio, Gianpiero Pandolfo, Stefano Chiodini, Fabrizia Benzi, Massimiliano Solazzo. Primary Aorto-Duodenal Fistula as a Late Complication of Radiotherapy: Report of a Case and Review of the Literature // *Case Rep Gastroenterol*. 2008 Sep-Dec; 2(3): 415-423. Published online 2008 Nov 14
12. Deniz M, Ciftci Z, Gultekin E: Pharyngoesophageal suturing technique may decrease the incidence of pharyngocutaneous fistula following total laryngectomy // *Surg Res Pract* 2015; 2015:363640.
13. Vivas A, Tang JC, Escandon J, Kirsner RS. Postradiation chronic scalp ulcer: a challenge for wound healing experts // *Dermatol Surg*. 2011 Nov;37(11):1693-6. doi: 10.1111/j.1524-4725.2011.02155.x. Epub 2011 Sep 14.

14. Khanna NR, Kumar DP, Laskar SG, Laskar S. Radiation dermatitis: An overview // *Indian J Burns* 2013;21:24-31.
15. Ferrari S, Ferri A, Bianchi B, Varazzani A, Perlangeli G, Sessenna E Donor site morbidity after scapular tip free flaps in head-and-neck reconstruction // *Microsurgery* 2015.-v. 35(6):447-450.
16. Anicin A, Sifrer R, Strojanc P: Pectoralis major myocutaneous flap in primary and salvage head and neck cancer surgery // *J Oral Maxillofac Surg* 2015. pii: S0278-239100600-X.
17. Knott PD, Seth R, Waters HH, Revenaugh PC, Alam D, Scharpf J, Meltzer NE, Fritz MA Short-term donor site morbidity: a comparison of the anterolateral thigh and radial forearm fasciocutaneous free flaps // *Head Neck*. – 2016. – V. 38(Suppl 1):E945–E948.
18. Riecke B, Assaf AT, Heiland M, et al.: Local full-thickness skin graft of the donor arm-a novel technique for the reduction of donor site morbidity in radial forearm free flap // *Int J Oral Maxillofac Surg* 2015; 44:937-941.
19. Li J, Han Z: Sternocleidomastoid muscle flap used for repairing the dead space after supraomohyoid neck dissection // *Int J Clin Exp Med* 2015; 8:1296-1300.
20. Akira Saito et al. The Surgical Treatment of Irradiated Wounds: A Report on 36 Patients. // *Plastic Surgery: An International Journal* - 2013. - Vol. 2013, Article ID 874416, 7.
21. Fu R, Li C, Yu C, Xie H, Shi S, Li Z, Wang Q, Lu L. A novel electrospun membrane based on moxifloxacin hydrochloride/poly(vinyl alcohol)/sodium alginate for antibacterial wound dressings in practical application. *Drug Deliv*. 2014 May 28;1-12.
22. Grasset N, Raffoul W, Bigliardi P. Bioactive dressings // *Rev Med Suisse*. 2010 Feb 17;6(236):354-7.
23. Park KS, Lee WS, Ji SY, Yang WS. The treatment of post-traumatic facial skin defect with artificial dermis // *Arch Craniofac Surg*. 2018 Mar;19(1):35-40.
24. Adrian Buganza-Tepole, Ellen Kuhl. Systems-based approaches toward wound healing // *Pediatr Res*. 2013 Apr; 73(4 0 2): 553-563.
25. Meilang Xue, Christopher J. Jackson. Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring // *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2015 Mar 1; 4(3): 119-136.
26. Ning Xu Landén, Dongqing Li, Mona Stähle. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing // *Cell Mol Life Sci*. 2016; 73(20): 3861-3885. Published online 2016 May 14.
27. Kristin Anderson, Rose L. Hamm. Factors That Impair Wound Healing // *J Am Coll Clin Wound Spec*. 2012 Dec; 4(4): 84-91. Published online 2014 Mar 24.
28. Zhao-Jun Liu, Omaid C. Velazquez. Hyperoxia, Endothelial Progenitor Cell Mobilization, and Diabetic Wound Healing // *Antioxid Redox Signal*. 2008 Nov; 10(11): 1869-1882.
29. Ramesh Kumar Sharma, Jerry R. John. Role of stem cells in the management of chronic wounds // *Indian J Plast Surg*. 2012 May-Aug; 45(2): 237-243.
30. Harris DT, Hilgaertner J, Simonson C, Ablin RJ, Badowski M. Cell-based therapy for epithelial wounds // *Cytherapy*. 2012 Aug;14(7):802-10
31. Summer E. Hanson, Michael L. Bentz, Peiman Hematti. Mesenchymal Stem Cell Therapy for Nonhealing Cutaneous Wounds // *Plast Reconstr Surg*. 2010 Feb; 125(2): 510-516.
32. Sukpat S, Isarasena N, Wongphoom J, et al. Vasculoprotective effects of combined endothelial progenitor cells and mesenchymal stem cells in diabetic wound care: Their potential role in decreasing wound-oxidative stress // *Biomed Res Int* 2013;2013:459196.
33. Ackermann M, Pabst AM, Houdek JP, et al. Priming with proangiogenic growth factors and endothelial progenitor cells improves revascularization in linear diabetic wounds // *Int J Mol Med* 2014;33:833-839.
34. Luis Rodriguez-Menocal, Shahjahan Shareef, Marcela Salgado, Arsalan Shabbir, Evangelos Van Badiavas. Role of whole bone marrow, whole bone marrow cultured cells, and mesenchymal stem cells in chronic wound healing // *Stem Cell Res Ther*. 2015; 6(1): 24. Published online 2015 Mar 13.
35. Alice King, Swathi Balaji, Sundeep G. Keswani, Timothy M. Crombleholme. The Role of Stem Cells in Wound Angiogenesis // *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2014 Oct 1; 3(10): 614-625.
36. Kelly E. Johnson, Traci A. Wilgus. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair // *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2014 Oct 1; 3(10): 647-661.
37. Benderitter M, Gourmelon P, Bey E, Chapel A, Clairand I, et al. New emerging concepts in the medical management of local radiation injury // *Health Phys* 2010; 98: 851-857.
38. Priya R Baraniak, Todd C McDevitt. Stem cell paracrine actions and tissue regeneration. // *Regen Med*. 2010 Jan; 5(1): 121-143.
39. William J. Ennis, Audrey Sui, Amelia Bartholomew. Stem Cells and Healing: Impact on Inflammation // *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2013 Sep; 2(7): 369-378
40. Elbadawy A. Kamoun, El-Refaie S. Kenawy, Xin Chen. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings // *J Adv Res*. 2017 May; 8(3): 217-233. Published online 2017 Feb 3.
41. Ramnath V, Sekar S, Sankar S, Sankaranarayanan C, Sastry TP. Preparation and evaluation of biocomposites as wound dressing material // *J Mater Sci Mater Med*. 2012 Dec;23(12):3083-95.
42. Arockianathan PM, Sekar S, Kumaran B, Sastry TP. Preparation, characterization and evaluation of biocomposite films containing chitosan and sago starch impregnated with silver nanoparticles // *Int J Biol Macromol*. 2012;50(4):939-46.
43. Shimizu N, Ishida D, Yamamoto A, Kuroyanagi M, Kuroyanagi Y. Development of a functional wound dressing composed of hyaluronic acid spongy sheet containing bioactive components: evaluation of wound healing potential in animal tests // *J Biomater Sci Polym Ed*. 2014;25(12):1278-91.
44. Mariana T. Cerqueira, Lucília P. da Silva, Tircia C. Santos, Rogério P. Piraco, Vitor M. Correlo, Alexandra P. Marques, Rui L. Reis. Human Skin Cell Fractions Fail to Self-Organize Within a Gellan Gum/Hyaluronic Acid Matrix but Positively Influence Early Wound Healing // *Tissue Eng Part A*. 2014 May 1; 20(9-10): 1369-1378. Published online 2014 Jan 16.
45. Luo Y, Diao H, Xia S, Dong L, Chen J, Zhang J. A physiologically active polysaccharide hydrogel promotes wound healing // *J Biomed Mater Res A*. 2010 Jul;94(1):193-204.
46. Weiss BG, Ihler F, Matthias C, Canis M. Coated collagen patches for closure of pharyngo-cutaneous fistulas // *Am J Otolaryngol*. 2014 Mar-Apr; 35(2):246-50.
47. Kirk JF, Ritter G, Finger I, Sankar D, Reddy JD, Talton JD, Nataraj C, Narisawa S, Millán JL, Cobb RR. Mechanical and biocompatible characterization of a cross-linked collagen-hyaluronic acid wound dressing // *Biomater*. 2013 Oct-Dec;34(4). pii: e25633.
48. Siritientong T, Ratanavaraporn J, Srichana T, Aramwit P. Preliminary characterization of genipin-cross-linked silk sericin/poly(vinyl alcohol) films as two-dimensional wound dressings for the healing of superficial wounds // *Biomed Res Int*. 2013;2013:904314.
49. Alrubaiy L, Al-Rubaiy KK. Skin substitutes: a brief review of types and clinical applications // *Oman Med J*. 2009 ;24(1):4-6.

50. Bhardwaj N, Chouhan D, Mandal BB. Tissue Engineered Skin and Wound Healing: Current Strategies and Future Directions // *Curr Pharm Des.* 2017;23(24):3455-3482.
51. Dominguez-Bendala J, Inverardi L, and Ricordi C: Regeneration of pancreatic beta-cell mass for the treatment of diabetes // *Expert Opin Biol Ther* 2012; 12:731.
52. Xue M, Jackson CJ. Extracellular Matrix Reorganization During Wound Healing and Its Impact on Abnormal Scarring // *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2015 Mar 1;4(3):119-136.
53. Rostislav V. Shevchenko, Stuart L. James, S. Elizabeth James. A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction // *J R Soc Interface.* 2010 Feb 6; 7(43): 229–258.
54. Regulski M. Utilization of a Viable Human Amnion Membrane Allograft in Elderly Patients With Chronic Lower Extremity Wounds of Various Etiologies // *Wounds.* 2018 Mar;30(3):E36-40.
55. Paggiaro AO, Menezes AG, Ferrassi AD, De Carvalho VF, Gemperli R. Biological effects of amniotic membrane on diabetic foot wounds: a systematic review // *J Wound Care.* 2018 Feb 1;27(Sup2):S19-S25
56. Russo A, Bonci P, Bonci P: The effects of different preservation processes on the total protein and growth factor content in a new biological product developed from human amniotic membrane // *Cell Tissue Bank* 2012; 13:353–361.
57. Kay H, Nelson D, Wang Y: “The placenta: From development to disease.” Wiley-Blackwell 2011.
58. Koob TJ, Lim JJ, Massee M, et al.: Angiogenic properties of dehydrated human amnion/chorion allografts: Therapeutic potential for soft tissue repair and regeneration // *Vasc Cell* 2014; 6:10.
59. Massee M, Chinn K, Lei J, et al.: Dehydrated human amnion/chorion membrane regulates stem cell activity in vitro // *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2015.
60. Alcaraz A, Mrowiec A, Insausti CL, et al.: Amniotic membrane modifies the genetic program induced by TGFβ, stimulating keratinocyte proliferation and migration in chronic wounds // *PLoS ONE* 2015; 18:e0135324.
61. Weiss ML, Anderson C, Medicetty S, et al. Immune response of human umbilical wharton jelly-derived cell // *Stem Cells* 2008; 26:2865–2874.
62. Rauz S, Saw VP: Serum eye drops, amniotic membrane and limbal epithelial stem cells—tools in the treatment of ocular surface disease // *Cell Tissue Bank* 2010; 11:13–27.
63. Wichayacoop T, Briksawan P, Tuntivanich P, et al.: Anti-inflammatory effects of topical supernatant from human amniotic membrane cell culture on canine deep corneal ulcer after human amniotic membrane transplantation // *Vet Ophthalmol* 2009; 12:28–35.
64. Zurab Kakabadze, Konstantine Mardaleishvili, George Loladze, Ivane Javakhishvili, Konstantine Chakhunasvili, Lika Karalashvili, Natia Sukhitashvili, Gocha Chutkerashvili, Ann Kakabadze, David Chakhunasvili. Clinical application of decellularized and lyophilized human amnion/chorion membrane grafts for closing post-laryngectomy pharyngocutaneous fistulas // *J Surg Oncol.* 2016 Apr 1; 113(5): 538–543.
65. Pietramaggiori G, Scherer SS, Mathews JC, Alperovich M, Yang HJ, Neuwalder J, Czczuga JM, Chan RK, Wagner CT, Orgill DP. Healing modulation induced by freeze-dried platelet-rich plasma and micronized allogenic dermis in a diabetic wound model // *Wound Repair Regen* 2008;16:218–225.
66. Nakajima, Y., Kawase, T., Kobayashi, M., Okuda, K., Wolff, L.F., Yoshie, H. Bioactivity of freeze-dried platelet-rich plasma in an adsorbed form on a biodegradable polymer material. *Platelets* 23, 594, 2012 // *Platelets.* - 2012 – V. 23(8):594-603
67. Yan Peng, Min Xuan, Jiping Zou, Hongwei Liu, Ziyuan Zhuo, Yu Wan, Biao Cheng, Freeze-Dried Rat Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Paracrine Factors: A Simplified Novel Material for Skin Wound Therapy // *TISSUE ENGINEERING: Part A, Volume 21, Numbers 5 and 6, 2015*
68. Kakabadze A, Mardaleishvili K, Loladze G, Karalashvili L, Chutkerashvili G, Chakhunashvili D, Kakabadze Z. Reconstruction of mandibular defects with autogenous bone and decellularized bovine bone grafts with freeze-dried bone marrow stem cell paracrine factors // *Oncol Lett.* 2017 Mar;13(3):1811-1818.

## SUMMARY

### CURRENT CONDITION AND CHALLENGES IN TREATMENT OF NON-HEALING WOUND AFTER RADIATION THERAPY (REVIEW)

<sup>1</sup>Karalashvili L., <sup>1</sup>Mardaleishvili K., <sup>2</sup>Uhryn M., <sup>1</sup>Chakhunashvili D., <sup>1</sup>Kakabadze Z.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, Georgia; <sup>2</sup>Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Radiotherapy is a common cancer treatment, but often together with tumor cells, the surrounding normal tissues are damaged as well, which leads to the complications such as skin atrophy, soft tissue fibrosis, desquamation, epithelial ulceration which leads to poor healing of wounds.

In this review, our main attention will be paid to the treatment of non-healing wound after radiation therapy. Irradiated wounds are often resistant to conventional treatment modalities and may often require surgical reconstructive intervention. The reconstructive options usually include skin grafts, local and regional flaps. Local flaps may be unreliable, since in some of the cases they are affected by irradiation. However, the complication rate with regional flaps is just as high as that with local flaps, and is not significantly different when analyzed according to the type of reconstructive procedure performed. In addition, such wounds affect not only the physical, but also the mental health of patients and their productivity. Therefore, non-healing

wounds represent a significant problem for patients and remain a major challenge in modern medicine. Recently, for the healing of non-healing wound, several novel approaches have been proposed such as using the bone marrow stem cells (BMSC), biologically active dressings, bioengineered skin equivalents and others. Of special interest are bioactive membrane consisting of decellularized human amniotic membrane and BMSC paracrine factors, which may be effectively used for the treatment of non-healing wounds that have developed following the radiotherapy. Despite the positive results achieved in a number of cases, it is early to state that the all of the above methods is an ideal for the treatment of non-healing wounds, since it requires additional experimental and clinical studies for ascertaining positive and negative features.

**Keywords:** non-healing wound, biologically active membrane, stem cells, radiotherapy.

## РЕЗЮМЕ

### ТЕКУЩЕЕ СОСТОЯНИЕ ДЕЛ И ПРОБЛЕМЫ В ЛЕЧЕНИИ НЕЗАЖИВАЮЩИХ РАН, ВОЗНИКШИХ ПОСЛЕ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ (ОБЗОР)

<sup>1</sup>Каралашвили Л.Г., <sup>1</sup>Мардалейшвили К.М., <sup>2</sup>Угрин М.М., <sup>1</sup>Чахунашвили Д.К., <sup>1</sup>Какабадзе З.Ш.

<sup>1</sup>Тбилисский государственный медицинский университет, Грузия;

<sup>2</sup>Львовский национальный медицинский университет им. Данило Галицкого, Украина

Лучевая терапия является одним из методов лечения рака, однако вместе с опухолевыми клетками повреждаются нормальные ткани, окружающие опухоль, что приводит к таким осложнениям, как атрофия кожи, фиброз мягких тканей, десквамация, эпителиальное изъязвление, что, в свою очередь, приводит к плохому заживлению ран.

В обзоре основное внимание уделено лечению незаживающих ран, возникших после лучевой терапии. Радиационные раны устойчивы к обычным методам лечения и часто требуют хирургического вмешательства. Реконструктивные варианты обычно включают кожные трансплантаты, полученные из локальных или региональных тканей. Локальные лоскуты считаются ненадежными, поскольку они также подвержены воздействию облучения. Частота осложнений при использовании региональных лоскутов также высока, как и при применении локальных лоскутов. Следует отметить, что раны, возникшие после лучевой терапии, влияют не только на физическое, но и

на психическое состояние пациентов, значительно снижая их продуктивность. Исходя из вышеизложенного, лечение незаживающих лучевых ран является серьезной проблемой современной медицины. В последние годы для лечения незаживающих лучевых ран предложены стволовые клетки костного мозга, биологически активные повязки, содержащие различные факторы роста, биоинженерные эквиваленты кожи и множество других. Особый интерес представляют биоактивные мембраны, состоящие из децеллюлярной амниотической мембраны плаценты человека с помещенными на ней паракринными факторами стволовых клеток костного мозга. Несмотря на положительные результаты, достигнутые в ряде случаев, по сей день ни один из вышеперечисленных методов не является идеальным способом для лечения незаживающих лучевых ран, что ставит перед необходимостью проведения дополнительных экспериментальных и клинических исследований.

## რეზიუმე

სხივური თერაპიის შემდგომ განვითარებული შეუხორცებელი ჭრილობების მკურნალობის მიმდინარე გამოწვევები და მდგომარეობა (მიმოხილვა)

<sup>1</sup>ლ. ყარაღაშვილი, <sup>1</sup>კ. მარდალეიშვილი, <sup>2</sup>მ. უგრინი, <sup>1</sup>დ. ჩახუნაშვილი, <sup>1</sup>ზ. კაკაბაძე

<sup>1</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, საქართველო;

<sup>2</sup>დანილო ჰალიცკის სახ. ლვოვის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

სხივური თერაპია კიბოს მკურნალობის ერთ-ერთი ძირითადი მეთოდია, მაგრამ ხშირად სიმსივნურ უჯრედებთან ერთად ზიანდება ჯანმრთელი ქსოვილებიც, რაც იწვევს ისეთ გარათულებებს როგორცაა: კანის ატროფია, რბილი ქსოვილების ფიბროზი, დესკვამაცია და ეპითელიუმის დაწყლულება, რაც აძნელებს ჭრილობის შეხორცებას. მიმოხილვაში ძირითადი ყურადღება გამახვილებულია სხივური თერაპიის შემდგომ განვითარებული შეუხორცებელი ჭრილობების მკურნალობის მეთოდებზე. დასხივებული ჭრილობები ხშირ შემთხვევაში რეზისტენტულია ჩვეულებრივი მკურნალობისადმი და ხშირად საჭიროებს ქირურგიულ რეკონსტრუქციულ ჩარევას. ქირურგიული რეკონსტრუქცია, როგორც წესი, მოიცავს ადგილობრივ რეგიონალურ და თავისუფალ ნაფლეთებს ან კანის გრაფტებს. ადგილობრივი ნაფლეთები შეიძლება იყოს არასაიმედო, რადგან ზოგიერთ შემთხვევაში ისინიც ზიანდებიან დასხივების დროს. თუმცა რეგიონულ ნაფლეთებს, ისევე როგორც ადგილობრივს, ახასიათებს გართულებების მაღალი სიხშირე და როდესაც გაანალიზეს რეკონსტრუქციული პროცედურების ტიპები მათ შორის არ არის მნიშვნელოვანი განსხვავება. გარდა ამისა შეუხორცებელი ჭრილობები მოქმედებენ

პაციენტების არამართო ფიზიკურ, არამედ ფსიქიკურ ჯანმრთელობაზე და მათ პროდუქტიულობაზე. აქედან გამომდინარე შეუხორცებელი ჭრილობები წარმოადგენს მნიშვნელოვან პრობლემას პაციენტებისთვის და მთავარი გამოწვევაა თანამედროვე მედიცინაში.

ბოლო წლებში, შეუხორცებელი ჭრილობების მკურნალობის მიზნით შემოთავაზებულია რამდენიმე ახალი მეთოდი: ძელის ტვინის ღეროვანი უჯრედები (BMSC), ბიოლოგიურად აქტიური ნახვევები, ბიოინჟინერიის მეთოდით შექმნილი კანის ექვივალენტები. განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს ბიოლოგიურად აქტიური მემბრანა, რომელიც შედგება დეცელულარიზებული ამნიონური მემბრანისა და BMSC-ის პარაკრინული ფაქტორებისგან და შეიძლება ეფექტურად იყოს გამოყენებული იმ შეუხორცებელი ჭრილობების სამკურნალოდ, რომლებიც განვითარდა სხივური თერაპიის შედეგად. მიუხედავად იმისა, რომ სადღეისოდ ბიო-აქტიური მემბრანების გამოყენებით რიგ შემთხვევებში მიღწეულია დადებითი შედეგები, ჯერ კიდევ ნაადრევია საუბარი ზემოაღნიშნული მეთოდების სრულყოფილობაზე, რაც დღის წესრიგში აყენებს ექსპერიმენტული და კლინიკური კვლევების ჩატარების აუცილებლობას აღნიშნული მიმართულებით.

## ЛЕЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ФОРМ РАКА ГРУДНОГО ОТДЕЛА ПИЩЕВОДА

<sup>1</sup>Оразбаев Б.А., <sup>2</sup>Джирзановский Т., <sup>1</sup>Букенов А.М., <sup>1</sup>Мусулманбеков К.Ж.

<sup>1</sup>Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан; <sup>2</sup>Медицинский университет Лодзи, Польша

Показатели заболеваемости раком пищевода в Казахстане по сей день находятся на высоком уровне и составляют 7,7 на 100 тыс. населения, что в 1,2 раза больше, чем в Российской Федерации. Смертность от этой патологии в Казахстане занимает IV место, составляя 5,8%, заболеваемость раком пищевода в Карагандинской области - 8,8 на 100 тыс. населения, что в 1,3 раза больше, чем в Республике в целом.

Основной причиной высокой смертности до года с момента установления диагноза является позднее выявление рака пищевода - летальность составляет 65% [1]. Многие исследователи [6,8] отмечают, что в 65-75% случаев в момент обращения лечения отмечается III-IV стадии опухолевого процесса. Наличие множества форм рака пищевода создает определенные трудности при выборе терапии. Многие больные оказываются неоперабельными ввиду широкой распространенности опухолевого процесса [3] и сопутствующей патологии. В 20% случаев после радикального лечения выявляются местные рецидивы опухоли в анастомозе.

В результате многолетнего опыта клиники пищевой онкологии Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена разработана программа лечения рака пищевода - при I-II стадиях и отсутствии метастазов предлагается органосохраняющее лечение: электро- и лазерная деструкция опухоли с введением препаратов фотогом и фотосенс; при местнораспространенном раке пищевода III стадии ввиду тяжести исходного состояния (значительная потеря в весе, выраженная дисфагия, явления дегидратации) на первом этапе выполняют гастростомию по предложенной нами [7] методике с ревизией паракардиальных, парааортальных зон метастазирования с их удалением. Согласно данным, наложение гастростомы позволяет провести адекватную реабилитацию пациента и подготовить к радикальной операции. При наличии декомпенсированного исходного состояния рекомендована одномоментная резекция пищевода с пластикой изоперистальтическим стеблем ввиду большой кривизны желудка. В случаях, когда исходное состояние больного оценивается как тяжелое, выполняют двухэтапную операцию Добромыслова-Торка. Отсроченную эзофагопластику применяют спустя 6 месяцев после первой операции. Согласно Л.Д. Роман и соавт. [8], хирургический метод лечения рака пищевода остается основным методом, несмотря на успехи химиолучевой терапии. Р. Кубе и соавт. [5] считают сомнительными результаты 5-летней выживаемости при химиолучевой терапии рака пищевода. Карпова Д.Б. и соавт. [4] считают, что при распространенных и запущенных формах рака пищевода паллиативные хирургические и эндоскопические методы необходимо дополнять лучевой терапией. Согласно Чиссов В.И., Дарьялова С.Л. [9], химиотерапевтический и лучевой методы редко дают регресс опухоли, однако в этих случаях продолжительность жизни не превышает 13 месяцев.

Orringer M.B. [14] с соавт. отмечают, что неоадьювантная химиотерапия является перспективным методом, так как в 10-20% случаев удается добиться полного регресса. Orringer M.B. использовал комплексную методику терапии

распространенных форм рака пищевода и у 52% пациентов в послеоперационном периоде осложнений не отмечалось.

По мнению большинства исследователей [1,3,4,6,7], перспективы применения лучевой и химиотерапии больным распространенными формами рака пищевода ограничены ввиду их резистентности, так как они, в основном, носят вспомогательный характер. Ведущим методом лечения рака пищевода является хирургический.

По сообщениям [11,15], рак пищевода обладает высоким потенциалом лимфогенного метастазирования при поражении подслизистого слоя, т.е. T1 метастазы в лимфоузлах выявляются в 40%, а при прорастании адвентиции - в 90%.

По данным Stilidi I. et al [15], в 20% выявляются, т.н. «прыгающие метастазы» в регионарные и отдаленные узлы и при этом крайне сложно определить направление лимфоттока, поэтому стандартом при хирургическом лечении рака пищевода следует считать расширенные 2-зональные лимфодиссекции.

Одним из значимых факторов прогноза, влияющим на продолжительность жизни является частота и количество поражения лимфатических узлов [13]. 3- и 5-летняя выживаемость при стадии N1 составила 47,7% и 12,9%, а при стадии N0 - 68,6% и 54,8%, соответственно ( $p < 0,05$ ). Немаловажное значение для прогноза имеет количество пораженных лимфоузлов. «Критическим» числом считается 7 пораженных лимфоузлов [7,13]. По данным Napier K.J. et al [13], Stilidi I. et al [15], ни один больной с 7 и более пораженными лимфоузлами не доживает до трех лет.

Японские хирурги еще с 80-х годов [12] использовали трехзональную лимфодиссекцию, мотивируя тем, что у 40% пациентов с плоскоклеточным раком пищевода после радикальных операций в отдаленные сроки выявляются распространение метастазов в шейные лимфатические узлы. 5-летняя выживаемость после вышеуказанных операций составила 65% при плоскоклеточном раке и 46% - при аденокарциноме, что подтверждает Altorki N. et al. [10], который доказал, что 25% больных пережили 5-летний срок наблюдения, несмотря на наличие шейных метастатических лимфоузлов.

Одной из наиболее перспективных методик комбинированного лечения, по мнению Н.В. Деньгина [2], является неоадьювантная химиотерапия, при которой повышается резектабельность и выживаемость пациентов. Неоадьювантная химиотерапия с последующей операцией эффективна в 45-70% случаев. При лучевой терапии в суммарной дозе в 45-75 Грей у пациентов с небольшими опухолями 5-летняя выживаемость не превышает 10-15%. Автор отмечает, что лучевая и химиотерапия носят паллиативный характер, поэтому применение вышеуказанных методов в качестве самостоятельного способа лечения рака пищевода является альтернативным решением.

Таким образом, перспективы химиолучевой терапии при раке грудного отдела пищевода крайне ограничены, если они не дополняются хирургическим вмешательством.

Целью настоящего исследования явилась оценка методов лечения рака грудного отдела пищевода и прогнозирование результатов лечения.

**Материал и методы.** Проанализированы результаты лечения рака грудного отдела пищевода за 10 лет (2007-2016 гг.) по материалам отделения торакальной онкологии Карагандинского онкодиспансера. Изучены результаты лечения 366 больных раком грудного отдела пищевода, среди них мужчин было 277 (63%) и женщин 139 (37%) (рис. 1) ( $p \leq 0,05$ ).

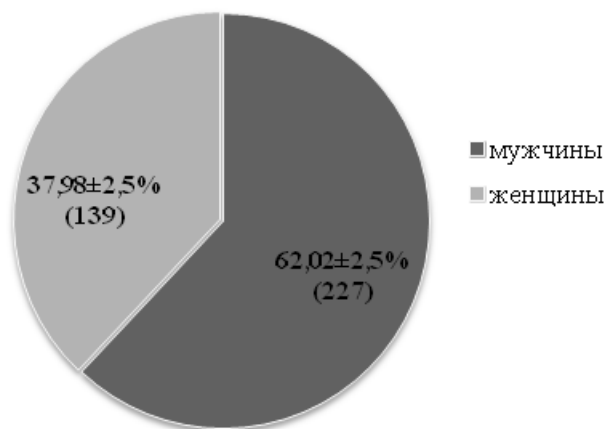


Рис. 1. Половой состав больных раком грудного отдела пищевода

Среди больных раком грудного отдела пищевода преобладали жители сельских районов – 257 (70,21 ± 2,4%), над городскими – 109 (29,78 ± 2,4%),  $p \leq 0,05$ .

По этническому составу (рис. 2) большинство пациентов составили лица коренной национальности - казахи 262 (71,58 ± 2,36%), славяне - 71 (19,39 ± 2,07%), другие национальности - 33 (9,03 ± 1,5%),  $p \leq 0,05$ .

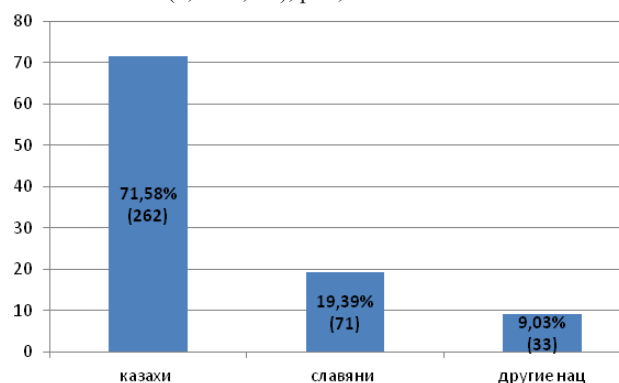


Рис. 2. Этнический состав больных раком грудного отдела

Опухоли чаще локализовались в средне-грудном отделе пищевода – 215 (58,74%), чем в ниже-грудном – 125 (34,15%). Согласно Международной классификации стадийности (TNM, 2011 г.), по степени распространенности опухолевого процесса пациенты распределились следующим образом: IIa стадия, T3N0M0 – 218 (59,56%), IIIa стадия, T4aN0M0 – 62 (16,93%) и Ib стадия T2N0M0 - 39 (10,65%)  $p < 0,05$  (таблица 1).

Среди гистологических форм преобладали плоскоклеточный рак без ороговения и с ороговением – 239 (65,30%) и 99 (27,05%), соответственно. Редкие формы, такие как аденокарцинома и недифференцированный рак не превышали 20 (5,46%) и 8 (2,19%), соответственно,  $p < 0,05$ .

Таблица 1. Стадийность рака грудного отдела пищевода

| Стадия процесса | Стадия по TNM                  | Абс. | %     | Ошиб-ка, m |
|-----------------|--------------------------------|------|-------|------------|
| Ia              | T1N0M0                         | 4    | 1,09  | 0,54       |
| Ib              | T2N0M0                         | 39   | 10,65 | 1,61       |
| IIa             | T3N0M0                         | 218  | 59,56 | 2,57       |
| IIb             | T1-2N1M0                       | 9    | 2,46  | 0,81       |
| IIIa            | T4aN0M0, T3N1M0, T1-2N2M0      | 62   | 16,94 | 1,96       |
| IIIb            | T3N2M0                         | 30   | 8,20  | 1,43       |
| IIIc            | T4aN1-2M0, T4bN1-3M0, T1-4N3M0 | 4    | 1,10  | 0,54       |

Регионарные метастазы выявлены в параэзофагеальных лимфоузлах в 38 (13,11%) случаев, паракардиальные – в 46 (12,57%). Без метастазов - 129 (35,25%) пациентов и неverified метастазы - 143 (39,07%) пациента, у которых на основании рентгенных данных и компьютерной томографии выявлены увеличенные лимфоузлы, в следствие чего они были подвергнуты лучевой терапии. Все пациенты распределены с учетом тактики лечения на 3 группы: I группа – хирургическое лечение 166 (45,36%); II группа – радикальная лучевая терапия 152 (41,53%); III группа – комбинированный способ (предоперационный курс лучевой терапии + операция) 48 (13,11%).

Хирургическое вмешательство проводилось двумя способами – субтотальная резекция средне-грудного отдела пищевода с двухзональной лимфодиссекцией – операция по Льюису – 170 (46,45%), операция Гарлока – резекция ниже-грудного отдела пищевода с резекцией проксимального отдела желудка с двухзональной лимфодиссекцией – 44 (12,02%).

При традиционной методике операции по методу Льюиса после лапаротомии, мобилизации желудка с пересечением правой ножки диафрагмы с сохранением правой желудочно-сальниковой артерии совершается поворот на левый бок. Правосторонняя торакотомия в V межреберье, после ревизии плевральной полости, уточнения степени распространенности опухолевого процесса мобилизуется пищевод выше дуги аорты с пересечением и перевязкой непарной вены. Проводится лимфодиссекция, удаляются все медиастинальные лимфоузлы до кардиодиафрагмального угла. После чего желудок вместе с пищеводом протягивают в плевральную полость. После скелетирования малой кривизны желудка производится проксимальная резекция желудка посредством аппаратов УО-60, УО-40 (Россия). Механический шов укрывается серо-серозными швами. После резекции пищевода, на 5 см проксимальнее опухоли, накладывается пищеводно-желудочный погружной анастомоз. Среди 214 радикальных операций ввиду высокой резекции пищевода со значительной его мобилизацией, натяжением трансплантата и расширенной лимфодиссекцией в 7 (3,27%) случаях отмечена несостоятельность пищеводных соустьев, в 2 (0,93%) – некроз трансплантата. В связи, с чем было решено усовершенствовать методику наложения пищеводных анастомозов.

Начиная с 2012 г. стали производить пластику пищевода при раке «цельным» желудком (предпатент комитета по правам интеллектуальной собственности МЮ РК №1449905 от 24.04.2017 г. «Способ пластики пищевода при раке «цельным» желудком при резекции грудного отдела пищевода»).

После правосторонней торакотомии при операции по методу Льюиса, протягивания пищевода с желудком в плевральную полость пищевод резецируется выше опухоли на 5 см, а затем только кардиальный отдел желудка, ниже кардиального жома и небольшая часть дна желудка, отступая 5 см от крайней короткой фундальной артерии. Резекция желудка выполняется посредством аппаратов УО-60, УО-40. Механический шов укрывается серо-серозными швами с погружением узлов культи желудка в полукишечные швы, которые впоследствии, после наложения пищеводажного анастомоза, выполняют роль кардиального жома. Затем формируется пищеводно-желудочный погружной анастомоз по типу «конец в бок». Данным способом выполнены 113 операций, в 2 (1,76±1,23%) случаях с осложнениями: в одном случае (0,88±0,87%) отмечена недостаточность пищеводажного соустья и в одном - некроз трансплантата, которые закончились летальным исходом.

Превалирующим осложнением в послеоперационном периоде была застойная пневмония, которая отмечена в 24 (6,55%) случаях. Послеоперационная летальность составила 14 (6,54%) из 214 прооперированных, из них в 7 (50,0%) случаях по причине недостаточности пищеводажного соустья, а в 5 (35,71%) - сердечно-сосудистых нарушений, в 2 (14,29%) - сердечно-легочной недостаточности ( $p < 0,05$ ).

Изучены отдаленные результаты лечения больных раком грудного отдела пищевода в зависимости от способа терапии и факторов прогноза методом дожития.

Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica v 10. Все величины выражены как среднее ± ошибка или медиана и интерквартильный диапазон для непрерывных факторов и частот для категориальных факторов. Одномерный анализ проводили с использованием критерия  $\chi^2$  и Фишера для категориальных переменных, для непрерывных факторов - t-критерий Стьюдента. 5-летняя и общая выживаемость сопоставлены между группами с использованием анализа Каплана-Мейера и лог-ранговых критериев. В одномерном анализе общей выживаемости, переменные со значением статистически переосмыслены для корректировки сопутствующих факторов. Модель Кокса использована для многомерного регрессионного анализа. Значение  $p$  меньше 0,05 считалось статистически значимым.

Из исследования исключены пациенты, которым на 01.01.2018 г. после лечения сроки наблюдения составили менее 2 лет, проанализирован 321 (87,7±1,7) случай.

**Результаты и их обсуждение.** Общая пятилетняя выживаемость независимо от способа лечения составила 28 (8,72%), а от 6 до 10 лет прожили 27 (8,41%),  $p < 0,05$ , таблица 2.

Таблица 2. Общая продолжительность жизни больных раком пищевода после радикального лечения

| Количество наблюдаемых больных | Продолжительность жизни в годах |       |      |       |      |       |      |      |      |      |
|--------------------------------|---------------------------------|-------|------|-------|------|-------|------|------|------|------|
|                                | 1                               |       | 2    |       | 3    |       | 5    |      | >5   |      |
|                                | Абс.                            | %     | Абс. | %     | Абс. | %     | Абс. | %    | Абс. | %    |
| 321                            | 128                             | 39,88 | 86   | 26,79 | 52   | 16,20 | 28   | 8,72 | 27   | 8,41 |

Анализ общей выживаемости больных раком грудного отдела пищевода выявил, что метод лечения не оказывает значимого влияния на продолжительность жизни.

Проведен многофакторный анализ по 19 градациям, которые влияют на прогноз заболевания. Анализ кумулятивной выживаемости показал, что 5-летняя выживаемость выявлены среди больных I группы, составив 26,53% (из 147 пролеченных 5 лет прожили 39). Медиана выживаемости равна 19 месяцам (рис. 3).

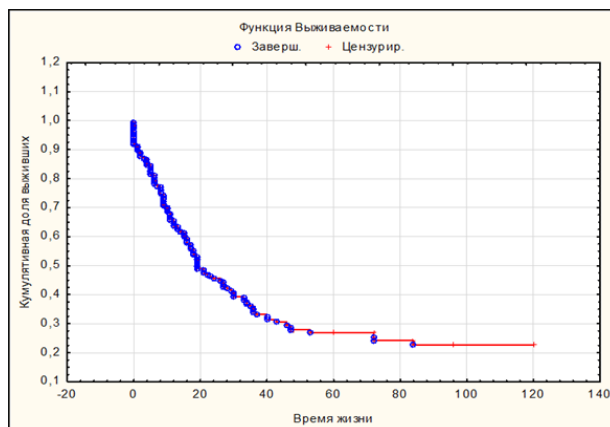


Рис. 3. Продолжительность жизни при хирургическом лечении

Во II группе 5-летняя выживаемость достоверно не превысила 12 (8,57%) случаев (рис. 4).

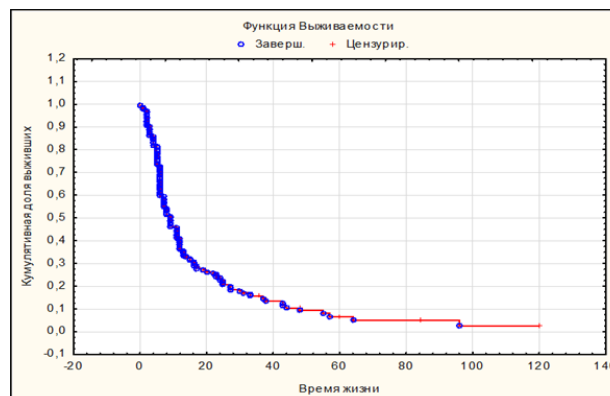


Рис. 4. Продолжительность жизни при радикальной лучевой терапии

5 лет прожили 6 (17,65%) из 34 пациентов, которым проведено комбинированное лечение (рис. 5). Следует отметить, что медиана выживаемости оказалась одинаковой с группой хирургического лечения и составила 19 месяцев.

Сравнительный анализ кумулятивной выживаемости по Каплан-Мейер (рис. 6) показал, что наилучшая выживаемость достоверно отмечена при хирургическом лечении ( $p < 0,05$ ) в сравнении с лучевым и комбинированным; медиана выживаемости равна 13,5 месяцам.

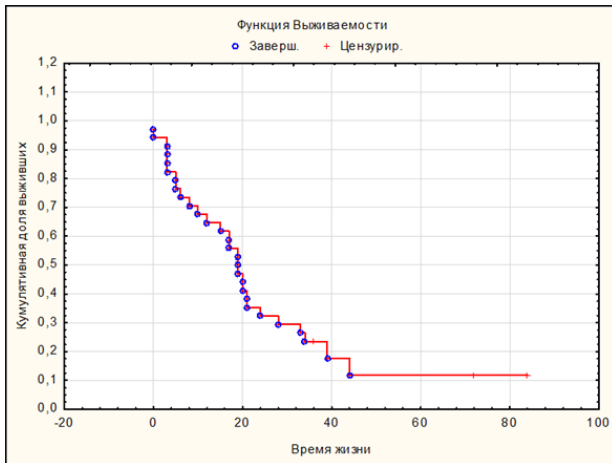


Рис. 5. Продолжительность жизни при комбинированном лечении

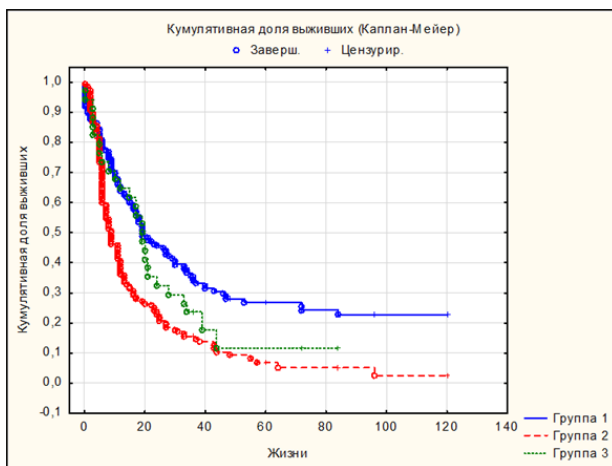


Рис. 6. Кумулятивная выживаемость в зависимости от способа лечения

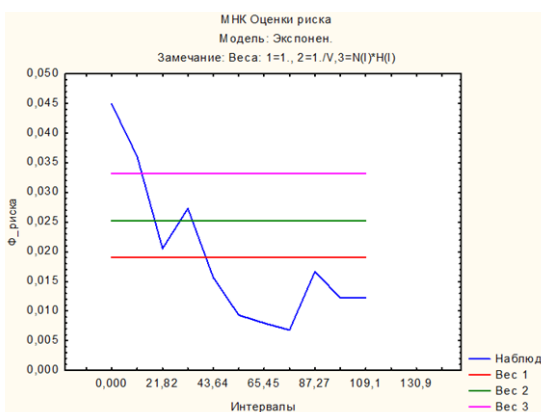


Рис. 7. Риск смертности при лечении рака пищевода

Столь низкая кумулятивная выживаемость среди пациентов II и III групп объясняется тем, что лучевому лечению подвергнуты пациенты с высоким операционным риском. Ведущей причиной отказа от хирургического лечения был пожилой возраст (более 70 лет в  $46,7 \pm 4,05\%$  случаев) и сердечно-легочная недостаточность ( $11,84 \pm 2,62\%$ ). Следует отметить, что в I группе преобладали пациенты в возрасте 51-60 лет ( $46,38 \pm 3,87\%$ ), а с сердечно-легочной патологией

всего лишь  $5,42 \pm 1,76\%$  случаев. В группе больных после комбинированного лечения в  $33,33 \pm 6,8\%$  случаев преобладали лица в возрасте 51-60 лет, с сердечно-легочной патологией -  $6,25 \pm 3,49\%$  ( $p < 0,05$ ).

Математическая модель оценки риска смерти при раке пищевода показала, что независимо от метода лечения рака грудного отдела пищевода риск смертности увеличивается в первые 2 года и усиливается спустя 4 года после лечения (рис. 7).

Полученные данные подтверждает корреляционный анализ по Спирмену, проведенный попарно с каждой группой больных в зависимости от способа лечения и наличия факторов прогноза.

Анализ данных, влияющих на исход лечения рака пищевода выявил, что на исход лечения с 95% доверительным интервалом влияют такие факторы, как локализация опухоли ( $rs = -0,089776$ ), гистологическая форма ( $rs = -0,055125$ ), регионарные метастазы в лимфоузлы ( $rs = -0,0342697$ ), протяженность опухоли пищевода ( $rs = -0,248513$ ). Вышеперечисленные факторы относятся к понятию стадий заболевания. Однако, среди всех факторов прогноза наибольшее значение для выбора лечения и прогноза отдаленного исхода имеет наличие регионарных метастазов. Для пациентов до 60 лет с регионарными метастазами определяют отдаленный исход при комбинированной терапии ( $rs = 0,277693$ ), в случае локализации опухоли в бронхиальном и ретрокардиальном сегментах отдаленный исход равен  $rs = 0,243261$ , гистологический тип - плоскоклеточный рак с ороговением ( $rs = 0,164874$ ), протяженность опухоли не более 3 см ( $rs = 0,311595$ ), инвазия опухоли мышечного слоя ( $rs = 0,320403$ ). Кроме того, продолжительность жизни зависит от факторов возникновения рецидива рака и прогрессирования процесса, их связь составила, соответственно,  $rs = -0,139073$  и  $rs = 0,144985$ .

Таким образом, прогноз отдаленного исхода лечения распространенного рака грудного отдела пищевода зависит от стадии заболевания, локализации опухоли и наличия регионарных метастазов. При догоспитальной диагностике локализации рака в средне-грудном отделе пищевода с распространенностью процесса более 3 см и наличием регионарных метастазов в возрасте до 65 лет необходимо планировать комбинированное лечение (неoadъювантная лучевая терапия+операция). Лучевая терапия при распространенном раке грудного отдела пищевода носит паллиативный характер и ее целесообразно применять у пациентов старше 70 лет с сопутствующими заболеваниями в стадии декомпенсации.

**Выводы.** 1. Радикальным методом лечения рака средней и нижне-грудного отдела пищевода является хирургический, при котором медиана кумулятивной выживаемости равна 19 месяцам. Традиционную лучевую терапию следует применять ограниченно, так как она носит паллиативный характер, медиана выживаемости не превышает 9 месяцев.

2. При наличии регионарных метастазов при раке грудного отдела пищевода целесообразно использовать комбинированный метод (неoadъювантная лучевая терапия+операция Льюиса с 2-зональной лимфодиссекцией), медиана выживаемости равна 19 месяцам.

3. Ведущим критерием при выборе метода лечения при раке грудного отдела является наличие регионарных метастазов.

4. При неадекватном выборе метода лечения в отдаленные сроки увеличивается частота рецидивов и прогрессирование опухолевого процесса. Риск смертности самый высокий в первые 2 года после лечения, независимо от метода терапии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта // Сибирский онкологический журнал. – 2017. – 16 (3) – С.5-11.
2. Деньгина Н.В. Современные терапевтические возможности при раке пищевода // – Практическая онкология. 2012. – №4 – С.276-288.
3. Канаев С.В., Щербаков А.М., Тюреева Е.И., Аванесян А.А. Консервативное лечение местнораспространенного и неоперабельного рака пищевода: возможности и перспективы. // Вопросы онкологии. – 2012. – Т58. №2. – С.199-202.
4. Карпов Д.В., Каминский Ю.Д., Григорьев А.В., Карпова Л.И. Факторы прогноза и их влияние на результаты лечения рака пищевода // – Наука молодых. – 2013; 4(2): – С.39-51.
5. Кубе Р., Реймер А., Ключев Е. и др. Хирургическое лечение злокачественных новообразований пищевода // Хирургия. – 2009. – №9. – С.50-54.
6. Литвинов Р.П., Черных М.В., Нечушкин М.И. и др. Брахитерапия местнораспространенного рака пищевода, как компонент радикального лечения: преимущества и риски // Злокачественные опухоли. – 2016. – №4. – С.109-114.
7. Мамонтов А.С. Комбинированное лечение рака пищевода // Практическая онкология. – 2003. – Т4. №2. – С.76-82.
8. Роман Л.Д., Шостка К.Г., Арутюнян К.В., и др. Возможности хирургического лечения осложнённых форм местнораспространённого рака грудного отдела пищевода // Профилактическая и клиническая медицина – 2016. №3 (60). С.67-71.
9. Чиссов В.И., Дарьялова С.Л. Онкология // – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007.-560с.
10. Altorki N., Kent M., Ferrara C., Port J. Three-field lymph node dissection for squamous cell and adenocarcinoma of the esophagus // Ann.Surg. – 2002. – Vol. 236, №2. – P. 177-183.
11. Anil K.R., Hashem B.E. Esophageal Carcinoma // N Engl J Med - 2014; 371 – P. 2499-2509
12. Isono K., Ochiai T., Okuyama K., Onoda Sh. The Treatment of Lymph Node Metastasis from Esophageal Cancer by Extensive Lymphadenectomy // Jpn.J. Surg. – 1990. – Vol 20, №2.
13. Napier K.J., Scheerer M., Misra S. Esophageal cancer: a review of epidemiology, pathogenesis, staging workup and treatment modalities. // World J Gastrointest Oncology. 2014; 6(5): 112–120.
14. Orringer M.B., Marshal B., Chang A.C., et al. Two Thousand Transhiatal Esophagectomies. Changign Trends, Lessons Learned. // Annals of Surgery. – 2007. Vol.246, №3. – P.363-374.
15. Stilidi I., Davydov M., Bokhyan V., Suleymanov E. Subtotal Esophagectomy with extended 2-field lymph node dissection for thoracic esophageal cancer // Europ. J. Cardio-thoracic. Surg. – 2003. – Vol.23. – P.415-420.

## SUMMARY

### PECULIARITIES OF TREATMENT OF DISTRIBUTED FORMS OF THORACIC PART OF ESOPHAGEAL CANCER

<sup>1</sup>Orazbayev B., <sup>2</sup>Dzierzanowski T., <sup>1</sup>Bukenov A.,  
<sup>1</sup>Musulmanbekov K.

<sup>1</sup>Karagandy State Medical University, Kazakhstan; <sup>2</sup>Medical University of Lodz, Poland

The aim of this study is to evaluate the methods of treatment of thoracic part of esophageal cancer and to predict the results of treatment depending on the factors of the prognosis.

© GMN

The results of treatment of 366 patients with cancer of the thoracic part of esophagus for 10 years (2007-2016) on the basis of the department of thoracic oncology of the Karaganda oncological dispensary were studied.

The overall five-year survival rate, regardless of the method of treatment, was only 8.72% (28 of 321), and in the 6-10 year period 8.41% (27 of 321) lived,  $p < 0.05$ . Analysis of the overall survival of patients with cancer of the thoracic part of esophagus showed that the method of treatment does not have a significant effect on life expectancy. A multivariate analysis of 19 grades that affect the prognosis of the disease was carried out.

Radical type of treatment of the middle and lower thoracic esophagus is surgical, in which the median of cumulative survival is 19 months. Traditional radiotherapy should be used in a limited way, as it is palliative, with a median survival of no more than 9 months.

The leading factor in the prognosis for thoracic part of esophageal cancer is the presence of regional metastases, on which the choice of method of treatment depends.

**Keywords:** esophageal cancer, radiation therapy, survival, regional metastases.

## РЕЗЮМЕ

### ЛЕЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ФОРМ РАКА ГРУДНОГО ОТДЕЛА ПИЩЕВОДА

<sup>1</sup>Оразбаев Б.А., <sup>2</sup>Джирзановский Т., <sup>1</sup>Буменов А.М.,  
<sup>1</sup>Мусулманбеков К.Ж.

<sup>1</sup>Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан; <sup>2</sup>Медицинский университет Лодзи, Польша

Целью настоящего исследования явилась оценка методов лечения рака грудного отдела пищевода и прогнозирование результатов лечения.

Изучены результаты лечения 366 больных раком грудного отдела пищевода за 10 лет (2007-2016 гг.) по материалам отделения торакальной онкологии Карагандинского онкодиспансера. Из исследования исключены пациенты, которым на 01.01.2018 г. после лечения сроки наблюдения составили менее 2 лет, проанализирован 321 (87,7±1,7) случай.

Выявлено, что общая 5-летняя выживаемость независимо от способа лечения составила 28 (8,72%) случаев, от 6 до 10 лет прожили 27 (8,41%),  $p < 0,05$ .

Анализ общей выживаемости больных раком грудного отдела пищевода выявил, что метод лечения не оказывает значительного влияния на продолжительность жизни. Проведен многофакторный анализ по 19 градациям, которые влияют на прогноз заболевания.

Установлено, что радикальным методом лечения рака средне- и ниже-грудного отдела пищевода является хирургический, при котором медиана кумулятивной выживаемости равна 19 месяцам. Традиционную лучевую терапию следует применять ограниченно, так как она носит паллиативный характер, медиана выживаемости не превышает 9 месяцев.

Ведущим критерием при выборе метода лечения при раке грудного отдела пищевода является наличие регионарных метастазов.

## რეზიუმე

საყლაპავის გულმკერდის ნაწილის კიბოს გავრცელებული ფორმების მკურნალობა

<sup>1</sup>ბ. ორაზბაევი, ტ. ჰიერჯანოვსკი, <sup>1</sup>ა. ბუენოვი,

<sup>1</sup>კ. მუსილმანბეკოვი

<sup>1</sup>კარაგანდის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ყაზახეთი; <sup>2</sup>ლომის სამედიცინო უნივერსიტეტი, პოლონეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა საყლაპავის გულმკერდის ნაწილის კიბოს მკურნალობის მეთოდების შეფასება და მკურნალობის შედეგების პროგნოზირება.

გაანალიზებულია 321 საყლაპავის გულმკერდის ნაწილის კიბოთი ავადმყოფის მკურნალობის შედეგები კარაგანდის ონკოლისპანსერის თორაკალური ონკოლოგიის განყოფილების მასალების გამოყენებით (2007-2017 წწ.). გამოვლინდა, რომ ონკოავადმყოფების

საერთო 5-წლიანმა გადარჩენამ შეადგინა 28 (8,72%), 6-დან 10 წელი იცოცხლეს 27 (8,41%),  $p<0,05$ . საყლაპავის გულმკერდის ნაწილის კიბოთი დაავადებულთა სიცოცხლის ხანგრძლივობის ანალიზმა აჩვენა, რომ მკურნალობის მეთოდები სიცოცხლის ხანგრძლივობის მაჩვენებელზე მნიშვნელოვან გავლენას არ ახდენს. ჩატარდა მრავალფაქტორული ანალიზი იმ 19 გრადაციის გათვალისწინებით, რომლებიც გავლენას ახდენენ დაავადების პროგნოზზე.

დადგენილია, რომ საშუალო და ქვედა გულმკერდის საყლაპავის ნაწილის კიბოს მკურნალობის რადიკალურ მეთოდს წარმოადგენს ქირურგიული მეთოდი, რომლის დროს კუმულატიური გადარჩენის მედიანა შეადგენს 19 თვეს. ტრადიციული სხივური თერაპია უნდა გამოყენებული იყოს იშვიათად, ვინაიდან იგი ატარებს პალიატიურ ხასიათს და გადარჩენის მედიანა არ აღემატება 9 თვეს. წამყვან კრიტერიუმს საყლაპავის გულმკერდის ნაწილის კიბოს მკურნალობის მეთოდის არჩევის დროს წარმოადგენს რეგიონარული მეტასტაზების არსებობა.

## СОСТОЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ГРИППОЗНОМ СТОМАТИТЕ У ДЕТЕЙ В КОНЦЕПЦИИ ОБЩНОСТИ MALT-СИСТЕМЫ

Гевкалюк Н.А., Сидлярук Н.И., Пында М.Я., Пудяк В.Е., Крупей В.Я.

Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского МЗ Украины»

Как известно, факторы неспецифической резистентности характеризуются большим разнообразием и осуществляют защиту при попадании во внутреннюю среду организма различных антигенных структур, в том числе и вирусов [1,4,6]. Слизистые оболочки, функция которых состоит в обеспечении местного иммунитета, вследствие своего топографического положения первыми поддаются атаке патогенов [3,7]. Ротовая полость, ее слизистая оболочка, как наиболее открытый отдел пищеварительного тракта и дыхательных путей, является первым механическим барьером для проникновения возбудителей инфекционных заболеваний и антигенов, подавая постоянную контаминацию и формируя микроэкологию слизистой оболочки полости рта (СОПР) и ниже лежащих отделов [7,12,15]. Контакт с антигенами происходит, в основном, на поверхности слизистых оболочек, поэтому их внешние секреты принимают участие в защитных реакциях [2,5,10]. Устойчивость СОПР к воздействию раздражителей в значительной мере определяется сохранением целостности эпителия, регенерация которого обеспечивает барьерную функцию благодаря постоянной замене и удалению клеток поверхностного слоя, содержащих на своей поверхности микроорганизмы. Снижение численности индигенной микрофлоры и ослабление ее адгезии к эпителиоцитам даст возможность эндосимбионтной микрофлоре колонизировать слизистые оболочки различных биотопов, в том числе, полости рта и слюнных желез [3,10,13,17].

Поддержание нормальной функциональной активности органов полости рта обеспечивает слюна, которая выполняет защитную функцию благодаря поддержанию буферных свойств, регуляции водно-солевого гомеостаза, препятствуя колонизации ротовой полости некоторыми потенциально патогенными микроорганизмами [3,8,12,14,17]. Кроме

того, слюна содержит противомикробные соединения, которые выделяются слизистыми оболочками и циркулируют в крови [9,18]. В ряде исследований показано, что клеточные иммунные реакции, как и реакции выработки антител в слизистой оболочке и в сыворотке крови, происходят независимо друг от друга [8,14], что является решающим при создании концепции единой иммунной защитной системы всех слизистых оболочек, в том числе и пищеварительного тракта. Согласно этой концепции слизистые оболочки действуют как единая система, по которой распространяются активированные в одном ее локусе лимфоциты, имеющие функциональную связь с системным иммунитетом [14].

В последние годы появился ряд работ, в которых рассматривается локальная патология слизистых оболочек, исходя из концепции общности MALT (mucosa-associated lymphoid tissue)-системы — основного звена иммунной защиты слизистых оболочек [1,15,18]. Исследователи допускают, что при сбое в функциях местного иммунитета слизистых оболочек открытых полостей организма как первых защитных барьеров на фоне резкого угнетения резидентной микрофлоры возникает симбиоз ряда условно-патогенных бактерий, количество которых значительно превышает их долю в нормальном микробиоценозе [16].

В норме микрофлора полости рта находится в биологическом «равновесии» и адаптации как с организмом человека, так и между собой, однако это равновесие может нарушаться в результате воздействия факторов, понижающих сопротивляемость организма и защитные функции тканей полости рта, в частности при острых респираторных вирусных инфекциях (ОРВИ), которые, как правило, действуют в синергизме с бактериальными.

Целью исследования явилась оценка состояния колонизационной резистентности слизистой оболочки и микробиоценоза полости рта, физико-химических особенностей ротовой жидкости при гриппозном стоматите у детей.

**Материал и методы.** Проведено клинико-лабораторное обследование 384 детей, больных ОРВИ в возрасте 6 мес. - 7 лет, которые находились на лечении в инфекционно-боксированном отделении Тернопольской областной детской клинической больницы. Из общего числа обследованных больных у 318 детей выявлены поражения тканей полости рта, среди них легкая форма диагностирована у 52 детей, средне-тяжелая - у 185, тяжелая - в 81 случае. Контрольную группу составили 66 больных ОРВИ дети без поражения полости рта. Комплексное исследование больных детей проведено по единой схеме с использованием клинических, микробиологических, цитологических методов исследования.

Для оценки состояния местного иммунитета полости рта проводили цитологическое исследование, материал для которого получали путем соскоба посредством шпателя и переносили на предметное стекло, фиксировали и окрашивали одним из принятых полихромных методов по Папаниколу, Романовскому-Гимзе либо специальных методов окраски. Для исследования неспецифических иммунологических факторов, какими являются адгезивно-абсорбционная способность, слущивание поверхностных слоев эпителия СОПР, миграция полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПЯЛ) за пределы кровеносного русла, плотность бактериального заселения СОПР, а также лейкоцитарно-эпителиальный индекс (ЛЭИ) и индекс аттракции изучали мазки-отпечатки с элементов поражения СОПР, взятые у больных ОРВИ детей. Оценка состояния местных факторов защиты проводилась путем цитологического исследования мазков-отпечатков со слизистой полости рта с подсчетом относительного количества каждого вида клеток (нейтрофилы, лимфоциты, эпителий), адсорбционной способности эпителия.

Изучение состояния природной колонизации буккального эпителия проводили по методике А.Н. Маянского [11]; микробного пейзажа СОПР – количественное и качественное исследование микрофлоры, осуществляли в соответствии с современными методическими рекомендациями. Забор материала для исследования микрофлоры производили сухим тампоном с поверхности мягкого неба и задней трети спинки языка. Тампоны помещали в стерильные пробирки с транспортной средой Амиеса и доставляли в лабораторию в максимально короткий срок. Для выделения чистых культур микроорганизмов материал высевали на кровяной, желчно-сыроваточный агар, среду Эндо, на специальную среду для лактобактерий с последующим изучением ферментативных, антигенных и патогенных свойств выделенных культур по общепринятым методам. Изучение микрофлоры полости рта осуществлялось с использованием техники аэробного и анаэробного культивирования. После выделения изолированных колоний получали чистые культуры бактерий, грибов на полужидкой среде Амиеса. При оценке результатов исследования учитывали качественный и количественный состав микрофлоры в клиническом образце. Идентификацию культур осуществляли по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим и биологическим свойствам. Оценка результатов для определения формы дисбиоза проводили согласно рекомендациям В.В. Хазановой и соавт. [цит. по 9].

Поскольку изменения, происходящие в тканях и системах организма детей, больных ОРВИ, не могли не повлиять на физико-химические свойства биологических жидкостей,

проведены исследования ротовой жидкости. Так как уровень неспецифической резистентности полости рта и уровень функциональных реакций в ней зависит от стабильности pH ротовой жидкости, определяли pH и проводили оценку доверительного интервала колебаний pH с использованием pH-метра [5]. Ротовую жидкость собирали натошак в градуированные пробирки без стимуляции согласно рекомендациям В.К. Леонтьева [10].

**Результаты и их обсуждение.** Как известно, барьерная функция слизистой полости рта достигается благодаря ряду факторов, в первую очередь, химической и механической стойкости рогового слоя, постоянному удалению его поверхностных слоев и быстрому обновлению. Клетки поверхностного слоя эпителия слизистой оболочки полости рта всегда покрыты многочисленными микроорганизмами, относящимися к резидентной микрофлоре полости рта и хорошо выявляются при цитологическом исследовании.

Состояние нормальной микрофлоры эпителия СОПР является одним из чувствительных факторов иммунной системы, локализованных на слизистых оболочках. В последних публикациях рассматривается локальная патология слизистых оболочек, выходя из концепции общности MALT- системы — mucosus associated lymphatic tissue (слизистая ассоциация лимфатических тканей) — основного звена иммунной защиты слизистых оболочек. Сбои в функциях местного иммунитета слизистых оболочек открытых полостей организма, в том числе и слизистой полости рта как первых защитных барьеров, на фоне резкого угнетения резидентной микрофлоры приводит к усилению симбиоза ряда условно-патогенных бактерий, количество которых значительно превышает их долю в нормальном микробиоценозе. Что касается заселения буккального эпителия, следует отметить, что подсчитанный нами индекс колонизации буккального эпителия (ИКБЭ) у детей с легким течением гриппозного стоматита был ниже ( $1,54 \pm 0,09$  усл. ед., чем аналогичный показатель детей контрольной группы ( $1,69 \pm 0,03$ ) усл. ед. Определение ИКБЭ у детей со средне-тяжелой формой гриппозного стоматита показало его статистически достоверное ( $p < 0,05-0,01$ ) снижение до  $1,23 \pm 0,01$  усл. ед. При тяжелом течении заболевания ИКБЭ был в 2 раза ниже, чем аналогичный показатель больных детей без поражения СОПР и составил  $0,97 \pm 0,03$  усл. ед. Таким образом, результаты исследований свидетельствуют об активной реакции на инфекционный процесс неспецифического звена местного иммунитета полости рта.

Колонизационная резистентность СОПР благодаря симбиотическому характеру непатогенной микрофлоры способствует функционированию естественного иммунитета, который поддерживается в постоянном активированном состоянии. СОПР у детей раннего возраста особенно чувствительна к токсическому воздействию вирусов и условно-патогенной микрофлоры, в результате чего снижаются сопротивляемость организма и защитные функции тканей полости рта, нарушается биологическое равновесие микрофлоры СОПР. Установленные функциональные изменения буккального эпителия отображают интенсивность заселения аутохтонными микроорганизмами в зависимости от тяжести патологического процесса. Соотношение между степенью колонизации бактериальной флоры и реактивностью организма ребенка непосредственно отражается на характере клинического течения ОРВИ.

Следовательно, колонизационная резистентность СОПР благодаря наличию мощных специфических и неспецифических факторов местного иммунитета препятствует бактериальному заселению СОПР патогенными микроорганизмами и играет протекторную роль в возникновении воспалительных

процессов. Однако, с увеличением тяжести ОРВИ неспецифические факторы местного иммунитета не предупреждают возникновение катарального воспаления СОПР.

Известно, что сосудисто-мезенхимальную реакцию при воспалении обеспечивают, кроме плазменных, и клеточные медиаторы, связанные с лейкоцитами, тромбоцитами, базофилами, макрофагами, лимфоцитами, ПЯЛ. Они тесно сотрудничают, что позволяет плазменным медиаторам обеспечить повышение сосудистой проницаемости и активацию хемотаксиса ПЯЛ для фагоцитоза и внутрисосудистой коагуляции в очаге воспаления - для ограничения возбудителя и самого очага воспаления.

С диагностической целью проведено цитологическое исследование для выявления природы микробных агентов, связанных с поверхностью слизистой оболочки, обуславливающих ее инфекционное поражение. Постоянная колонизационная резистентность СОПР предусматривает наличие мощного неспецифического иммунологического фактора, в частности адгезивно-абсорбционной способности, десквамации поверхностных слоев эпителия СОПР и миграции ПЯЛ за пределы кровеносного русла.

В результате проведенных цитологических исследований мазков-отпечатков у детей с легким течением гриппозного стоматита выявлено: в каждом поле зрения до 10-15 одиночных эпителиоцитов с ровным контуром, преимущественно полигональной или круглой формы с базофильной, как правило, интенсивно окрашенной цитоплазмой, круглым либо овальной формы ядром мелких размеров. В отдельных эпителиоцитах ядра отсутствуют, на их месте наблюдается просветленный вакуолеподобный участок. На отдельных препаратах определяются небольшие группы эпителиоцитов (по 2-4 клетки в каждой), диаметр которых составляет 60-80 мкм. Среди эпителиальных клеток определяются свободные и абсорбированные группы микроорганизмов. Количество микробных тел незначительно и представлено, в основном, кокковыми формами. По характеру колоний большинство из них относится к стафилококкам, они, как правило, единичные и в мазках свободно расположены между эпителиоцитами.

Наряду с колониями патогенных микроорганизмов находятся единичные и целые группы ПЯЛ в ассоциированном с эпителиоцитами состоянии. Часть ПЯЛ имеют признаки активации, в их цитоплазме содержится увеличенное в объеме сегментированное ядро и единичные фагоцитированные бактерии. Кроме нейтрофильных гранулоцитов, в пласте эпителия определяются отдельные лимфоциты, как правило, малые, относящиеся, преимущественно к Т-клеткам. Для части лимфоцитов, определяемых в эпителиальных пластах, характерны морфологические признаки, указывающие на их движение. Встречаются также единичные моноциты.

Подсчитанный лейкоцитарно-эпителиальный индекс колебался в пределах от 6 до 15. Анализ клеточного состава выявил незначительное преобладание макрофагов над моноцитами. Незначительно снижаются фагоцитарный индекс и почти в 1,5 раза в сравнении с контролем показатели индекса аттракции.

У детей со средне-тяжелым течением вирусного стоматита в мазках-отпечатках наблюдается увеличение количества эпителиоцитов, половина из них собраны в пласты, состоящие из 5-12 клеток. Эпителиоциты имеют большие размеры (40-70 мкм в диаметре), зубчатые контуры. Ядро небольших размеров имеет центральное расположение. Среди эпителиоцитов, большинство из которых имеет просветленную цитоплазму, в 18,3 % случаев встречаются клетки с базофильной цитоплазмой и интенсивно окрашенным, средних размеров ядром. Раз-

меры таких клеток чуть меньше и составляют 40-55 мкм в диаметре. Среди одиночно расположенных клеток наблюдаются отдельные безъядерные формы с просветленной центральной частью цитоплазмы. Контуры клеток гладкие, их форма, как правило, полигональная либо овальная. Среди одиночно расположенных клеток диаметр некоторых достигает, в среднем, 65-70 мкм, они имеют интенсивно окрашенную цитоплазму с достаточно большим ядром.

Изменяется также характер бактериального заселения СОПР. Среди групп эпителиоцитов наблюдается значительное количество микроорганизмов коккоподобного происхождения. Наряду со стрептококками, стафилококками появляются палочковидные бактерии, которые локализованы, в основном, на внешней мембране эпителиоцитов и в межклеточном пространстве эпителиальных пластов. Большое количество микроорганизмов наблюдается среди клеток лимфоцитарно-гистиоцитарного происхождения. Клетки лимфоцитарного ряда имеют овальную или удлинённую многоотростковую форму, располагаются на значительных расстояниях друг от друга, часть из них собрана в небольшие группы - по 2-5 в каждой. Встречаются лейкоциты, отдельные сегментоядерные нейтрофильные гранулоциты, преимущественно, дегенеративно изменённые, с гиперсегментированным ядром, без перепонок между сегментами, без специфической зернистости, что свидетельствует об остром воспалительном процессе в ротовой полости. Появление единичных эозинофилов свидетельствует о присоединении аллергического компонента к развитию воспалительного процесса. Снижаются показатели фагоцитарного и индекса аттракции до 32 и 28, соответственно, в то же время ЛЭИ увеличивается до 30-45.

У детей с тяжелым течением ОРВИ в каждом поле зрения мазка-отпечатка наблюдаются 1-2 группы эпителиоцитов по 20-30 клеток в каждом пласте. Цитоплазма этих клеток интенсивно окрашена, ядро больших размеров, овальной либо округлой формы, с ровными контурами и нежно-зернистым хроматином. Среди отдельных клеток и на поверхности большинства из них расположено значительное количество колоний патогенных микроорганизмов. По характеру колоний большинство из них относится к микроорганизмам коккообразного происхождения - стафилококки, стрептококки, диплококки. Наблюдается повышенное количество микроорганизмов палочковидной формы, среди лимфоидного компонента - значительное количество сегментоядерных нейтрофилов. Обращает на себя внимание статистически достоверное (все различия достоверны в пределах  $p < 0,01$ ) увеличение количества эозинофилов в мазках-отпечатках в сравнении с больными средне-тяжелой формой ОРВИ. При этом эозинофилы имеют признаки выраженных дистрофических изменений. Возрастает количество лимфоцитов, что, по всей вероятности, свидетельствует о вовлечении в процесс иммунной системы организма и переходе острой воспалительной реакции в хроническую. Показатель фагоцитарного индекса и индекса аттракции снижается до 18 и 14, соответственно, в сравнении с предыдущей группой обследованных, индекс ЛЭИ при этом увеличивается до 60-70.

Таким образом, проведенные исследования клеточного и бактериального компонентов мазков-отпечатков при ОРВИ у детей позволили выделить 3 типа цитограмм, каждая из которых соответствует определенной степени тяжести клинического течения заболевания. Выделенные исходные типы цитограмм могут быть использованы как прогностические критерии течения ОРВИ, в частности гингивита, и для контроля эффективности проведенного лечения.

Таблица. Частота высевания аутохтонных, нерезидентных патогенных и условно-патогенных микроорганизмов с поверхности СОПР больных ОРВИ детей (в % от количества исследуемых проб)

| Группы обследованных больных | Частота выявления роста микроорганизмов на питательных средах                              |                        |                                     |               |                  |                                                                                   |
|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-------------------------------------|---------------|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
|                              | микрококки, лактобациллы, стрептококки, коагулазо- и лецитиназо-отрицательные стафилококки | золотистый стафилококк | $\beta$ -гемолитический стрептококк | грибы Candida | кишечная палочка | Str. Pyogenes, St. Epidermidis, St. Intermedius, S. haemolyticus, Corynebacterium |
| Без поражения СОПР           | 100,00*                                                                                    | 5,46*                  | -                                   | 1,53*         | 1,01*            | -                                                                                 |
| Легкая форма                 | 95,58*                                                                                     | 6,03*                  | -                                   | 2,08*         | 3,42*            | -                                                                                 |
| Средне-тяжелая форма         | 64,43*                                                                                     | 19,32*                 | 5,27*                               | 7,44*         | 5,63*            | -                                                                                 |
| Тяжелая форма                | 23,12*                                                                                     | 54,71*                 | 21,86*                              | 33,31*        | 8,76*            | 8,17*                                                                             |

примечание: \* - наличие достоверной разницы ( $p < 0,05-0,01$ )

Соотношение между эпителиальными клетками из разных слоев СОПР, ПЯЛ и видовым, количественным составом микроорганизмов зависит от многих факторов, ведущим из которых, по всей вероятности, является соотношение между их патогенностью и типом колонизации бактериальной флоры, с одной стороны, и реактивностью макроорганизма, с другой.

Изучение состояния факторов естественной резистентности СОПР, состоящее в определении плотности бактериального заселения СОПР, выявило отклонения в составе микробной флоры (таблица).

В результате проведенного исследования установлено, что микрофлора при легкой форме ОРВИ с проявлениями на СОПР отличалась от микрофлоры детей контрольной группы лишь количеством резидентной флоры. Результаты изучения микробного обсеменения слизистой полости рта у детей, больных ОРВИ, показали, что у пациентов с легким течением заболевания оно составляет  $10^5 \pm 10^2$  CFU/cm<sup>2</sup>, т.е. находится в пределах данных для практически здоровых детей –  $10^4 \pm 10^6$  CFU/cm<sup>2</sup>. Что касается видового состава микрофлоры, то в контрольной и группе детей с легкой формой гриппозного стоматита выделены, в основном, микрококки, лактобациллы, негемолитические и  $\alpha$ -гемолитические стрептококки, коагулазо- и лецитиназоотрицательные стафилококки (частота высеваания – 100% и 95,58%, соответственно).

На питательных средах, засеянных материалом из поверхности СОПР детей, отмечали одиночный рост золотистого стафилококка (6,03%), грибов Candida (2,08%) и кишечной палочки (3,42%), что свидетельствует о присутствии на поверхности СОПР представителей нерезидентной микрофлоры. Следовательно, при легком течении гриппозного стоматита наблюдаются незначительные отклонения показателей гомеостаза ротовой полости, выражающиеся в увеличении количества резидентной микрофлоры и незначительном увеличении представителей нерезидентной микрофлоры.

Что касается интенсивности заселения СОПР резидентными микроорганизмами, то следует отметить, что при средне-тяжелой форме ОРВИ происходят количественные и качественные изменения микрофлоры в сравнении с детьми контрольной группы и больными легкой формой ОРВИ, что проявляется в статистически достоверном ( $p < 0,005$ ) увеличении количества

нетипичных для здоровой СОПР детского возраста патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Плотность бактериального заселения СОПР у детей при средне-тяжелой форме ОРВИ показала, что в составе микробной флоры происходят значительные отклонения. При бактериальном исследовании материала, забранного от больных этой группы, аутохтонная микрофлора (микрококки, лактобациллы) высевалась в 64,43% случаев, как правило, в ассоциации с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами - золотистым стафилококком, бета-гемолитическим стрептококком, пиогенным стрептококком или грибами Candida. В 27,06% случаев аутохтонная микрофлора отсутствовала; в исследуемом материале выделялись названные патогенные и условно-патогенные микроорганизмы в большом количестве. Наряду с этим, сравнительно часто и в большом количестве выделялись нетипичные для детского возраста патогенные и условно-патогенные микроорганизмы - золотистый стафилококк в 19,32% случаев, пиогенный стрептококк - в 11,73%, кишечная палочка - в 5,63%, грибы Candida - в 7,44% и бета-гемолитический стрептококк - в 5,27% случаев. Однако их количество не превышало величину порядка  $10^4$  CFU/cm<sup>2</sup>.

Угнетение роста микроорганизмов - представителей аутохтонной микрофлоры, появление и интенсивный рост патогенных и условно-патогенных нерезидентных микроорганизмов является проявлением дисбиотического сдвига - дисбактериоза I-II степени. Следовательно, нарушения в микробиологии СОПР при средне-тяжелой форме ОРВИ, развитие дисбактериоза I-II степени являются признаками существенного снижения защитных барьерных свойств слизистой ротовой полости. Интенсивный рост патогенных и условно-патогенных нерезидентных микроорганизмов и исчезновение аутохтонной микрофлоры являются неблагоприятным прогностическим признаком течения заболевания и свидетельствуют о напряженности реакции неспецифического звена местного иммунитета СОПР.

Изучение микробиоценоза СОПР при тяжелой форме гриппозного стоматита показало, что в характере микрофлоры этих детей выявлены наиболее существенные отклонения: чаще выделяется золотистый стафилококк (54,71%), реже - бета-гемолитический стрептококк (21,86%), грибы

*Candida* (33,31%), *Str. pyogenes* (8,17%). Частота выявления в ротовой полости кишечной палочки существенно не отличалась от частоты ее выявления у больных со средней формой тяжести (5,63%). Однако встречались ассоциации кокковой флоры с *E. coli* (9,71%), *P. aeruginosa* (7,63%), *C. albicans* (6,52%), *Str. pneumoniae* (5,13%), *Enterococcus* spp. (3,79%). Аутохтонные микроорганизмы – микрококки, лактобациллы выделялись лишь у 23,12% обследованных детей, как правило, в ассоциации с патогенными и условно-патогенными микроорганизмами - золотистым стафилококком, бета-гемолитическим стрептококком или грибами *Candida*. В 79,61% случаев аутохтонная микрофлора отсутствовала; выделялись названные патогенные и условно-патогенные микроорганизмы в большом количестве.

Характерной особенностью микрофлоры, выделенной из поверхности слизистой полости рта при тяжелом течении гриппозного стоматита является наличие ассоциаций патогенных микроорганизмов - золотистого стафилококка с бета-гемолитическим стрептококком (в 4,47% случаев), золотистого стафилококка или бета-гемолитического стрептококка с грибами *Candida* (10,47%). Часто выделяются стафилококки с более выраженными патогенными свойствами, чем у детей контрольной группы, что может являться прогностическим тестом утяжеления течения гриппозного стоматита. Эти штаммы имели гемолитические свойства, продуцировали гиалуронидазу, вырабатывали плазмокоагулазу и выделяли некротоксин. Выделение кишечной палочки, грибов *Candida* принято считать неблагоприятным гигиеническим признаком состояния слизистой оболочки полости рта.

Следовательно, у больных с тяжелой формой гриппозного стоматита нами выявлены признаки дисбактериоза II-III, а при наличии ассоциации патогенных микроорганизмов - с грибами *Candida* - IV степеней. Приведенные данные свидетельствуют о наличии тесной взаимосвязи между тяжестью течения ОРВИ и характером микрофлоры, выделенной с поверхности СОПР. При тяжелой форме заболевания наблюдаются значительные нарушения в микроэкологии СОПР, развитие дисбактериоза III-IV степеней, являющиеся признаками существенного снижения защитных барьерных свойств СОПР. Интенсивный рост патогенных и условно-патогенных нерезидентных микроорганизмов и исчезновение аутохтонной микрофлоры являются неблагоприятным прогностическим признаком течения заболевания.

В результате проведенных исследований установлено, что влияние вирусных и микробных агентов вследствие снижения резистентности СОПР и изменений реактивности организма, нарушает баланс в системе макроорганизм-микробиота и способствует формированию дисбиоза. Нарушения естественного биоценоза полости рта при ОРВИ, обусловленные активацией условно-патогенной флоры, относящейся к резидентной, приводят к развитию воспалительных процессов в полости рта, выраженность которых определяется степенью снижения защитных барьерных свойств СОПР при разных формах тяжести течения ОРВИ. Развитие острого гриппозного стоматита, по всей вероятности, происходит не столько от проникновения вируса, сколько от активации условно-патогенной флоры - стрепто- и стафилококков, грибов, в результате изменений реактивности организма. При взаимодействии организма с вирусами - возбудителями ОРВИ в сочетании со значительной плотностью заселения СОПР и активацией условно-патогенной флоры, механизмы неспецифической защиты не всегда способны противостоять их патогенному влиянию.

Выявление значительного количества микроорганизмов,

прикрепленных к поверхности эпителиоцитов, может иметь диагностическую значимость и свидетельствовать об угнетении активности нормальных механизмов очищения слизистой оболочки и высокой вероятности развития инфекционного процесса, при котором микроорганизмы нарушают целостность эпителия и подлежащих тканей, проникая в них или воздействуя своими токсинами.

В региональных органах MALT-системы происходит встреча антигена, проникающего через слизистые оболочки, со зрелыми иммунокомпетентными клетками и развитие иммунного ответа, в ходе которого происходит распознавание эпитопов того или иного антигена. Собственно за счет микробиоты происходит запуск и последующая активация синтеза неспецифических факторов защиты. Влияние антигенов нормофлоры необходимо для адекватного формирования адаптивного иммунного ответа у детей, стартовавшем в период ранней микробной колонизации желудочно-кишечного тракта.

Известно, что согласно теории формирования патологических состояний, отклонения, которые возникают в системах организма, уменьшают его общую адаптивность и, одновременно с нарушением функций, происходят изменения состава и структурные перестройки в биологических жидкостях, изменяя уровень кислотно-солевого обмена и их физико-химические свойства. Репрезентативной характеристикой уровня функциональных реакций в полости рта служит стабильность и доверительный интервал колебаний pH ротовой жидкости, что, по мнению Денгги О.В. [5], является одним из показателей уровня неспецифической резистентности организма.

Определение уровня и стабильности pH, оценка доверительного интервала колебаний pH ротовой жидкости у детей показали, что их величина изменяется в зависимости от тяжести заболевания. Если при легкой форме гриппозного стоматита существенных отличий в значениях этого показателя в сравнении с детьми контрольной группы не выявлено ( $6,32 \pm 0,01$  и  $6,38 \pm 0,01$ , соответственно), то при течении заболевания в средне-тяжелой и тяжелой формах его значения составили  $5,52 \pm 0,02$  и  $4,92 \pm 0,03$ , соответственно.

Для определения влияния функциональных реакций в организме на состояние биофизических параметров ротовой жидкости проведена оценка доверительного интервала колебаний pH ротовой жидкости на начальном этапе заболевания и в динамике лечения. Проведенные исследования стабильности pH ротовой жидкости у больных детей без поражения СОПР выявили, что средний показатель доверительного интервала колебаний pH ( $\Delta pH$ ) составил  $0,13 \pm 0,01$ , что соответствует нормальному уровню функциональных реакций организма.

Что касается детей, больных ОРВИ с проявлениями заболевания в ротовой полости, то при всех формах тяжелого течения наблюдалось снижение уровня функциональных реакций, соответствующее тяжести патологического процесса: при легком течении гриппозного стоматита показатель доверительного интервала колебаний pH ротовой жидкости составил  $0,19 \pm 0,01$ , при средне-тяжелой и тяжелой формах -  $0,23 \pm 0,01$  и  $0,27 \pm 0,01$ , соответственно.

Исследование стабильности pH ротовой жидкости в первые дни заболевания показали, что доверительный интервал колебаний pH у детей с легким течением заболевания был в 1,46 раза ниже, чем у детей контрольной группы, при течении заболевания в средне-тяжелой и тяжелой формах - в 1,77 и 2,17 раза, соответственно. Полученные данные

изменений биофизических параметров ротовой жидкости свидетельствуют о снижении уровня функциональных резервов полости рта, отвечающих за постоянство его среды. Следовательно, нарушения количественных и качественных свойств ротовой жидкости, возникающие при респираторных вирусных инфекциях, вызывают нарушения гомеостаза ротовой полости.

Очевидно, на фоне изменений физико-химических свойств, кислотно-солевого обмена ротовой жидкости при ОРВИ возникают иммунобиологические нарушения ротовой полости, которые следует рассматривать как взаимообусловленный процесс, поскольку гипосаливация при ОРВИ влечет за собой недостаточность медиаторной активности защитных механизмов и сухость СОПР, а с другой стороны, гриппозный стоматит влияет на экзокринную функцию слюнных желез, приводя к снижению их функциональной активности.

Анализ наших предыдущих клинических исследований [4] показал, что полиморфизм проявлений ОРВИ на слизистой ротовой полости, с одной стороны, является проявлением патогенных свойств микрофлоры полости рта (стрептококков, стафилококков, грибов) в ассоциации с респираторными вирусами, а с другой - следствием сниженной реактивности слизистых оболочек полости рта и реактивности организма в целом, что подтвердилось результатами проведенных лабораторных исследований.

**Выводы.** Вовлечение в воспалительный процесс СОПР при острых респираторных вирусных инфекциях следует рассматривать как симптом болезни, обусловленный изменением нормальной экологии полости рта с выраженным преобладанием условно-патогенной микрофлоры. Поражения органов и тканей полости рта при ОРВИ характеризуются биофизическими изменениями ротовой жидкости, нарушениями колонизационной резистентности СОПР и структуры микробиоценоза ротовой полости, приобретающих признаки дисбактериоза в зависимости от степени активности патологического процесса. Условия дезадаптации являются определяющими для развития дисбиотических процессов в микробиоценозе ротовой полости, степень нарушения которого может быть различной и касаться как видового состава ассоциантов, так и количественного уровня микроорганизмов, приводящих к развитию клинической симптоматики воспаления СОПР.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абатуров О.С. Эффективність лікування респіраторних вірусних захворювань у дітей із використанням бактеріальних лізатів //Здоров'я ребенка, №1 (60).-2015. – 21-24.
2. Бухтиярова Т. Роль цитокинового звена в воспалительном процессе /Т. Бухтиярова, З. Омеляненко, В. Хоменко, О. Ядловский //Вісник фармакології та фармації. - 2010.- №9. - 22-25.
3. Ган Р.З. Морфологічні та біохімічні механізми змін букальних епітеліоцитів та еритроцитів у дітей за психоемоційного стресу /Р.З. Ган, С.Л. Попель //Regulatory Mechanisms in Biosystems, 2018, Vol.8 (3).- 363-368.
4. Гевкалюк Н.О. Клінічні прояви гострих респіраторних вірусних інфекцій та грипу в порожнині рота хворих дітей // Клін. стоматологія. – 2016. -№1.- 23-27.
5. Деньга О.В. Интегральная экспресс-оценка уровня функциональных реакций в полости рта у детей /О.В.Деньга, Э.М.Деньга //Вісник стоматології. - 2009, № 5, Спец. вип. - 130-148.

6. Звездина А.В. Рекуррентные инфекции у детей младшего возраста и их связь с герпесвирусами / А.В. Звездина, Т.Г. Подгорная, Н.Б. Кирпичева, Э.А. Демус // Дитячий лікар. – 2016. – № 5 (50). – 34-36.
7. Зубачик В.М. Патогенетичне значення дисфункції ендотелію судин мікроциркуляторного русла пародонту у формуванні та перебігу генералізованого пародонтиту / В.М. Зубачик, Ю.Б.Різник // Современная стоматология, 2013.- №4(68).- 50-53.
8. Крячок І.А. MALT-лимфома: причины возникновения, Патогенез, классификация, клиническая картина.- / І.А. Крячок, К.О. Ульяновченко, Т.В. Каднікова та ін. //Клиническая онкология, № 1 (25).- 2017.- 33-36.
9. Левицкий А.П. Экспериментальные методы воспроизведения и определения степени дисбиоза в тканях полости рта /А.П.Левицкий, О.А.Макаренко, О.В. Деньга //Вісник стоматології.- 2010.- №2.- 22-23.
10. Леонтьев В.К. Об особенностях минерализующей функции слюны /В.К. Леонтьев //Стоматология. - 2003.- №6.- 5-8.
11. Маянский А.Н., Заславская М.И., Салина Е.В. и др. Феномен избирательного ослабления колонизационной (адгезивной) резистентности в системе «Candida albicans – букальные эпителиоциты» //Журнал микробиол., эпидемиологии и иммунобиологии. - 2002.- №4.- 17-20.
12. Петрушанко Т.О. Динамика бактериальной обсемененности десневой борозды при лечении катарального гингивита у лиц молодого возраста. / Т.О.Петрушанко, В.В.Черета, Г.А.Лобань // Молодий вчений. – 2014. - №1. –169-171.
13. Чумакова Ю.Г. Состояние микробиоценоза полости рта у лиц молодого возраста с воспалительными заболеваниями пародонта / Ю.Г. Чумакова, А.А. Вишневская, А.В. Островский //Вісник стоматології.- 2012, №6.- 28-32.
14. Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. Nat. Rev. Immunol. 2015. № 15. 30-44.
15. Kilian E., Valentina D., and Andrea C. IL-17 and IL-22 in immunity: driving protection and pathology. Eur. J. Immunol. Published Mar 15, 2017. <http://dx.doi.org/10.1002/eji.201646723>.
16. Mark Welch J.L. et al. Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2016. № 113: E791-E800.
17. Proctor D.M., Relman D.A. . The landscape ecology and microbiota of the human nose, mouth, and throat. Cell Host Microbe. 2017. № 21: 421-432.
18. Ross K.F., Herzberg M.C. Autonomous immunity in mucosal epithelial cells: fortifying the barrier against infection Microbes Infect. 2016. № 18: 387-398.

## SUMMARY

### CONDITION OF NON-SPECIFIC RESISTANCE OF ORAL MUCOUS MEMBRANE IN CHILDREN WITH VIRAL INFLUENZA STOMATITIS IN THE CONCEPT OF MALT-SYSTEM

Gevkaliuk N., Sydlaruk N., Pynda M., Pudiak V., Krupey V.

I. Horbachevsky Ternopil State Medical University

Mucous membrane of oral cavity is the first open section of the digestive system and respiratory tract, first mechanical barrier from penetration of infectious diseases pathogens and antigens, is always exposed to constant contamination and is

forming the microecology of oral cavity and lower sections of digestive tract.

Aim - to analyze the state of colonization resistance of the mucosa, microbiocenosis of the oral cavity, physico-chemical characteristics of the oral fluid in children with influenza stomatitis. Clinical and laboratory examination of 384 children with acute respiratory viral infections was made using clinical, microbiological, cytological methods of investigation.

The conducted study allowed to distinguish 3 types of cytograms, each of which corresponds to the severity of disease. We found the relationship between the nature of microflora taken from the oral mucous membrane and the severity of acute respiratory viral infections, which shows signs of III-IV degree dysbiosis in patients with severe form of the disease. We diagnosed decrease of the stability indicators and the interval of pH waves indicating a decrease in the level of functional reserves of the oral cavity.

Detected changes in the colonization resistance of oral mucous membrane and the microbiocenosis structure of oral cavity, acid-salt metabolism of the oral liquid in children with influenza stomatitis are the indicators of non-specific resistance of oral cavity mucous membrane.

**Keywords:** non-specific resistance, oral cavity, colonization resistance, microbiocenosis, influenza stomatitis, children.

## РЕЗЮМЕ

### СОСТОЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ГРИППОЗНОМ СТОМАТИТЕ У ДЕТЕЙ В КОНЦЕПЦИИ ОБЩНОСТИ MALT-СИСТЕМЫ

Гевкалюк Н.А., Сидлярук Н.И., Пында М.Я., Пудяк В.Е., Крпней В.Я.

*Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского МЗ Украины»*

Слизистая оболочка полости рта (СОПР) является первым механическим барьером для проникновения возбудителей инфекционных заболеваний и антигенов, поддаваясь постоянной контаминации и формируя микроэкологию полости рта и ниже лежащих отделов.

Цель исследования - оценка состояния колонизационной резистентности слизистой, микробиоценоза полости рта, определение физико-химических особенности ротовой жидкости при гриппозном стоматите у детей.

Проведено клинико-лабораторное обследование 384 детей, больных ОРВИ, в возрасте 6 мес. - 7 лет с использованием клинических, микробиологических, цитологических методов исследования.

Проведенное исследование позволило выделить 3 типа цитогрaмм, каждая из которых соответствует степени тяжести заболевания. Выявлено наличие тесной взаимосвязи между характером микрофлоры, выделенной с

поверхности СОПР, и тяжестью течения ОРВИ, которая приобретает признаки дисбактериоза III-IV степени при тяжелой форме заболевания. Установлено, что поражения органов и тканей полости рта при ОРВИ характеризуются биофизическими изменениями ротовой жидкости, нарушениями колонизационной резистентности СОПР и структуры микробиоценоза ротовой полости, приобретающих признаки дисбактериоза в зависимости от степени активности патологического процесса.

Выявленные нарушения колонизационной резистентности СОПР и структуры микробиоценоза ротовой полости, кислотно-солевого обмена ротовой жидкости детей при гриппозном стоматите являются показателем уровня неспецифической резистентности слизистой оболочки полости рта больных детей.

## რეზიუმე

პირის ღრუს ლორწოვანი გარსის არასპეციფიკური რეზისტენტობის მდგომარეობა გრიპოზული სტომატიტის დროს ბავშვებში MALT-სისტემასთან ერთიანობის კონცეფციის თვალსაზრისით

ნ. გევკალიუკი, ნ. სიდლიარუკი, მ.პინდა, ვ. პუდიაკი, ვ. კრუპეი

ტერნოპილის ი. გორბაჩევსკის სახელობის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა პირის ღრუს კოლონიზაციური რეზისტენტობის და მიკრობიოცენოზის მდგომარეობის, ასევე, პირის ღრუს სითხის ფიზიკურ-ქიმიური თავისებურებების შეფასება გრიპოზული სტომატიტის დროს ბავშვებში.

ნატარებულია მწვავე რესპირაციულ-ვირუსული ინფექციით (მრვი) დაავადებული 384 ავადმყოფის კლინიკურ-ლაბორატორიული კვლევა კლინიკური, მიკრობიოლოგიური და ციტოლოგიური მეთოდების გამოყენებით.

კვლევის შედეგების მიხედვით, გამოიყო ციტოგრამის 3 ტიპი, რომელთაგან თითოეული შეესაბამება დაავადების სიმძიმის ხარისხს. გამოვლენილია მჭიდრო ურთიერთკავშირი პირის ღრუს ლორწოვანი გარსიდან გამოყოფილი მიკროფლორის ხასიათს და მრვის სიმძიმეს შორის, რომელიც დაავადების მძიმე ფორმის შემთხვევაში III-IV ხარისხის დისბაქტერიოზის ნიშნებს ატარებს. დადგენილია pH-ის მაჩვენებლის სტაბილურობის და მერყეობის სარწუნო ინტერვალის დონის შემცირება, რაც პირის ღრუს ფუნქციური რეზერვების შემცირებაზე მიუთითებს.

პირის ღრუს ლორწოვანი გარსის კოლონიზაციური რეზისტენტობის და პირის ღრუს მიკრობიოცენოზის სტრუქტურის, პირის ღრუს სითხის მჟავა-ტუტოვანი ცვლის გამოვლენილი დარღვევები ბავშვებში გრიპოზული სტომატიტის დროს წარმოადგენს დაავადებული ბავშვების პირის ღრუს ლორწოვანი გარსის არასპეციფიკური რეზისტენტობის დონის მაჩვენებელს.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ЗУБНОГО ПРОТЕЗИРОВАНИЯ НА МОДЕЛЯХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

Накудашвили З.К., Барбакадзе И.Дж., Мачавариани М.Г., Енукидзе М.Г., Делибашвили Д.Г., Саникидзе Т.В.

*Тбилисский государственный медицинский университет, Институт медицинской биотехнологии;  
Тбилисский государственный университет им. И. Джавахидовичи, Грузия*

В ортопедической стоматологии восстановление дефектов зубов требует внесения в полость рта чужеродного для организма материала в виде протеза, который может оказать комплексное (механическое, токсическое, аллергическое) воздействие на различные сегменты полости рта и вызвать распространение патогенной флоры. В результате взаимодействия протеза с тканями ротовой полости возможно физическое повреждение слизистой оболочки, деструкция эпителия [1,3,5,14,16], образование язв, развитие аллергических реакций. Используемые в съемных протезах биоактивные соединения способствуют массивной гибели иммунных клеток [4,7,12,15], развитию аллергических, воспалительных или травматических повреждений, что, в свою очередь, часто является причиной интервенции микроорганизмов и способствует нарушению иммунного и оксидационного баланса в организме, интенсификации окислительного стресса, пролиферации, а в некоторых случаях, апоптозу клеток, изменению плоидизма ДНК [11], развитию воспалительных процессов (стоматит, гингивит), деструкции ткани парадонта и отмиранию эпителиальных и мезинхимальных тканей ротовой полости [8].

Устранение и предотвращение повреждающего воздействия стоматологических материалов на ткани ротовой полости является значимой и все еще не решенной проблемой современной стоматологии. В исследованиях, проводимых в этом направлении, обсуждаются вопросы разработки новых протезных материалов и оценка их цитотоксического/цитопротекторного воздействия на организм. С этой целью часто используются модельные системы на клеточных культурах Jurkat и MDCK клеток [2,3,6,9,10,13].

Культура клеток Jurkat, полученная из интенсивно пролиферирующих лейкоцит-трансформированных Т-клеток, широко применяется в научных и клинических исследованиях в качестве модели человеческих Т-лимфоцитов [2,3,9,10,13]. Клетки Jurkat интенсивно используются для исследования особенностей и условий активации Т-клеток. IL-2, секретируемый Т-клетками, сохраняет способность индуцировать пролиферацию антиген-стимулированных человеческих эффекторных клеток *in vitro*. Следовательно, клетки Jurkat являются ценным реагентом для исследователей, заинтересованных изучением токсичности различных препаратов.

Клетки линии MDCK, получены из ткани почки взрослой самки кокер-спаниеля, (1958 год). Эпителиальные клетки, покрывающие внутренние органы и другие поверхности тела, образуют пласты. Эти клетки выделяют внеклеточный матрикс, называемый базальной пластинкой, что способствует образованию прочных контактов между эпителиальной и соседними тканями. Эпителиальные клетки не находятся в непосредственном контакте с кровеносными сосудами, вследствие чего получают кислород и питательные вещества, а также освобождаются от метаболических отходов путем диффузии, эпителиальные клетки включают защитную, абсорбционную, сенсорную и секреторную функции. Эпителиальные клетки полости рта выполняют ключевую роль в процессе своевременного всасывания и секреции соединений во рту. Линия клеток MDCK обычно

используется в качестве модели эпителиальных клеток для различных экспериментальных исследований [2,6].

Целью данного исследования явилось определение токсической провоспалительной активности материалов, используемых в качестве базиса съемных протезов, на модели человеческих лейкоцит-трансформированных Т-клеток (Jurkat клетки) и эпителиальных клеток MDCK.

### **Материал и методы. Клеточная культура:**

Исследования проводили на человеческих лейкоцит-трансформированных Т-клетках (клетки Jurkat) (DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (Germania)) и MDCK клетках (Lugar Laboratory, Tbilisi, Georgia).

Jurkat клетки размножались в биоактивной среде PMRI 1640 (GIBSO), инактивированной посредством эмбриональной телячьей сывороткой (Sigma), содержащей 4 mM L-глутамин, 100 ед/мл пенициллина и 100 ед/мл стрептомицина, во влажной среде, содержащей 5% CO<sub>2</sub> при температуре 37°C. Эксперименты проводились при концентрации 0,3 – 0,6 x 10<sup>6</sup> клеток в 1 мл среды.

Клетки MDCK размножались во влажной среде, содержащей 5% CO<sub>2</sub> при температуре 37°C и в среде Eagle (DMEM, Mediatech, Herndon, VA), разбавленной 5% эмбриональной телячьей сывороткой (FBS) с 100 ед/мл пенициллина и 100 ед/мл стрептомицина.

Исследовались материалы, используемые для изготовления базисов съемных протезов - пластмассы на основе полиметилметакрилата (Prothyl Hot и Ftorax) и эластичный термопластический полимерный материал Perfex Flexi Nylon.

Полимеризацию пластмассы Prothyl Hot осуществляли по общепринятой методике: кювету с пластмассой помещали в воду при температуре 60°C и в течение 30 минут доводили до температуры 100°C, поддерживая температуру в течение 30 минут.

Полимеризацию пластмассы Ftorax проводили в течение 20 минут в кипящей воде.

Эластичный термопластический полимерный материал Perfex Flexi Nylon изготавливали путем литья под давлением. Рекомендуемые параметры для литья под давлением: температура 260°C, время 11 минут, давление 9.5 бар, охлаждение под давлением в течение 5 минут.

**Стимуляция клеток:** В инкубационную среду клеток Jurkat и MDCK добавляли компоненты исследуемых материалов (в качестве базиса съемных протезов - Prothyl Hot, Ftorax и Perfex Flexi Nylon) в дозах, рассчитанных на 10<sup>6</sup> клеток. Инкубация продолжалась в течение 24 часов.

**Сравнительная оценка токсичности протезных материалов:** С целью сравнительной оценки токсичности протезных материалов после инкубации клеток Jurkat и MDCK с исследуемыми компонентами определяли активность клеточных митохондриальных дегидрогеназ посредством МТТ теста.

**МТТ тест:** Суспензию клеток (2x10<sup>6</sup> клеток/мл) после инкубации в различных условиях центрифугировали при 1500 G в течение 5 минут. Раствор МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2)-2,5- дифенил тетраэзолиумбромид) (Sigma) добавлялся к осажденным клеткам 30 µl к 100 µl суспензии, с

этой целью 2,5 мг МТТ растворяли в 300 µл буфера (140 mM NaCl, 5mM HEPES, pH 7,4). Инкубацию клеток в растворе МТТ проводили в течение 4 часов при 37°C в среде, содержащей 5% CO<sub>2</sub>. После инкубации осадок осторожно добавляли к раствору диметил сульфоксида (DMSO) (100µл).

Коэффициент пролиферации К (процентное содержание клеток с высокой пролиферативной активностью) рассчитывали по формуле:  $K = A_{\text{trial}} / A_{\text{control}}$

где,  $A_{\text{trial}}$  – интенсивность спектрофотометрической абсорбции исследуемого образца при длине волны 570 нм,  $A_{\text{control}}$  – интенсивность абсорбции контрольного раствора.

Статистический анализ ANOVA проводили с использованием программного пакета SPSS v 11.0. Статистическую достоверность разницы между показателями оценивали посредством критерия t Стьюдента, достоверным считали уровень, соответствующий  $p < 0.05$ .

**Результаты и их обсуждение.** В таблице 1 представлены данные цитотоксичности протезных материалов (результаты МТТ теста) на интактные клетки Jurkat. Согласно данным МТТ теста на фоне добавления в инкубационную среду клеток Jurkat комплексных растворов Prothyl Hot, Ftorax и Perflex Flexi Nylon, используемых в качестве базиса съемных протезов, активность митохондриальных дегидрогеназ изменялась незначительно в сравнении с контрольными значениями ( $K_1=1,06$ ,  $K_2=0,96$ ,  $K_3=1,06$ , соответственно).

Таблица 1. Жизнеспособность клеток Jurkat

| Образцы                                     | A          | K    |
|---------------------------------------------|------------|------|
| Среда                                       | 0,01±0,001 |      |
| Jurkat                                      | 0,30±0,01  | 1    |
| Jurkat + Prothyl Hot комплекс 35 µg         | 0,32±0,01  | 1,06 |
| Jurkat + Ftorax комплекс 35 µg              | 0,29±0,02  | 0,96 |
| Jurkat + Perflex Flexi Nylon комплекс 35 µg | 0,32±0,01  | 1,06 |

В таблице 2 представлены результаты МТТ теста, определяющие цитотоксичность действия разных материалов, используемых в качестве базиса для съемных протезов, на интактные клетки MDCK. Согласно данным МТТ теста, на фоне добавления в инкубационную среду клеток MDCK комплексных растворов Prothyl Hot, Ftorax и Perflex Flexi Nylon активность митохондриальных дегидрогеназ изменялась незначительно в сравнении с контрольными значениями ( $K_1=0,91$ ,  $K_2=0,91$ ,  $K_3=0,97$ , соответственно).

Таблица 2. Жизнеспособность клеток MDCK

| Образцы                                   | A          | K     |
|-------------------------------------------|------------|-------|
| Среда                                     | 0,01±0,002 |       |
| MDCK                                      | 0,35±0,01  | 1     |
| MDCK + Prothyl Hot комплекс 35 µg         | 0,32±0,01  | 0,91* |
| MDCK + Ftorax комплекс 35 µg              | 0,32±0,02  | 0,91* |
| MDCK + Perflex Flexi Nylon комплекс 35 µg | 0,34±0,01  | 0,97  |

\* - статистически достоверные изменения в сравнении с контролем ( $p < 0.001$ )

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об отсутствии токсичности комплексов Prothyl Hot, Ftorax и Perflex Flexi Nylon, используемых в качестве базиса съемных протезов, на интактные клетки Jurkat и MDCK, о чем свидетельствует стабильность их митохондриальных дегидрогеназ.

Поскольку клетки Jurkat и MDCK используются в качестве моделей иммунных и эпителиальных клеток, на основании анализа проведенных исследований следует заключить, что исследуемые материалы, используемые для изготовления базисов съемных протезов - пластмассы на основе полиметилметакрилата (Prothyl Hot и Ftorax) и эластичный термопластический полимерный материал (Perflex Flexi Nylon), не токсичны и не вызывают массовую гибель иммунных клеток, развитие аллергических или воспалительных повреждений, способствующих возникновению стоматита и гингивита, деструкции ткани парадонта.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Chen Q, Kang J, Fu C. The independence of and associations among apoptosis, autophagy, and necrosis. Signal Transduct Target Ther. 2018 Jul 1;3:18.
2. Chkhikvishvili I, Mamniashvili T, Gogia N, Enukidze M, Machavariani M, Sanikidze T. Antioxidant, anti-inflammatory activity of georgian leguminous crops cultures. Georgian Med News. 2017; 11(272):147-153.
3. Chkhikvishvili I, Sanikidze T, Gogia N, Enukidze M, Machavariani M, Kipiani N, Vinokur Y, Rodov V. Constituents of French Marigold (Tagetes patula L.) Flowers Protect Jurkat T-Cells against Oxidative Stress. Oxid Med Cell Longev. 2016;2016:4216285.
4. Cimpan M.R., Matre R., Crssey L.I., et al. The effect of heat- and auto polymerized denture base polymers on clonogenicity, apoptosis and necrosis. Acta OPdental Scand., 2000, 58 217-228
5. Galler D, Quiong C, Galler J. A multi-disciplinary approach to congenitally missing anterior teeth. N Y State Dent J. 2009 Jan;75(1):51-3.
6. Gabunia T, Turabelidze S, Machavariani M, Enukidze M, Kipiani NV, Sharashenidze G, Sanikidze T. Impact of laser therapy on the proliferation of various cultured cells. Georgian Med News. 2016; 10(259):100-105.
7. Hashemipour MA, Aghababae M, Mirshekari TR, Asadi-Shekaari M, Tahmasbi-Arashlow M, Tahmasbi-Arashlow F, Gandjalikhan Nassab SA. Exfoliative cytology of oral mucosa among smokers, opium addicts and non-smokers: a cytomorphometric study. Arch Iran Med. 2013 Dec;16(12):725-30.
8. Jarnbring F., Somogyi E., Dalton J., et al., Quantitative assessment of apoptotic and proliferative gingival keratinocytes in oral and sulkular epithelium in patients with gingivitis and periodontitis. J. Clin. Periodontite., 2002, 29, 1065-1071.
9. Lursmanashvili L, Gulua L, Turmanidze T, Enukidze M, Machavariani M, Sanikidze T. Biological activity of green tea extracts. Georgian Med News. 2017;2(263):88-93.
10. Nakudashvili ZK, Mgebrishvili IA, Nakudashvili NK, Mchedlishvili TV, Sanikidze T. Study of toxicity of denture prosthetic appliance prothyl hot on the Jurkat cell model system. Georgian Med News. 2011.
11. Nguyen S<sup>1</sup>, Hiorth M. Advanced drug delivery systems for local treatment of the oral cavity. Ther Deliv. 2015;6(5):595-608.
12. Raj PA, Dentino AR. Denture polymers with antimicrobial

properties: a review of the development and current status of anionic poly(methyl methacrylate) polymers... Future Med Chem. 2013.

13. Ratiani L, Terunashvili G, Sanikidze T. Antiinflammatory activity of lymphomyosot during chronic diseases. Georgian Med News. 2012;2(205):73-82.

14. Scholz OA, Wolff A, Schumacher A, Giannola LI, Campisi G, Ciach T, Velten T. Drug delivery from the oral cavity: focus on a novel mechatronic delivery device. Drug Discov Today. 2008 Mar;13(5-6):247-53. Epub 2007 Dec 11.

15. Schwartz J.C., Muscal J.E., Baker V., et al., Oral cytology assessment by flow cytometry of DNA adducts and ploidy proliferation and apoptosis shows differences between smokers and nonsmokers. Oral Oncol., 2003, 39, 842-854.

16. Zuckerbraun H.L, Groscurth P. Morphological features of cell death News Physiol. Sci., 2004, 19, 124-128.

## SUMMARY

### EVALUATION OF THE COMPARATIVE TOXICITY OF VARIOUS MATERIALS FOR DENTAL PROSTHETICS ON CELL CULTURE MODELS

**Nakudashvili Z., Barabakadze I., Machavariani M., Enukidze M., Delibashvili D., Sanikidze T.**

*Tbilisi State Medical University, Institute of Medical Biotechnology; I. Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia*

Difficulties in repairing the defects of the teeth are related with allergic-inflammatory, traumatic and dystrophic complications arising from the interaction of the foreign body with the mucous tissues of the oral cavity after the patient's prosthesis is established.

The aim of our study was to establish the toxic pro-inflammatory activity of materials used for the manufacturing of bases of removable dentures - plastics based on polymethylmethacrylate prosthetic complexes Prothyl Hot, Ftorax and Perflex Flexi Nylon on the model of human leukemia transformed T cells (Jurkat cells) and MDCK cells.

For the cells simulation Jurkat and MDCK cells was incubated with the components of prosthetic materials, Prothyl Hot, Ftorax and Perflex Flexi Nylon/ Prosthetic materials were added to the incubation medium at the doses used in practice (calculated at 10<sup>6</sup> cells); duration of incubation was 24 hours. A comparative assessment of the toxicity of prosthetic materials was determined by the MTT test (activity of mitochondrial dehydrogenases).

Statistical analysis was carried out using the package (SPSS version 11.0). The statistical reliability of the difference between the indices was evaluated by the Student t test (the P < 0.05 level was considered reliable).

The results of the conducted studies testify to the absence of toxicity of the complexes Prothyl Hot, Ftorax and Perflex Flexi Nylon, used as a basis of circuit prostheses, on intact Jurkat and MDCK cells, as evidenced by the stability of their mitochondrial dehydrogenases.

Based on the analysis of the conducted studies, it can be concluded, that as Jurkat and MDCK cells are used as models of immune and epithelial cells, the materials used for manufacturing of removable prostheses, the polymethylmethacrylate-based plastics (Prothyl Hot and Ftorax) and elastic thermoplastic polymer material Perflex Flexi Nylon, are not toxic. Studied materials, with the high probability, are not

capable to cause massive death of immune cells, development of allergic or inflammatory damages, which in turn can cause the development of stomatitis and gingivitis, the destruction of the paradental tissue.

**Keywords:** dental materials toxicity, Jurkat cells, MDCK cells.

## РЕЗЮМЕ

### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ЗУБНОГО ПРОТЕЗИРОВАНИЯ НА МОДЕЛЯХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

**Накудашвили З.К., Барбакадзе И.Дж., Мачавариани М.Г., Енукидзе М.Г., Делибашвили Д.Г., Саникидзе Т.В.**

*Тбилисский государственный медицинский университет, Институт медицинской биотехнологии; Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, Грузия*

Трудности восстановления дефектов зубов обусловлены аллергическо-воспалительными, травматическими и дистрофическими осложнениями, возникающими вследствие взаимодействия чужеродного тела со слизистыми тканями полости рта после установления протеза.

Целью исследования явилось определение токсической провоспалительной активности материалов, используемых для изготовления базисов съемных протезов - пластмассы на основе полиметилметакрилата (Prothyl Hot и Ftorax) и эластичного термопластического полимерного материала (Perflex Flexi Nylon) на модели человеческих лейкомиотрансформированных Т-клеток (Jurkat клетки) и эпителиальных клеток MDCK.

С целью стимуляции клеток Jurkat и MDCK в инкубационную среду добавляли компоненты исследуемого протезного материала Prothyl Hot, Ftorax и Perflex Flexi Nylon в дозах, применяемых в практике, рассчитанных на 10<sup>6</sup> клеток; инкубация продолжалась в течение 24 часов. Сравнительная оценка токсичности протезных материалов определялась посредством МТТ теста (активность митохондриальных дегидрогеназ).

Статистический анализ проводили с использованием пакета SPSS v.11.0. Статистическую достоверность разницы между показателями оценивали посредством критерия t Стьюдента, достоверным считали уровень p < 0.05.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об отсутствии токсичности комплексов Prothyl Hot, Ftorax и Perflex Flexi Nylon, используемых в качестве базиса съемных протезов, на intactные клетки Jurkat и MDCK, о чем свидетельствует стабильность их митохондриальных дегидрогеназ.

Поскольку клетки Jurkat и MDCK используются в качестве моделей иммунных и эпителиальных клеток, на основании анализа проведенных исследований следует заключить, что материалы, используемые для изготовления базисов съемных протезов - пластмассы на основе полиметилметакрилата (Prothyl Hot и Ftorax) и эластичного термопластического полимерного материала (Perflex Flexi Nylon) не токсичны и не вызывают массовую гибель иммунных клеток, развитие аллергических или воспалительных повреждений, способствующих возникновению стоматита и гингивита, разрушения ткани парадонта.

## რეზიუმე

სხვადასხვა სტომატოლოგიური საპროთეზო მასალების ტოქსიკურობის შედარებითი შეფასება უჯრედულ კულტურების მოდელზე

ზ. ნაკუდაშვილი, ი. ბარბაქაძე, მ. მაჭავარიანი,  
მ. ენუქიძე, დ. დელიბაშვილი, თ. სანიკიძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი; ივ. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო

კბილების დეფექტის აღდგენის სირთულეები გამოწვეულია აღერგიულ-ანთებითი, ტრავმული და დისტროფიული გართულებებით, რომლებიც წარმოიქმნება უცხო სხეულის პირის ღრუს ღორწოვან ქსოვილებთან ურთიერთქმედების პროცესში პროთეზირების დროს.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა მოსახსნელი პროთეზების საბაზისო კომპლექსების - პოლიმეთილმეტაკრილატის (Prothyl Hot და Ftorax) და ელასტიური თერმოპლასტიკური პოლიმერული მასალის Perflex Flexi Nylon ტოქსიკური, პროანთებითი აქტივობის განსაზღვრა ადამიანის ლეიკემია-ტრანსფორმირებულ T-უჯრედების (Jurkat cells) და MDCK უჯრედების მოდელზე.

Jurkat და MDCK უჯრედების სტიმულაციის მიზნით საინკუბაციო არეში ხდებოდა საპროთეზო მასალას Prothyl Hot, Ftorax და Perflex Flexi Nylon დამატება დოზ-

ით, რომელიც შეესაბამება პრაქტიკაში გამოყენებულ რაოდენობას (10<sup>6</sup> უჯრედზე გათვლით); ინკუბაცია გრძელდებოდა 24 საათის განმავლობაში. საპროთეზო მასალის ტოქსიკურობის შედარებითი შეფასება ხდებოდა MTT ტესტის გამოყენებით, მიტოქონდრიული დეჰიდროგენაზების აქტივობის მიხედვით.

სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა SPSS პროგრამული პაკეტის v 11.0 გამოყენებით. მანვენებლებს შორის სტატისტიკური სარწმუნოება შეფასდა სტიუდენტის t-კრიტერიუმის მიხედვით, სარწმუნოდ ითვლებოდა მანვენებელი  $p < 0.05$ .

ჩატარებული კვლევის შედეგები მიუთითებს, რომ კომპლექსები Prothyl Hot, Ftorax და Perflex Flexi Nylon, რომლებიც გამოიყენება როგორც მოსახსნელი პროთეზების საფუძველი არ ავლენენ ტოქსიკურობას ინტაქტურ Jurkat და MDCK უჯრედებზე, რაც დასტურდება ამ უჯრედების მიტოქონდრიული დეჰიდროგენაზების სტაბილურობით და უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შეარჩენებით.

ვინაიდან Jurkat და MDCK უჯრედები გამოიყენება, როგორც იმუნური და ეპითელიური უჯრედების მოდელი, ჩატარებული კვლევების ანალიზის საფუძველზე ავტორებს გამოტანილი აქვთ დასკვნა, რომ შესწავლილი მასალების - პლასტმასის მეთილის მეთაკრილატის (Prothyl Hot და Ftorax) და ელასტიური თერმოპლასტიკური პოლიმერული მასალის (Perflex Flexi Nylon) საფუძველზე დამზადებული მოსახსნელი პროთეზები არ არიან ტოქსიკურები და არ იწვევენ იმუნური უჯრედების მასიურ განადგურებას, ალერგიულ ან ანთებითი პროცესების განვითარებას.

## ANALYSIS OF DIAGNOSTICS AND NEWEST PATHOGENESIS ASPECTS OF TEMPOROMANDIBULAR DYSFUNCTION (REVIEW)

Kostiuk T., Koval Ie., Tyshko D., Koval M.

*O. Bogomolets National Medical University, Department of Prosthetic Dentistry, Ukraine*

The issue of diagnostics and treatment of the temporomandibular dysfunctions is extremely urgent nowadays. This is caused by the total vast increase of referrals with the pathology. The author establishes a 13.4% increase in the morbidity in 2017. The diversity of complaints stated by the patients of the clinical group and the fact that the symptoms don't always correspond to the clinical data, provide for the necessity of further studies of the pathology. According to various authors, who have analyzed the most common temporomandibular dysfunction diagnostic methods and their occurrence, the leading method is a clinical dysfunction index Helkimo, which is used in 14% of the cases; the RDC/TMD (Research Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders) is used in 28% of the cases, craniomandibular index is used in 5.8%, local clinical criteria are most often used - in 57%, and the anamnesis data study has been mentioned in 35% of the analyzed sources [39]. Some authors emphasize viability of registering the lower jaw mobility for diagnostics of the temporomandibular joint dysfunction [13,17,18,20,23]. The patients with TMJ dysfunction refer to various specialists: ENT specialists, neuropathologists, psychiatrists, therapists, sur-

geons and other specialists, whose experience in diagnostics of the pathology, unfortunately, is insufficient [24,26,47]. As for pathogenetic mechanisms of the disorder, it's worth mentioning that current studies have proven the priority role of malocclusion in the modified TMJ surfaces and topographic ratio of its components, which, in the author's opinion, may represent the main cause of the temporomandibular dysfunction development [7,28,45,47]. Many foreign scientists relate the TMJ dysfunction to the harmful habits, sometimes iatrogenic ones, which result in dislocation of the mandible, leading to dysfunction of the TMJ. [12,29,35]. Postural disorders in patients with sagittal malocclusion, according to various authors, provide for the TMJ dysfunction development, so, the computed optic topography and kinesiography should be employed within the set of dysfunction syndrome complex diagnostics [8, 19]. The other significant factors in dental abnormalities are occlusion predictors, which stipulate for disordered articulation and joint dysfunction development [25]. According to the literature data, even slight dental row defects predispose to the temporomandibular joint dysfunction in partially edentulous patients, with presumable role of the

included defects leading to unilateral chewing [16,17,21,42]. The Ukrainian and foreign authors haven't still come to a single opinion on the mechanisms of pain development in patients with dental row defects, combined with decrease of the intra-alveolar space [15,48].

According to some authors, the temporomandibular joint dysfunction may develop in patients with the connective tissue dysplasia, which is a typical manifestation of the pathology [24]. The modern researches emphasize the relation between occlusion and postural system, which provides for the equilibrium and regulates muscle tone when a person stands vertically [4,11,44]. Nowadays a common issue is the temporomandibular joint dysfunction appearing in the completely edentulous elderly. In these patients, wearing complete removable dentures for a long time, the attrition of the artificial teeth is noted, as well as dislocation of the mandible and modification of the topography of the temporomandibular elements relation anatomy [14,27]. Foreign scientists are working over the index of the temporomandibular joint disorder diagnostic criteria, based on the survey screening. The document consists of 41 questions covering pain intensity, functional disorders and psychological disorders [38]. The patients complaining of the pain, clicking and creaking in the temporomandibular region, on examination show premature contacts, which in 68% of all cases are related to the malocclusion; in 13% of the patients such manifestations are related to the wrong prosthetics; 11% of the cases are related to the tooth loss and 8% - to the filling. It's worth mentioning that 40% of the patients showing centric premature contacts have the same dysfunction in the anterior occlusion [31]. Chewing teeth loss exacerbates the temporomandibular dysfunction development, where the joint and chewing muscles pain frequency increases twice and clicking during the mandibular movements is observed 7 times more often [1]. The temporomandibular joint dysfunction manifestations, defined by periodical examination, according to literature sources, are defined in 46% of the teenagers, with 8.7% of pain in the temporomandibular joint region, creaking in 47.8% and clicking sound in 42.7% [5]. The tongue burning sensation is revealed in patients with disordered joint elements relation: decreased joint fissure in the posterior-superior department [9]. The clinical pattern of the temporomandibular joint dysfunctions always includes the otolaryngological manifestations: sensation of clogged ears, throat burning and tickling sensation in the throat, dizziness and tinnitus (86% of all complaints), with the most common earache and even sudden loss of hearing [33].

The high incidence of the temporomandibular joint dysfunction, which may be recurrent and prolonged disease, is accompanied by the decrease in life quality, particularly in the working-age people, which provides for urgency of the pathology study. On another side, the true pathology spread hasn't been defined yet, due to the diagnostic criteria diversity [2]. The temporomandibular joint dysfunction is low-effective, because not all specialists are qualified enough to perform it, and not all patients want to be cured [15,21]. Combination of the mentioned factors doesn't provide conditions for the development of a single approach in the pathology diagnostics, predisposing for the treatment difficulties as well [32,49]. Literature review shows that nowadays the necessity for further studies of pathological and pathogenetic schemes of the disease development, with specification of the disease development central mechanisms, is still of prime importance [21,41]. About 66.49-67.47% of

the patients referring to the dental clinic for dental treatment and prosthetics present with the temporomandibular joint dysfunction risks, which stipulated for the necessity of the dental express-diagnostics.

The sensation of clogged ears, according to the studies, may be related to local increase of the muscle tone in the medial pterygoid muscle, which provides for indirect dysfunction of the auditory tube [6,50,51]. Within the diagnostic approaches domain, there have been emphasized high-technology examination methods, an electric axiography in particular [2,43]. The electromyography of chewing muscles provides for the effective evaluation of muscle balance in patients with temporomandibular dysfunction by registering the biopotentials [18,22].

Another especially important issue within the diagnostics refers to psychosomatic manifestations, accompanied by the neurotic depressive and hysterical disorders [13,25]. Facial pains combined with complaints of depressive and hysterical conditions complicate therapy and its steady effect, so the diagnostics process in this case must include the psycho-emotional disorders screening indices [16]. The patients with early signs of temporo-mandibular joint dysfunction, according to the Isenc test, in 63% of cases are borderline emotionally unstable people [10,38]. The progress of the personal anxiety increases chances of pain syndrome and dysfunctions of the temporomandibular joint twice [36]. With gnathodynamometry, the efforts power to clench the teeth in patients with temporomandibular joint dysfunction decreases twice related to the standard data, which makes possible differential diagnostics with the degenerative spine disease [3,18]. The data of gnathodynamometry performed in children and teenagers with the temporomandibular joint dysfunction correlate with age and body mass index [34, 37]. Various authors in their researches state that masticography is an informative method. It has been revealed that the period of re-modification of chewing apparatus in patients with temporomandibular dysfunction, according to masticography, makes up more than 6 months. The method is particularly significant in visual evaluation of the chewing apparatus [18,19]. The most informative method of the joint elements topographic relation visualization, during the diagnostics and deciding on treatment of the patients with the dysfunction, is still computed tomography [19,27,30,35].

Conclusions. So, the new data on the pathogenetic mechanisms of the temporomandibular joint dysfunction evidence about the necessity of studying and setting fundamental and formalized methods of the dental evaluation in the whole, and the temporo-mandibular joint in particular. Wide and progressing spread of the pathology, late patients' referrals and late diagnostics confirm urgency of working over the available methods of the prenosological temporomandibular joint evaluation, early diagnostics of the temporomandibular joint dysfunction and correction of the patient's diagnostics with emphasized risk factors.

## REFERENCES

1. Алсынбаев Г.Т. Тактика индивидуального подхода при повторном протезировании пациентов с полным отсутствием зубов и дисфункцией височно-нижнечелюстного сустава: автореф. дисс. канд. мед.наук. - Уфа., 2016. - 24.
2. Андреев П.И., Вязьмин А.И. и соавт. Оценка клинической эффективности комплексного лечения синдрома дисфункции ВНЧС, осложненного хроническим парадонтитом// Бюллетень

Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук. - 2011. - №6. - 9-13.

3. Антоник М.М. Компьютерные технологии комплексной диагностики и лечения больных с патологией окклюзии зубных рядов, осложненной мышечно-суставной дисфункцией: дисс. ... докт. мед. наук. - Москва, 2012. - 144.

4. Барадина И.Н. Лечение пациентов с дисфункцией височно-нижнечелюстных суставов: автореферат дисс. ... канд. мед. наук. - Минск. - 2015. - 24.

5. Болдин А.В., Тардов М.В., Кунельская Н.Л. Миофасциальный синдром: от этиологии до терапии (обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. - 2015. - №1. - Публикация 6-3.

6. Булычева Е.А. Дифференцированный подход к разработке патогенетической терапии больных с дисфункцией височно-нижнечелюстного сустава, осложненной гипертонией жевательных мышц: дисс. ... докт. мед. наук. - Санкт-Петербург. - 2010. - 331.

7. Вельмакина И.В. Разработка и внедрение методики ранней диагностики мышечно-суставной дисфункции височно-нижнечелюстного сустава: дисс. ... канд. мед. наук. - Нижний Новгород. - 2016. - 181.

8. Вострецов В.В., Сучкова Н.Ю. Совершенствование методов ортопедического лечения пациентов с дисфункцией ВНЧС и центрическими смещениями суставных дисков // Dental Forum. - 2012. - №3. - 26.

9. Жулев Е.Н., Вельмакина И.В. Изучение особенностей психоэмоционального статуса у лиц молодого возраста, имеющих ранние признаки синдрома мышечносуставной дисфункции височно-нижнечелюстного сустава. // Фундаментальные исследования. - 2015. - №1. - 1354-1357.

10. Зашихин Е.Н., Орешака О.В., Мартыанова Л.И., Пельганчук Т.А., Звёздкина Г.С. Оценка эффективности ортопедического лечения пациентов при синдроме жжения языка, обусловленном дисфункцией височно-нижнечелюстного сустава // Российский стоматологический журнал. - 2012. - №2. - 32-35.

11. Каменева Л.А., Потапов В.П., Тлустенко В.П., Потапов И.В., Мальцева А.В., Хатунцев Т.И. Дифференциальная диагностика различных нозологических форм синдрома болевой дисфункции височно-нижнечелюстного сустава // Саратовский научно-медицинский журнал. - 2014. - Т.10(3). 432-435.

12. Кипиани А.И. Развитие коммуникативной компетентности врача-стоматолога как условие профессиональной успешности: дис. ... канд. психол. наук. - Ставрополь, 2006. - 126.

13. Малый А.Ю. Клинико-эпидемиологический анализ результатов лечения несъемными конструкциями пациентов с частичным отсутствием зубов // Стоматология. - 2006. - №5. 56-59.

14. Махинов К.А., Баринев А.Н., Жестикова М.Г., Мингазова Л.Р., Пархоменко Е.В. Лицевая боль // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. - 2015. - №7. - 79-88.

15. Морозова О.Г., Ярошевский А.А. Миофасциальная дисфункция и нарушение биомеханики позвоночника в генезе головной боли и головокружения. // Международный неврологический журнал. - 2012. - №4(50). - 4-56.

16. Неспрядько В.П., Костюк Т.М. и соавт. Устройство для позиционирования челюстей в конструктивном прикусе для изготовления лечебных шин/ Патент на полезную модель № 103910 UA (51)МПК А61В 17/56 (2006.01) - 2016/

17. Неспрядько В.П. и соавт. Анализ динамики изменения показателей метода оценки функциональной окклюзии t-scan у пациентов с окклюзионными нарушениями, которые возникли или были спровоцированы в результате не-

корректных стоматологических вмешательств// Современная ортодонтия. - 2016. - № 1. - 35-37.

18. Паршин В.В., Фадеев Р.А. Применение лечебной физкультуры в комплексной реабилитации пациентов с патологией ВНЧС и парафункцией жевательных мышц (Часть I) // Институт стоматологии. - 2015. - №2. С. 61-63.

19. Пономарев А.В. Клинические проявления и актуальные аспекты лечения дисфункции ВНЧС. // Институт стоматологии. - 2017. - № 2. С.53-55.

20. Потапов В.П. Системный подход к обоснованию новых методов диагностики и комплексному лечению заболеваний височно-нижнечелюстного сустава при нарушении функциональной окклюзии: дисс. ... докт. мед. наук. Самара. - 2010. - 247.

21. Расулов И.М., Расулов М.М., Абдулмеджидова Д.М. Ортопедическое лечение дисфункции височнонижнечелюстного сустава // Институт стоматологии. - 2014. - №6. - С. 79-83.

22. Рубникович С.П. Барадина И.Н., Денисова Ю.Л. Прогноз и лечение пациентов с дисфункцией ВНЧС // Лечебно-профилактические вопросы. - 2014. - С. 47-48.

23. Саргисян А.Э., Караков К.Г., Хачатурян Э.Э., Еременко А.В., Соловьева О.А. Групповая когнитивно-поведенческая психотерапия в комплексном лечении больных с болевой дисфункцией височно-нижнечелюстного сустава // Клиническая неврология. - 2016. - №2. - С. 26-28.

24. Семелева Е.И. Диагностика и лечение зубочелюстных аномалий, осложненных остеоартрозом височнонижнечелюстных суставов // дисс. ... канд. мед. наук. - Санкт-Петербург, 2014.-117с.

25. Сеферян К.Г., Сеферян Н.Ю., Калпакьянц О.Ю., Гришечкин С.Д. Головная боль при дисфункциях височно-нижнечелюстных суставов // Казанская наука. - 2011. - № 3. - С. 164-165.

26. Сеферян К.Г., Сеферян Н. нижнечелюстных суставах как результат ошибок протезирования съемными ортопедическими конструкциями // Междунар. журн. прикладных и фундаментальных исследований. - 2014. - №2. - С. 159-162.

27. Силаев А.М., Зубова К.Н., Новосельцев С.В. Остеопатические возможности диагностики и лечения синдрома дисфункции височно-нижнечелюстного сустава // Мануальная терапия. - 2014. - №4. - С. 20-31;

28. Силантьева Е.Н. Динамическая электростимуляция в лечении пациентов с болевой дисфункцией височно-нижнечелюстного сустава // Казанский медицинский журнал. - 2011. - Т. 92, №2. - С. 170-172.

29. Тардов М.В. Миофасциальный синдром: происхождение, проявления, принципы лечения (обзор литературы) // Трудный пациент. - 2014, Т. 12, №11. - С. 36-41.

30. Тлустенко В.П., Потапов В.П., Каменева Л.А., Пятанова Е.А., Симонов А.С. Диагностика и комплексное лечение синдрома болевой дисфункции височно-нижнечелюстного сустава // Саратовский научно-медицинский журнал. - 2013. - Т. 9. - №3. - С. 480-484.

31. Фадеев Р.А., Мартынов И.В., Нечкин С.В. Функциональная диагностика жевательно-речевого аппарата и лечение дисфункции ВНЧС и парафункции жевательных мышц с использованием аппаратного комплекса Myotronics K7 + J5 // Институт стоматологии. - 2013. - №3. - С. 26-29.

32. Фадеев Р.А., Мартынов И.В., Ронкин К.З., Емгахов А.В. Последовательность действий ортодонта при исправлении зубочелюстных аномалий, осложненных заболеваниями ВНЧС и парафункциями жевательных мышц // Институт стоматологии. - 2015. - №1. - С. 52-53;

33. Фадеев Р.А., Ронкин К.З., Мартынов И.В., Червоток А.Е. Применение метода определения положения нижней челю-

сти при лечении пациентов с частичной потерей зубов // Институт стоматологии. - 2014. - №2. - С. 32-34.

34. Филимонова О.И., Бейнарович С.В. Опыт применения кинезиотерапии для лечения пациентов, страдающих болевой дисфункцией ВНЧС // Уральский медицинский журнал. - 2014. - №5. - С. 90-91.

35. Фокина Н.М., Дудник Е.Н. Междисциплинарные аспекты лицевой боли // Уральский медицинский журнал. - 2015. - №2. - С. 24-28;

36. Afrashtehfar K.I., Qadeer S. Computerized occlusal analysis as an alternative occlusal indicator // Cranio. - 2014. - №16. P. 215.

37. Ault J. Temporomandibular disorders [Electronic resource]. - URL: eMedicine <http://www.emedicine.medscape.com/> Mar. 16, 2009.

38. Blanco Aguilera A., Gonzalez Lopez L., Blanco Aguilera E., De la Hoz Aizpurua J.L., Rodriguez Torronteras A., Segura Saint-Gerons R., Blanco Hungria A. Relationship between self-reported sleep bruxism and pain in patients with temporomandibular disorders // J. Oral Rehabil. 2014. Aug;

39. Calderon P. dos Santos, Hildenberg P.B., Rosetti L.M., Laurenti J.V., Conti P.C. Influence of tinnitus on pain severity and quality of life in patients with temporomandibular disorders. J Appl Oral Sci. 2012; 20 (2): 170-3.

40. Ferendiuk E., Zajdel K., Pihut M. Incidence of otolaryngological symptoms in patients with temporomandibular joint dysfunctions. Biomed Res Int. 2014; 2014:824684.

41. Furlan R.M., Giovanardi R.S., Britto A.T., Britto D.B. The use of superficial heat for treatment of temporomandibular disorders: an integrative review. Cotas. 2015, Mar-Apr; 27(2): 207-12.

42. Igić M., Krnić N., Aleksov L., Kostić M. Determination of vertical dimension of occlusion by using the phonetic vowel "O" and "E" // Vojnosanit Pregl. - 2015. - Vol.72(2). - P. 123-131.

43. Jaeger B. Myofascial trigger point pain. Alpha Omegan. 2013. Spring-Summer; 106(1-2): 14-22.

44. Karibe H., Goddard G., Okudo M. Comparison of masticatory muscle myofascial pain in patients with and without a chief complaint of headache. Cranio. 2014. Jan; 32(1): 57-62.

45. Kostiuk T., Chrol N. Substantiation of relaxing splint used on patient with the para function of chewing muscles // Likars'ka sprava. -2017. -№ 5-6. -P.130-134.

46. Lei J., Liu M.Q., Yap A.U., Fu K.Y. Sleep disturbance and psychologic distress: prevalence and risk indicators for temporomandibular disorders in a Chinese population. J Oral Facial Pain Headache. 2015, Winter; 29(1): 24-30.

47. Malanchuk V.O., Timoshchenko, Kostiuk T.M. Diagnostics of position of the motor and trigger points: of the chewing muscles for zygomatic complex fractures // Likars'ka sprava,- 2015. -№ 3-4. -P. 109-115.

48. Manfredini D., Cocilovo F., Favero L., Ferronato G., Tonello S., Guarda-Nardini L. Surface electromyography of jaw muscles and kinesiographic recordings: diagnostic accuracy for myofascial pain // J. Oral Rehabil. - 2011. - №38(11). - 791-795.

49. Mehul J. Desai, Vikramjeet Saini, Shawnjeet S. Myofascial Pain Syndrome: A Treatment Review Pain Ther. Jun 2013; 2(1): 21-36.

50. Politun A., Znachkova E., Kostiuk T. Compressive and compression-toxic neuropathies of the peripheral branches of the trigeminal nerve. // Neuropyziology. -2013. -v.45. -№ 3. -p. 243-247.

51. Silveria A., Armijo-Olivo S., Gadotti I.C., Magee D. Masticatory and cervical muscle tenderness and pain sensitivity in a remote area in subjects with a temporomandibular disorder and neck disability // J. Oral Facial Pain Headache.

## SUMMARY

### ANALYSIS OF DIAGNOSTICS AND NEWEST PATHOGENESIS ASPECTS OF TEMPOROMANDIBULAR DYSFUNCTION (REVIEW)

Kostiuk T., Koval Ie., Tyshko D., Koval M.

*O. Bogomolets National Medical University, Department of Prosthetic Dentistry, Ukraine*

The research was predisposed for a progressing increase in incidence of the temporomandibular joint dysfunction, low effectiveness of traditional treatment as well as the necessity of implementation of high-effective etiopathogenetic therapy methods. The necessity of systematizing diagnostics and treatment planning is evident, considering the cause-effect mechanisms of the disease initiation and complex individual approach, required for improving the effectiveness of prevention and pathogenetic therapy in early rehabilitation of the patients with the temporomandibular dysfunction. The visualization model will provide for planning certain treatment stages using a virtual system, synchronizing and combining them with the modern methods of the prosthetic construction fabrication, which will represent a new quality stage of stomatological treatment. The chosen theme is not only of multidisciplinary medical importance, but of the social one as well. The wide coverage of the theme in stomatological sources evidences about urgency of searching for the new diagnostic sources and treatment methods and proves actuality of the topic. The article presents urgent aspects of the temporomandibular dysfunction development pathogenetic mechanisms, depicts new methods of diagnostics and early clinical manifestations, reviewed by the Ukrainian and foreign scientists over the previous 10 years.

**Keywords:** temporo-mandibular joint, dysfunction, diagnostics, pathogenesis.

## РЕЗЮМЕ

### АНАЛИЗ СОВРЕМЕННЫХ ВЗГЛЯДОВ НА ПАТОГЕНЕЗ И ДИАГНОСТИКУ ДИСФУНКЦИИ ВИСОЧНО-НИЖНЕЧЕЛЮСТНОГО СУСТАВА (ОБЗОР)

Костюк Т.М., Коваль Е.А., Тышко Д.Ф., Коваль М.

*Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, кафедра ортопедической стоматологии, Киев, Украина*

Статья является самостоятельной работой, обосновывающей основные современные мировые тенденции диагностики и лечения дисфункциональных состояний височно-нижнечелюстного сустава. Временной диапазон изучаемых источников литературы - 10 лет. Результатом проведенного исследования явился анализ научных работ ведущих отечественных и зарубежных ученых, занимающихся диагностикой и лечением дисфункций височно-нижнечелюстного сустава. Проблема изучения дисфункциональных состояний височно-нижнечелюстного сустава по сей день весьма актуальна и дискуссионна, что подтверждается количеством существующих по данной проблематике научных работ. Детальное изучение тенденций диагностики и лечения патологии височно-нижнечелюстного сустава

позволяет сформировать новые, мультидисциплинарные, направления, что, безусловно, способствует повышению качества предоставляемой стоматологической помощи. Результатом проведенного анализа литературных источников является заключение, выраженное в четком

определении объема изучаемой проблемы, анализе направления развития диагностики данной патологии, что позволит разработать и обосновать новые методы и алгоритмы патогенетического подхода к лечению данного заболевания.

#### რეზიუმე

თანამედროვე შეხედულებების ანალიზი საფეთქელ-ქვედა ყბის სახსრის დისფუნქციის პათოგენეზისა და დიაგნოსტიკის შესახებ (მიმოხილვა)

ტ. კოსტიუკი, ე. კოვალი, დ. ტიშკო, მ. კოვალა

ა. ბოგომოლცის სახელობის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, ორთოპედიული სტომატოლოგიის დეპარტამენტი, კიევი, უკრაინა

სტატიაში განხილულია მიმდინარე და რეტრო-სპექტული სამეცნიერო სამედიცინო ლიტერატურა საფეთქელ-ქვედა ყბის სახსრის დისფუნქციური მდგომარეობების დიაგნოსტიკისა და მკურნალობის მსოფლიოში გავრცელებული თანამედროვე ტენდენციების შესახებ.

კვლევის შედეგებში მოცემულია აღნიშნულ პრობლემაზე მომუშავე სამამულო და უცხოეთის წამყვანი მეცნიერების კვლევების ანალიზი აღნიშნული პათოლოგიის დიაგნოსტიკის, მკურნალობის თანამედროვე მეთოდების და განვითარების მიმართულების შესახებ.

## FEATURES OF HEMODYNAMICS IN VERTEBROBASILAR ARTERIAL SYSTEM IN YOUNG PEOPLE, DEPENDING ON BIOMECHANICAL DISORDERS OF THE MUSCULOSKELETAL SYSTEM

Jaroshevskyi O., Logvinenko A., Morozova O., Lipinskaya Y.

*Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine*

Cerebrovascular diseases (CVD) are at present one of the most urgent medical and social problems, which is due to their high prevalence among the population, high rates of disability and mortality among people of working age [3,6,8,11,15,16].

The leading place in the structure of CVD belongs to the pathology of the vertebrobasilar system (VBS). Vertebrobasilar insufficiency (VBI) causes an estimated one out of three strokes and about 70 % of transient ischemic attacks [8]. Equally important is the involvement of hemodynamic disorders in the development of cognitive impairment and vascular dementia. At present there are evidence supporting the association between VBI and the risk of dementia [20], which dictates the need for an in-depth study of the causes of the development of VBI and the search for effective methods for its prevention.

It is known that the most common cause of VBI is atherosclerotic lesions of VBS vessels. At the same time, such anatomical features of the vertebral artery (VA) like its passage in the movable bone channel formed by the transverse processes of the cervical vertebrae, proximity to the anterior staircase, inferior oblique muscle of the head and to the atlanto-occipital joint create conditions for a violation in its hemodynamics even in young patients with biomechanical disorders of the cervical spine (CS) [2,6,7,9–11,13].

The purpose was to study the features of hemodynamics in VA in patients with clinical manifestation of VBI depending on the biomechanical disorders of the CS and the locomotor system as a whole.

**Material and methods.** 105 patients (53 females and 52 males) aged 18–44 years having signs of VBI on the background of biomechanical disorders of the CS and the locomotor system as a whole were examined. Their mean age was 38±5,9 years.

The average duration of the disease in all studied patients was 9±2.3 years. Inclusion criteria were: age 18 to 44 years, the presence of clinical manifestations of VBI on the background of biomechanical disorders of the musculoskeletal system. All diagnoses of VBI were confirmed by assessing the patients' medical history, neurological signs and Doppler ultrasonography. Exclusion criteria were: smoking, history of drug/alcohol abuse, VA anomalies, history of head trauma and cervical spine injury, expressed degenerative dystrophic changes of the spine, ischemic heart disease, severe heart arrhythmias, arterial hypertension, atherosclerosis of cerebral vessels, vasculitis, diabetes mellitus, rheumatism and systemic connective tissue diseases.

The control group included 50 practically healthy persons aged 18 to 44 years (25 females and 25 males). Their mean age was 37±5,6 years. The study groups were comparable in relation to age and sex ( $p < 0,05$ ).

All enrolled subjects were informed about the nature of the study and their rights to refuse. Their informed written consent was taken before including them in the study, which corresponds to International ethical guidelines for studies with human subjects.

The nature of the work activity of individuals in both groups was associated with prolonged static loads on the cervical spine (office workers, IT specialists, dentists, drivers, etc.). 96/86,5 % patients and 18/32,14 % controls were characterized by hypodynamic lifestyle. The most common causes of development or exacerbation of the disease in the patients of the main group were associated with long static loads on the CP (sedentary work, long stay in a pose with a head overturned) in combination with intense psychoemotional loads, sharp unprepared movement in the CP, lifting and carrying weights.

Table 1. The main variants of violations of the static stereotype in the study groups

|                                               |             |          |        |
|-----------------------------------------------|-------------|----------|--------|
| Stopped falling body forward                  | 63,81% (67) | 62% (31) | p<0,05 |
| Stopped falling body forward and to the right | 14,29% (15) | 14% (7)  | p<0,05 |
| Stopped falling body forward and to the left  | 21,9% (23)  | 24% (12) | p<0,05 |

The patients were examined according to a specially developed protocol, which included a clinical-neurological, vertebro-neurological examination (visual assessment of violations of statics and dynamics of the musculoskeletal system, manual diagnostics for the detection of muscular-tonic syndromes and musculoskeletal dysfunction) and Doppler ultrasound of extra- and intracranial segments of VA.

The quantitative assessment of the severity of subjective and objective symptoms of VBI was carried out according to H. Hoffenberth's scale of vertebrobasilar deficiency (1990) [17].

Visual diagnostics of static and dynamic disturbances were carried out on the basis of the coordinative-planar method in the patient's standing position. The optimality of statics was evaluated in three planes – frontal, sagittal, horizontal. Then the results were compared with each other [1;9].

Visual diagnostics was supplemented by measuring the craniovertebral angle (CVA) using a photogrammetric method. The CVA provides measurement of position of head relative to the neck and it is a variable, that can be measured to quantify head forward position [19]. To measure the CVA, subjects were photographed in the standing position, with a camera fixed to a tripod, after which the images were processed in the graphic editor Corel DRAW (2017). Then, two lines were drawn on the photographs: one through the upper edge of the tragus of the ear, and the other through the spinous process of the vertebra C7, after which the angle formed at the intersection of these lines was measured. In the neutral position of the head CVA is not less than 55° [19].

Particular attention during the examination of subjects was devoted to revealing the difference in the length of the lower limbs by measuring the distance between the anterior superior iliac spine and the medial malleolus using a tape measure [18].

CS mobility, the presence of pain, swelling of the soft tissue surrounding the vertebral motor segment (VMS), the VMS mobility and the presence of their functional blocking were examined by manual diagnosis. Quantitative estimation of the VMS mobility was carried out using the A. Stoddart scale [12]. The presence of trigger points (TP) and reflex-muscle syndromes was identified by muscle palpation.

To assess the blood flow in the vessels of the VBS all subjects underwent a Color-Coded Duplex ultrasonography of extra- and intracranial vessels of the brain using the Siemens Acuson Antares apparatus according to the standard protocol. The diameter of the vertebral arteries from both sides, peak systolic velocity (Vsist), end-diastolic velocity (Vd), volumetric flow rate (Vvol), time-averaged maximum velocity (TAMX), resistance index (RI) and pulsatility index (PI) were measured. Functional tests with a head rotation of 45° in the opposite direction were used to diagnose the dynamic compression of VA. For the purpose of diagnosing the level of compression, the blood flow was assessed segmentally at the extra- and intracranial levels. Hemodynamically significant was considered asymmetry of blood flow, exceeding 50% [2–5,14].

Statistical analyses were carried out in STATISTIKA 10 software (Statsoft Inc., USA). The results were considered statistically significant when p < 0.05.

**Results and their discussion.** The main complaints of pa-

tients were: headache (105/100%), dizziness and vertigo which arose or increased with neck movements (64/60,95 %), imbalance (52/49,52%), tinnitus (49/46,67%), blurred vision, photops (21/20%), memory decline (67/63,81%), violation of attention (87/82,86%), decreased work ability (105/100%), sleep disorders (97/92,38 %), anxiety disorders (61/58,10 %), neck pain (98/93,33 %), stiffness in the neck and shoulder area (89/84,76%), limitation of the range of motion in CS (71/67,62%), Pain related to thoracic spine and anterior chest pain (57/54,29%). These complaints arose or intensified under the influence of prolonged static loads (work at the desk, computer, etc.), intensive physical exertion, sharp movements in the neck, getting exposed to cold temperatures, stress. There were no complaints in the control group.

The average score for the H. Hoffenberth's scale of vertebrobasilar deficiency in the main group was 9±2,1, in the control group - 0 (p<0,05).

Visual diagnosis of biomechanical disorders revealed non-optimal statics in 105/100% of patients and in 50/100% of controls. The variants of the violation of the static stereotype in both groups are presented in Table 1.

A pathogenetically significant region in the formation of non-optimal statics in 67/63,81% patients was cervical region, in 31/36,19% – the pelvic region. The cervical region played the main role in the formation of suboptimal statics in 35/70% of control, the pelvic region – in 15/30%. In 67/63,81% of patients there was a shift forward of the regional center of gravity in the cervical region, in 38/36,19% - forward and sideways. Shift forward of the regional center of gravity in the cervical region was revealed in 31/62% of control, shift forward and sideways – in 19/38% of control subjects. Thus, no statistically significant differences were found between the two groups in static stereotypes.

Visually, the displacement of the common and regional center of gravity at the cervical level forward was manifested by the formation of the head forward position, hyperextension of CS, decreasing CVA values, compensatory thoracic kyphosis with internal rotation of the shoulder joints, flexion, adduction and internal rotation of the humerus, the elevation of the clavicles and the entire shoulder girdle, displacement upward and laterally lower angles of scapulae, an increased distance between the medial edges of the scapula and the spinous processes of the thoracic vertebrae and compensatory displacement of the regional center of gravity back in the region of the shins (Fig. 1). The displacement of the center of gravity led to postural overload of some and compensatory weakness of other muscles, which was manifested by the appearance of musculoskeletal imbalance. Musculoskeletal imbalance of the cervicothoracic region in these patients was manifested by a shortening of the large and small posterior rectus muscles of the head, the superior and inferior oblique muscles of the head, the upper portions of the trapezius, the sternocleidomastoid and anterior staircase muscles, the levator scapulae, the pectoralis major and minor, the anterior deltoid, and also - lengthening and relaxation of deep neck flexor muscles (the long muscle of the head, the sublingual thyroid muscle, the omohyoid muscle), the middle and lower trapezius, the rhomboid and anterior cog muscles.

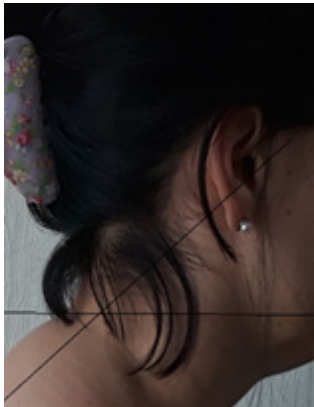


Fig. 1. Patient A., 40 years old, with a shift of the common and regional center of gravity at the cervical level forward and a decrease in the value of the craniovertebral angle

In subjects with a stopped falling body forward and to the side (Fig. 2) and pathogenetically significant pelvic region the reason for the formation of suboptimal statics was a leg-length discrepancy which led to deformation of the contours of the body in the frontal and sagittal planes, with the formation of oblique pelvis, restructuring of the axial skeleton, the static overload the muscles of the shoulder girdle and cervical region as a compensatory displacement of the center of gravity. In such subjects, the hip of the “long leg” was in the position of flexion, adduction and external rotation, the hip of the “short leg” - in the position of hyperextension, abduction and internal rotation. It was observed an asymmetry of the ankles, popliteal and gluteal folds, a visual flattening, smoothing of the contour of the buttock of the long leg with an increase in the contour of the buttock on the opposite side, “protrusion” of the popliteal fossa on the side of the shortened leg, the iliac crests height difference. In the lumbar region of these subjects we observed hyperlordoscoliosis, the direction of the arc of which coincided with the direction of the “stopped falling”. The visual signs of deformation of the body contours were: asymmetry of skin folds in the waist, the approximation of the lower edge of the rib and the ilium on the side of the “long” leg with their mutual removal on the side of the “short” leg, asymmetry of the distance between the patient’s arms and the line of his waist with the maximum difference in the distance at the height of the convexity of scoliosis. It was observed compensatory thoracic hyperkifoscoliosis with a convexity directed opposite to the direction of the “stopped falling”. Visually on the side of the scoliotic arch was observed a rib hump. There was an asymmetry of the entire shoulder girdle with the inclination of the shoulder toward the “elongated leg”, displacement of the regional center of gravity in the cervical region forward and to the side with antepulse, lateroflexia and rotation of the head, and the combination of hypolordoscoliosis at the lower cervical level with hyperlordoscoliosis at the upper cervical level with the convexity of the arc, directed opposite to the direction of the “stopped falling”.

Musculoskeletal imbalance in these subjects was characterized by weakness and lengthening of the hip extensor muscles with compensatory shortening of hip flexors, weakness of the middle gluteal muscles on the side of the “long leg”, shortening of the hip extensors of the “short leg” with compensatory elongation of the hip flexors, shortening of the square lumbar muscle and the lumbosacral muscle on the side of the “long leg” with their elongation and functional weakness on the opposite side. We observed a shortening of the upper portion of the trapezius muscle and the levator scapulae on the side of the shortened leg with their compensatory elongation

on the opposite side. We diagnosed the shortening of the large and small posterior rectus muscles of the head, the superior and inferior oblique muscles of the head, the upper portions of the trapezius, the sternocleidomastoid and anterior staircase muscles, the levator scapulae, the pectoralis major and minor, the anterior deltoid, and also - lengthening and relaxation of deep neck flexor muscles (the long muscle of the head, the sublingual thyroid muscle, the omohyoid muscle), the middle and lower trapezius, the rhomboid and anterior cog muscles at both sides.



Fig. 2. Patient I., 18 years old, with a stopped falling body forward and to the side

The mean value of the CVA in the main group was  $40,3^{\circ} \pm 2,21$ , in control –  $52,7^{\circ} \pm 1,48$  ( $p < 0,05$ ), which indicated a more pronounced head forward position in the patients of the main group. Thus, despite the absence of statistically significant differences in pathobiomechanical patterns between the two study groups, in the group with clinical manifestations of VBI there is a significant decrease in the value of the CVA as compared to the control.

Measurement of the leg length revealed a leg length discrepancy in 30/36,19% of the patients and in 15/30% of the controls. The average difference in the leg length in patients was  $3,1 \pm 0,36$  cm, in the control group –  $1,2 \pm 0,14$  cm ( $p < 0,05$ ). The consequence of a more pronounced leg length discrepancy in the main group was a more pronounced static overload of the muscles of the cervico-brachial region.

Visual diagnostics of the dynamics disturbances revealed atypical motor patterns in both study groups. In 105/100% of patients and in 15/30% of control we observed the atypical motor pattern “head flexion” with the late inclusion in the movement of short neck flexors and the performance of flexion due to the sternocleidomastoid muscle, forward movement of the head, extension of the upper cervical region with flexion of the lower cervical region, as a result of which there was a sharp shortening of short head extensors with the formation of myofascial trigger zones in them. In 76/72,38% of patients was observed an abnormal motor pattern “hand abduction”, which was manifested by a decrease in the physiological volume of abduction of the hand in combination with shoulder extension and wrist rotation during movement, caudal movement of the shoulder and cranial movement of the scapula. Other atypical motor patterns diagnosed in the study groups were: “trunk flexion” – in 38/36,19% of patients and in 19/38 % of control, “hip flexion” – in 18/17,14 % of patients and in 11/22 % of control, “Hip adduction” – in 20/19,05 % and 8/16 % of cases respectively.

Manual diagnostics revealed violations of VMS mobility in both groups. The results of estimating the VMS mobility by A. Stoddart are presented in Table 2.

Table 2. Estimation of VMS mobility by A. Stoddart in studied groups

| Degree of VMS mobility by A. Stoddart | Localization of the vertebral-motor segment (abs / relative,%) |          |          |          |          |          |          |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|                                       | C0-C1                                                          | C1-C2    | C2-C3    | C3-C4    | C5-C6    | C6-C7    | C7-T1    |
|                                       | Main group (n=105)                                             |          |          |          |          |          |          |
| 0                                     | 65/61,9                                                        | 59/56,19 | -        | -        | 2/1,9    | 3/2,86   | 97/92,38 |
| 1                                     | 35/33,33                                                       | 39/37,14 | -        | 7/6,67   | 62/59,05 | 65/61,9  | 8/7,62   |
| 2                                     | 5/4,76                                                         | 7/6,67   | 23/21,90 | 24/22,86 | 25/23,81 | 36/34,29 | -        |
| 3                                     | -                                                              | -        | 11/10,48 | -        | 6/5,71   | -        | -        |
| 4                                     | -                                                              | -        | 71/67,62 | 74/70,48 | 10/9,52  | -        | -        |
|                                       | Control group (n=50)                                           |          |          |          |          |          |          |
|                                       | C0-C1                                                          | C1-C2    | C2-C3    | C3-C4    | C5-C6    | C6-C7    | C7-T1    |
|                                       | Control group (n=50)                                           |          |          |          |          |          |          |
| 0                                     | -                                                              | -        | -        | -        | -        | -        | -        |
| 1                                     | -                                                              | -        | -        | -        | -        | -        | -        |
| 2                                     | 19/38                                                          | 8/16     | 3/6      | 1/2      | 2/4      | 11/22    | 31/62    |
| 3                                     | 31/62                                                          | 42/84    | 41/82    | 37/74    | 48/96    | 39/78    | 19/38    |
| 4                                     | -                                                              | -        | 6/12     | 12/24    | -        | -        | -        |

As can be seen from the table, there were significant differences in the VMS mobility between two groups. In the main group, the lowest mobility (0-1 degree according to A. Stoddart) was determined at the levels of C0-C1, C1-C2, C5-C6, C7-T1, which was combined with compensatory hypermobility at the levels of C2-C3, C3-C4, C5-C6. The severity of functional blockades was lower in the control. The minimum degree of mobility according to A. Stoddart classification in the control was the 2nd degree of mobility. It was most often observed at the level of C0-C1, C1-C2, C6-C7 and C7-T1 and was combined with compensatory hypermobility of the middle cervical level. In 68/64.76 % of patients was diagnosed a lateral rotation of the body of C2, pain on palpation of the projection of nuchal ligament and transverse processes of C2. The lateral rotation of the body of C2, the pain on palpation of the projection of nuchal ligament and transverse processes of C2 was observed in 2/4 % subjects of the control group.

In all patients of the main group, manual muscle testing revealed hypertonicity and active TP in the inferior oblique muscles of the head, the large and small posterior rectus muscles of the head, the upper portions of the trapezius, the sternocleidomastoid and anterior staircase muscles, the levator scapulae, in points of deltoid muscles attachment, in supraspinatus, infraspinatus muscles, the pectoralis major, pectoralis minor, the latissimus dorsi muscles. Active TP in the upper trapezius were diagnosed in 8/16% of control. In 42/84% of control we determined latent myofascial TP in the upper and middle trapezius, the levator scapulae and latissimus dorsi muscles. The higher severity of myofascial syndrome in the main group is due, apparently, to the presence of coarser biomechanical disorders in this group, leading to a violation of the regional pos-

tural balance of muscles, shortening and overloading the muscles involved in maintaining equilibrium.

In addition, a manual study revealed the presence of reflex muscular-tonic syndromes in patients of the main group: the lower oblique muscle of the head syndrome (98/93,33%), the syndrome of the anterior staircase (41/39,05%), Wright-Mendelovich syndrome (18/17,14%), interblade pain syndrome (43/40,95%), as well as their combination (45/42,86%). Frozen shoulder syndrome was diagnosed in 12/11,43% patients, thoracic outlet syndrome – in 3/2,86%. Reflex muscular-tonic syndromes were not diagnosed in the control.

The Color-Coded Duplex ultrasonography did not reveal signs of atherosclerotic lesion, developmental abnormalities and the course of VA in both groups. The hemodynamic parameters, obtained during the examination of patients of both groups, are presented in Table 3.

As follows from the table, there were significant differences in VA hemodynamics between two groups, which consists in reducing the vertebral artery linear velocity and volumetric flow rate, increased resistance and pulsatility indexes in main group. A positive correlation was found between the value of CVA and blood flow velocity in the VA ( $r=+0,76$ ,  $p<0,05$ ). All patients of the main group showed signs of difficulty in venous outflow from the cerebral circulation. Disturbance in venous outflow from the cerebral circulation was diagnosed in 8/16 % of the control.

Functional tests with a turn of the head in the opposite direction revealed the following changes in the main group: in 5/4,76% – hemodynamically significant bilateral extravasal compression of VA in the V3 segment with a reduced blood flow

Table 3. Parameters of hemodynamics in PA in segments V1-V3 in patients of the studied groups

| Index                                         | Main group (n = 105) | Control group (n=50) | p-value |
|-----------------------------------------------|----------------------|----------------------|---------|
| Diameter, mm                                  | 3,3±0,42             | 3,5±0,34             | <0,05   |
| Peak systolic velocity (Vsist), sm/sec        | 30,1±10,2            | 47±11,4              | <0,05   |
| End-diastolic velocity (Vd), sm/sec           | 11±2,3               | 16±4,2               | <0,05   |
| Volumetric flow rate (Vvol), ml/min           | 69±15,1              | 98±19,3              | <0,05   |
| Time-averaged maximum velocity (TAMX), sm/sec | 12±3,6               | 23±4,4               | <0,05   |
| Resistance index                              | 0,93±0,04            | 0,58±0,06            | <0,05   |
| Pulsatility index (PI)                        | 1,71±0,3             | 0,91±0,08            | <0,05   |

to 80% of its original value, 39/37,14% of patients had unilateral hemodynamically significant extravasal VA compression in segment V3 with a decreased blood flow to 60-70% of its original value, in 61/58,1% - hemodynamically insignificant compression of VA in segment V3 with reduction of blood flow to 30% of the initial level. The presence of extravasal compression in the V3 segment was indicated by local acceleration of blood flow at V3 level with its decrease below the compression site, and an increase in the pulsatility index in the V1-V2 segments. Statistical analysis of data obtained revealed a positive correlation between the value of CVA and the degree of mobility of the craniocervical transition by A. Stoddart ( $r=+0.79$ ,  $p<0.05$ ) and – a negative correlation between these parameters and the level of blood flow reduction during functional rotation tests ( $r=-0.69$ ,  $P<0.05$ ). Rotational functional tests revealed a hemodynamically insignificant compression in the V3 segment with a blood flow reduction of up to 20 % in 9/18 % of the subjects in control group. In 41/82% control the rotational test did not reveal the presence of dynamic extravasal compression of VA.

**Conclusions.** 1. It was revealed the relationship between the violation of hemodynamics in VBS and pathobiomechanical changes of the musculoskeletal system in patients of young age. The leading pathogenetic role in the onset of hemodynamic disorders in VA belongs to a non-optimal static stereotype in the cervical region in the form of displacement of the regional center of gravity forward with the formation of a forward head position, hyperextension of CS, a decrease in the value of CVA and the formation of persistent functional blockade of craniocervical and cervicocostovertebral transition.

2. It was revealed a positive correlation between the value of CVA and the degree of mobility of the craniocervical transition by A. Stoddart ( $r=+0.79$ ,  $p<0.05$ ) and also - a negative correlation between CVA value and the level of blood flow reduction in VA during functional rotational tests ( $r=-0.69$ ,  $p<0.05$ ).

## REFERENCES

1. Васильева Л. Ф. Визуальная диагностика нарушений статики и динамики опорно-двигательного аппарата человека. Иваново: 1996; 110.
2. Гриненко Е. А. Сосудистые нарушения при нестабильности шейного отдела позвоночника / Е. А. Гриненко, Р. С. Мусин, А. Е. Кульчиков // Неотложные состояния в вертебологии: Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием: материалы. – Санкт-Петербург, 2013. 41–42.
3. Дибкалюк С. В. Инновации в диагностике синдрома компрессии позвоночной артерии / С. В. Дибкалюк, А. И. Герцен, В. А. Черняк // Журнал неврології ім. Б. М. Маньковського. – 2013. – № 2. – 117–122.
4. Захматова Т. В. Цветовое дуплексное сканирование в диагностике компенсации кровотока по позвоночным артериям при дегенеративных заболеваниях шейного отдела позвоночника / В. В. Щедренко, О. В. Могучая // Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. – 2014. – № 10. – 34–40.
5. Лелюк В. Г. Ультразвуковая ангиология / В. Г. Лелюк, С. Э. Лелюк. – 2-е изд., допол. и перераб. – М.: Реальное время, 2003. – 322.
6. Логвиненко А. В. Анатомо-физиологические предпосылки развития синдрома позвоночной артерии / А. В. Логвиненко // Міжнародний медичний журнал. – 2016. – 4. – 73–76.
7. Логвиненко А. В. Роль миогенного фактора и биомеханических нарушений в генезе синдрома позвоночной артерии / А. В. Логвиненко // Український вісник психоневрології. – 2017. – № 1. – 87–88.
8. Мищенко Т. С. Эпидемиология цереброваскулярных заболеваний и организация помощи больным с мозговым инсультом в Украине / Т. С. Мищенко // Український вісник психоневрології. – 2017. – Т. 25. Вип. 1 (90). – 22–24.
9. Морозова О. Г., Ярошевский А. А. Миофасциальная дисфункция и вторичные неврологические синдромы плечевого региона: взаимосвязь с патофизиологическим двигательным стереотипом и направления терапии / О. Г. Морозова, А. А. Ярошевский // Неврология и нейрохирургия Восточная Европа. – 2017. – № 1. – 130–141.
10. Никифоров А. С. Неврологические осложнения остеохондроза позвоночника / А. С. Никифоров, Г. Н. Авакян, О. И. Мендель. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 272.
11. Путилина М. В. Принципы коррекции хронической ишемии головного мозга у пациентов с вертеброгенной патологией: пособие для врачей / М. В. Путилина, Д. В. Гришина. – Москва: ООО «АСТ 345», 2013. – 93.
12. Стаддарт А. Учебник остеопатических техник: пер. с англ. / А. Стаддарт. – Алматы: Аркаим, 2002. – 304.
13. Черноротов В. А. Диагностические и прогностические аспекты сосудистых нарушений у больных с остеохондрозом шейного отдела позвоночника на этапе восстановительного лечения / В. А. Черноротов // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16, № 3, ч. 1 (63). 163–170.
14. Холин А. В. Допплерография и дуплексное сканирование сосудов / А. В. Холин, Е. В. Бондарева. – Москва: МЕДпресс-информ, 2015. – 96.
15. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. // Lancet. – 2017. – № 390. – P. 1211–1259.
16. Global and regional burden of stroke during 1990–2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010 / V. L. Feigin, M. H. Forouzanfar, R. Krishnamurthi [et al.] // Lancet. – 2014. – Vol. 383, № 9913. – P. 245–254.
17. Hoffenberth B. Vascular Brainstem Disease / B. Hoffenberth, G. Brune, G. Sinzev // Workshop VIII, Basel. – 1990.
18. Sabharwal, S., & Kumar, A. (2008). Methods for Assessing Leg Length Discrepancy. Clinical Orthopaedics and Related Research, 466(12), 2910–2922.
19. Singla, D., Vejar, Z., & Hussain, M. E. (2017). Photogrammetric Assessment of Upper Body Posture Using Postural Angles: A Literature Review. Journal of Chiropractic Medicine, 16(2), 131–138. <http://doi.org/10.1016/j.jcm.2017.01.005>
20. Yang F. The association between vertebrobasilar insufficiency and the risk of dementia: a nationwide register-based retrospective cohort study in Taiwan BMJ/ F. Yang, S. Chen, J. Yin, et al. Open 2017;7:e017001.

## SUMMARY

### FEATURES OF HEMODYNAMICS IN VERTEBROBASILAR ARTERIAL SYSTEM IN YOUNG PEOPLE, DEPENDING ON BIOMECHANICAL DISORDERS OF THE MUSCULOSKELETAL SYSTEM

Jarosheskiy O., Logvinenko A., Morozova O., Lipinskaya Y.

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine

In order to study the features of hemodynamics in the vertebral artery (VA), depending on the biomechanical disorders of the cervical spine (CS) and the musculoskeletal system as a whole 105

patients (53 females and 52 males, mean age –  $38 \pm 5,9$  years) having signs of the Vertebrobasilar insufficiency on the background of biomechanical disorders of the CS and the locomotor system as a whole were examined. The control group included 50 practically healthy persons (25 females and 25 males, mean age –  $37 \pm 5,6$  years). Physical examination included a clinical-neurological, vertebro-neurological examination (visual assessment of violations of statics and dynamics of the musculoskeletal system, measuring the craniocervical angle (CVA) using a photogrammetric method, manual diagnostics for the detection of muscular-tonic syndromes and musculoskeletal dysfunction) and Doppler ultrasound of extra- and intracranial segments of VA. It was revealed the relationship between the violation of hemodynamics in vertebrobasilar system and pathobiomechanical changes of the musculoskeletal system in patients of young age. The leading pathogenetic role in the onset of hemodynamic disorders in VA belongs to a non-optimal static stereotype in the cervical region in the form of displacement of the regional center of gravity forward with the formation of a forward head position. It was revealed a positive correlation between the value of CVA and the degree of mobility of the craniocervical transition by A. Stoddart ( $r = +0,79$ ,  $p < 0,05$ ) and also - a negative correlation between CVA value and the level of blood flow reduction in VA during functional rotational tests ( $r = -0,69$ ,  $p < 0,05$ ).

**Keywords:** vertebral-basilar insufficiency, vertebral artery, biomechanical disorders, craniocervical angle, dynamic compression.

## РЕЗЮМЕ

### ОСОБЕННОСТИ ГЕМОДИНАМИКИ В ВЕРТЕБРАЛЬНО-БАЗИЛЯРНОМ БАССЕЙНЕ У МОЛОДЫХ ЛИЦ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ БИОМЕХАНИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Ярошевский А.А., Логвиненко А.В., Морозова О.Г., Липинская Я.В.

*Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина*

С целью изучения особенностей гемодинамики в позвоночной артерии (ПА) в зависимости от биомеханических нарушений шейного отдела позвоночника (ШОП) и опорно-двигательной системы обследовано 105 пациентов (53 женщины и 52 мужчины, средний возраст –  $38 \pm 5,9$  лет) с клиническими проявлениями вертебрально-базиллярной недостаточности на фоне биомеханических нарушений ШОП и опорно-двигательной системы. Контрольную группу составили 50 практически здоровых лиц (25 женщин и 25 мужчин, средний возраст –  $37 \pm 5,6$  лет). Обследование включало в себя клиник-неврологическое, вертебро-неврологическое исследования (визуальная оценка нарушений статики и динамики опорно-двигательного аппарата, измерение величины краниовертебрального угла с применением фотограмметрического метода, мануальная диагностика для выявления мышечно-тонических синдромов и мышечно-скелетной дисфункции) и доплерографическое исследование экстра- и интракраниальных отделов ПА. Выявлена взаимосвязь между нарушением гемодинамики в вертебрально-базиллярной системе и патобиомеханическими изменениями опорно-двигательного аппарата у пациентов молодого возраста. Ведущая патогенетическая роль в

возникновении гемодинамических расстройств в системе ПА принадлежит неоптимальному статическому стереотипу в шейном регионе в виде смещения регионарного центра тяжести вперед с формированием переднего положения головы. Выявлена положительная корреляция между величиной краниовертебрального угла, скоростными показателями кровотока в системе ПА ( $r = +0,76$ ,  $p < 0,05$ ), степенью подвижности краниовертебрального перехода по А. Stoddart ( $r = +0,79$ ,  $p < 0,05$ ), а также – отрицательная корреляция между величиной краниовертебрального угла и уровнем редукции кровотока по ПА при проведении функциональных ротационных проб ( $r = -0,69$ ,  $p < 0,05$ ).

## რეზიუმე

ვერტებრობაზილარული აუზის ჰემოდინამიკის თავისებურებანი ახალგაზრდა პირებში საყრდენ-მამოძრავებელი სისტემის ბიომექანიკურ დარღვევებზე დამოკიდებულებით

ა. იაროშევსკი, ა. ლოგვინენკო, ო. მოროზოვა, ი. ლიპინსკაია

ხარკოვის დიპლომის შემდგომი სამედიცინო განათლების აკადემია, უკრაინა

ხერხემლის არტერიაში ჰემოდინამიკის თავისებურებების შეფასების მიზნით ხერხემლის კისრის განყოფილების და მთლიანად საყრდენ-მამოძრავებელი სისტემის ბიომექანიკურ დარღვევებზე დამოკიდებულებით გამოკვლეულია 105 პაციენტი (53 ქალი, 52 მამაკაცი, ასაკი -  $38 \pm 5,9$  წელი) ვერტებრობაზილარული უკმარისობის კლინიკური გამოვლინებით. საკონტროლო ჯგუფი შეადგინა 50 პრაქტიკულად ჯანმრთელმა პირმა (25 ქალი, 25 მამაკაცი, ასაკი -  $37 \pm 5,6$  წელი). გამოკვლევა გულისხმობდა კლინიკურ-ნევროლოგიურ, ვერტებროლ-ნევროლოგიურ (საყრდენ-მამოძრავებელი აპარატის სტატიკისა და დინამიკის ვიზუალური შეფასება, კრანოვერტებრული კუთხის გაზომვა ფოტოგრამმეტრული მეთოდის გამოყენებით, კუნთოვან-ტონური სინდრომების და ჩონჩხ-კუნთოვანი დისფუნქციის მანუალური დიაგნოსტიკა) და ხერხემლის არტერიის ექსტრა- და ინტრაკრანიალური ნაწილების დოპლეროგრაფიულ კვლევას.

გამოვლენილია კავშირი ვერტებრობაზილარულ სისტემაში ჰემოდინამიკურ დარღვევებსა და საყრდენ-მამოძრავებელი აპარატის პათობიომექანიკურ ცვლილებებს შორის ახალგაზრდა პირებში. წამყვანი პათოგენეზური როლი ჰემოდინამიკური დარღვევების აღმოცენებაში ხერხემლის არტერიის სისტემაში ეკუთვნის კისრის რეგიონის არაოპტიმალურ სტატიკურ სტერეოტიპს სიმძიმის რეგიონული ცენტრის ცდომით წინ და თავის წინამდგომარეობის ფორმირებით. გამოვლენილია დადებითი კორელაცია კრანოვერტებრული კუთხის სიდიდეს, ხერხემლის არტერიაში სისხლის ნაკადის სიჩქარულ მასასიათვლებს ( $r = +0,76$ ,  $p < 0,05$ ) და კრანოვერტებრული გადასასვლელის მოძრაობის უნარს (A. Stoddart-ის მიხედვით,  $r = +0,79$ ,  $p < 0,05$ ) შორის, ასევე, უარყოფითი კორელაცია კრანოვერტებრული კუთხის სიდიდეს და ხერხემლის არტერიაში სისხლის ნაკადის რედუქციის დონეს შორის როტაციული ფუნქციური სინჯების ჩატარების დროს ( $r = -0,69$ ,  $p < 0,05$ ).

## ВЕДЕНИЕ ПАЦИЕНТОК С СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ В ПРЕГЕСТАЦИОННЫЙ И АНТЕНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОДЫ: ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЯ (ОБЗОР)

Ханюков А.А., Егудина Е.Д., Калашникова О.С., Сапожниченко Л.В.

ГУ «Днепропетровская медицинская академия» МОЗ Украины, Днепр, Украина

Системная красная волчанка (СКВ) - редкое, мультисистемное хроническое аутоиммунное заболевание, характеризующееся гиперпродукцией органоспецифических аутоантител к различным компонентам клеточного ядра с развитием иммуновоспалительного повреждения тканей и внутренних органов [1], клиническое течение которого варьирует в пределах от легкой до крайне тяжелой степени тяжести [44] и проявляется различными симптомами: сыпь, артрит, анемия, тромбоцитопения, серозиты, нефрит, судороги и/или психоз [44].

Показатели распространенности СКВ отличаются в разных регионах земного шара, составляя от 4 до 250 на 100 тыс. населения [2]. Показатель заболеваемости СКВ у женщин в шесть раз выше, чем у мужчин (8,34 против 1,44 на 100000 населения) [44]. В предклимактерическом периоде соотношение между показателями женщин и мужчин составляет 15:1 [43]. Значительные различия существуют в распространенности СКВ в этнических группах: наибольший показатель заболеваемости наблюдается у чернокожих женщин азиатского региона (31,5/100 000) и чернокожих африканских женщин (13,8/100 000), самая низкая - у белых женщин (6,7/100 000) [2,37].

Десятилетняя выживаемость пациентов с СКВ составляет 92% [26], смертность в 3 раза выше, чем в популяции, однако за последние десятилетия прогноз существенно улучшился [1,22] за счет современной медикаментозной терапии, позволяющей увеличить продолжительность жизни больных СКВ [2]. СКВ у женщин детородного возраста в плане наступления и ведения беременности по сей день представляет серьезную проблему как для женщин, так и врачей-гинекологов и ревматологов.

При лечении пациенток с СКВ необходимо оценить риски беременности и определить тактику последующей индивидуальной программы прегестационного ведения больных с целью их подготовки к будущей беременности. Планируя беременность, женщине с СКВ следует заблаговременно получить консультацию ревматолога и акушер-гинеколога для проведения адекватного лечения и подготовки к будущей беременности.

Целью исследования явился анализ ретроспективной и текущей научной литературы о лечении женщин детородного возраста, больных системной красной волчанкой и разработка тактики их ведения.

*Прегестационный период: планирование беременности, стратификация риска.*

У пациенток с СКВ нарушения репродуктивной функции, как правило, не наблюдается, за исключением женщин, у которых аменорея вторична вследствие тяжелых обострений СКВ или хронической болезни почек 3-5 стадии (скорость клубочковой фильтрации (СКФ) <60 мл/мин) либо с овариальной недостаточностью, связанной с приемом циклофосфамида (ЦФ) [12].

Больным СКВ женщинам, которые не могут забеременеть самостоятельно, рекомендуется воспользоваться экстракорпоральным оплодотворением, однако они должны быть осведомлены об опасности развития венозного тромбоэмболизма (ВТЭ), особенно это касается женщин с синдромом

гиперстимуляции яичников и/или другими протромботическими факторами риска.

При проведении прегестационной консультации женщинам с СКВ врач обязан собрать детальный анамнез для оценки индивидуальных рисков, которые могут привести к осложнениям во время будущей беременности, выяснить прошлую и текущую активность СКВ, включая самые последние обострения и их частоту, наличие в анамнезе и на сегодняшний момент поражения органов (сердце, легкие, почки), проанализировать историю болезни, определить недавний серологический профиль - анти-dsDNA, анти-SSA/Ro и анти-SSB/La антитела, антифосфолипидные антитела (аФЛ-АТ), антитела к кардиолипинам (аКЛ-АТ), комплемент. Необходимо выявить наличие любых сопутствующих заболеваний, в частности гипертонии, диабета, заболевания почек и ВТЭ, а также потребление патогенетических и любых дополнительных лекарственных средств. Акушерский анамнез должен включать опрос о предыдущих беременностях и их исходе с уточнением данных о плоде и/или новорожденном (выкидыш, мертворождение, малый гестационный возраст - МГВ), преждевременные роды, аномалии развития, врожденный леопус-синдром у плода), осложнения у матери - преэклампсия, антенатальные или послеродовые обострения, ВТЭ. Необходимо регулярно проводить анализ крови (общий анализ крови, мочевина, электролиты, креатинин, исследования функции печени), контролировать серологический профиль, мочу, артериальное давление, проводить специфические инструментальные исследования - ЭхоКГ и исследование функции внешнего дыхания [9,10].

Согласно полученным данным, женщины с СКВ стратифицированы в следующие группы: 1) текущая ремиссия или стабильная низкая активность болезни при стабильном лечении; 2) недавняя диагностика СКВ или активное заболевание; 3) серьезное нарушение функций органов и/или наличие их серьезных повреждений [46]. Стратификация женщин в эти группы позволяет использовать общий подход к ведению пациенток с коррективкой для отдельных ситуаций [9,41]:

I группа - планировать беременность безопасно, медикаменты следует пересматривать и корректировать по мере необходимости.

II группа - женщинам следует отсрочить беременность и использовать эффективную контрацепцию; лекарства следует пересмотреть с назначением иммуносупрессантов гидроксихлорохин (ГХХ) и/или азатиоприн (АЗА), которые безопасны для будущей беременности; проведение клинического и инструментального дальнейшего исследования для мониторинга прогрессирования заболевания; после уменьшения степени активности СКВ (или, в идеале, стадия ремиссии), женщинам следует сообщить, что планировать беременность безопасно.

III группа: серьезные риски для здоровья, связанные с возможной беременностью; необходим отказ от беременности; альтернатива: усыновление и суррогатное материнство (собственные или донорские яйцеклетки). Женщины III группы подвергаются особому риску осложнений, в том числе ухудшению течения, прогрессированию заболевания, поражению органов с развитием их недостаточности во время беременности.

Некоторые клинические ситуации можно рассматривать как абсолютные противопоказания к беременности - умеренное или тяжелое течение волчанки (особенно обострение люпус-нефрита), инсульт в течение последних 6 месяцев, легочная гипертензия (систолическое давление в легочной артерии  $>50$  mmHg), сердечная недостаточность 3-4 функционального класса (фракция выброса левого желудочка  $<40\%$ ), тяжелые пороки клапанов, тяжелая рестриктивная болезнь легких (форсированная жизненная емкость легких  $<50\%$  от нормы или  $<1$  л), ХБП 4-5 стадии (креатинин  $>220-250$  ммоль/л, СКФ  $<30$  мл/мин) или неконтролируемая гипертензия [12].

Таким образом, при стабильном неактивном течении заболевания необходимо информировать пациентку о потенциальных медицинских и акушерских рисках беременности.

Основными медицинскими рисками, с которыми может столкнуться пациентка с СКВ во время беременности являются осложнения течения СКВ, прогрессирующее повреждение органов. Акушерско-гинекологические риски связанные с влиянием СКВ на беременность для женщины (преэклампсия, ВТЭ), для плода (выкидыш, МГВ, преждевременные роды, мертворождение); любая предыдущая акушерская патология в анамнезе является угрозой для развития осложнений при будущих беременностях [47].

Женщины с тромботическим и/или акушерским антифосфолипидным синдромом (АФС) имеют высокий риск развития ВТЭ и/или прерывания беременности; женщины с Ro и/или La антителами - высокий риск рождения ребенка с врожденной атриовентрикулярной блокадой (ВАВБ) и / или неонатальной СКВ [17, 19].

Необходимо различать бессимптомное наличие аФЛ-АТ и клинически значимый АФС. АФС – одна из наиболее значимых и частых причин неблагоприятных беременностей [7,21]. У женщин с АФС наблюдается повышенная частота выкидышей после 10 недель в сравнении с женщинами-носителями аФЛ-АТ, у которых выкидыши происходят, в основном, в предэмбриональном ( $<6$  недель гестации) или эмбриональном (6-9 недель беременности) периоде [21].

В нескольких исследованиях сообщается о частом пульмональном эмболизме (ПЭ) у 20-50% пациенток с АФС [7]. Наличие  $\beta$ -2-гликопротеин-1-зависимых антител имеет негативный прогноз возникновения ПЭ [41]. HELLP синдром наблюдается чаще и раньше (второй триместр) у беременных с АФС на фоне СКВ, чем в общей акушерской популяции [8]. При сочетании СКВ и вторичного АФС вероятность неблагоприятного исхода беременности составляет 30%, в то время как у беременных с СКВ без АФС – 12–13% [14].

Другими факторами риска течения беременности у женщин с СКВ являются осложнения волчаночного нефрита. К ним относятся клинические факторы (гипертония, необратимое повреждение органов, в частности ХБП) и биохимические показатели (гипокомплементемия, протеинурия  $>500$  мг/сутки, СКФ  $<60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, повышенный креатинин  $>220-250$  мкмоль/л) [6,9,10,17,18,29,51].

Женщинам с СКВ, планирующим беременность, следует назначать соответствующие препараты, содержащие витамины и минералы. Любая женщина, планирующая забеременеть, должна ежедневно принимать 400 мкг фолиевой кислоты, с целью снижения риска возникновения дефектов нервной трубки плода за 3 месяца до зачатия и первые 3 месяца беременности [10]. В случаях, когда пациентка за 3 месяца до наступления беременности принимала метотрексат (МТ) [10], страдает сахарным диабетом, имеет ожирение

или семейный анамнез наличия дефектов нервной трубки у плода, следует назначать фолиевую кислоту в более высокой дозе (5 мг) [45,46]. Необходимо выяснить также о приеме цитостатических препаратов накануне беременности, так как длительная терапия ЦФ потенциально может приводить к нарушению фертильности, кроме того, МТ, мофетила микофенолат (ММФ), ЦФ имеют тератогенное действие [30]. Женщинам детородного возраста, планирующим беременность в будущем, назначают ММФ. Наиболее безопасной считается отмена цитостатических препаратов за 6 месяцев до наступления беременности, а при проведении иммуносупрессивной терапии ММФ или МТ заменяют на АЗА или ГХХ [15].

Необходимо прекращение курения и употребления наркотиков, потребление алкоголя должно быть уменьшено или прекращено. При избыточном весе необходимо снизить индекс массы тела (ИМТ) до 17,5-24,9 кг/м<sup>2</sup>. Эти меры позволяют улучшить здоровье матери и плода, увеличат шансы на зачатие, уменьшат риск выкидыша и других осложнений во время беременности, включая гестационный диабет и ВТЭ. Необходимо проверить напряженность иммунитета к краснухе, предложить вакцинацию против кори, эпидемического паротита неиммунизированным женщинам, будучи уверенным, что они не беременны в настоящее время, кроме того, следует избегать беременности в течение последующего месяца. Количественная и качественная оценка гемоглобина, гемоглобинопатии должна проводиться у женщин-носителей серповидноклеточной болезни или талассемии [9,10].

Следовательно, значимыми моментами ведения пациенток с СКВ при планировании беременности являются предварительная консультация с ревматологом и акушер-гинекологом, стратификация факторов риска.

#### *Аntenatalный период: соответствующее лечение*

Применение лекарств во время беременности часто трактуется с понятной осторожностью со стороны производителей и административных органов по безопасности медикаментов и обычно основывается на данных ретроспективных исследований, отдельных клинических случаев и исследованиях на животных [24,25].

Один из основных принципов EULAR является планирование семьи, для этого необходимо предотвратить или подавить активность болезни препаратами, сводя к минимуму их вред плоду/ребенку, балансируя между рисками в результате воздействия лекарств и рисками неконтролируемой болезни. Учитывая вышеизложенное, необходимо проводить мультидисциплинарный подход, включая комплаенс пациента и врача (ревматолог, акушер) при определении тактики лечения [24,25].

Лекарства, которые безопасны во время беременности (все триместры) и лактации для поддержания ремиссии и/или лечения обострения - это ГХХ, АЗА, циклоспорин и такролимус [24,25,41]. Для контроля симптомов активности болезни безопасно использовать кортикостероиды (в идеале  $<7,5$  мг преднизолона в день), аспирин и парацетамол [41].

Обострения СКВ I степени активности по шкале SLEDAI во время беременности можно лечить ГХХ и/или низкими дозами оральных стероидов (возможен и прием нестероидных противовоспалительных препаратов - НПВС в первом или втором триместре) [23-25]. При II-III степени активности заболевания можно использовать пульс-терапию с внутривенным введением метилпреднизолона или высоких доз оральных стероидов с последующим быстрым снижением до минимально

эффективных поддерживающих доз в сочетании с безопасными иммунодепрессантами. Целесообразно назначение иммуноглобулина внутривенно [30].

В более тяжелых случаях необходима оценка риска/пользы и установления приоритетности материнского здоровья и плода с использованием более сильных агентов, таких как ММФ или ЦФ, и рассмотрение вопроса о преждевременных родах. Терапия волчаночного нефрита во время беременности может быть проведена в виде пульс-терапии стероидами с последующей комбинацией перорального преднизолона, ГХХ, АЗА или такролимуса [27].

Для предотвращения гипертонии/ПЭ, индуцированной беременностью, рекомендуются антигипертензивные препараты лабеталол, метилдопу и/или нифедипин в качестве безопасного лечения первой линии (по отдельности или в комбинации) на любой стадии беременности или лактации [38]. Препаратами второй линии для лечения артериальной гипертонии во время беременности являются гидралазин или доксazosин [38]. Прием ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ) и/или блокаторов рецепторов ангиотензина II следует прекратить заблаговременно до начала беременности, поскольку они представляют повышенный риск развития врожденных аномалий [4].

Для здоровья костей и зубов все женщины с СКВ во время беременности должны ежедневно принимать 10 мкг витамина D. Женщины с повышенным риском дефицита витамина D должны контролировать его уровень в течение беременности с целью коррективки [45].

Рекомендуется также терапия кальцием. Раньше кальций назначался в случаях длительного применения кортикостероидов или низкомолекулярного гепарина (НМГ) и при высоком риске развития остеопороза. Однако метаанализ 13 рандомизированных исследований с участием 15 000 женщин показал, что 1 г кальция в день во время беременности (в сравнении с плацебо) приводит к снижению риска ПЭ на 50% и снижает риск преждевременных родов на 25%. Поскольку женщины с СКВ подвергаются повышенному риску развития ПЭ, препараты кальция рекомендованы всем пациенткам [28].

Профилактика тромбообразования при помощи НМГ должна проводиться при значительной потере белка: соотношения белок:креатинин крови  $\geq 100$ -200 мг/ммоль или при суточной протеинурии  $>1$ -2 г/сут во время беременности [13,27].

Наличие аФЛ-АТ также следует рассматривать в контексте фактора риска тромбозомболизма (ТЭ). При наличии у беременной с СКВ не менее трех факторов риска развития ТЭ следует рассматривать назначение НМГ женщине в антенатальный период, а при наличии двух факторов риска НМГ назначают с 28 недели, одного фактора - в постнатальном периоде в течение 10 дней. Любая женщина, получающая НМГ в дородовом периоде, должна продолжать им лечение в течение 6 недель после родов [46]. Использование варфарина и других не прямых антикоагулянтов, особенно в ранние сроки беременности, противопоказано ввиду опасности варфариновой эмбриопатии, характеризующейся нарушением роста эпифизов костей, гипоплазией носовой перегородки и неврологическими нарушениями [36,46]. Кроме изменения или прекращения приема лекарственных препаратов, которые могут нанести вред во время беременности, всем женщинам с СКВ следует принимать низкие дозы аспирина (75 мг) с 12 недели и на протяжении всей беременности, для снижения риска развития ПЭ [36].

Женщинам с тромботическим и акушерским АФС, выки-

дышем  $\geq 10$  недель беременности или с преждевременными родами морфологически нормального плода в сроке  $<34$  недели по причине преэклампсии, эклампсии или плацентарной недостаточности (включая вес плода при рождении менее 2,6 кг) в анамнезе, рекомендуется принимать аспирин (75-100 мг/сутки) и НМГ одновременно при подтверждении беременности, продолжая прием антенатально и в течение 6 недель после родов [35,38]. При тромботическом АФС следует перейти на оральную антикоагулянтную терапию после родов [35,38]. В случае проведения кесарева сечения НМГ отменяют перед операцией и возобновляют лечение в послеродовом периоде с последующим переходом на прием не прямых антикоагулянтов.

Женщины с акушерским АФС и повторным выкидышем в сроке  $<10$  недель должны принимать аспирин. Если они ранее имели выкидыши на фоне приема аспирина, следует добавлять НМГ при подтверждении беременности. Возможность прекращения приема НМГ можно рассматривать на 12 либо 20 неделе беременности, в случае, если при ультразвуковом сканировании кровотоков в маточной артерии нормальный [35,38]. В случае неэффективности стандартной терапии в период следующей беременности следует назначать внутривенное введение иммуноглобулина (ИГ) в дозе 0,4 г/кг в течение 5 суток каждый месяц беременности.

Женщин, у которых присутствуют только лабораторные признаки (аФЛ-АТ, аКЛ-АТ), следует вести как пациенток с нормальной беременностью и назначать аспирин, без НМГ [52].

*Антенатальный период: обострения СКВ во время беременности*

У пациенток с СКВ беременность считается периодом высокого риска, хотя имеются противоречивые данные относительно того, являются эти обострения более частыми в сравнении с таковыми у небеременных пациенток [42,43]. Разработаны валидные шкалы оценки активности СКВ при беременности: SLEPDAI, LAI-P, m-PGA [39].

Повышение степени активности при СКВ во время беременности обусловлено изменениями гормонального статуса – повышение уровней эстрогенов и пролактина, что приводит к доминированию Th2-лимфоцитарного ответа вместо Th1 [9,10].

Исследовательская группа LUMINA в США изучала исходы у беременных пациенток с СКВ и обнаружила значительное нарастание послеродового повреждения органов и систем [17] и в 2-4 раза более высокий уровень осложнений беременности в сравнении с эквивалентной популяцией без СКВ, что, очевидно, связано с уровнем активности болезни и степенью повреждения до беременности, общей продолжительностью заболевания и сроком беременности, а не по причине беременности. Самым мощным предиктором послеродового повреждения было увеличение активности патологического процесса до беременности [5]. У пациенток с СКВ с более высокой активностью в сочетании с низкими уровнями комплемента или с положительной dsDNA наблюдаются самые высокие показатели прерывания беременности и преждевременных родов [23].

Наличие люпус-нефрита, даже минимальной степени активности во время и накануне зачатия, приводит к более высокому риску обострения нефрита во время беременности даже у женщин с ремиссией. Исследование 113 беременностей у 81 женщины с ранее существовавшим волчаночным нефритом, проведенное Imbasciati E и соавторами показало 60% уровень обострений во время беременности или после родов [29]. У женщин с волчаночным нефритом в анамнезе,

беременности не угрожает долгосрочная почечная недостаточность, однако, чем выше исходный креатинин, тем выше риск ухудшения [22,42].

В систематическом обзоре [47] приведены данные о прогностическом действии ГХХ с точки зрения повреждения органов, обострений, ВТЭ, потери костной массы и увеличения продолжительности жизни в общей популяции пациентов с СКВ, а также возможности предотвращения роста степени активности болезни у беременных женщин. Два проспективных исследования подтвердили данные о том, что женщины, которые принимают ГХХ на протяжении всей беременности, имеют более низкие показатели активности болезни и нуждаются в более низких дозах преднизолона в конце беременности, тогда как у женщин, которые не принимали или прекратили прием ГХХ, выявлены более высокие показатели активности и рост числа обострений, что ставит перед необходимостью увеличения доз стероидов [20,34]. ГХХ также имеет преимущества для развития плода у женщин с анти-Ro/La антителами, предотвращая возникновение врожденной волчанки [31].

Отличить признаки и симптомы, связанные с беременностью или обострением СКВ весьма сложная задача, поэтому большое значение имеет участие ревматолога в оценке состояния пациента. Усталость, артралгия, выпадение волос, одышка, головные боли, ладонная эритема, отеки, анемия и тромбоцитопения представляют собой общие неоднозначные проявления [47].

Базовые анализы крови (общий, электролиты, креатинин, функция печени, серологический профиль) и анализ мочи с количественной оценкой протеинурии должны быть проанализированы перед предполагаемой беременностью и на ранних ее сроках, что позволит контролировать состояние болезни и выявить обострения. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) во время беременности обычно повышается ввиду более высокой продукции фибриногена в печени [3], следовательно, этот показатель не считается валидным маркером активности болезни во время беременности. Уровни

С3 и С4 в сыворотке крови также повышаются во время беременности ввиду увеличения продукции в печени [47], поэтому они могут оставаться в нормальном диапазоне даже у женщин с активной СКВ. Следует оценивать относительные показатели С3 и С4, а не их абсолютные цифры. Уменьшение уровня комплемента в сыворотке крови более, чем на 25% во время беременности указывает на обострение волчанки [17]. У пациентов с постоянной значительной потерей белка по причине предшествующего волчаночного нефрита протеинурия может увеличиваться во время беременности по причине изменения почечного кровотока, что не указывает на активный нефрит [17]. Это более выражено у пациентов, которые незадолго до или в начале беременности прекратили прием ИАПФ и/или блокаторов рецепторов ангиотензина II. В таблице 1 представлены основные дифференциально-диагностические признаки между обострением СКВ на фоне беременности и состоянием, имитирующим утяжеление СКВ.

Иногда возникают затруднения в установлении дифференциального диагноза инфекционного процесса и аутоиммунного обострения у пациентов с СКВ (таблица 2) [32,40]. Сепсис является одной из основных причин материнской смертности, а также смертности небеременных пациентов с СКВ. В случае возникновения каких-либо диагностических сомнений, следует использовать в/в ИГ для лечения первой линии, так как это уменьшит воспаление и не ухудшит течение инфекционного процесса (в отличие от высоких доз стероидов) [10].

Прокальцитонин (ПКТ) можно использовать для ранней дифференциации бактериальной инфекции и обострения у пациентов с СКВ с фебрильной лихорадкой. Повышенные уровни ПКТ  $\geq 0,5$  мкг/л свидетельствуют о бактериальной инфекции в контексте СКВ и о необходимости проведения тщательного поиска источников потенциальной инфекции [49]. Разработан калькулятор риска для дифференциации обострений и инфекций у пациентов с СКВ, использованы три независимые переменные, выбранные многофакторным анализом: количество дней лихорадки, титры анти-dsDNA-антител и уровни С-реактивного белка [11].

Таблица 1. Показатели обострения СКВ и физиологических изменений на фоне беременности

| Признаки                            | Изменения, связанные с беременностью                                                                                                                                                                                                                      | Обострение СКВ                                                                                                                                                    |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Изменения кожи и слизистых          | Покраснение лица<br>Пальмарная эритема<br>Потеря волос после родов                                                                                                                                                                                        | Фоточувствительная сыпь<br>Язвы в полости рта и на слизистой носа                                                                                                 |
| Изменения мышечно-суставной системы | Артралгии<br>Миалгии                                                                                                                                                                                                                                      | Воспалительные артриты                                                                                                                                            |
| Гематологические изменения          | Анемия: Hb $>11$ г/дл в первые 20 недель беременности,<br>Hb $>10.5$ г/дл после 20-ой недели гестации;<br>тромбоцитопения средней степени тяжести $>95000/\mu\text{л}$ ,<br>СОЭ 18–46 мм/ч $<20$ недели гестации;<br>30–70 мм/ч $\geq 20$ недели гестации | Лейкопения,<br>лимфоцитопения,<br>аутоиммунная гемолитическая анемия:<br>Hb $<10.5$ г/дл,<br>тяжелая тромбоцитопения $<95,000/\mu\text{л}$ .<br>Высокие цифры СОЭ |
| Поражение почек                     | Физиологическая протеинурия $< 300$ мг/сут.                                                                                                                                                                                                               | Гематурия, клеточные цилиндры,<br>Протеинурия $> 300$ мг/сут.                                                                                                     |
| Иммунологические изменения          | Высокие уровни комплемента                                                                                                                                                                                                                                | Низкие уровни комплемента $<25\%$ от нормы<br>Высокие цифры уровней анти-dsDNA                                                                                    |
| Другие                              | Слабость<br>Умеренные отеки<br>Умеренная одышка в покое                                                                                                                                                                                                   | Лихорадка $>38^\circ\text{C}$ , не связанная с приемом лекарственных препаратов и инфекцией<br>Лимфаденопатия<br>Серозиты                                         |

Таблица 2. Показатели бактериальной инфекции на фоне СКВ и аутоиммунного обострения у пациентов с СКВ

| Показатели, характерные для инфекционного процесса | Показатели, характерные для обострения СКВ                              |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| Высокий СРБ                                        | Нормальный СРБ (может быть повышен при перикардите, пневмонии, артрите) |
| Лейкоцитоз, палочкоядерный сдвиг влево             | Лейкопения                                                              |
| Положительная динамика на АБ                       | Положительная динамика на иммуносупрессанты                             |
| ИЛ-6, ИЛ-10 повышены                               | Низкие уровни комплемента (С3, С4)                                      |
| Высокие уровни прокальцитонина                     | Высокие титры dsDNA антител                                             |

СРБ- С-реактивный белок; ИЛ – интерлейкин; АБ-антибиотики

Таблица 3. Дифференциальный диагноз преэклампсии и обострения СКВ

| Критерии                                           | Преэклампсия                       | Обострение СКВ             |
|----------------------------------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| Сроки беременности                                 | Обычно после 20-30 недели гестации | В любое время беременности |
| Эритроцит-, цилиндрурия                            | Отсутствуют                        | Присутствуют               |
| Тест Кумбса                                        | отрицательный                      | Может быть положительным   |
| Антитромбоцитарные антитела                        | отрицательные                      | Могут быть положительными  |
| Комплемент (С3, С4)                                | Нормальный                         | ≥25% снижение              |
| Анти-dsDNA антитела                                | Негативные                         | Положительные              |
| Уровень мочевой кислоты в крови                    | >5.5мг/дл                          | ≤5.5 мг/дл                 |
| Суточный кальций мочи                              | <195 мг/сутки                      | ≥195 мг/сутки              |
| sFlt-1 (растворимая FMS-подобная тирозин киназа 1) | Высокий уровень                    | Неизвестно                 |
| Плацентарный фактор роста, VEGF                    | Низкий уровень                     | Неизвестно                 |

**Аntenatalная проблема:** осложнения в дородовом периоде. Риск ПЭ заметно увеличивается у женщин с СКВ, составляя более чем 23 %, что в 2-4 раза выше, чем в популяции [50]. Этот риск значительно выше у женщин с ПЭ в анамнезе, АФС, волчаночным нефритом, хронической гипертензией и почечной недостаточностью, а также у пациентов, принимающих высокие дозы оральных стероидов [6,18].

Другие независимые факторы развития пре- и эклампсии у женщин с СКВ: гипертоническая болезнь во время предыдущей беременности, ХБП, диабет (тип 1 или тип 2), возраст >40 лет, интервал между беременностями >10 лет, ИМТ >35 кг/м<sup>2</sup> при первом посещении, многоплодная беременность [18]. Одной из особых проблем у беременных с СКВ является дифференциация преэклампсии от обострения СКВ (таблица 3) [20], что достаточно сложно, так как волчаночный нефрит и ПЭ имеют общие симптомы и иногда протекают одновременно [47].

Почечная биопсия показана пациентке с СКВ во время беременности, если результат биопсии важен для принятия решения о назначении патогенетического лечения для подтверждения или опровержения диагноза и/или для определения класса волчаночного нефрита. Во время проведения биопсии следует учитывать более высокие риски кровотечения [9,10].

Новые биомаркеры, в том числе ангиогенные факторы: плацентарный фактор роста, могут помочь в диагностике преэклампсии [13], особенно в ситуации наличия гипертензии и/или нефрита у пациентов с СКВ. Показано, что с 20 до 42 недель беременности более низкая концентрация плацентарного фактора роста имеет высокую диагностическую точность для оценки наличия ПЭ, требующей незамедлительного родоразрешения в течение 14 дней [13].

**Выводы.** Женщины с СКВ, особенно с ассоциированным волчаночным нефритом или АФС, подвергаются повышенному риску неблагоприятных исходов беременности. Ведение

таких пациенток должно координироваться акушером и ревматологом, обладающими опытом ведения беременных пациенток с высоким риском. Поддержка ремиссии и лечение обострений – ведущая задача врача. Все врачи, принимающие участие в лечении СКВ, должны поддерживать диалог с пациенткой, устраняя риски, возможные осложнения, обсуждая с женщинами риски/необходимость/польза от использования лекарственных препаратов во время беременности.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Насонов ЕЛ, редактор. Системная красная волчанка. В кн.: Клинические рекомендации. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2010; 429–81.
2. Насонов ЕЛ, Решетняк ТМ, Денисов ЛН и др. Белimumab: прогресс в лечении системной красной волчанки. Научно-практическая ревматология. 2012;50(5):13–9.
3. Abbassi-Ghanavati M, Greer LG, Cunningham FG. Pregnancy and laboratory studies: a reference table for clinicians. Obstetrics & Gynecology. 2009;114(6):1326–1331.
4. Al-Maawali A, Walfisch A, Koren G. Taking angiotensin-converting enzyme inhibitors during pregnancy: is it safe? Can Fam Physician. 2012;58(1):49-51.
5. Andrade R, McGwin GJ, Alarcon G, et al. Predictors of postpartum damage accrual in systemic lupus erythematosus: data from LUMINA, a multiethnic US cohort (XXXVIII). Rheumatology (Oxford). 2006;45(11):1380–1384.
6. Andrade R, Sanchez M, Alarcon G, et al. Adverse pregnancy outcomes in women with systemic lupus erythematosus from a multiethnic US cohort: LUMINA (LVI) [corrected]. Clin Exp Rheumatol. 2008; 26(2):268–274.
7. Andreoli L, Fredi M, Nalli C, et al. Pregnancy implications for systemic lupus erythematosus and the antiphospholipid syndrome. J Autoimmun 2012;38:J197-J208.

8. Appenzeller S, Souza FH, Wagner Silva de Souza A, et al. HELLP syndrome and its relationship with antiphospholipid syndrome and antiphospholipid antibodies. *Semin Arthritis Rheum* 2011;41(3):517- 523.
9. Ateka-Barrutia O, Nelson-Piercy C. Management of rheumatologic diseases in pregnancy. *International Journal of Clinical Rheumatology*. 2012;7(5):541–558.
10. Ateka-Barrutia O, Nelson-Piercy C. Connective tissue disease in pregnancy. *Clin Med*. 2013;13(6):580–584.
11. Beca S, Rodriguez-Pinto I, Alba M, et al. Development and validation of a risk calculator to differentiate flares from infections in systemic lupus erythematosus patients with fever. *Autoimmun Rev*. 2015;14(7):586–593.
12. Bellver J, Pellicer A. Ovarian stimulation for ovulation induction and in vitro fertilization in patients with systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome. *Fertil Steril*. 2009;92(6):1803–1810.
13. Bramham K, Nelson-Piercy C. Chapter 295: Pregnancy in patients with chronic kidney disease and on dialysis. In: Turner N, Lameire N, Goldsmith D, Winearls C, Himmelfarb J, Remuzzi G, eds. *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*. 4th ed. Oxford, UK: Oxford University Press; 2016:2449–2555.
14. Buyon JP, Garabet L, Kim M, et al. Favorable prognosis in a large, prospective multicenter study of lupus pregnancies. *Arthritis Rheum*. 2011;63 (10):1707
15. Cauldwell M, Nelson-Piercy C. Maternal and fetal complications of systemic lupus erythematosus. *The Obstetrician & Gynaecologist*. 2012;14(3):167–174.
16. Chappell L, Duckworth S, Seed P, et al. Diagnostic accuracy of placental growth factor in women with suspected preeclampsia: a prospective multicenter study. *Circulation*. 2013;128(19):2121–2131.
17. Clowse M, Magder L, Witter F, Petri M. The impact of increased lupus activity on obstetric outcomes. *Arthritis Rheum*. 2005;52(2):514–521.
18. Clowse M, Jamison M, Myers E, James A. A national study of the complications of lupus in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;199(2):127. e121–e126.
19. Doria A, Tincani A, Lockshin M. Challenges of lupus pregnancies. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47(Suppl 3):iii9–12.
20. Eudy AM, Siega-Riz AM, Engel SM, et al. Effect of pregnancy on disease flares in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2018 Jun;77(6):855-860. doi: 10.1136/annrheumdis-2017-212535. Epub 2018 Feb 20.
21. Fischer-Betz R, Specker C. Pregnancy in systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2017 Jun;31(3):397-414.
22. Gladman D, Tandon A, Ibanez D, Urowitz M. The effect of lupus nephritis on pregnancy outcome and fetal and maternal complications. *J Rheumatol*. 2010;37(4):754–758.
23. Gordon C. Pregnancy and autoimmune diseases. *Best Practice and Research Clinical Rheumatology* 2004;18(4):359-379.
24. Gotestam Skorpen C, Hoeltzenbein M, Tincani A, et al. The EULAR points to consider for use of antirheumatic drugs before pregnancy, and during pregnancy and lactation. *Ann Rheum Dis*. 2016a;75(5): 795–810.
25. Götestam Skorpen C., Lydresen S., Gilboe I-M. et al Disease activity during pregnancy and the first year postpartum in women with systemic lupus erythematosus *Arthritis Care Res* 2016.
26. Hahn B, McMahon M, Wilkinson A, et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64(6):797–808.
27. Hall M, Brunskill N. Renal disease in pregnancy. *Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Medicine*. 2012;23(2):31–37.
28. Hofmeyr G, Lawrie T, Atallah A, et al. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;6:CD001059.
29. Imbasciati E, Tincani A, Gregorini G, et al. Pregnancy in women with pre-existing lupus nephritis: predictors of fetal and maternal outcome. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(2):519–525.
30. Iozza I, Angela Di Natale S, Garofalo G, et al. Update on systemic lupus erythematosus pregnancy *J Prenat Med*. 2010; 4(4): 67–73
31. Izmirly PM, Saxena A, Kim MY, et al. Maternal and fetal factors associated with mortality and morbidity in a multi-racial/ethnic registry of anti-SSA/Ro-associated cardiac neonatal lupus. *Circulation*. 2011 Nov 1;124(18):1927-35.
32. Jung JY, Suh C. Infection in systemic lupus erythematosus, similarities, and differences with lupus flare. *The Korean Journal of Internal Medicine*. 2011;732(3):429-438
33. Lateef A, Petri M. Managing lupus patients during pregnancy *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2013 Jun; 27(3): 10.1016/j.berh.2013.07.005.
34. Levy R, Vilela V, Cataldo M, et al. Hydroxychloroquine (HCQ) in lupus pregnancy: double-blind and placebo-controlled study. *Lupus*. 2001;10(6): 401–404
35. Myers B, Pavord S. Review Diagnosis and management of antiphospholipid syndrome in pregnancy *The Obstetrician & Gynaecologist* 10.1576/toag.13.1.15.27636 <http://onlinetog.org> 2011;13:15–21
36. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Hypertension in pregnancy: diagnosis and management. [CG107]. NICE clinical guideline 107. Manchester: National Institute for Health and Care Excellence; 2011.
37. Nasonov E, Soloviev S, Davidson JE, Lila A, et al. The prevalence and incidence of Systemic Lupus Erythematosus (SLE) in selected cities from three Commonwealth of Independent States countries (the Russian Federation, Ukraine and Kazakhstan). *Lupus*. 2014 Feb;23(2):213–9.
38. Nelson-Piercy C. *Handbook of Obstetric Medicine*. 5th ed. Florida, USA: CRC Press; 2015.
39. Olesińska M, Wiesik-Szewczyk E, Chwalińska-Sadwska H. Evaluation of systemic lupus erythematosus activity during pregnancy. *Pol Arch Med Wewn*. 2007 Jul;117(7):312-6.
40. Ospina FE, Echeverri A, Zambrano D, et al. Distinguishing infections vs flares in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2017 Apr 1;56(suppl\_1):i46-i54. doi: 10.1093/rheumatology/kew340.
41. Ostenson M, Andreoli L, Tincani A. Pregnancy related problems in rheumatic diseases, including the antiphospholipid syndrome. *EULAR On-line Course on Rheumatic Diseases 2007-2013*, Module No. 19(1-47). <http://www.eular-onlinecourse.org> (accessed 13 August 2014).
42. Petri M. Epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2002;16(5):847–858.
43. Petri M. The Hopkins Lupus Pregnancy Center: ten key issues in management. *Rheum Dis Clin North Am*. 2007;33(2):227–235, v. DOI: 10.1016/j.rdc.2007.01.003
44. Rahman A, Isenberg D. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2008;358(9):929–939.
45. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG). Healthy eating and vitamin supplements in pregnancy. Patient information leaflet. London: RCOG; 2014.

46. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG). Reducing the risk of venous thromboembolism during pregnancy and the puerperium. Green-top Guideline No. 37a London: RCOG; 2015.
47. Ruiz-Irastorza G, Khamashta M. Lupus and pregnancy: integrating clues from the bench and bedside. *Eur J Clin Invest*. 2011;41(6):672–678.
48. Scorpen GS, Hoeltzenbein M, Tincani A, et al. The EULAR points to consider for use of antirheumatic drugs before pregnancy, and during pregnancy and lactation. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(5): 795–810.
49. Serio I, Arnaud L, Mathian A, et al. Can procalcitonin be used to distinguish between disease flare and infection in patients with systemic lupus erythematosus: a systematic literature review. *Clin Rheumatol*. 2014 Sep;33(9):1209-15.
50. Simard JF, Arkema EV, Nguyen C, et al. Early-onset Pre-eclampsia in Lupus Pregnancy. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2017 Jan;31(1):29-36.
51. Singh A, Chowdhary V. Pregnancy-related issues in women with systemic lupus erythematosus. *Int J Rheum Dis*. 2015;18(2):172–181. doi: 10.1111/1756-185X.12524.
52. Soh M, Pasupathy D, Gray G, Nelson-Piercy C. Persistent antiphospholipid antibodies do not contribute to adverse pregnancy outcomes. *Rheumatology (Oxford)*. 2013;52(9):1642–1647.

## SUMMARY

### MANAGEMENT OF PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS IN THE PREPREGNANCY AND ANTENATAL PERIODS: CHALLENGES AND SOLUTIONS (REVIEW)

**Khaniukov O., Yehudina Ye., Kalashnykova O., Sapozhnychenko L.**

*SE “Dnepropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine”*

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a rare, multi-systemic chronic autoimmune disease characterized by hyperproduction of organ-specific autoantibodies to various components of the cell nucleus with the development of immuno-inflammatory damage of tissues and internal organs, predominantly affecting women, particularly those of childbearing age. Hence future pregnancy is one of the key issues of the modern rheumatology. The management of the SLE patient should include an effective risk assessment of the future pregnancy and stratification followed by an individualized antenatal care program. Timely detection of exacerbations and complications (medical and/or obstetric) is the leading prerogative of pregnancy management in SLE patients with the involvement of relevant practitioners. The purpose of our study was a review of literature related to the patients with SLE management by rheumatologists, obstetrician-gynecologists in prepregnancy and antenatal periods. The systematization of approaches to the management of SLE patients during these periods has been carried out, allowing practitioners to effectively assign appropriate diagnostic manipulations and timely safe treatment.

**Keywords:** systemic lupus erythematosus, pregnancy, medication, management, complications.

## РЕЗЮМЕ

### ВЕДЕНИЕ ПАЦИЕНТОК С СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ В ПРЕГЕСТАЦИОННЫЙ И АНТЕНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОДЫ: ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЯ (ОБЗОР)

**Ханюков А.А., Егудина Е.Д., Калашникова О.С., Сапожниченко Л.В.**

*ГУ «Днепропетровская медицинская академия» МОЗ Украины, Украина*

Системная красная волчанка (СКВ) является редким, мультисистемным хроническим аутоиммунным заболеванием, характеризуется гиперпродукцией органоспецифических аутоантител к различным компонентам клеточного ядра с развитием иммуновоспалительного повреждения тканей и внутренних органов, поражает чаще женщин детородного возраста, следовательно, будущая беременность является одним из ключевых вопросов современной ревматологии. Ведение пациентки с СКВ должно включать оценку вероятности будущей беременности, стратификацию риска с последующей разработкой индивидуальной программы антенатального ведения. Своевременное выявление обострений и осложнений (медицинских и/или акушерских) является ведущей прерогативой ведения беременности у пациенток с СКВ с привлечением соответствующих смежных специалистов-практиков. Целью исследования явился анализ ретроспективной и текущей научной литературы о лечении женщин детородного возраста, больных системной красной волчанкой и разработка тактики их ведения. Проведены анализ и систематизация подходов к ведению пациенток с СКВ в указанные периоды, позволяющие практикующим врачам эффективно назначать соответствующие диагностические манипуляции и своевременное безопасное лечение.

## რეზიუმე

სისტემური წითელი მგლურას მქონე პაციენტების მართვა პრეგესტაციურ და ანტენატალურ პერიოდებში: პრობლემები და მათი გადაწყვეტა (მიმოხილვა)

ა. ხანიუკოვი, ე. ეგუდინა, ო. კალაშნიკოვა, ლ. საპოჟნიჩენკო

დნეპროპეტროვსკის სამედიცინო აკადემია, დნეპრი, უკრაინა

სისტემური წითელი მგლურა იშვიათი, მულტისისტემური ქრონიკული აუტოიმუნური დაავადებაა, რომელიც ხასიათდება ორგანოსპეციფიკური აუტოანტისხეულების ჰიპერპროდუქციით უჯრედის ბირთვის სხვადასხვა კომპონენტის მიმართ, ქსოვილებისა და შინაგანი ორგანოების იმუნონათებითი დაზიანების განვითარებით უმეტესწილად რეპროდუქციული ასაკის ქალებში; შესაბამისად, ამ ასპექტში მომავალი ორსულობა თანამედროვე რეპმატოლოგიის ერთ-ერთი საკვანძო საკითხია.

სისტემური წითელი მგლურას მქონე პაციენტების მართვა უნდა მოიცავდეს მომავალი ორსულობის ალბათობის შეფასებას, რისკის სტრატეგიკაციას მომავალში ანტენატალური მართვის ინდივიდუური

პროგრამის შემუშავებით. გამწვავებების და გართულებების (სამედიცინო და/ან სამეანო) დროული გამოვლენა, მომიჯნავე პრაქტიკოსი-სპეციალისტების ხართვით, სისტემური წითელი მგლურას მქონე პაციენტებში ორსულობის მართვის წამევან პრეროგატივას წარმოადგენს. წინამდებარე კვლევის მიზანს შეადგენდა სამეცნიერო ლიტერატურის ანალიზი რეკომენდებულ და მეან - გინეკოლოგთა მიერ

სისტემური წითელი მგლურას მქონე პაციენტების მართვის შესახებ პრეგნატაციურ და ანტენატალურ პერიოდებში. სტატიაში გაანალიზებულია მიდგომები სისტემური წითელი მგლურას მქონე პაციენტების მართვის შესახებ აღნიშნულ პერიოდებში, რაც პრაქტიკოს ექიმებს მისცემს შესაბამისი სადიაგნოსტიკო მანიპულაციების და დროული უსაფრთხო მკურნალობის ეფექტურად დანიშვნის საშუალებას.

## АНАЛИЗ КОГНИТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ ПРИ РАЗНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМАХ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Симонидзе В.Г., Самушия О.С., Гоксадзе М.Д.

*Государственный университет Акакия Церетели, факультет здравоохранения, Кутаиси;  
Тбилисский государственный медицинский университет, Грузия*

Достигнутый в последнее десятилетие экономический и социальный прогресс обусловил рост населения среднего возраста, что привело к увеличению количества заболеваний, связанных с возрастом. Среди них значительное место занимают дегенеративные болезни. К дегенеративным процессам относится целый ряд эндогенно-органических заболеваний, проявлением которых являются слабоумие, нарушения поведения и движения. Эти пациенты нуждаются не только в лечении, но и присмотре и уходе, что является медицинской и социальной проблемой. К дегенеративным заболеваниям относятся Альцгеймер и Паркинсон [2,3,6].

Болезнь Паркинсона - хроническое, прогрессирующее заболевание головного мозга, преимущественно характеризующееся дегенерацией дофаминергических нейронов черной субстанции с образованием в них особых внутриклеточных включений (тельца Леви). Клиническая картина характеризуется сочетанием олиго-брадикинезии с ригидностью, тремором покоя и постуральной неустойчивостью, наряду с расстройствами в ментальной сфере [3,4]. Своим названием болезнь обязана французскому неврологу Жану Шарко, который предложил назвать ее в честь британского врача и автора труда «Эссе о дрожательном параличе» (An Essay on the Shaking Palsy) Джеймса Паркинсона [8].

Нарушение обмена дофамина происходит, прежде всего, в черной субстанции и в других отделах центральной нервной системы [10,11]. Недостаточная выработка дофамина ведет к активирующему влиянию базальных ганглиев на кору головного мозга. Помимо классических двигательных нарушений для болезни Паркинсона характерен широкий спектр немоторных проявлений, включающий психические, вегетативные, сенсорные расстройства, нарушения сна и бодрствования, которые отражают вовлечение других структур центральной нервной системы. Ядром психических расстройств служат когнитивные нарушения, которые выявляются начиная с ранней стадии заболевания и первоначально бывают легкими и умеренными, а по мере прогрессирования заболевания имеют тенденцию к нарастанию и на поздней стадии достигают степени деменции, почти у 80% пациентов [5,12-14]. Заболевание встречается повсеместно. Его частота колеблется от 60 до 140 человек на 100 тысяч населения, число больных значительно увеличивается среди представителей старшей возрастной группы. Удельный вес лиц с болезнью Паркинсона в возрастной

группе старше 60 лет составляет 1%, а старше 85 лет - 2,6-4%. Чаще всего первые симптомы заболевания проявляются в 55-65 лет. Однако в ряде случаев болезнь развивается и в возрасте до 40 (болезнь Паркинсона с ранним началом) или до 20 лет (ювенальная форма заболевания) [4,9]. Мужчины болеют несколько чаще, чем женщины. Существенных расовых различий в структуре заболеваемости не выявлено [3].

Целью исследования явилась оценка динамики когнитивных нарушений у больных болезнью Паркинсона в течение первых 2 лет заболевания, определение их особенностей в зависимости от различных клинических форм болезни.

**Материал и методы.** Наблюдались 48 больных, из них 30 мужчин и 18 женщин, средний возраст -  $65,6 \pm 3,7$  лет. Длительность заболевания колебалась в пределах от 2 до 8 лет и, в среднем, составила  $5,9 \pm 4,2$  лет, средний возраст к началу заболевания составил  $58,4 \pm 4,3$  лет.

Пациенты по клиническим формам разделены на три группы: I группа - ригидно-брадикинетическая форма ( $n=13$ ); II группа - дрожательно-ригидная форма ( $n=24$ ); III группа - дрожательная форма ( $n=11$ ).

Диагноз устанавливался в соответствии с критериями, разработанными Hughes A.L. и соавт. [7]. Пациентам проводились КТ или МРТ исследования. Ментальная сфера определялась посредством психометрической шкалы, которая апробирована в практической неврологии, в частности с использованием теста - информация-память-концентрация (Blessed information-Memory-Concentration - BIMC) [1], включающего 27 вопросов. Ответы на первые 24 вопроса оцениваются каждый по 1 баллу, 25 и 26 вопросы - по 2 балла, а 27 вопрос - 5 баллами. Максимальный итог 33 балла. 0-4 балла соответствуют норме, 5-8 - легкой деменции, 9-19 - умеренно выраженной деменции, а 20-33 - тяжелой деменции.

Степень выраженности расстройств движений установили по шкале Хен и Яра [6], согласно которой выделяют 5 стадий болезни: I - Односторонняя симптоматика (гемипаркинсонизм); II - Двусторонняя симптоматика без постуральной неустойчивости; III - Двусторонняя симптоматика с постуральной неустойчивостью; IV - Существенное ограничение двигательной активности, но возможно самостоятельное передвижение; V - Большой прикован к постели.

В исследование не включены пациенты, у которых в начале исследования отмечались признаки 4 и 5 стадии нарушения движения, с тяжелой формой деменции и пациенты, у которых

Таблица. Показатели теста ВМС на разных этапах исследования  
в зависимости от клинических форм болезни Паркинсона

| Группы     | В начале наблюдения | Спустя год | Спустя 2 года |
|------------|---------------------|------------|---------------|
| I (n=13)   | 12.97±3.0           | 13.42±2.7  | 14.86±3.1     |
| II (n=24)  | 14.18±2.73          | 15.68±2.97 | 16.12±3.3     |
| III (n=11) | 12.44±2.69          | 13.19±2.81 | 14.45±3.04    |

по результатам КТ или МРТ исследований установлены признаки повреждения кровеносных сосудов головного мозга.

Цифровые данные обработаны вариационно-статистическим методом с использованием t-критерия Стьюдента. Корреляционный анализ выполнен методом Spearman's rank correlation.

**Результаты и их обсуждение.** Спустя 2 года наблюдения по шкале Хен и Яра отмечалось усугубление тяжести заболевания на 1 ступень в 17 случаях, на 2 ступени - в 10 случаях. Ментальная сфера пациентов изучена посредством психомоторной шкалы в начале исследования и спустя 1 и 2 года. На начальном этапе в 15 случаях дефицит ментальной сферы не зафиксирован. Спустя год дефицит ментальной сферы отмечен у одного (2,08%), а спустя два года у 3 (6,25%) пациентов. Из остальных 33 пациентов выявлены нарушения ментальных показателей различной степени, из них в 20 случаях - легкая деменция, в 13 - умеренная, тяжелая деменция не отмечена. В 4 (8,33%) случаях спустя год изменилась степень деменции и показатели перераспределились: 18 - легкая деменция, 15 - умеренная, 1 - тяжелая деменция. Спустя два года в 10 (20,83%) случаях произошло изменение степени деменции. Показатели ментальной сферы перераспределены следующим образом: 15 - легкая деменция, 19 - умеренная, 2 случая - тяжелая деменция.

Показатели теста информации-памяти-концентрации (ВМС) у пациентов исследованных групп на разных этапах наблюдения представлены в таблице.

Дефицит средних показателей ментальной сферы пациентов I группы по шкале ВМС спустя год увеличился в пределах от 12.97±3.0 до 13.42±2.7 баллов, а спустя два года - до 14.86±3.1 баллов (таблица).

Дефицит средних показателей ментальной сферы пациентов II группы по шкале ВМС спустя год незначительно увеличился в пределах от 14.18±2.73 до 15.68±2.97 баллов, а спустя два года - до 16.12±3.3 баллов (таблица).

Дефицит средних показателей ментальной сферы пациентов III группы по шкале ВМС спустя год почти не изменился (12.44±2.69 до 13.19±2.81 баллов), а спустя два года составил 14.45±3.04 баллов (таблица).

Из таблицы следует, что выраженной корреляции между дефицитом показателей ментальной сферы и клиническими формами болезни не обнаружено ( $p < 0,5$ ).

Результаты проведенного исследования показали, что при болезни Паркинсона в 75%, наряду с моторными нарушениями, происходит расстройство ментальной сферы. Клинически значимое ухудшение когнитивных функций в течение 2 лет отмечается у больных всех трех групп.

## ЛИТЕРАТУРА

1. მ. ჯანგელიძე. // პიველადი დემენციების სადიაგნოსტიკო და ფსიქომეტრიული კრიტერიუმები. // მეტოდური წერილი. 1995წ. თბილისი. 44გვ;
2. Baram Y., Aharon-Peretz J., Badarny S., Susel Z., Schlesinger I. // Closed-loop auditory feedback for the improvement of gait

in patients with Parkinson's disease. // Journal of the Neurological Sciences. 2016.363. P.104–106.

3. de Lau L. M., Breteler M. M. // Epidemiology of Parkinson's disease //The Lancet Neurology 2006. 5.(6) P.525—535
4. de Lau L. M., Verbaan D., van Rooden S. M. et al. // Relation of clinical subtypes in Parkinson's disease with survival. S. M. // Journal of Movement Disorders. 2014. 29(1). P. 150–151.
5. Fang Ba , Mona Obaid , Marguerite Wieler , Richard Camicioli.W.R. Wayne Martin . Parkinson Disease: The Relationship Between Non-motor Symptoms and Motor Phenotype. Canadian Journal of neurological.//2016. 43(2) P. 261-267.
6. Hoehn M. M., Yahr M. D. //Parkinsonism: onset, progression and mortality //Neurology. 1967. 17(5). P.427—442.
7. Hughes AL, Ben-Shlomo Y, Daniel SE, Lees AJ. // What features improve the accuracy of clinical diagnosis in Parkinson's disease, a clinicopathologic study. // J Neurology 1992 Jul, 42 (7) P.1142-46.
8. Parkinson J. // An essay on the shaking palsy. // London, 1817. P.1-66. <https://archive.org/stream/b28995776>
9. Rocha PA, Porfirio GM, Ferraz HB, Trevisani VFM. // Effects of external cues on gait parameters of Parkinson's disease patients: A systematic review. //Clin Neurol Neurosurg. 2014;Sep.124. P. 127-134.
10. Гусев Е. И., Коновалов А. Н., Бурд Г. С. // Болезнь Паркинсона // Неврология и нейрохирургия. — М. Медицина. 656 с г.2000. С. 586-591.
- 11.Кохан В.С., Болкунов А.В., Устюгов А.А., Ванькин Г.И., Шелковникова Т.А., Стрекалова Т.В., Редкозубова О.М., Бухман В.Л., Нинкина Н.Н., Бачурин С.О. //Направленная инактивация гена, кодирующего гаммасинуклеин, влияет на уровень тревожности и исследовательской активности мышей // Журнал высшей нервной деятельности. 2011. 61(1). С. 85-93.
12. Мазуренко Е.В., Пономарев В.В., Сакович Р.А. // Когнитивные функции при болезни паркинсона. // Ж. Медицинские новости. 2014. (1). с. 6-11.
13. Скоромец А. А., Тимофеева.//Когнитивные функции при болезни паркинсона и паркинсонизме, их коррекция прононом. // Ж. Эффективная фармакотерапия.гю 2014(17). с. 6-14.
14. Слободин Т.Н., Старовойтова Г.А. Немоторные нарушения при болезни паркинсона в аспекте клинических потребностей. // Ж. Нейро NEWS: психоневрология и нейропсихиатрия. 2016 8 (82) с. 29-34.

## SUMMARY

### ANALYSIS OF COGNITIVE DISORDERS WITH DIFFERENT CLINICAL FORMS OF PARKINSON'S DISEASE

Simonidze V. Samushia O. Gogsadze M.

Akaki Tsereteli state medical institute, Kutaisi; Tbilisi State Medical University, Georgia

The purpose of this study is to assess the dynamics of cognitive impairment in patients with Parkinson's disease during the first 2 years of the disease, to study the peculiarities of cognitive

impairment in patients with Parkinson's disease with different clinical forms. The study included 54 patients, 30 men and 18 women. After a year, 51 patients were re-admitted, in 2 years - 48 patients (6 patients were not included in the end). Average age at the beginning of the study was  $65.6 \pm 3.7$  years. The duration of the disease ranged from 2 to 8 years and averaged  $5.9 \pm 4.2$  years, the mean age at the onset of the disease was  $58.4 \pm 4.3$  years. The digital data was processed by a variational-statistical method. Student's t-test was used. Correlation analysis is performed by the method of Spearman's rank correlation.

The diagnosis was established according to the criteria developed by Hughes et al. All patients underwent CT or MRI examination. Patients in clinical forms were divided into 3 groups: I group - rigid-bradykinetic form - 13 patients; Group II - the mixed (tremor-rigid) form 24 patient; Group III - the trembling form - 11 patients. The mental sphere of the patients was studied on a psychomotor scale at the beginning of the study, after 1 and 2 years, the Blessed information-Memory-Concentration (BIMC) test was used. Studies have shown that with Parkinson's disease, along with motor impairments, mental sphere disorders occur, although not in all cases. Approximately in 25% of cases mental disorders are not detected. Clinically significant worsening of cognitive functions during 2 years is observed in 20.83% of patients. A vivid correlation between the mental deficit and clinical forms of the disease was not found ( $p < 0.5$ ).

**Keywords:** Parkinson's disease, cognitive impairment cognitive impairment.

## РЕЗЮМЕ

### АНАЛИЗ КОГНИТИВНЫХ РАССТРОЙСТВ ПРИ РАЗНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ФОРМАХ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Симонидзе В.Г., Самушия О.С., Гоксадзе М.Д.

*Государственный университет Акакия Церетели, факультет здравоохранения, Кутаиси; Тбилисский государственный медицинский университет, Грузия*

Целью исследования явилась оценка динамики когнитивных нарушений у пациентов с различными клиническими формами болезни Паркинсона в течение первых 2 лет

Исследованы 48 пациентов (30 мужчин и 18 женщин). Средний возраст больных при выявлении первых симптомов заболевания составил  $58,4 \pm 4,3$  года. Длительность заболевания колебалась в пределах от 2 до 8 лет и в среднем составила  $5,9 \pm 4,2$  лет. Средний возраст пациентов к началу обследования составил  $65,6 \pm 3,7$  лет. Диагноз был поставлен в соответствии с критериями, разработанными А. Hughes. Всем пациентам проведено КТ или МРТ исследования головного мозга.

Степень выраженности расстройств движений установили согласно шкале Хен и Яра. Спустя 2 года по шкале Хен и Яра увеличение тяжести заболевания на 1 ступень отмечалось в 17 случаях, на 2 ступени - в 10. Ментальная сфера исследовалась по тесту информация-память-концентрация (BIMC) в начале исследования, спустя 1 и 2 года. В зависимости от клинических форм заболевания пациенты раз-

делены на 3 группы: I группу составили 13 пациентов с ригидно-брадикинетической формой, II группу - 24 пациента с дрожательно-регидной формой, III группу - 11 пациентов с дрожательной формой болезни Паркинсона.

Данные обработаны вариационно-статистическим методом с применением t-критерия Стьюдента, корреляционный анализ - методом Spearman's rank correlation.

Анализ полученных данных показал, что при болезни Паркинсона, наряду с некоторыми нарушениями, у 27% пациентов наблюдаются клинически значимые ухудшения когнитивных функций. Примерно в 25% случаев когнитивные расстройства не выявлены. Корреляция между когнитивными дисфункциями и клиническими формами болезни Паркинсона не выявлена.

## რეზიუმე

კოგნიტური დარღვევების ანალიზი პარკინსონის დაავადების სხვადასხვა კლინიკური ფორმების დროს

ვ. სიმონიძე, ო. სამუშია, მ. გოქსაძე

აკ. წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ჯანდაცვის ფაკულტეტი; თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა პარკინსონის დაავადების დროს პაციენტებში კოგნიტური ფუნქციების გამოკვლევა და შეფასება 2 წლის განმავლობაში, კოგნიტური დისფუნქციის თავისებურებების გამოვლენა დაავადების სხვადასხვა კლინიკური ფორმებთან მიმართებაში.

კვლევაში ჩართული იყო 48 პაციენტი (30 მამაკაცი, 18 ქალი). კვლევის დაწყებისას პაციენტთა საშუალო ასაკი შეადგენდა  $65,6 \pm 3,7$  წელს, დაავადების ხანგრძლივობა 2-დან 8 წელს, საშუალოდ  $5,9 \pm 4,2$  წელს, დაავადების დაწყებისას პაციენტთა საშუალო ასაკი იყო  $58,4 \pm 4,3$  წელი. ციფრული მონაცემები დამუშავდა ვარიაციულ-სტატისტიკური მეთოდით. გამოყენებული იყო სტიუდენტის t-კრიტერიუმი. კორელაციის ანალიზი შესრულდა Spearman's rank correlation-ის მეთოდით. დიაგნოზი ემყარებოდა ბრიტანელი ექიმის A. Hughes-ის მიერ შემუშავებულ კრიტერიუმებს. ყველა პაციენტს ჩატარდა თავის ტვინის კტ ან მრტ კვლევა. კლინიკურ ფორმების მიხედვით პაციენტები დაიყო 3 ჯგუფად: I ჯგუფი - 13 პაციენტი პარკინსონის ოლიგო-ბრადიკინეზური ფორმით; II ჯგუფი - 24 პაციენტი დაავადების ტრემორ-რიგიდული ფორმით და III ჯგუფი - 11 პაციენტი პარკინსონის დაავადების ტრემორული ფორმით. მენტალური სფეროს კვლევა წარმოებდა ინფორმაციის-მეხსიერების-კონცენტრაციის (BIMC) ტესტის მიხედვით კვლევის საწყის ეტაპზე, კვლევის დაწყებიდან 1 და 2 წლის შემდეგ. კვლევის შედეგების მიხედვით პარკინსონის დაავადების დროს კვლევის პერიოდში 25%-ში მენტალური დარღვევები არ დარეგისტრირდა. 2 წლის განმავლობაში კოგნიტური დისფუნქციის მნიშვნელოვანი გაუარესება გამოვლინდა დაავადებულთა 20.83%-ში. კოგნიტურ დისფუნქციასა და დაავადების კლინიკურ ფორმებს შორის სარწმუნო კორელაცია არ გამოვლინდა ( $p < 0.5$ ).

## THE PREVALENCE OF HIRSUTISM AND ETHNICAL PECULIARITIES OF HAIR DISTRIBUTION IN GEORGIAN ADOLESCENT POPULATION IN TBILISI

<sup>1</sup>Chachia L., <sup>2</sup>Tkeshelashvili B., <sup>2</sup>Gagua T., <sup>2</sup>Tananashvili D., <sup>2</sup>Gagua D.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University; <sup>2</sup>David Gagua Clinics Ltd, Tbilisi, Georgia

The definition of hirsutism (HI) is the presence of terminal coarse hairs in females in a male-like distribution. Hirsutism affects between 5-10% of all women across all ethnic backgrounds [2]. Hirsutism has important psychosocial impact on the young females. Hyperandrogenism, ovarian, adrenal and other gland (pituitary, thyroid gland) factors are the main causes. HI may be part of a rare metabolic syndrome, drug induced, or just idiopathic. Idiopathic hirsutism can be considered less “pathologic” as it is not associated with menstrual dysfunction, anovulation and hormonal imbalances. The pathogenesis of HI still remains unclear, although there are some theories: increased activity of peripheral 5- $\alpha$  reductase enzyme [3], androgen receptor gene polymorphism [18], and increased sensitivity of hair follicles to androgens [16]. Nevertheless, the hair distribution is not less manifested. Polycystic ovarian syndrome (PCOS) and ovarian tumors are considered as the ovarian causes for hyperandrogenism. PCOS, also referred to as Stein–Leventhal syndrome or hyperandrogenic anovulation (HA), is one of the most common causes of HI among reproductive-age women. Despite the several diagnostic criteria, screening criteria are still considered a dilemma. Adrenal causes include androgen-producing tumors, and congenital adrenal hyperplasia (CAH), mainly due to 21-hydroxylase deficiency and Cushing’s syndrome.

Based on literature review, there are number of studies around the world that investigated the prevalence of PCOS and other forms of HI. However, there is no established prevalence of PCOS for distinct ethnic groups. When we talk about the prevalence of HI and its forms, literature data does not provide a clear and contemporaneous method for screening at the population level. The reason is that studies are conducted in different age groups, ethnic and geographic regions, with different professional or social preferences. The wide ranges of the prevalence of these disorders can be further explained by differences in the recruitment process of the study population, controversy regarding its diagnostic criteria and the method used to define each criteria. Potentially outcome bias could be the type of participants in each epidemiological study [18].

Due to the several important factors different variation of criteria could be chosen for diagnosing PCOS [23], like the hair distribution characteristics [21], phenotypic expression [23] and hormonal-metabolic markers [22]. Ethnic and racial variations strongly affect the clinical presentation of PCOS and HI [5,7,13,17].

Hirsutism is considered to have significant public health impact, has negative health consequences and is associated with reproductive, endocrine-metabolic disorders, and cardiovascular diseases. Despite this fact the determination of hirsutism prevalence is limited and unclear. Most of researchers deal with the prevalence of PCOS, CAH and IH. The studies are conducted on all reproductive-age women (18–45 yr of age) [11]. There are no studies in adolescent population - a period that is considered as an onset of hirsutism. There is no data concerning the prevalence and characteristics of hirsutism in Georgian adolescent population.

Objective - the purpose of this study is evaluation of the Hirsutism prevalence and ethnical peculiarities of the hair distribution in Georgian female adolescents of Tbilisi, Georgia.

**Material and methods.** The study was conducted with two-stage cluster sampling. The primary unit of random selection was in the capital of Georgia, Tbilisi. Selection of clusters used probability proportional to size (PPS) sampling, based on statistic data collected in 2008. With cluster sampling was first selected the schools and universities to be included. Enrolment data in these schools was obtained from the Ministry of Education and Science of Georgia. The second stage consisted of systematic equal probability sampling. Adolescents eligible to participate in the survey were randomly selected from schools. Before collecting data the informed consent was obtained from respondents. For this purpose, a specially designed form was given to respondents, so they were informed what the study was about and to give informed consent before any data collection could be done. Since the study involved disclosure of intimate knowledge as responded to questions, participants were assured of confidentiality and anonymity.

A letter was earlier sent to heads of all selected schools for their consent to undertake the survey. The purpose and details of the survey were discussed with the school authorities.

The teachers and school personnel were not present during administration of the questionnaire to encourage the students to provide their own answers without any influence.

Out of randomly selected 2890 adolescents, 2592 agreed to participate.

The mean  $\pm$  SD of the age of study group population was  $18.24 \pm 1.9$  years.

So 2592 women, aged 14-20 years, were randomly selected from reproductive-aged adolescents of Tbilisi, Georgia. A special questionnaire including demographic data and reproductive history, menstrual status, marital status, hyperandrogenism symptoms, acne, hair loss, galactorrhea, family history of the irregular menstrual cycle and hirsutism (on 5 locations: face, chest, abdomen, back, and extremities) was completed by the participant. Anthropometric measurements, including waist, height, weight and body mass index (BMI) were evaluated.

For clinical assessment 2 groups were selected: group 1 – 117 adolescents with hirsutism and 178 without it.

Transabdominal ultrasonography was performed for all subjects during the days 3–9 of the menstrual cycle. Those women with either hirsutism or menstrual dysfunction were assessed for biochemical hyperandrogenemia; whereas those participants with hirsutism per se were further assessed for subclinical menstrual dysfunction.

For clinical evaluation of hirsutism the modified Ferriman-Gallwey scoring system was used [10]. The method scores 9 of the 11 body areas (upper lip, chin, chest, upper and lower back, upper and lower abdomen, arm, forearm, thigh and lower leg) originally proposed by Ferriman DM and Gallwey JD (1961). For visually onset and progression of hair growth subjective method- self report was used.

Data analysis was performed using the SPSS 15.0 PC package (SPSS Inc., Chicago, IL).

The study protocol was approved by the ethics review board of Tbilisi State Medical University. The board has approved the study protocol and informed consent obtained from all subjects and their parents.

**Results and their discussion.** Self-estimation based on questionnaire reveals the prevalence of hirsutism - 26.62% (690 out of 2592). The data is presented in Fig. 1.

Two groups based on the self-estimation were revealed. Data is presented in Table 1.

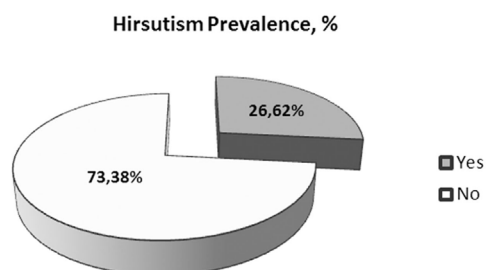


Fig. 1. Prevalence of hirsutism by self-estimation

The study demonstrated that self-report of hirsutism was higher than clinically diagnosed 26.2% vs 20.61% (Fig. 2).

The results on the location of the hair were of special interest too. Distribution of Patients (n=690) with self-estimated Hirsutism by Hair Location is presented in Table 2.

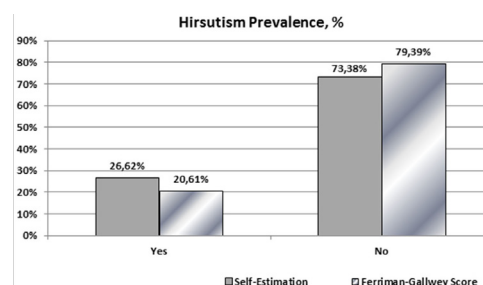


Fig. 2. Comparison of hirsutism prevalence by self-estimation and clinical assessment

Table 1. Examination of Adolescents with Hirsutism documented by Self-estimation Test

| Disease                   |                |                                                     |                |                  |             |
|---------------------------|----------------|-----------------------------------------------------|----------------|------------------|-------------|
| Test                      | Present        | n                                                   | Absent         | n                | Total       |
| Positive                  | True Positive  | a = 45                                              | False Positive | c = 72           | a + c = 117 |
| Negative                  | False Negative | b = 15                                              | True Negative  | d = 163          | b + d = 178 |
| Total                     |                | a + b = 60                                          |                | c + d = 239      |             |
| Statistic                 |                | Formula                                             | Value          | 95% CI           |             |
| Sensitivity               |                | $\frac{a}{a+b}$                                     | 75.41%         | 62.71% to 85.54% |             |
| Specificity               |                | $\frac{d}{c+d}$                                     | 69.36 %        | 63.04% to 75.19% |             |
| Positive Likelihood Ratio |                | $\frac{\text{Sensitivity}}{1 - \text{Specificity}}$ | 2.46           | 1.94 to 3.13     |             |
| Negative Likelihood Ratio |                | $\frac{1 - \text{Sensitivity}}{\text{Specificity}}$ | 0.35           | 0.23 to 0.55     |             |
| Disease prevalence        |                | $\frac{a+b}{a+b+c+d}$                               | 20.61%         | 16.15% to 25.67% |             |
| Positive Predictive Value |                | $\frac{a}{a+c}$                                     | 38.98%         | 33.45% to 44.82% |             |
| Negative Predictive Value |                | $\frac{d}{b+d}$                                     | 91.57 %        | 87.41% to 94.44% |             |
| Accuracy                  |                | $\frac{a+d}{a+b+c+d}$                               | 70.61%         | 65.06% to 75.74% |             |

Table 2. Distribution of Patients (n=690) with self-estimated Hirsutism by Hair Location

| # | Location    | n= (%)       | P     |
|---|-------------|--------------|-------|
| 1 | Face        | 228 (33,04%) | <0.05 |
| 2 | Chest       | 90 (13,04%)  |       |
| 3 | Abdomen     | 272 (39,42%) |       |
| 4 | Extremities | 46 (6,67%)   |       |
| 5 | Back        | 52 (7,67%)   |       |

Table 3. Distribution of Patients (n=60) with Hirsutism by Ferriman-Gallwey Score

| #  | Location      | n (%)       |
|----|---------------|-------------|
| 1  | Upper lip     | 46 (76.67%) |
| 2  | Chin          | 34 (56.67%) |
| 3  | Chest         | 41 (68.33%) |
| 4  | Back          | 12 (20.00%) |
| 5  | Lower back    | 29 (48.33%) |
| 6  | Upper Abdomen | 23 (38.33%) |
| 7  | Lower Abdomen | 47 (78.33%) |
| 8  | Arm           | 12 (20.00%) |
| 9  | Hip           | 13 (21.67%) |
| 10 | Forearm       | 20 (33.33%) |
| 11 | Cheek         | 25 (41.67%) |

As it is revealed the most prevalent hair distribution was observed on the face and abdomen.

Mean value of Ferriman-Gallwey Score in patients with hirsutism (Table 1, total a+b, n=60) was  $12.87 \pm 5.94$ . The Distribution of Patients with Hirsutism by Ferriman-Gallwey Score is presented in Table 3. As it shown hair distribution is statistically more observed in the lower abdomen (78.33%), upper lip (76.67%) and chest (68.33%).

Our study demonstrated that degree of hirsutism considerably depends on evaluator – a patient or a clinician. The perception of hirsutism between patients and clinicians is different; patients view their hirsutism as more severe than clinicians do. The same results were provided in PCOS patients by Lauri Pasch and coauthors in 2016 [12].

The prevalence of hirsutism by different reports is noted to be from 4.3 to 10.8% in Blacks and Whites, and lower in Asians. Over-estimation can be caused from self-referral bias [6,15] and from the fact that the hirsutism score was self-reported by the patients [15].

Based on our data self report of hirsutism is high in Caucasian ethnic Georgian adolescents - 26.62%, where medically assessed prevalence of hirsutism is  $\approx 10\%$  in most populations, exception is far East Asian women, who report hirsutism less frequently [9].

In the study of Wang and coauthors, a similar prevalence of all measures of androgen excess was noted in Caucasian and Asian women [20]. Both groups had similar total mFG scores and site-specific mFG scores. Site-specific mFG score for the chest was lower in Asian women. Similar prevalence of hirsutism was reported in Caucasian and Asian women with PCOS living in the same geographic region. Caucasian women in the US and Europe are less likely to develop PCOS compared with women living in the Middle East whereas Black women have the highest risks of developing PCOS [20].

According to the study of DeUgarte and coauthors, there was distinction in prevalence and hair distribution in different ethnic groups [10]. Highest prevalence of clinical hirsutism was reported in following ethnic groups: Hispanic, Middle Eastern, South Asian, African American, and mixed ethnicity. Caucasian, East/Southeast Asian, Ashkenazi Jewish and Native American ethnicity had lower prevalence rates of hirsutism. Site-specific comparisons revealed that Patients of Hispanic, mixed and African American ethnicity had higher facial mFG scores, particularly in the chin area for African American patients ( $p=0.015$ ). Middle Eastern and Hispanic women had higher extremity and truncal mFG scores [1].

Different characteristics are observed in other populations. Site specific distribution was noted in Chinese population, where lips and upper back are the most common places of hair growth [20].

Engmann and coauthors concluded that the most severe phenotype, both in terms of metabolic criteria and hyperandrogenism is observed in Hispanic women diagnosed with the polycystic ovarian syndrome [8].

Hair distribution in ethnically Georgian patients was most prevalent on upper lip and Lower abdomen. We consider that present study once again demonstrated that ethnic characteristics play important role in the phenotypic manifestation of hirsutism [4,14,19].

**Conclusion.** This is the first study of hirsutism prevalence in ethnically Georgian adolescent population. The study shows that the value of prevalence by self-estimation exceeds analogous value established clinically, and the most locations of hirsutism are lower abdomen, upper lip and chest.

The results of the study confirm the concept that hirsutism is a common gynecological endocrinopathy among adolescent women of Tbilisi, Georgia.

It should be noted that estimated prevalence of hirsutism depends on screening method at the community level. As there is significant difference between self report and clinically assessed hirsutism, any case of hirsutism requires in depth clinical evaluation.

The authors confirm that there are no known conflicts of interest associated with this publication and there has been no significant financial support for this work that could have influenced its outcome.

## REFERENCES

1. Afifi L, Saeed L, Pasch LA. et al. Association of ethnicity, Fitzpatrick skin type, and hirsutism: A retrospective cross-sectional study of women with polycystic ovarian syndrome. *Int J Womens Dermatol.* 2017 Mar; 3(1): 37–43.
2. Azziz R. The evaluation and management of hirsutism. *Obstet Gynecol.* 2003. May; 101 (5 Pt 1): 995-1007.
3. Azziz R, Carmina, Sawaya ME. Idiopathic hirsutism. *Endocr Rev.* 2000;21:347–362.
4. Azziz R, Ezech U, Pall M, Dumesic DA, Goodarzi MO. Effect of Race on the Metabolic Dysfunction of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): Comparing African-American (AA) and Non-Hispanic White (NHW) Patients. *Endocrine Reviews.* 2010. p. 31.
5. DeUgarte CM, Woods KS, Bartolucci AA, Azziz R. Degree of facial and body terminal hair growth in unselected black and white women: toward a populational definition of hirsutism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:1345–1350.
6. Diamanti-Kandarakis E, Kouli CR, Bergiele AT, Filandra FA, Tsianateli TC, Spina GG, Zapanti ED, Bartzis MI. A sur-

vey of the polycystic ovary syndrome in the Greek island of Lesbos: hormonal and metabolic profile. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:4006–4011

7. Dunaif A, Sorbara L, Delson R, Green G.: Ethnicity and polycystic ovary syndrome are associated with independent and additive decreases in insulin action in Caribbean-Hispanic women. *Diabetes.* 1993;42:1462–1468.

8. Engmann L, Jin S, Sun F, Legro RS, Polotsky AJ et al. Racial and ethnic differences in the polycystic ovary syndrome metabolic phenotype. *Am J Obstet Gynecol.* 2017 May;216(5):493.e1-493.

9. Escobar-Morreale E, Carmina D, Dewailly A, Gambineri F, Kelestimur P, Moghetti M, Pugeat J, Qiao C.N, Wijeyaratne S.F, Witchel. Epidemiology, diagnosis, and management of hirsutism: a consensus statement by the Androgen Excess and Polycystic Ovary Syndrome Society Human Reproduction Update. 2012; 18( 2):146–170.

10. Ferriman D, Gallwey JD. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1961 Nov; 21(10):1440-7.

11. Knochenhauer ES, Key TJ, Kahsar-Miller M, Waggoner W, Boots Azziz R.: Prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected black and white women of the southeastern United States: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 83:3078–3082.

12. Lauri Pasch, Steven Y. He, Heather Huddleston, Marcelle I. et al. Clinician vs Self-ratings of Hirsutism in Patients With Polycystic Ovarian Syndrome Associations With Quality of Life and Depression *JAMA Dermatol.* 2016;152(7):783-788.

13. Lookingbill DP, Demers LM, Wang C, Leung A, Rittmaster RS, Santen RJ. Clinical and biochemical parameters of androgen action in normal healthy Caucasian versus Chinese subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72:1242–1248.

14. Louwers Y, Lao O, Kayser M. Inferred genetic ancestry versus reported ethnicity in polycystic ovary syndrome (PCOS) Human Reproduction. 2013;28:349–349.

15. March WA, Moore VM, Willson KJ, Phillips DI, Norman RJ, Davies MJ. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod.* 2010 Feb;25(2):544-51.

16. Nikolaou D and Gilling-Smith C.; Hirsutism. *Current Obstetrics and Gynaecology*. 2005. vol. 15, no.3:174–182.

17. Norman RJ, Mahabeer S, Masters S.: Ethnic differences in insulin and glucose response to glucose between white and Indian women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 1995;63:58–62.

18. Sawaya M. E and. Shalita A. R.: Androgen receptor polymorphisms in androgenetic alopecia, hirsutism, and acne. *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery*. 1998; vol. 3, no.1; 9–15.

19. Sirota I, Stein DE, Vega M, Keltz MD. Increased Insulin-Resistance and beta-Cell Function in Polycystic Ovary Syndrome Women - Does Ethnicity Play a Role? *Reproductive Sciences.* 2013;20:180a–181a.

20. Wang ET, Kao CN, Shinkai K, Pasch L, Cedars MI, Huddleston HG. Phenotypic comparison of Caucasian and Asian women with polycystic ovary syndrome: a cross-sectional study. *Fertil Steril.* 2013 Jul;100(1):214-8.

21. Wong M, Zhao X, Hong Y, Yang D. Semiquantitative assessment of hirsutism in 850 PCOS patients and 2,988 controls in China. *Endokrynol Pol.* 2014;65(5):365-70

22. Zhang HY, Guo CX, Zhu FF, Qu PP, Lin WJ, Xiong J. Clinical characteristics, metabolic features, and phenotype of Chinese women with polycystic ovary syndrome: a large-scale case-control study. *Arch Gynecol Obstet.* 2013 Mar;287(3):525-31

23. Zhao Y, Qiao J.: Ethnic differences in the phenotypic expression of polycystic ovary syndrome *Steroids.* 2013;78(8):755-60.

## SUMMARY

### THE PREVALENCE OF HIRSUTISM AND ETHNICAL PECULIARITIES OF HAIR DISTRIBUTION IN GEORGIAN ADOLESCENT POPULATION IN TBILISI

<sup>1</sup>Chachia L., <sup>2</sup>Tkeshelashvili B., <sup>2</sup>Gagua T., <sup>2</sup>Tananashvili D., <sup>2</sup>Gagua D.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University; <sup>2</sup>David Gagua Clinics Ltd, Tbilisi, Georgia

Objective - the purpose of the study is evaluation of the Hirsutism prevalence and ethnical peculiarities of the hair distribution in Georgian female adolescents of Tbilisi, Georgia.

2592 randomly selected female adolescents of Tbilisi were included in the study. They completed standard questionnaires consisted of questions about the existence of hirsutism and its locations. For clinical assessment 2 groups were selected from them: group 1 – 117 adolescents with hirsutism and 178 without it. For clinical evaluation of hirsutism modified Ferriman-Gallwey score was used.

Based on the self-estimation the hirsutism prevalence was 26.62% (690 out of 2592), while clinically established prevalence of hirsutism was 20.61%. The most prevalent areas of hair distribution by self-estimation were the face and the abdomen. Clinical assessment of patients with hirsutism showed that mean value of Ferriman-Gallwey Score was 12.87±5.94. Hair distribution by clinical assessment was most significantly observed in the lower abdomen (78.33%), upper lip (76.67%) and chest (68.33%).

This is the first study of hirsutism prevalence in ethnically Georgian adolescent female population. The study has shown that the value of prevalence by self-estimation exceeds analogous value established clinically, and the sites with hair excess are lower abdomen, upper lip and the chest.

**Keywords:** hirsutism, Georgian adolescents, hair distribution.

## РЕЗЮМЕ

### ПРЕВАЛЕНТНОСТЬ ГИРСУТИЗМА И ЭТНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЗОН ИЗЛИШНЕГО РОСТА ВОЛОС НА ТЕЛЕ У ГРУЗИНСКИХ ПОДРОСТКОВ В Г. ТБИЛИСИ

<sup>1</sup>Чачиа Л.Р., <sup>2</sup>Ткешелашвили Б.Д., <sup>2</sup>Гагуа Т.Д., <sup>2</sup>Тананашвили Д.Э.е., <sup>2</sup>Гагуа Д.А.

<sup>1</sup>Тбилисский государственный медицинский университет; <sup>2</sup>ООО Клиника Давида Гагуа, Грузия

Целью исследования явилось определение превалентности гирсутизма и этнические особенности распределения зон излишнего роста волос на теле у подростков, проживающих в Тбилиси.

В исследование включено 2592 рандомизировано отобранных подростков, проживающих в г. Тбилиси. Ими были заполнены вопросники, устанавливающие наличие гирсутизма и зон излишнего роста волос на теле методом самооценки, после чего из этих субъектов исследования для клинической оценки аналогичных показателей были рандомизировано выделены: I группа – 117 подростков с гирсутизмом и II группа – 178 подростков без гирсутизма. Мо-

дифицированная шкала Ферримана-Галвея использовалась для количественной оценки гирсутизма.

Показатель превалентности гирсутизма на основе самооценки составил - 26.62% (690 из 2592). Среди зон излишнего роста волос на теле превалировали лицо и живот. Объективная оценка по шкале Ферримана-Галвея в I группе установила среднее значение -  $12.87 \pm 5.94$  баллов гирсутного числа, а статистически достоверно чаще излишний рост волос наблюдался: в нижней части живота

(78,33%), на верхней губе (76.67%) и на груди (68.33%). Клинически доказанная превалентность гирсутизма составила 20.61%.

Данное исследование впервые проведено в популяции этнически грузинских подростков. Установлено, что клинически доказанная превалентность гирсутизма гораздо ниже, чем аналогичный показатель, полученный методом самооценки, а среди зон излишнего роста волос на теле являются – нижняя часть живота, верхняя губа и грудь.

#### რეზიუმე

პირსუტიზმის პრევალენტობა და გათმინების არეების სხეულზე განაწილების ეთნიკური თავისებურებები ქ. თბილისში მცხოვრებ ქართველ მოზარდებში

<sup>1</sup>ლ. ჭაჭია, <sup>2</sup>ბ. ტყეშელაშვილი, <sup>2</sup>თ. გაგუა, <sup>2</sup>დ. თანანაშვილია, <sup>2</sup>დ. გაგუა

<sup>1</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>შპს დავით გაგუას კლინიკა, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა პირსუტიზმის პრევალენტობისა და გათმინების არეების სხეულზე განაწილების ეთნიკური თავისებურებების დადგენა ქ. თბილისში მცხოვრებ ქართველ მოზარდებში.

კვლევაში ჩაერთო 2592 რანდომიზირებულად შერჩეული ქ. თბილისში მცხოვრები მდებრობითი სქესის მოზარდი. მათ მიერ შეივსო სპეციალურად შემუშავებული კითხვარი, რომელიც თვითშეფასებით ადგენდა პირსუტიზმის არსებობას და ჭარბთმინობის ლოკაციებს. კლინიკური შეფასებისათვის მათგან რანდომიზირებულად გამოიყო 2 ჯგუფი: I - პირსუტიზმის მქონე 117 და II - არმქონე 178 მოზარდი. პირსუტიზმის რაოდენობრივი შეფასებისთვის გამოყენებულ იყო ფერიმან-გალვეის მოდიფიცირებული შკალა.

კითხვარზე დაფუძნებული სუბიექტური შეფასებით პირსუტიზმის პრევალენტობის მაჩვენებელმა შეად-

გინა - 26.62% (690 2592-დან). განაწილების არეებს შორის პრევალირებდა სახე და მუცელი. კლინიკური შეფასებით ფერიმან-გალვეის შკალის მიხედვით პირსუტიზმის ქულა საკვლევ ჯგუფში იყო  $12.87 \pm 5.94$ . გათმინება კი ყველაზე ხშირად და სტატისტიკურად სარწმუნოდ გვხვდებოდა მუცლის ქვედა არეში (78.33%), ზედა ბაგეზე (76.67%) და მკერდზე (68.33%). კლინიკურად დადგენილმა პირსუტიზმის პრევალენტობამ კი შეადგინა 20.61%.

პირსუტიზმის პრევალენტობა ეთნიკურად ქართველ მოზარდთა პოპულაციაში პირველად იქნა შესწავლილი. დადგინდა, რომ აღნიშნულ პოპულაციაში თვითშეფასებით მიღებული პრევალენტობის მაჩვენებელი აღემატება კლინიკურად დადგენილ ანალოგიურ მაჩვენებელს, ხოლო ყველაზე ხშირად ჭარბთმინობის ლოკაციებს წარმოადგენს მუცლის ქვედა არე, ზედა ბაგე და მკერდი.

## IMPACT OF SOCIOECONOMIC STATUS ON CARDIOVASCULAR RISK IN GEORGIAN POPULATION

Toidze M., Tabagari S., Talakvadze T., Tvildiani L., Pkhakadze G., Tabagari-Bregvadze N.

David Tvildiani Medical University, Georgia

In many countries socioeconomic inequalities in CVD have been reported [5,7,10,23,28,33]. International comparisons generally show increased coronary heart disease (CHD) with industrialization and affluence, but variable patterns and trends are found within individual countries [5,10,19,28]. Early studies beginning in the 1930s, in the United Kingdom and United States, indicated a positive association between CHD and SES, with the highest SES groups having the highest prevalence of the disease [7,29]. More recently, an inverse association has been observed in developed countries worldwide [3,20,31].

Socioeconomic status can be classified in different ways, including occupational status, income and educational attainment. Educational attainment is the recommended measure of SES if only one SES measure is available when predicting health outcomes [5,7,24].

Currently >80% of CVD death occur in low-and middle-income countries (LMICs) [31]. In Georgia, as in other low-and middle-income countries (LMICs), cardio-vascular diseases are highly prevalent. Thirty-six percent of all death caused by isch-

emic heart disease, and 23% caused by stroke. S. Mandis et al. Journal of Clinical Epidemiology 64 (2011) published results of study, where WHO/ISH risk prediction charts are applied to cross-sectional population sample from eight LMICs (Nigeria, Iran, China, Pakistan, Georgia, Nepal, Cuba, and Sri-lanka). Among these countries Georgia has the highest number of disability -adjusted life years (DALYs) lost per year (20-29) and highest global burden of stroke (15-19 DALYs per year). It is important to examine relationship between CVD and SES, as it may reveal easily accessible risk markers. To the best of our knowledge, this is the first study to establish relationship between cardiovascular risks and socioeconomic status in a cohort of Georgian population [20].

**Material and methods.** A cross-sectional study was conducted on a sample of 1196 individuals aged 40-70 years in the regions of western Georgia with population of 60,000. The health services in the region consisted of 150 bed regional hospital with associated multi-profile outpatient clinic, and eight small rural primary health

care units. A sample of individuals were drawn from the general population using a household survey. Cluster random sampling of households was used. We trained 25 health care workers: 17 general practitioners, five cardiologists, and three nurses. Physicians were trained in patient consent obtainment and patient interviewing techniques. Nurses were responsible for blood collection, blood pressure measurement and ECG taking.

Information was collected in a specifically designed data collection form. The form covered demographic (age, gender) socioeconomic (education, number of household members, employment for the last 12 months, income level in US dollars, ownership of private transport), and anthropometric data (height, weight, waist and hip circumferences), Information was also obtained on cigarette smoking.

Participants were fasted (no food, nor drink, other than water in the 12 preceding hours).

Invited participants were screened in health clinics and seen by a physician who checked for a history of symptoms suggestive of stable angina, unstable angina, myocardial infarction, transient ischemic attacks, strokes, and peripheral vascular disease. Data on cigarette smoking and family history of premature CVD were collected using a standard data entry form. BP was measured using a standard mercury sphygmomanometer on the left arm after five minutes rest with the subject in the sitting position. The first and fifth phase of Korotkoff sounds were used for systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP), respectively. Two independent measurements were obtained with an interval of at least 10 minutes; the second measurement was taken for data analysis.

An electrocardiogram (ECG) was taken in 12 lead Mortara electrocardiograph (ELI 250C) with frequency response 0,05Hz to 300 Hz. Body mass index (BMI) was calculated as weight (kg) divided by height (m) squared. BMI was categorized as underweight (<18,5), normal (18,5-24,9), overweight (25-29,9) and obese (>30) [3,7].

Waist and hip circumference was measured and abdominal obesity was defined as WHR (waist to hip ratio) greater than 0,8 for women and 0,9 for men [2,5]. WHR is considered a stronger predictor of CVD than waist circumference alone [16].

Having verified the fasting state, 5 ml blood samples were taken through phlebotomy procedure. Blood glucose level and lipid profile were measured using "COBAS INTEGRA® 400 plus" chemistry analyzer (Roche Diagnostics, Germany, 2007). Following methods were used: *a.* In vitro test for the quantitative determination of total cholesterol in serum and plasma by enzymatic, colorimetric method. Measuring range 0.1-20.7 mmol/L (3.87-800 mg/dl). According recommendations of the NCEP Adult Treatment Panel for the following risk-cut-off thresholds: Desirable cholesterol level defined <5.2 mmol/L (<201 mg/dl); Borderline high cholesterol 5.2-6.2 mmol/L (200-240 mg/dl); High cholesterol ≥6.2 mmol/L (≥240 mg/dl) [14,16,27,31] and *b.* In vitro test for the quantitative determination of glucose in serum, plasma, urine, and cerebrospinal fluid (CSF) on COBAS INTEGRA systems. Enzymatic reference method with hexokinase. Measuring range Regular applications 0.24-40 mmol/L (4.32-720 mg/dl) STAT applications 0.24-30 mmol/L (4.32-541 mg/dl) [31]. Diabetes was defined as a fasting blood glucose ≥7 mmol/L.

The WHO/ISH risk prediction charts were used to grade cardiovascular risk [21,32]. These charts use age (1: 40-49; 2: 50-59; 3: 60-69; 4: 70 years and older), sex (0: male; 1: female), smoking (0: no; 1: smoker or ex-smoker <12 months), SBP (1: <140 mm Hg; 2: 140 to <160; 3: 160 to <180; 4: ≥180), blood cholesterol (4: TC, <5 mmol/L; 5: TC, 5 to <6; 6: TC, 6 to <7; 7: TC, 7 to <8; 8: TC, 8 and more), and presence or absence of diabetes (0: Yes, fasting blood glucose ≥7 mmol/L, 126 mg%;

1: No, fasting blood glucose <7 to grade cardiovascular risk). There are two sets, one for settings where blood cholesterol can be measured and the other for settings in which blood cholesterol cannot be measured [32]. In this study, we have used the charts for settings where blood cholesterol can be measured. The charts provide evidence-based recommendations on specific preventive actions to initiate and with what degree of intensity. The risk categories for 10-year combined acute myocardial infarction and stroke (fatal and nonfatal) are as follows: less than 10%, 10 to <20%, 20 to <30%, 30 to <40%, and ≥40%.

For the purpose of this study, three self-reported socioeconomic factors were assessed: level of education, employment status and income. Education variables were recorded as one of three categories: low middle (from no schooling to primary school 1 - 8 years), middle level (from secondary school and post-secondary school) and high (graduated and postgraduate). Income group was graded according to total amount earned/accruing to an individual's household in a month into no income (0-30\$), minimal income (30\$), low (60\$), medium- (120\$) and high-income groups (>120\$) [20]. Groups according employment were as follow: unemployed, retired, farmer, federal worker, employed in private sector. Five major CVD risk factors were the focus of the study, namely obesity, tobacco use, hypertension, diabetes mellitus and total cholesterol.

During the visit at the health facility study subjects were evaluated using specially designed standardized questions for symptoms suggestive of coronary artery disease (CAD) (six question), transient ischemic attack (TIA) (one question), peripheral arterial diseases (PAD) (three questions). We also collected information about history of interventional cardiology procedures (three questions): percutaneous trans-luminal coronary angioplasty (PTCA), coronary arterial bypass grafting (CABG), carotid endarterectomy (CEA); Furthermore, we requested from the study subject medical documentation as a proof for the history of CAD, cerebrovascular diseases (CBVD), and peripheral artery disease (PAD).

All analysis was performed using IBM SPSS version 24. We analyzed frequency distribution of variables as a first step. Logistic regression was used to assess across potential SES risk factors and their outcomes. We assessed 10 years cardiovascular risk more than 10% and presence of CV-disease using WHO/ISH risk prediction charts. This association was assessed using odds ratio, confidence interval (CI) 95%. Variables for the logistic regression were chosen based on the significance of association during univariable analysis. Final logistic regression analysis model did not include variables that by definition were included in the cardiovascular risk calculations (diabetes, smoking, high cholesterol level etc.)

**Results and their discussion.** We analysed data for all 1195 individuals enrolled in our study. Table 1. describes the sociodemographic characteristic of study participants. The mean age was 55 years (range 40-70 years) and 788 (65,9%) were females; 468 (39,2%) had a graduate education; 227 (19%) were officially unemployed; income less than 30 US dollars was reported in 163 (13,6%) participants. Distribution of the CVD risk is presented in Table 2. Three-hundred-sixty-one (30,2%) participants were overweight and 669 (56,0%) were obese, abdominal obesity was observed 966 (80,8%) participants. Hypercholesterolemia was reported in 625 (52,0 %) participants. Fasting hyperglycemia was observed in 225 (18,8%) individuals. As per the JNC classification the prevalence of stage 1 and stage 2 hypertension was 331 (27,7%) and 399 (33,4%), respectively. We reported tobacco smoking only in 118 (9,9 %) participants. As per the WHO/ISH cardiovascular risk classification

945 (79,1%) had <10% 10-year cardiovascular risk; 107 (9%) had cardiovascular risk <20%; The percentage of the population with cardiovascular risk ≥20% was 143 (11,9%). Distribution of diagnosed CVD in our study population is shown in Table 4. Ischemic heart disease was diagnosed among 194 (16,2%) participant; 90 (7,5%) had confirmed cerebrovascular disease and 115 (9,6%) had already diagnosed peripheral vascular disease. Low education level (adjusted odds ratio (aOR) 2.85; 95% confidence interval (CI), 1.57-5.17), obesity (aOR 2.13, 95% CI 1.16 -3.92) and abdominal obesity (aOR 2.21, 95% CI 1.26 -3.87) were statically significantly associated with more than 10% 10 year risk of a fatal or non-fatal cardiovascular event. Lower education level (not finished high school -aOR 2.21 95% CI 1.44 – 3.38, undergraduate - aOR 1.52, 95% CI 1.12 – 2,05), income 120 USD or more (aOR 0.73, 95% CI 0.54 -1.00), overweight (aOR 1.68, 95% CI 1.07 – 2.63), obesity (aOR 1.58, 95% CI 1.04 – 2.41), and abdominal obesity (aOR 1.43, 95% CI 1.01 – 2.03) were found to be statistically significant predictors of CVD in our study population.

Level of education showed the most consistent association with CVD risk, while income was not as important. As shown in Table 5, more than 10% of 10year risk of fatal or non-fatal cardiovascular events was 2,85 and 1,51 times higher in not finished high school and undergraduate people respectively. Also, obesity and abdomi-

nal obesity were 2,13 and 2,21 times more prevalent in the same population while income, or other components of SES were not as important. Binary multiple logistic regression analysis of study population (Table 6), show increase risk of developing cardiovascular disease in less educated population (2,21 and 1,52 times higher in not finished high school and undergraduate respectively) and in individuals with overweight/obesity and abdominal obesity (1,58/1,68 and 2,21 times higher).

Similar to our findings, previous studies showed a clear socioeconomic gradient in CVD [5,7, 14,18]. Kilander L et al. [12] evaluate 2301 50y/o men in Uppsala, Sweden with regard to educational level, blood pressure, blood glucose, BMI, serum lipids, smoking, several biomarkers of fatty acid and antioxidant intake and cause-specific mortality was registered 25 years later. Low education was associated with a higher rate of mortality from cardiovascular disease and from cancer, compared to high educational attainment. Also, Alison Beauchamp et al. [4] examined the association between education attainment and CVD mortality and the extent to which behavioral, social and physiological factors explained in 38 355 adults aged 40-69 years living in Melbourne, Australia and were followed for an average of 9,4 years with CVD death. CVD mortality was higher for those with primary education only, compared with those who had completed tertiary education. In analysis of individual risk factors, smoking and waist circumfer-

Table 1. Demographic and Socioeconomic Characteristic

| Characteristic                      | Mean (Range)       |
|-------------------------------------|--------------------|
| Age (Years)                         | 54,9 (40-70)SD8,97 |
|                                     | Number (%)         |
| Gender                              |                    |
| • Male                              | 407 (34.1)         |
| Household members                   | Number (%)         |
| • ≤ 2                               | 280 (23,4)         |
| • 3                                 | 786 (65,8)         |
| • >3                                | 129 (10,8)         |
| Education                           | Number (%)         |
| • Secondary and Less than secondary | 139 (11,6)         |
| • Undergraduate                     | 588 (49,2)         |
| • Graduate                          | 468(39,2)          |
| Employment                          | Number (%)         |
| • Unemployed                        | 227(19)            |
| • Retired                           | 323(27%)           |
| • Farmer                            | 368 (30,8)         |
| • Federal Worker                    | 125(10,5)          |
| • Privet Sector worker              | 152 (12,7)         |
| Income                              | Number (%)         |
| • <30 USD                           | 163 (13,6)         |
| • 30 SD                             | 274 (22,9)         |
| • 60 USD                            | 259 (21,7)         |
| • 120 USD                           | 280 (23,4)         |
| • >120 USD                          | 219 (18,3)         |
| Ownership of transportation means   | Number (%)         |
| • Yes                               | 188 (15,7)         |
| • No                                | 1007 (84,3)        |

Table 2. prevalence of Cardiovascular Risk Factors in study population

| BMI                     | Number (%)  |
|-------------------------|-------------|
| Normal range            | 165 (13,8%) |
| Overweight              | 361 (30,2%) |
| Obese                   | 669 (56,0%) |
| WHR * 19-24             |             |
| Normal range            | 229 (19,2)  |
| Abdominal Obesity       | 966 (80,8)  |
| Smoking                 |             |
| yes                     | 118 (9,9)   |
| no                      | 1077 (90,1) |
| Fasting Glucose         |             |
| ≤6.1 mmol/l             | 970 (81,2)  |
| ≥6.1 mmol/l             | 225 (18,8)  |
| Total Cholesterol       |             |
| ➤ <5.2 mmol/l           | 574 (48)    |
| ➤ ≥5.2 mmol/l           | 621 (52)    |
| Arterial blood pressure |             |
| Normal blood pressure   | 157 (13,1%) |
| Prehypertension         | 308 (25,8%) |
| Stage 1 hypertension    | 331 (27,7%) |
| Stage 2 hypertension    | 399 (33,4%) |

\* - WHR = Waist to Hip Ratio; BMI = Body mass index

Table 3. WHO/ISH cardiovascular risk groups: 10 year risk of a fatal or non-fatal cardiovascular event

| Characteristic                   | Number (%) |
|----------------------------------|------------|
| <10%                             | 702 (58,7) |
| 10% to <20%                      | 64 (5,4)   |
| ≥20%                             | 85 (7,1)   |
| Confirmed cardiovascular disease | 344 (28,8) |

Table 4. Distribution of diagnosed CVD in study population

| Diagnosed CVD               | Number (%) |
|-----------------------------|------------|
| Ischemic heart disease      | 194 (16,2) |
| Cerebrovascular disease     | 90 (7,5)   |
| Peripheral vascular disease | 115 (9,6)  |

ence explained most of the difference in CVD mortality between the highest and lowest educational groups.

Contrary to our findings, 2011 Bangladesh Demographic Health Survey (BDHS) [9] analysis showed that prevalence of hypertension and diabetes was higher among high SES. According Multi-variable analysis, individuals in the high SES have a greater chance of being affected by hypertension than those belonging to lower SES [9]. Also, contrary to our findings, Mohamed K. Ali et al., after analyzing data from South Asia survey of Cardiometabolic Risk Reduction Centre [1], found that weight related risks (BMI≥30 kg/m<sup>2</sup>; WHR ≥0.5) were more common in higher educated, wealthy groups, and higher prevalence of diabetes, hypertension and dyslipidemias were observed in more educated and affluent groups. Prasana Samuel et al. evaluated association between SES indicators and CVD risk factors among urban and rural South Indians

[27]. Indicators of SES (household possessions score, adult educational status and paternal education status) were positively related to most of the CVD risk factors, including overweight and obesity, dyslipidemia, and abnormal glucose tolerance. The household possessions score (an indicator of wealth and ability to purchase consumer goods) showed stronger positive associations with CVD risk factors than the other SES indicators, and in a concurrent analysis of all three indicators together, it was the only indicator independently associated with risk factors.

Our study has several limitations. We did not have data about marital status of participants, information about diet and alcohol intake. Also, we do not have follow-up data.

**Conclusion.** Like in western countries, in Georgia education is the most important socioeconomic factor, which influences CVD risk in adult population. Public health authorities, as well as clini-

Table 5. Binary multiple logistic regression analysis of risk factors for more than 10% 10year risk of a fatal or non-fatal cardiovascular event (WHO/ISH cardiovascular risk groups)

| Characteristics                   | Adjusted Odds Ratio (95%CI) |
|-----------------------------------|-----------------------------|
| Number of household members       |                             |
| More than 2 persons               | 1                           |
| 2 persons or less                 | 0.94 (0.65, 1.45)           |
| Education level completed         |                             |
| Graduate                          | 1                           |
| Not finished high school          | 2.85 (1.57, 5.17)           |
| Undergraduate                     | 1.51 (0.98, 2.32)           |
| Monthly Income                    |                             |
| 30 USD or less                    | 1                           |
| 60 USD                            | 0.84 (0.52, 1.35)           |
| 120 USD or more                   | 0.69 (0.45, 1.08)           |
| Ownership of transportation means |                             |
| No                                | 1                           |
| Yes                               | 0.77 (0.44, 1.38)           |
| BMI                               |                             |
| Normal                            | 1                           |
| Overweight                        | 1.32 (0.67, 2.60)           |
| Obese                             | 2.13 (1.16, 3.92)           |
| Waist Hip Ratio                   |                             |
| Normal Range                      | 1                           |
| Abdominal Obesity                 | 2.21 (1.26, 3.87)           |

Table 6. Binary multiple logistic regression analysis of risk factors for cardiovascular disease

| Characteristics                   | Adjusted Odds Ratio (95%CI) |
|-----------------------------------|-----------------------------|
| Number of household members       |                             |
| More than 2 persons               | 1                           |
| 2 persons or less                 | 1.05 (0.78, 1.42)           |
| Education level completed         |                             |
| Graduate                          | 1                           |
| Not finished high school          | 2.21 (1.44, 3.38)           |
| Undergraduate                     | <b>1.52 (1.12, 2.05)</b>    |
| Monthly Income                    |                             |
| 30 USD or less                    | 1                           |
| 60 USD                            | 0.98 (0.70, 1.37)           |
| 120 USD or more                   | 0.73 (0.54, 1.00)           |
| Ownership of transportation means |                             |
| No                                | 1                           |
| Yes                               | 1.01 (0.69, 1.48)           |
| BMI                               |                             |
| Normal                            | 1                           |
| Overweight                        | 1.68 (1.07, 2.63)           |
| Obese                             | 1.58 (1.04, 2.41)           |
| Waist Hip Ratio                   |                             |
| Normal Range                      | 1                           |
| Abdominal Obesity                 | 1.43 (1.01, 2.03)           |

cians should consider this finding in primary and secondary prevention and organize multidisciplinary teams to address risk factors.

## REFERENCES

1. Ali Mohammed K., Binukumar B., Shivashankar Roopa, Mohan Deepa, PhD, Fatmi Zafar A., Pradeepa Rajendra, Kadir M. Masood, Mohan Viswanathan, Tandon Nikhil, Narayan K.M. Venkat, Prabhakaran Doorairaj, on behalf of the CARRS Investigators. Socioeconomic status and cardiovascular risk in urban South Asia: the CARRS Study Eur J Prev Cardiol 2016 Mar; 23(4):408-419
2. Ashwell M, Gunn P, Gibson S. Waist-to-height ratio is a better screening tool than waist circumference and BMI for adult cardiometabolic risk factors: systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2012 Mar;13(3):275-86.
3. Bastien M, Poirier P, Lemieux I, Després JP. Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis.* 2014; 56(4): 369-81.
4. Beauchamp Alison, Peeters Anna, Wolfe Rory, Turrell Gavin, Harriss Linton R, Giles Graham G, English Dallas R., McNeil John, Magliano Dianna, Harrap Stephen, Liew Danny, Hunt David, Tonkin Andrew. Inequalities in cardiovascular disease mortality: the role of behavioural, physiological and social risk factors. *BMJ. Epidemiology and Community Health. Research report.* 2009. October 12.
5. Brown AF, Ettner SL, Piette J, Weinberger M, Gregg E, Shapiro MF, et al. Socioeconomic position and health among persons with diabetes mellitus: a conceptual framework and review of the literature. *Epidemiol Rev.* 2004;26:63-77.
6. Corrêa MM, Thumé E, De Oliveira ER, Tomasi E. Performance of the waist-to-height ratio in identifying obesity and predicting non-communicable diseases in the elderly population: A systematic literature review. *Arch Gerontol Geriatr.* 2016; 65: 174-82.
7. Gonzalez-Zobl G, Howe LD, Zimmermann E, Weiss R, Sorensen TI Do rapid BMI growth in childhood and early-onset obesity offer cardiometabolic protection to obese adults in mid-life? Analysis of a longitudinal cohort study of Danish men. *BMJ Open.* 2014; 4(4):e004827.
8. <https://www.cdc.gov/globalhealth/countries/georgia/> 2016.
9. Islam G.M. Rabiul, MSc\*Department of Food Engineering and Tea Technology, Shahjalal University of Science and Technology, Sylhet, Bangladesh The risk of developing cardiovascular disease in Bangladesh: does diabetes mellitus matter? Which socioeconomic status does it impact? Research article. *Journal of the American Society of Hypertension* 11(1) (2017) 45-53.
10. Janković Ivanko, Miloš Erić, Dragana Stojisavljević, Jelena Marinković, Slavenka Janković Socio-Economic Differences in Cardiovascular Health: Findings from a Cross-Sectional Study in a Middle-Income Country. *PLoS One.* Published: October 29, 2015.
11. Kaplan GA, Pamuk ER, Lynch JW, Cohen RD, Balfour JL. Inequality in income and mortality in the United States: analysis of mortality and potential pathways. *BMJ* 1996; 312:999-1003.
12. Kilander L, Berglund L, Boberg M, Vessby Bithell H. Education, lifestyle factors and mortality from cardiovascular disease and cancer. A 25-year follow-up of Swedish 50-year-old men. *Int J Epidemiol.* 2001;30(5):1119-26.
13. Knudson PE, Weinstock RS. Carbohydrates. In: Henry JB, ed. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods.* 20th ed. Philadelphia: WB Saunders 2001;211-223.
14. Kollia Natasa, Panagiotakos Demosthenes, Georgousopoulou Ekavi, Chrysoshoou Christina Tousoulis Dimitrios, Stefanadis Christodoulos, Papageorgiou Charalabos, Pitsavos Christos. Exploring the association between low socioeconomic status and cardiovascular disease risk in healthy Greeks, in the years of financial crisis (2002-2012): The ATTICA study *International Journal of Cardiology* 2016; 223: 758.
15. Kunst A, Draeger B, Ziegenhorn J. In: Bergmeyer. *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd ed. Volume VI, Metabolites 1: Carbohydrates 1984;163-172.
16. Lee CM, Huxley RR, Wildman RP, Woodward M. Indices of abdominal obesity are better discriminators of cardiovascular risk factors than BMI: a meta-analysis. *J Clin Epidemiol.* 2008 Jul;61(7):646-53.
17. Link BG, Phelan J. Social conditions as fundamental causes of disease. *JHealth Soc Behav* 1995 [Spec No: 80-94].
18. Méjean Caroline, Droomers Mariël, van der Schouw Yvonne T., Sluijs Ivonne Czernichow Sébastien, Grobbee Diederick E., Bas Bueno-de-Mesquita H, Beulens JolineW.J. Méjean Caroline, Droomers Mariël, van der Schouw Yvonne T, Sluijs Ivonne, Czernichow Sébastien, Grobbee Diederick E., Bas Bueno-de-Mesquita H, Beulens JolineW.J. The contribution of diet and lifestyle to socioeconomic inequalities in cardiovascular morbidity and mortality *International Journal of Cardiology* 2013;168: 5190-5195.
19. Mendis S, Chestnov O. The global burden of cardiovascular diseases: a challenge to improve. *Curr Cardiol Rep.* 2014; 16(5):486.
20. Mendis S, Lindholm LH, Anderson SG, Alwan A, Koju R, Onwubere BJ, Kayani AM, Abeysinghe N, Duneas A, Tabagari S, Fan W, Sarraf-Zadegan N, Nordet P, Whitworth J, Heagerty A Total cardiovascular risk approach to improve efficiency of cardiovascular prevention in resource constrain settings. *J Clin Epidemiol.* 2011; 64(12):1451-62.
21. Mendis S, Lindholm LH, Mancia G, Whitworth J, Alderman M, Lim S, et al. World Health Organization (WHO) and International Society of Hypertension (ISH) risk prediction charts: assessment of cardiovascular risk for prevention and control of cardiovascular disease in low and middle-income countries. *J Hypertens* 2007;25: 1578e82.
22. Mendis S, Puska P, Norrving B, editors. *Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control.* Geneva: World Health Organization; 2011.
23. Myers L, Mendis S. Cardiovascular disease research output in WHO priority areas between 2002 and 2011. *J Epidemiol Glob Health.* 2014 Mar;4(1):23-8.
24. Nordet P, Mendis S, Dueñas A, de la Noval R, Armas N, de la Noval IL, Pupo H Total cardiovascular risk assessment and management using two prediction tools, with and without blood cholesterol. *MEDICC Rev.* 2013;15(4):36-40.
25. Patel SA, Narayan KM, Ali MK, Mehta NK. Interstate variation in modifiable risk factors and cardiovascular mortality in the United States. *PLoS One.* 2014; 9(7):e101531.
26. Sacks DB. Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry.* 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders. 1999;750-785.
27. Samuel Prasanna, Antonisamy Belavendra, Raghupathy Palani, Richard Joseph and Fall Caroline HD. Socio-economic status and cardiovascular risk factors in rural and urban areas of Vellore, Tamilnadu, South India. *International Journal of Epidemiology* 2012;41:1315-1327.
28. Subramanian SV, Corsi DJ, Subramanyam MA, Smith GD Jumping the gun: the problematic discourse on socioeconomic status and cardiovascular health in India. *Int J Epidemiol.* 2013;42(5):1410-26.
29. Stringhini S, Berkman L, Dugravot A, Ferrie JE, Marmot M, Kivimaki M, et al. Socioeconomic status, structural and functional measures of social support, and mortality: The British Whitehall II Cohort Study, 1985-2009. *Am J Epidemiol.* 2012;175:1275-83.
30. Tietz NW, ed. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Co 2006;444-451.
31. World Health Organization. Global status report on non-communicable diseases 2014. 2015. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854\\_12](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854_12) August 2015).

32. World Health Organization. Prevention of cardiovascular disease: guidelines for assessment and management of total cardiovascular risk. Geneva, Switzerland: WHO; 2007.
33. World Heart Federation. End of Year Review 2017. Highlights and achievements. [www.world-heart-federation.org](http://www.world-heart-federation.org)

## SUMMARY

### IMPACT OF SOCIOECONOMIC STATUS ON CARDIOVASCULAR RISK IN GEORGIAN POPULATION

Toidze M., Tabagari S., Talakvadze T., Tvildiani L., Pkhakadze G., Tabagari-Bregvadze N.

David Tvildiani Medical University, Georgia

Cardiovascular diseases (CVD) continue to be the leading cause of death and disability worldwide, representing 30% of all death. In Georgia 36% of all death caused by ischemic heart disease and 23% caused by stroke.

There is a limited data on association between socioeconomic status (SES) and CVD risk in Georgia. Our study aims at assessing association between SES and CVD risk factors in a cohort of adult Georgians. A cross-sectional study was conducted in the region of Western Georgia between June 2007 - June 2008. 1196 individuals aged 40-70 years were enrolled in the study. To assess SES we collected information about education, income, ownership of a private transport, and employment. CVD risk was assessed by the WHO/ISH risk classification scale. In addition, anthropometric measurements were conducted in each study participant. Low education level (adjusted odds ratio (aOR) 2.85; 95% confidence interval (CI), 1.57-5.17), obesity (aOR 2.13, 95% CI 1.16 -3.92) and abdominal obesity (aOR 2.21, 95% CI 1.26 -3.87) were statically significantly associated with more than 10% 10 year risk of a fatal or non-fatal cardiovascular event. Lower education level (not finished high school -aOR 2.21 95% CI 1.44 – 3.38, undergraduate - aOR 1.52, 95% CI 1.12 – 2.05), income 120 USD or more (aOR 0.73, 95% CI 0.54 -1.00), overweight (aOR 1.68, 95% CI 1.07 – 2.63), obesity (aOR 1.58, 95% CI 1.04 – 2.41), and abdominal obesity (aOR 1.43, 95% CI 1.01 – 2.03) were found to be statistically significant predictors of CVD in our study population. We found that education level, income, body mass index and waist to hip ratio are CVD risk factors. Public health authorities, as well as clinicians should consider this finding in primary and secondary prevention and organize multidisciplinary teams to address those risk factors.

**Keywords:** cardiovascular risk, socio economic status, Georgian population.

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ СОЦИАЛЬНО-ЭКОНОМИЧЕСКОГО СТАТУСА НА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЙ РИСК В ГРУЗИНСКОМ НАСЕЛЕНИИ

Тондзе М.Д., Табагари С.И., Талаквдзе Т.В.,  
Твилдиани Л.Д., Пхакадзе Г.Г., Табагари-Брегвдзе Н.С.

Медицинский университет им. Давида Твилдиани, Грузия

Целью исследования является определение взаимосвязи между социально-экономическим статусом и факторами ри-

ска развития сердечно-сосудистых заболеваний во взрослой популяции Грузии.

С июня 2007 г. по июнь 2008 г. в регионе Западной Грузии проведено перекрестное исследование. В исследовании приняли участие 1196 лиц в возрасте 40-70 лет. Для оценки СЭС проведено анкетирование с целью сбора информации об образовании, доходах, наличии частного транспорта и о занятости реципиентов. Риск развития сердечно-сосудистых заболеваний оценивался посредством шкалы классификации рисков Всемирной организации здравоохранения и Международного общества гипертонии. Проведены антропометрические измерения каждого реципиента.

В результате исследования выявлено, что низкий уровень образования (скорректированное отношение шансов - сОШ 2,85; 95% доверительный интервал - ДИ, 1.57-5.17), ожирение (сОШ 2.13, 95% ДИ 1.16 -3.92) и абдоминальное ожирение (сОШ 2.21, 95% ДИ 1.26 -3.87) статистически значимо взаимосвязаны с более чем 10% риском смертельного или нефатального сердечно-сосудистого события в ближайшем 10-летнем периоде. Низкий уровень образования (неоконченная средняя школа -сОШ 2.21 95% ДИ 1.44 – 3.38, студент - сОШ 1.52, 95% ДИ 1.12 – 2.05), доход 120 долларов США или более (сОШ 0.73, 95% ДИ 0.54 -1.00), избыточный вес (сОШ 1.68, 95% ДИ 1.07 – 2.63), ожирение (сОШ 1.58, 95% ДИ 1.04 – 2.41), и абдоминальное ожирение (сОШ 1.43, 95% ДИ 1.01 – 2.03) признаны статистически значимыми предикторами сердечно-сосудистых заболеваний у когорты, принимавшей участие в исследовании.

Выявлено, что уровень образования, доход, индекс массы тела и соотношение объема талии и бедер являются факторами риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. Авторы статьи рекомендуют учитывать вышеприведенные показатели в области первичной и вторичной профилактики.

## რეზიუმე

სოციალურ-ეკონომიკური სტატუსის გავლენა კარდიოვასკულურ რისკებზე საქართველოს მოსახლეობაში

მ. თონძე, ს. თაბაგარი, თ. თალაკვადე, ლ. ტვილდიანი,  
გ. ფხაკაძე, ნ. თაბაგარი-ბრეგვადე

დავით ტვილდიანის სახ. სამედიცინო უნივერსიტეტი, საქართველო

გულ-სისხლძარღვთა დაავადებები (გსდ) სადღეისოდ წარმოადგენს სიკვდილობისა და ავადობის მთავარ მიზეზს მსოფლიოში და ჯამური სიკვდილობის 30%. საქართველოში სიკვდილობის 36% გამოწვეულია გულის იშემიური დაავადებით, ხოლო 23% ინსულტით.

კვლევის მიზანს წარმოადგენს ზრდასრულ მოქალაქეების სოციალურ-ეკონომიკური მდგომარეობასა და გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების რისკებს შორის კავშირის შესწავლა.

2007 წ. ივნისიდან 2008 წ. ივნისამდე დასავლეთ საქართველოს რეგიონში ჩატარდა ჯვარედინი კვლევა. საკვლევი პოპულაცია მოიცავდა 40-70 წლამდე ასაკის 1196 მოხალისეს. სოციალურ-ეკონომიკური მდგომარეობის შესაფასებლად ჩატარდა ანკეტირება განათლების, შემოსავლების, კერძო საკუთრებაში ტრანსპორტის არსებობისა და დასაქმების შესახებ. გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების რისკი შეფასდა

ჯანმო WHO/OSH რისკის კლასიფიკაციის მიხედვით. კვლევაში მონაწილე თითოეულ პირს ენიჭება უტარდებოდა ანთროპომეტრიული გაზომვები.

ჩატარებული კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ განათლების დაბალი დონე (მორგებული შანსების თანაფარდობა - მშთ 2.85; 95% ნდობის ინტერვალი - ნი, 1.57-5.17), სიმსუქნე (მშთ 2.13, 95% ნი 1.16 -3.92) და აბდომინალური სიმსუქნე (მშთ 2.21, 95% ნი 1.26 -3.87) სტატისტიკურად მნიშვნელოვნად ასოცირდება 10%-ზე მეტ ფატალურ, ან არაფატალურ კარდიოვასკულურ რისკთან უახლოესი 10 წლის განმავლობაში. აღმოჩნდა, რომ შესწავლილ პოპულაციაში განათლების დაბალი დონე (არასრული საშუალო განათლება - მშთ 2.21 95% ნი 1.44-3.38, ბაკალავრიატი - მშთ 1.52, 95%

ნი 1.12-2.05), შემოსავალი 120 აშშ დოლარი, ან მეტი (მშთ 0.73, 95% ნი 0.54 -1.00), ჭარბი წონა (მშთ 1.68, 95% ნი 1.07 - 2.63), სიმსუქნე (მშთ 1.58, 95% ნი 1.04-2.41), და აბდომინალური სიმსუქნე (მშთ 1.43, 95% ნი 1.01-2.03) მნიშვნელოვან რისკ-ფაქტორებს წარმოადგენენ გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების განვითარებაში.

მიღებული მონაცემების ანალიზის შედეგად ავტორებს გამოტანილი აქვთ დასკვნა, რომ განათლების დონე, შემოსავალი, სხეულის მასის ინდექსი, წელისა და მენჯის გარშემოწერილობის თანაფარდობა წარმოადგენენ გულ-სისხლძარღვთა დაავადებების განვითარების რისკებს. ავტორებს მიზანშეწონილად მიიჩნია მიღებული შედეგების გათვალისწინება პირველადი და მეორადი პრევენციისათვის.

## INFLUENCE OF LEFT VENTRICULAR DIASTOLIC DYSFUNCTION AND HEART DYSSYNCHRONY ON THE COURSE OF ARTERIAL HYPERTENSION WITH COMORBID PATHOLOGY

Kapustnik V., Kostuyk I., Shelest B., Brék V., Sukhonos N.

Kharkiv National Medical University, Ukraine

The majority of hypertensive patients have certain manifestations of heart failure, and 50% of these patients retain the normal systolic function of the left ventricle (LV). Some studies showed that patients with heart failure and normal systolic function might develop dyssynchrony [14].

The violation of the diastolic function of the left ventricle (LV) based on its hypertrophy is a particular feature of hypertensive heart, as well as a violation of biochemical processes that provide relaxation during the early phase of diastole [4].

Heart dyssynchrony (HD) leads to abnormality of the sequence of generation and contraction of certain segments of the myocardium, which leads to a decrease in cardiac output.

The prevalence of diastolic dysfunction of the left ventricle (LV) in patients with arterial hypertension, according to various studies, ranges from 30 to 87%. It is known that progression of left ventricular diastolic dysfunction is accompanied by an increase in the risk of cardiovascular death by 80%. [2].

Abnormality of atrial-ventricular and inter-ventricular conduction occurs in 35% of patients with chronic heart failure (CHF) (90% of cases, presented through left bundle branch block). There is a direct correlation between the duration of the QRS complex and mortality among patients with described conditions. Thus, when the QRS complex width is more than 120 ms, patients with CHF, II NYHA functional class (FC) have mortality between 5 and 15%, patients with CHF III FC – mortality between 20 to 25%, with CHF IV FC - from 30 to 70% [12].

Intraventricular dyssynchrony is associated with hypertrophy of the myocardium in the systolic phase during stresses in patients with hypertension and depends on the duration of the load. However, when loaded, it can much correlate with the diastolic phase of LV [8].

Intraventricular, interventricular and atrial-ventricular dyssynchrony adversely affect systolic and diastolic functions of the heart. The intra-chamber and inter-chamber mutual influence is often determined in the most of clinical cases.

Examples of intra-chamber asynchrony are akinesia and

dyskinesia of the left ventricle in patients with coronary heart disease, another example is asymmetric left ventricular hypertrophy, or electrical stimulation, or first months after prosthetics of the heart valves, or condition after any heart surgery under artificial blood circulation [10].

The raised question is how far it is necessary to continue the search for ways of determination of mechanical dyssynchrony, considering that electric dyssynchrony can be detected when recording an ECG in the most of cases. The DESIRE study confirms the long-term benefits of further investigations of mechanical dyssynchrony, to decide on the need for a device (cardiac pacemaker) for patients with a QRS complex width of less than 150 ms.

However, it is unclear whether there are any similar abnormalities in patients with hypertension who do not have clinical signs of heart failure.

The aim of the study is to determine the role of left ventricular dysfunction and heart dyssynchrony in the disease's course and prognosis in patients with arterial hypertension and diabetes mellitus type 2 (DM2T) and obesity.

**Material and methods.** A retrospective analysis of the clinical and special exams results in different groups was carried out: 1st group (the main group, n=49), in which, 6 months after the beginning of the survey, worsening course of the patient's state (WC) was established; 2nd group (the comparison group, n=86), in which worsening course was not specified in the adjusted terms, but it was favorable course.

The criterion of worsening course in patients was exaggeration of target-organ damage, videlicet increasing of microalbuminuria.

Inclusion criteria in the study were the presence of the hypertensive clinical signs, confirmed by the data of additional methods of examination. Clinical diagnosis was established based on complaints of the patient, anamnesis of the disease, and data of objective examination. Diagnosis of essential hypertension was verified using the recommendations of the European Cardiology Society (2012-2013). The diagnosis of DM2T based on the EASA guide-

lines (2015). Instrumental methods were presented by electrocardiography in 12 standard leads in a position lying after 5 minutes of rest; transthoracic echocardiography (Philips HD11XE, USA, according to the generally accepted method of the Echo-pulse method with an ultrasound frequency of 7.5 MHz).

The body weight was evaluated according to the body mass index (BMI) recommended by the WHO.

The diastolic function of the myocardial infarction was determined by recording the Doppler transmitral diastolic flow. The maximum velocities of early (E) and late (A) filling of LV, their ratio (E/A), time of isovolumic relaxation of LV (IVRT), time of retardation of blood flow of early diastolic filling time (DFT) were estimated. The following techniques were used to detect heart dyssynchrony: M-Mode (LAX) - SPWMD (Septal to posterior wall motion delay) and pulse-wave/continuous-wave Doppler (PW/CW). The Aortic Pre-Ejection Interval (APEI) period was determined from an apical four-chamber position for determining the blood flow in the aorta and the external path of the LV. Indicator for intraventricular HD was considered as APEI > 140ms. IVMD (Interventricular Mechanical Delay) is determined by the difference between the two values: (APEI) - (PPEI - the pulmonary pre-ejection time that measured from the beginning of QRS complex to the beginning of the pulmonary flow velocity curve). Indicator of interventricular HD was IVMD > 40 msec. LVFT is the time to fill the LV - the ratio of the duration of the filling of the LV (registration of waves A and E) to the duration of the heart cycle, stated in percents. LVFT = (registration of waves A and E) / R-R \* 100%. Normally, it exceeds 50%, and when HD < 40%.

The indicators of velocity and time are determined, in particular, the time from the beginning of the QRS complex to the beginning of systolic displacement (To) and the peak of systolic displacement (Ts). We used a method for diagnosing intraventricular HD in patients, including performing an ultrasound examination of the heart synchronized with the ECG, recording the displacement curves of the LV myocardium in the pulse-wave tissue Doppler (Pulse Wave Tissue Doppler Imaging, PW TDI). Then the time intervals - To and Ts - for each segment are calculated. The next step is to calculate the mean square deviation of the above-mentioned intervals - To-SD interval (standard deviation of the time to onset of LV systolic velocity) and Ts-SD (standard deviation of the time to peak of LV systolic velocity). To-17 ms and Ts-32 ms are taken as a criterion for dyssynchrony.

We used turbidimetric method for microalbuminuria evaluating by clinical chemistry analyzer "Hitachi".

The study excluded patients with concomitant acute inflammatory, infectious, oncological, immune and rheumatologic diseases, patients with hypertension ejection fraction (EF) < 50%, anemia, renal insufficiency, acute heart failure episodes, acute coronary syndrome during the previous 3 months, rhythm and conduction abnormalities, chronic obstructive pulmonary diseases, occlusive diseases of the vessels of the lower extremities.

Work conducted in accordance with the requirements of the Helsinki Declaration of the World Medical Association, the Stat-

ute of the Ukrainian Bioethics Association and the GCP (1992), regulations, according to the requirements and norms of the ICH GCP (2002), the standard provisions on ethics of the Ministry of Health of Ukraine No. 66 dated February 13, 2006. All patients expressed their informed consent to participate in the study and were fully aware of the methods and extent of the study.

Sequential Wald analysis was used for prognosis and can be used in case of normal and non normal distribution. In case of the normal distribution of quantitative indicators we used parametric methods. The critical value of the significance level p is 0.05. During the sampling analysis, qualitative and quantitative indices were evaluated using absolute and relative percentages of frequencies; the central regularity and variability of the quantitative indices were calculated by bringing the mean arithmetic value (M) and standard deviation (SD), the results were represented by the expression:  $M \pm SD$ . The statistical hypothesis about the absence of differences between the two comparable groups was checked using the appropriate version of Student's criterion (for dependent or independent samples). Mathematical calculations were made using Statsoft Statistica 6.0.

**Results and their discussion.** The anthropometric, demographic and biochemical parameters (age, gender, BMI, systolic and diastolic blood pressure, HbA1c, microalbuminuria) are described in the Table 1. The both groups were matched by all mentioned parameters and have the similar initial conditions.

The ECHO-cardiographic indices are presented in the Table. 2, and characterize the diastolic function of LV in the groups. The implication is that state of the diastolic function of the LV has a significant association with the progression of hypertension.

At the same time, both slowdown ( $\leq 0.60$  ms) and acceleration ( $\geq 0.91$  ms) of the maximum early ventricular filling velocity (E) were indicative for patients with progression of the disease ( $p \leq 0.05$ ), and moderate value of the indicator (0.61-0.90 ms) was significantly more frequent (2.4 times,  $p \leq 0.001$ ) in the group without progression of the disease. With regard to the indicator of the maximum late ventricular filling velocity (A), its acceleration ( $\geq 0.71$  ms) was significantly more common in the main group ( $p \leq 0.001$ ), and the moderate value of the indicator ( $\leq 0.71$  ms) was diagnosed 2.5 times more ( $p \leq 0.001$ ) in the group without progression. Furthermore, the decline of LV relaxation ( $E/A \leq 1.0$ ) has a pathogenic significance, because it was detected in the group with progression of the disease significantly more often ( $p \leq 0.001$ ). Besides, the pseudonormal filling pattern ( $E/A \geq 1.01$ ) was diagnosed among patients without progression of hypertension more frequently ( $p \leq 0.001$ ). In addition, a decrease in  $DT \leq 200$  ms, and slowing of the time of the LV isovolumic relaxation ( $IVRT \geq 201$  ms), both revealed a pathogenic significance ( $p \leq 0.001$ ). IVRT was diagnosed in the main group 3.8 times more frequent ( $p \leq 0.001$ ) than in comparative group. Thus, disturbance of diastolic function is a significant factor in the progression of hypertension in patients with diabetes type 2. This means that the values of the E, A, IVRT have the direct correlation with the progression of hypertension, and the E/A and DT indices have negative correlation. Diseases such as hypertensive heart and hypertrophic cardiomyopathy often lead to dilatation of the left atrium with subsequent conduction disturbances, manifested by

Table 1. Initial anthropometric, demographic and biochemical parameters of the patients

| Parameters                               | The 1 <sup>st</sup> group (n=49) | The 2 <sup>nd</sup> group (n=86) | p    |
|------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|------|
| Age (years)                              | 56.5±3.3                         | 55.2±4.1                         | 0.06 |
| Gender (male/female)                     | 23/26                            | 41/45                            | 0.63 |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )                 | 31.7±2.9                         | 32.1±4.2                         | 0.56 |
| Systolic blood pressure (mm Hg)          | 159.5±9.7                        | 156.0±11.3                       | 0.07 |
| Diastolic blood pressure (mm Hg)         | 93.8±4.5                         | 92.3±4.4                         | 0.09 |
| HbA1c (%)                                | 8.4±2.7                          | 8.1±2.9                          | 0.56 |
| Microalbuminuria (Initial level), (mg/l) | 63.7±13.8                        | 61.9±14.3                        | 0.48 |

Table 2. ECHO-cardiographic indices, which characterize diastolic function of LV Distribution of patients in groups according to the values

| Parameters | Range of the parameter | The main group (with worsening) |      | The comparative group (without worsening) |      | p       |
|------------|------------------------|---------------------------------|------|-------------------------------------------|------|---------|
|            |                        | abs.                            | %    | abs.                                      | %    |         |
| E, ms      | ≤ 0,60                 | 19                              | 21,1 | 19                                        | 42,2 | ≤ 0,05  |
|            | 0,61-0,90              | 51                              | 59,3 | 12                                        | 24,5 | ≤ 0,001 |
|            | ≥ 0,91                 | 13                              | 19,6 | 18                                        | 33,3 | ≤ 0,05  |
| A, ms      | ≤ 0,70                 | 43                              | 50,0 | 10                                        | 20,4 | ≤ 0,001 |
|            | ≥ 0,71                 | 23                              | 50,0 | 39                                        | 79,6 | ≤ 0,001 |
| E/A        | ≤ 1,00                 | 39                              | 45,3 | 30                                        | 61,2 | ≤ 0,001 |
|            | ≥ 1,01                 | 47                              | 54,7 | 19                                        | 38,8 | ≤ 0,001 |
| DT, ms     | ≤ 200                  | 22                              | 25,7 | 23                                        | 46,9 | ≤ 0,001 |
|            | ≥ 201                  | 64                              | 74,3 | 26                                        | 53,1 | ≤ 0,001 |
| IVRT, ms   | ≤ 200                  | 80                              | 93,0 | 36                                        | 73,5 | ≤ 0,001 |
|            | ≥ 201                  | 6                               | 7,0  | 13                                        | 26,5 | ≤ 0,001 |

Table 3. Significance of factors of intraventricular cardiac dyssynchrony in groups

| Parameters | Parameters' range | The main group, (with worsening) |      | The comparative group (without worsening) |      | P       |
|------------|-------------------|----------------------------------|------|-------------------------------------------|------|---------|
|            |                   | abs.                             | %    | abs.                                      | %    |         |
| LVRT, %    | ≤ 35,0            | 61                               | 70,9 | 40                                        | 81,6 | ≥ 0,05  |
|            | ≥ 35,1            | 25                               | 29,1 | 9                                         | 19,4 | ≥ 0,05  |
| APEI, ms   | ≤ 100             | 63                               | 73,3 | 24                                        | 49,0 | ≤ 0,001 |
|            | 101-140           | 19                               | 22,1 | 8                                         | 16,3 | ≥ 0,05  |
|            | ≥ 141             | 4                                | 4,6  | 17                                        | 34,7 | ≤ 0,001 |
| R-R, ms    | ≤ 0,80            | 44                               | 51,2 | 33                                        | 63,7 | ≤ 0,05  |
|            | ≥ 0,81            | 42                               | 48,8 | 16                                        | 32,7 | ≤ 0,05  |
| To-SD ms   | ≤ 10,0            | 4                                | 4,7  | 8                                         | 16,3 | ≤ 0,05  |
|            | 10,1-25,0         | 80                               | 80,0 | -                                         | 79,4 | ≥ 0,05  |
|            | ≥ 25,1            | 2                                | 2,3  | 7                                         | 14,3 | ≤ 0,05  |
| TS-SD ms   | ≤ 20,0            | 20                               | 23,2 | 12                                        | 25,5 | ≥ 0,05  |
|            | 20,1-35,0         | 36                               | 41,9 | 20                                        | 40,4 | ≥ 0,05  |
|            | ≥ 35,1            | 30                               | 34,9 | 17                                        | 34,1 | ≥ 0,05  |
| PPEI, ms   | ≤ 60              | 0                                | 0    | 8                                         | 16,3 | ≤ 0,001 |
|            | 61- 80            | 43                               | 50   | 20                                        | 40,3 | ≥ 0,05  |
|            | 81-110            | 34                               | 39,5 | 21                                        | 43,9 | ≥ 0,05  |
|            | ≥ 111             | 9                                | 10,5 | 0                                         | 0    | ≤ 0,05  |
| IVMD, ms   | ≤ 40              | 66                               | 76,7 | 20                                        | 40,8 | ≤ 0,001 |
|            | 41-90             | 20                               | 23,7 | 10                                        | 20,4 | ≥ 0,05  |
|            | ≥ 91              | 0                                | 0    | 19                                        | 39,8 | ≤ 0,001 |

an elongated P-wave of more than 120 ms. Patients with these disorders are at high risk of developing atrial tachyarrhythmia (flutter and atrial fibrillation) [1]. As a rule, the ejection fraction is kept or reduced slightly in such patients [15].

The left bundle branch block precedes systolic dysfunction of the myocardium in 30% of cases, and the extended QRS complex and elongated PR interval increase the left ventricular dysfunction and contributes to the progression of the heart failure. Thereafter, echocardiographic observations conducted by Grines et al. demonstrated changes in systolic and diastolic LV function in the presence of a left bundle branch block, which

causes dyssynchrony of contraction and relaxation [7].

Analysis of parameters that describe the manifestation of intraventricular dyssynchrony (DS) of the heart (Table 3) showed that majority of them may play role in the progression of the disease.

The following signs of ventricular dyssynchrony as: prolonged aortic pre-ejection interval (APEI ≥ 141 ms;  $p \leq 0.001$ ), intraventricular mechanical delay (IVMD ≥ 91 ms;  $p \leq 0.001$ ), the reduction of the interval R-R ≤ 0.80 ms ( $p \leq 0.05$ ); reduction of pulmonary artery pre-ejection interval (PPEI ≤ 60 ms;  $p \leq 0.001$ ); lengthening of To-SD interval (standard deviation of time to LV systolic velocity, To-SD ≥ 25.1 ms;  $p \leq 0.05$ ) were diagnosed significantly more

often in the main group (with worsening) than in the comparative group. Thus, along with the violation of the systolic and diastolic function of the LV, as well as the hypertrophy of the myocardium, the phenomena of intraventricular dyssynchrony make a significant contribution to the formation of the progression of hypertension in patients with diabetes type 2.

Systolic dyssynchrony in patients with hypertension may indicate the risk of additional complications. Consequently, more intensive control of arterial blood pressure and exact treatment at an earlier stage of the disease are required. Changes in the cardiac cycle because of dyssynchrony conditions lead to an increase in end-systolic and end-diastolic pressure in the chambers of the heart, a decrease in the ejection fraction, and an increase in pressure in the pulmonary artery, and these changes are reflection of the progression of systolic and diastolic dysfunction of the myocardium in patients with CHF [13].

The DAVID and PACE studies allowed linking it with right ventricular stimulation, leading to inter- and intra-ventricular dyssynchrony, and eventually to the deterioration of systolic function of the heart [3].

Discussing other factors that can predict the worsening of patients' condition, it is worth to mention some studies. The study Cordoso CRL et al. [6] shows that blood pressure can predict the diabetic retinopathy development. In addition, the DM2T duration, increased glycemic and lipid levels, and hypertension are the main predictors of progression of retinopathy. Therewith, this investigation included patients that had no obesity predominantly, and not all of them were hypertensive.

Another study by Podzolkov V. et al. [11] declares that such factors as left ventricular hypertrophy and increased arterial stiffness increase the risk of atrial fibrillation progression from paroxysmal to permanent form. Pulse wave velocity might be used as predictor of this progression. They investigated worsening only by assessment of atrial fibrillation, but not by progression of kidney dysfunction as we did.

Fibroblast growth factor-21, the symmetric to asymmetric dimethylarginine ratio,  $\beta$ 2-microglobulin, C16-acylcarnitine, and kidney injury molecule-1 can be considered as predictors of kidney dysfunction by study of Helen C. Looker et al. [9] As it was in our study they found predictors for renal worsening, but in contrast Looker HC examined diabetes subjects and not combined pathology of hypertension, diabetes and obesity. Moreover, they studied only biochemical markers, but we assessed HD.

Furthermore, another authors [5] found such parameter as protein creatinine index (PCI) in the role of nephropathy predictor in hypertensive patients. They demonstrated significantly strong link between PCI and severity and duration of hypertension compared with urinary protein and creatinine concentration. They also suggested that PCI monitoring can be used in the routine checkup in hypertensive patients over 5years duration. The type of subjects and the aim are close to our study, on the other hand they described the predictive role of such parameter as PCI, but we analyzed HD as predictor.

Generally, there are some attempts to find predictors of negative condition development in hypertensive or diabetic patients. Therewith, majority of studies looked for biochemical markers, but we tried to find influence of HD on the course of the disease.

The study had some limitations such as cross-sectional and retrospective character. Besides, the group enrolled into the study was not so large. With regard to the above mentioned, further study with large amount of patients are needed for better understanding the influence of heart dyssynchrony on patients with combination of hypertension, obesity and diabetes

**Conclusions** Violation of diastolic function is a significant factor of the hypertension progression in patients with diabetes type 2. Furthermore, such indices as E, A, IVRT have the direct correlation with the progression of hypertension, but the E/A and DT indices have a negative correlation.

The presence of LV dyssynchrony is a great predictor of the worsening course in patients with hypertension associated with T2DM and obesity. It might be due to the fact, that HD is associated with the LV hypertrophy, the size of the left atrium, the remodeling of LV, the mass of LV, the thickness of the septum, the thickness of the posterior wall, the end-diastolic volume of the left ventricle.

## REFERENCES

1. Голухова Е.З. Оценка внутрижелудочковой асинхронии у больных ишемической болезнью сердца. Креативная кардиология. 2009; 1:54–68.
2. Калинкина Т.В., Ларева Н.В., Чистякова М.В. Современные методы диагностики диастолической дисфункции левого желудочка у больных гипертонической болезнью. Забайкальский мед.вестник. 2016; 2:115-120.
3. Мареев Ю.В. Место ресинхронизирующей терапии в лечении пациентов с хронической сердечной недостаточностью. Сердечная недостаточность. 2011; 12(5): 297–301.
4. Павленко С.В., Матова Е.А., Мищенко Л.А., Свищенко Е.П. Детерминанты диастолических показателей левого желудочка у пациентов разного возраста с гипертонической болезнью (по данным тканевой доплероэхокардиографии). Пробл. старения и долголетия. 2013; 22(4):380-389.
5. Ahsan A, Manna K, Yadav GS, Moinuddin A, Ahmad A, Gupta RC, Alam S Protein creatinine index: A possible predictor of nephropathy in hypertensives, in Northern India. Clin Chim Acta. 2016; Sep1(460):18-22.
6. Cardoso CRL, Leite NC, Dib E, Salles GF. Predictors of Development and Progression of Retinopathy in Patients with Type 2 Diabetes: Importance of Blood Pressure Parameters. Scientific Reports. 2017;7:4867.
7. Hochleitner M, Hörtnagl H, Ng CK, Hörtnagl H, Gschnitzer F, Zechmann W. Usefulness of physiologic dual-chamber pacing in drug-resistant idiopathic dilated cardiomyopathy. Am. J. Cardiol. 1990; 66 (2):198–202.
8. Jung HS, Seo MJ, Kim IH. Diastolic dyssynchrony is associated with exercise intolerance in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy European Heart Journal - Cardiovascular Imaging. 2016 Dec;17(Issuesuppl 2,1):102-109.
9. Looker HC, Colombo M, Hess S, Brosnan MJ, Farran B, Dalton RN et al. Biomarkers of rapid chronic kidney disease progression in type 2 diabetes. 2015 Oct; 88(Issue 4): 888–896.
10. Moss AJ, Hall WJ, Cannom DS, Klein H, Brown MW, Daubert PJ et al. Cardiac resynchronization therapy for the prevention of heart failure events. N. Engl. J. Med. 2009; 361:1329–38.
11. Podzolkov V; Tarzimanova A; Pisarev M; Gataulin R. Predictors of atrial fibrillation progression in hypertensive patients. J of Hypertension. 2018 June;36(Issue):e162.
12. Rocha EA, Pereira FTM, Abreu JS, Lima JWO, Monteiro MdePM, Neto ACR et al. Development and Validation of Predictive models of Cardiac Mortality and Transplantation in Resynchronization. Therapy. Arq Bras Cardiol. 2015 Oct; 105(4): 399–409.
13. Tang AS, Wells GA, Talajic M et al. Cardiac resynchronization therapy for mild-to-moderate heart failure. N. Engl. J. Med. 2010; 363:2385–95.
14. Yang BI, Chettiveetil D, Jones F, Aguero M, Lewis JF. Left ventricular dyssynchrony in hypertensive patients without congestive heart failure. Clin Cardiol. 2008 Dec;31(12):597-601. doi: 10.1002/clc.20350.
15. Zareba W, Klein H, Cygankiewicz I, Hall WJ, McNitt S, Brown M et al. Effectiveness of cardiac resynchronization therapy by QRS morphology in the Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial Cardiac Resynchronization Therapy (MADIT-CRT). Circulation. 2011; 123:1061–72.

## SUMMARY

### INFLUENCE OF LEFT VENTRICULAR DIASTOLIC DYSFUNCTION AND HEART DYSSYNCHRONY ON THE COURSE OF ARTERIAL HYPERTENSION WITH COMORBID PATHOLOGY

Kapustnik V., Kostuyk I., Shelest B., Brek V., Sukhonos N.

Kharkiv National Medical University, Ukraine

The aim of the study is determination of the role of left ventricular dysfunction and heart dyssynchrony in the disease's course and prognosis in patients with arterial hypertension and diabetes mellitus type 2 (DM2T) and obesity.

A retrospective analysis of clinical and special exam results was carried out in different groups: 1st group (n = 49), is characterized by worsening course (WC) of the disease, that was estimated 6 months after the beginning of the study; 2nd group (n = 86) without worsening of disease's course. The criterion of worsening course in patients was exaggeration of target-organ damage. The diastolic function of the myocardial infarction was assessed by recording the Doppler transmitral diastolic flow. Heart dyssynchrony was determined in the M-mode and pulse-wave/continuous-wave Doppler (PW/CW). The diastolic function of the LV has significant association with the progression of hypertension. The results of the study show that both slowdown and acceleration of the maximum early ventricular filling velocity (E) were indicative for patients with progression of the disease, and moderate E values was significantly more frequent in the group without progression of the disease. The maximum late ventricular filling velocity parameter (A) (acceleration) was significantly more common in the 1st group ( $p \leq 0.001$ ), and the moderate value of A index ( $\leq 0.71$  msec.) was diagnosed more often in the group without progression. Furthermore, the decline of LV relaxation velocity ( $E/A \leq 1.0$ ) was detected in the group with disease's progression significantly more often ( $p \leq 0.001$ ) compared with the 2nd group, therefore we suppose that it has a pathogenic significance. In addition, a decrease in diastolic filling time  $\leq 200$  ms, as well as a slowing of the time of isovolumic relaxation of the LV ( $IVRT \geq 201$  ms) both revealed a pathogenic significance ( $p \leq 0.001$ ), which were diagnosed more often ( $p \leq 0.001$ ) in the group with disease's progression.

Violation of diastolic function is a significant factor of the hypertension progression in patients with T2DM. The presence of LV dyssynchrony that is associated with the LV hypertrophy is a great predictor for the worsening course in hypertensive patients with T2DM and obesity.

**Keywords:** hypertension, diabetes mellitus, heart dyssynchrony, diastolic function.

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ ДИАСТОЛИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА И ДИССИНХРОНИИ СЕРДЦА НА ТЕЧЕНИЕ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ С КОМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Капустник В.А., Костюк И.Ф., Шелест Б.О., Брек В.В., Сухонос Н.К.

Харьковский национальный медицинский университет, Украина

Цель исследования - определить влияние диастолической дисфункции левого желудочка и диссинхронии сердца на

течение артериальной гипертензии у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и ожирением.

Проведен анализ результатов клинических и инструментальных методов исследований в группах: I группа (основная: n=49), в которой спустя 6 месяцев после начала исследования установлено ухудшение течения гипертензии; II группа (сравнения: n=86) - без ухудшения. Критерием ухудшения течения гипертензии явилось прогрессирование повреждения органов-мишеней. Диастолическую функцию левого желудочка (ЛЖ) определяли путем регистрации доплеровского трансмитрального диастолического потока. Сердечная диссинхрония определялась в М-режиме и импульсном/непрерывном доплеровском (PW/CW) режиме.

Результаты исследования показали, что как замедление, так и ускорение максимальной скорости раннего наполнения левого желудочка (E) являются показательными для пациентов с прогрессированием заболевания, а умеренные значения этого показателя отмечаются значительно чаще в группе без прогрессирования заболевания. Увеличение скорости позднего наполнения левого желудочка (A) присутствовало чаще у прогрессирующих пациентов ( $p \leq 0.001$ ), а умеренное значение этого параметра ( $\leq 0.71$  мсек) - в группе без прогрессирования. Снижение скорости расслабления ( $E/A \leq 1.0$ ) имеет патогенное значение, так как обнаруживается в группе с прогрессированием заболевания значительно чаще ( $p \leq 0.001$ ), чем в группе сравнения. Уменьшение времени диастолического наполнения  $\leq 200$  мс выявило патогенную значимость ( $p \leq 0.001$ ), и замедление времени изоволюмической релаксации ЛЖ ( $IVRT \geq 201$  мс), что в 3,8 раза чаще ( $p \leq 0.001$ ) диагностировано в группе с прогрессированием заболевания.

Нарушение диастолической функции является значимым фактором прогрессирования течения гипертензии, а наличие диссинхронии ЛЖ - значимым предиктором ухудшения состояния органов-мишеней у пациентов с гипертонической болезнью с сахарным диабетом 2 типа и ожирением.

## რეზიუმე

მარცხენა პარკუჭის დიასტოლური დისფუნქციის და გულის დისინქრონიის გავლენა კომორბიდული პათოლოგიით მიმდინარე არტერიულ ჰიპერტენზიაზე

ვ. კაპუსტნიკი, ი. კოსტიუკი, ბ. შელესტი, ვ. ბრეკი, ნ. სუხოносო

ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა მარცხენა პარკუჭის დიასტოლური დისფუნქციის და გულის დისინქრონიის მნიშვნელობის განსაზღვრა პაციენტებში არტერიული ჰიპერტენზიით, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით და სიმსუქნით.

ჩატარდა კლინიკური და პრეკლინიკური ფაქტორების მნიშვნელობების ანალიზი ჯგუფებში: I ჯგუფი (ძირითადი, n=49), რომელშიც კვლევის დაწყებიდან 6 თვის შემდეგ დადგენილი იყო ჰიპერტენზიის მიმდინარეობის გაუარესება; II ჯგუფი (შედარების, n=86) - გაუარესების გარეშე. მიმდინარეობის გაუარესების კრიტერიუმს წარმოადგენდა სამიზნე ორგანოების დაზიანების პროგრესირება. მარცხენა პარკუჭის (მპ) დიასტოლური ფუნქცია განისაზღვრა დოპლერის

ტრანსმიტრალური დიასტოლური ნაკადის რეგისტრაციის გზით; გულის დისინქრონია - M-რეჟიმში და დოპლერის იმპულსურ/უწყვეტ (PW/CW) რეჟიმში.

კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ მარცხენა პარკუჭის ადრეული შეკუმშვის მაქსიმალური სიჩქარის (E) როგორც შენელება, ისე აჩქარება საჩვენებელია პროგრესირებადი დაავადების მქონე პაციენტებისთვის, ხოლო ამ მაჩვენებლის ზომიერი მნიშვნელობები საგრძნობად ხშირად აღინიშნა ჯგუფში დაავადების პროგრესირების გარეშე. მარცხენა პარკუჭის დაგვიანებული შეკუმშვის სიჩქარის ზრდას (A) უფრო ხშირად აღდილი პქონდა პროგრესირებად პაციენტებში ( $p \leq 0,001$ ), ხოლო ამ პარამეტრის ზომიერი მნიშვნელობა ( $\leq 0,71$  მწმ) უფრო ხშირად აღინიშნებოდა ჯგუფში პროგრესირების გარეშე. გარდა ამისა, მოღუწების სიჩქარის შემცირებას ( $E/A \leq 1,0$ ) აქვს პათოგენური

მნიშვნელობა, ვინაიდან დაავადების პროგრესირების ჯგუფში მისი აღმოჩენა ხდებოდა მნიშვნელოვნად უფრო ხშირად ( $p \leq 0,001$ ), ვიდრე შესადარებელ ჯგუფში. დიასტოლური შეკუმშვის დროის შემცირება  $\leq 200$  მწმ გამოავლინა პათოგენური მნიშვნელობა ( $p \leq 0,001$ ) და მპ-ს ( $IVRT \geq 201$  მწმ) იზოვოლემიური რელაქსაციის დროის შენელება, რაც 3,8-ჯერ ხშირად იყო დიაგნოსტირებული ( $p \leq 0,001$ ) დაავადების პროგრესირების ჯგუფში.

დიასტოლური ფუნქციის დარღვევა წარმოადგენს პიპერტონიის მიმდინარეობის პროგრესირების მნიშვნელოვან ფაქტორს, ხოლო მპ-ს დისინქრონიის არსებობა - სამიზნე ორგანოების მდგომარეობის გაუარესების პრედიქტორს პაციენტებში პიპერტონიული დაავადებით შეპყრობილი დიაბეტი ტიპი 2-ით და სიმსუქნით.

## GENDER SPECIFIC DIFFERENCES IN REPORTING DEPRESSIVE SYMPTOMS AMONG PATIENTS HOSPITALIZED WITH ACUTE CORONARY SYNDROME

Tatishvili S., Sinita M., Jorbenadze R., Kavtaradze G., Gordeladze D.

*Tbilisi State Medical University, Department of Internal Medicine №3;  
Acad. G. Chapidze Emergency Cardiology Center, Tbilisi Georgia*

Recent evidence suggests that depression predicts the worst health-related quality of life (HRQoL) independently of the severity of coronary heart disease [3]. In patients with acute coronary syndrome (either myocardial infarction, or unstable angina) low level of depressive symptoms are associated with coronary event recurrence and morbidity [1,2,5]. In other words, patients with anxiety or depressive symptoms are more compromised independently of their clinical characteristics and risk factors [31]. Studies recommend early detection and treatment of depressive symptoms in patients with acute coronary syndrome [2].

Some trials suggest that female gender and the presence of depression are associated with the negative prognosis in patients with cardio-vascular disease (CVD) [9]. Large epidemiological trials revealed a disparity between men and women in their reports of different somatic depressive symptoms [6]. However, in patients with acute coronary syndrome gender specific characteristics in reporting depressive symptoms still remain unclear.

The aim of our study was to identify gender differences in reporting depressive symptoms in patients with acute coronary events.

**Material and methods.** Depression screening was performed in Emergency Cardiology Center (Tbilisi, Georgia) in patients with acute coronary events (non-ST elevation myocardial infarction or unstable angina). The total number of participants was 84. Patients' data were collected from hospital records. All subjects signed an informed consent at the admission to the hospital. Depression screening was approved by the ethical committee of the Tbilisi State Medical University.

Depression was assessed by the Beck Depression Inventory (BDI). Response was qualified as positive, if patient answered 1 or higher number to questions. Accordingly, a response was considered as negative, if patient replied response was 0.

Coronarography was performed in all patients. Coronary obstruction was defined as 50% and more stenosis in the left main

coronary artery or 70% and more stenosis in major coronary arteries [4].

History of arterial hypertension was categorized into two groups, negative/positive.

Body mass index (BMI) was calculated and then categorized into BMI  $\leq 25$  and  $>25$  respectively.

Tobacco consumption: All participants were classified as non-smokers and current smokers.

Ejection fraction was assessed by echocardiography. The variable for Left Ventricle Ejection Fraction (LVEF) was grouped into two categories, ejection fraction  $<40\%$  and  $>40\%$ .

Descriptive statistical tests were used for the calculation of frequencies, means and standard deviations. Chi-square test was applied for categorical variables in order to establish difference between groups. The Independent t-test was used to compare means for numerical variables «age» and «depression score». The p value was set at 0.05. All statistical tests were performed using SPSS 16.

**Results and their discussion.** Out of 84 patients, 78.6 % were men and 21.4% were women, with mean age of 59.2 (SD=10.2) years for both genders. Classic CVD risk factors were revealed in the majority of cases, particularly, 90.5% of participants were hypertensive, 72% obese and 25% diabetic. Obstructive coronary artery disease (CAD) was found in 87% of cases. 75% of participants were diagnosed of unstable angina and the remaining 25% of non-STEMI. The mean hospital length of stay (HLS) was 3.2 (SD=2.2) days. Ejection fraction  $<40\%$  was seen in 11.9% of patients. Table 1 summarizes general characteristics of patients.

Women had a higher level of depressive symptoms (BDI score = 17). By contrast, men had a higher percentage of classic risk factors (tobacco consumption, diabetes). Revascularization was performed in 63.6% of men and in 36.4% of women (Table 2).

Table 1. General characteristics of participants (n=84)

|                                      |             |
|--------------------------------------|-------------|
| Gender %                             |             |
| Men                                  | 78.6        |
| Women                                | 21.4        |
| Age ( years), Mean (SD)              | 59.2 (10.2) |
| Body mass index %                    |             |
| >25                                  | 72.6        |
| <25                                  | 21.4        |
| Smoking status%                      |             |
| Smokers                              | 38.1        |
| Non-smokers                          | 61.9        |
| History of arterial hypertension %   |             |
| Yes                                  | 90.5        |
| No                                   | 8.3         |
| Depression score, mean (SD)          | 13.3 (7.8)  |
| Hospital duration in days, mean (SD) | 3.2 (2.2)   |
| Coronary artery disease %            |             |
| Unstable angina                      | 75.0        |
| Non-STEMI                            | 25.0        |
| Diabetes %                           |             |
| Yes                                  | 25.0        |
| No                                   | 73.8        |
| Obstructive CAD %                    |             |
| Yes                                  | 86.9        |
| No                                   | 13.1        |
| Ejection fraction %                  |             |
| <40                                  | 11.9        |
| >40                                  | 75.0        |

Table 2. Characteristics of the study participants (n=84) by gender

| Characteristics                   | Men        | Women       | p value |
|-----------------------------------|------------|-------------|---------|
| Age, mean (SD)                    | 57.7 (9.7) | 64.6 (10.2) | 0.012   |
| Depression Score, mean (SD)       | 12.1 (7.3) | 17.5 (8.2)  | 0.008   |
| Obstructive CAD%                  |            |             |         |
| Yes                               | 92.4       | 66.7        | 0.004   |
| No                                | 7.6        | 33.3        |         |
| Ejection fraction %               |            |             |         |
| <40%                              | 10.5       | 25.0        | 0.137   |
| >40%                              | 89.5       | 75.0        |         |
| Revascularization%                |            |             |         |
| Yes                               | 63.6       | 36.4        | 0.259   |
| No                                | 22.2       | 77.8        |         |
| CAD%                              |            |             |         |
| Unstable angina                   | 72.7       | 83.3        | 0.357   |
| Non-STEMI                         | 27.3       | 16.7        |         |
| History of arterial hypertension% |            |             |         |
| Yes                               | 90.8       | 94.4        | 0.620   |
| No                                | 9.2        | 5.6         |         |
| Diabetes%                         |            |             |         |
| Yes                               | 30.3       | 5.9         | 0.039   |
| No                                | 69.7       | 94.1        |         |
| BMI, %                            |            |             |         |
| >25                               | 79.0       | 70.6        | 0.462   |
| <25                               | 21.0       | 29.4        |         |
| Tobacco consumption%              |            |             |         |
| Yes                               | 47.0       | 5.6         | 0.001   |
| No                                | 53.0       | 94.4        |         |

Having analyzed each BDI item, we found that compared to men, women had a higher number of depressive symptoms. Gender difference included cognitive-affective

(pessimism, indecisiveness) and somatic (sleep disturbance, worry for one's health, loss of interest in sex) factors (Table 3).

Table 3. Distribution of depressive symptoms in men and women

| N 84                           | All  | Men  | Women | p value |
|--------------------------------|------|------|-------|---------|
| Question 1. Sadness %          |      |      |       |         |
| Yes                            | 59.5 | 56.1 | 72.2  | 0.216   |
| No                             | 40.5 | 43.9 | 27.8  |         |
| Question 2. Pessimism %        |      |      |       |         |
| Yes                            | 29.8 | 21.2 | 61.1  | 0.001   |
| No                             | 70.2 | 78.8 | 38.9  |         |
| Question 3. Past failure %     |      |      |       |         |
| Yes                            | 56.0 | 53.0 | 66.7  | 0.594   |
| No                             | 44.0 | 47.0 | 33.3  |         |
| Question 4. Loss of pleasure % |      |      |       |         |
| Yes                            | 67.9 | 65.2 | 77.8  | 0.309   |
| No                             | 32.1 | 34.8 | 22.2  |         |
| Question 5. Guilty feelings %  |      |      |       |         |
| Yes                            | 26.4 | 24.2 | 33.3  | 0.505   |
| No                             | 73.8 | 75.8 | 66.7  |         |
| Question 6. Punish feelings    |      |      |       |         |
| Yes                            | 34.5 | 34.8 | 33.3  | 0.905   |
| No                             | 65.5 | 65.2 | 66.7  |         |
| Question 7. Self dislike       |      |      |       |         |
| Yes                            | 11.9 | 10.6 | 16.7  | 0.482   |
| No                             | 88.1 | 89.4 | 83.3  |         |
| Question 8. Self criticalness  |      |      |       |         |
| Yes                            | 51.2 | 51.5 | 50.0  | 0.909   |
| No                             | 48.8 | 48.5 | 50.0  |         |
| Question 9. Suicidal wish      |      |      |       |         |
| Yes                            | 7.1  | 7.6  | 5.6   | 0.768   |
| No                             | 92.9 | 92.4 | 94.4  |         |
| Question 10. Crying            |      |      |       |         |
| Yes                            | 17.9 | 15.2 | 27.8  | 0.215   |
| No                             | 82.1 | 84.8 | 72.2  |         |
| Question 11. Agitation         |      |      |       |         |
| Yes                            | 50.0 | 45.5 | 66.7  | 0.111   |
| No                             | 50.0 | 54.5 | 33.3  |         |
| Question 12. Loss of interest  |      |      |       |         |
| Yes                            | 44.0 | 40.9 | 55.6  | 0.267   |
| No                             | 56.0 | 59.1 | 44.4  |         |
| Question 13. Indecisiveness    |      |      |       |         |
| Yes                            | 52.4 | 43.9 | 83.3  | 0.003   |
| No                             | 47.6 | 56.1 | 16.7  |         |
| Question 14. Worthless         |      |      |       |         |
| Yes                            | 32.1 | 28.8 | 44.4  | 0.207   |
| No                             | 67.9 | 71.2 | 55.6  |         |
| Question 15. Loss of energy    |      |      |       |         |
| Yes                            | 72.6 | 72.7 | 72.2  | 0.966   |
| No                             | 27.4 | 27.3 | 27.8  |         |
| Question 16. Sleep disturbance |      |      |       |         |
| Yes                            | 77.4 | 72.7 | 94.4  | 0.050   |
| No                             | 22.6 | 27.3 | 5.6   |         |
| Question 17. Fatigue           |      |      |       |         |
| Yes                            | 88.1 | 87.9 | 88.9  | 0.907   |
| No                             | 11.9 | 12.1 | 11.1  |         |

|                                     |      |      |      |       |
|-------------------------------------|------|------|------|-------|
| Question 18. Appetite disturbance   |      |      |      |       |
| Yes                                 | 47.6 | 48.5 | 44.4 | 0.761 |
| No                                  | 52.4 | 51.5 | 55.6 |       |
| Question 19. Weight loss            |      |      |      |       |
| Yes                                 | 41.7 | 40.9 | 44.4 | 0.787 |
| No                                  | 58.3 | 59.1 | 55.6 |       |
| Question 20. Worry for one's health |      |      |      |       |
| Yes                                 | 54.8 | 47.0 | 83.3 | 0.006 |
| No                                  | 45.2 | 53.0 | 16.7 |       |
| Question 21. Loss interest in Sex   |      |      |      |       |
| Yes                                 | 58.3 | 48.5 | 94.4 | 0.000 |
| No                                  | 41.7 | 51.5 | 5.6  |       |

Study results supports our hypothesis that women report greater number of depressive symptoms despite higher prevalence of coronary risk factors (diabetes, smoking) and obstructive CAD among men. In other words, disease severity and lifestyle risk factors were not be associated with depressive symptoms. This indicates that there are some coping mechanisms in men, which have protective effect against depression.

Having analyzed responses to each BDI question, we found that the difference between men and women included two cognitive-affective (pessimism and indecisiveness) and three somatic (sleep disturbance, worry for one's health and loss of interest in sex) factors. It must be mentioned, that the sleep disturbance can be present in patients with acute coronary syndrome as well. Moreover, the association between sleep disturbance and coronary events were shown in some trials [8]. Therefore, further research is needed to identify gender specific factors (cognitive or somatic) that mediate causal relationship between acute coronary events and depression.

Anyway, since a negative impact of depression after acute coronary syndrome (ACS) was documented in a number of trials, AHA scientific statement gave a recommendation to elevate depression to the status of a risk factor for adverse medical outcome in patients with ACS [5].

Limitations. Some evidence suggests, that women hospitalized for acute coronary syndrome report a different number of depressive symptoms based on age [7]. However, our sample size was too small to stratify participants by age groups in order to assess age-related prevalence of depressive symptoms.

In conclusion, our main message is that women hospitalized with acute coronary syndrome report greater number of depressive symptoms compared with men. Early detection of depressive symptoms will help healthcare providers reduce risks and improve outcomes associated with ACS.

## REFERENCES

1. de Miranda Azevedo R, Roest AM, Carney RM, Denollet J, Freedland KE, Grace SL, Hosseini SH, Lane DA, Parakh K, Pilote L, de Jonge P. A bifactor model of the Beck Depression Inventory and its association with medical prognosis after myocardial infarction. *Health Psychol.* 2016; 35(6):614-24.
2. Kang HJ, Stewart R, Bae KY, Kim SW, Shin IS, Hong YJ, Ahn Y, Jeong MH, Yoon S, Kim JM. Predictors of depressive disorder following acute coronary syndrome: Results from K-DEPACS and EsDEPACS. *J Affect Disord.* 2015; 181:1-8.

3. Kim JM, Stewart R, Bae KY, Kang HJ, Kim SW, Shin IS, Hong YJ, Ahn Y, Jeong MH, Yoon JS. Effects of depression co-morbidity and treatment on quality of life in patients with acute coronary syndrome: the Korean depression in ACS (K-DEPACS) and the escitalopram for depression in ACS (EsDEPACS) study. *Psychol Med.* 2015; 45(8):1641-52.
4. Ko DT, Tu JV, Austin PC, Wijeyesundera HC, Samadashvili Z, Guo H, Cantor WJ, Hannan EL. Prevalence and extent of obstructive coronary artery disease among patients undergoing elective coronary catheterization in New York State and Ontario. *JAMA.* 2013; 310(2): 163-9.
5. Lichtman, J.H., Froelicher, E.S., Blumenthal, J.A., Carney, R.M., Doering, L.V., Frasure-Smith, N., Freedland, K.E., Jaffe, A.S., Leifheit-Limson, E.C., Sheps, D.S., Vaccarino, V., Wulsin, L., American Heart Association Statistics Committee of the Council on Epidemiology and Prevention and the Council on Cardiovascular and Stroke Nursing. 2014. Depression as a risk factor for poor prognosis among patients with acute coronary syndrome: systematic review and recommendations: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 129, 1350–1369
6. Patricia Oliveira Guimaraes, Christopher B. Granger, Amanda Stebbins, Karen Chiswell, Claes Held, Judith S. Hochman, Susan Krug-Gourley, Eva Lonn, Renato D. Lopes, Ralph A. H. Stewart, Dragos Vinereanu, Lars Wallentin, Harvey D. White, Nicolas Danchin, Sex Differences in Clinical Characteristics, Psychosocial Factors, and Outcomes Among Patients With Stable Coronary Heart Disease: Insights from the STABILITY (Stabilization of Atherosclerotic Plaque by Initiation of Darapladib Therapy) Trial. *Am Heart Assoc.* 2017; 6:e006695.
7. Sanner J.E., Frazier L., Udtha M. Self-Reported Depressive Symptoms in Women Hospitalized for Acute Coronary Syndrome. *J Psychiatr Ment Health Nurs.* 2013; 20(10): 913–920.
8. Suzanne M. Bertisch, Benjamin D. Pollock, Murray A. Mittleman, Daniel J. Buysse, Lydia A. Bazzano, Daniel J. Gottlieb and Susan Redline. Insomnia with objective short sleep duration and risk of incident cardiovascular disease and all-cause mortality: Sleep Heart Health Study. *Sleep* 2018; 41(6).
9. Qing Wu, MD, ScD and Juliana M. Kling, MD, MPH. Depression and the risk of myocardial infarction and coronary death. A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies Depression and the Risk of Myocardial Infarction and Coronary Death. A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Medicine* Volume 95, Number 6, February 2016.

## SUMMARY

### GENDER SPECIFIC DIFFERENCES IN REPORTING DEPRESSIVE SYMPTOMS AMONG PATIENTS HOSPITALIZED WITH ACUTE CORONARY SYNDROME

Tatishvili S., Sinitsa M., Jorbenadze R., Kavtaradze G., Gordeladze D.

*Tbilisi State Medical University, Department of Internal Medicine №3, Acad. G. Chapidze Emergency Cardiology Center, Tbilisi Georgia*

In patients with acute coronary syndrome (ACS) low level of depressive symptoms is associated with coronary event recurrence and morbidity. Large epidemiological trials revealed that there is a disparity between males and females in their reports of different somatic depressive symptoms. The aim of our study was to identify gender differences in reporting depressive symptoms in patients with acute coronary events. Depression screening using BDI questionnaire was performed in patients with ACS in Emergency Cardiology center, Tbilisi, Georgia. The total number of participants was 84. Patients' data were collected from hospital records. Descriptive statistical tests were used for the calculation of frequencies, means and standard deviations. Chi-square test was applied for categorical variables in order to establish difference between groups. The Independent t-test was used to compare means for numerical variables. The mean age for both genders was 59.2 (10.2) years. Classic coronary risk factors were more prevalent in men than in women. However, women, compared to men have a greater number of cognitive as well as somatic depressive symptoms. Women hospitalized with an acute coronary syndrome reported greater number of depressive symptoms compared to men. Early detection of depressive symptoms will help healthcare providers reduce risks and improve outcome of ACS.

**Keywords:** cardio-vascular disease, Beck depression inventory, ejection fraction left ventricle.

## РЕЗЮМЕ

### РАЗЛИЧИЯ ЖАЛОБ НА ДЕПРЕССИВНЫЕ СИМПТОМЫ СРЕДИ БОЛЬНЫХ, ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛА

Татишвили С.М., Синица М.В., Джорбенадзе Р.А., Кавтарадзе Г.В., Горделадзе Д.Г.

*Тбилисский государственный медицинский университет, департамент внутренней медицины №3; Центр неотложной кардиологии им. Г. Чапидзе, Тбилиси, Грузия*

Степень депрессии среди пациентов с острым коронарным синдромом зависит от увеличения числа последующих коронарных событий. Исследования показали, что симптомы депрессии (соматические и когнитивные) различаются в зависимости от пола. Целью исследования явилось определение различий в симптомах депрессии у мужчин и женщин, больных острым коронарным синдромом. Скрининг депрессии проведен в Центре неотложной кардиологии им. Г. Чапидзе. Критериями включения в исследование являлись наличие нестабильной стенокардии или

инфаркта миокарда без элевации ST сегмента. Исследовано 84 больных. Для расчета частот, средних значений и стандартных отклонений использованы методы дескриптивной статистики, тест  $\chi^2$  использовали для сравнения категоризированных переменных, а количественных переменных - t тест независимых групп. Данные клинических и лабораторных результатов заимствованы из историй болезни пациентов. Средний возраст пациентов составил  $59.2 \pm 10.2$  лет. У пациентов мужского пола факторы риска ишемической болезни сердца встречались чаще, чем у женщин, тогда как высокий уровень когнитивных и соматических симптомов депрессии выявлены у женщин. У женщин с острым коронарным синдромом показатель частоты симптомов депрессии был выше, чем у мужчин. Для улучшения прогноза последствий острого коронарного синдрома значительную роль играет своевременное выявление депрессии и её лечение.

## რეზიუმე

სქესობრივი განსხვავება დეპრესიის სიმპტომების მიხედვით მწვავე კორონარული სინდრომით ავადმყოფებში

ს. ტატიშვილი, მ. შინიცა, რ. ჯორბენაძე, გ. ქავთარაძე, დ. გორდელაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, შინაგანი მედიცინის №3 დეპარტამენტი; აკად. გ. ჩაფიძის სახ. გადაუდებელი თერაპიის ცენტრი, თბილისი, საქართველო

მწვავე კორონარული სინდრომით პაციენტებში დეპრესიის ხარისხი დაკავშირებულია შემდგომი კორონარული მოვლენების სიხშირის მატებასთან. კვლევებმა აჩვენა, რომ დეპრესიის სიმპტომები (სომატური თუ კოგნიტური) სხვადასხვა სქესის პირებში განსხვავებულია. კვლევის მიზანს წარმოადგენდა მწვავე კორონარული სინდრომით ქალებსა და მამაკაცებში დეპრესიის სიმპტომების მიხედვით განსხვავების გამოვლენა. დეპრესიის სკრინინგი ჩატარდა გადაუდებელი კარდიოლოგიის ცენტრში. კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმს წარმოადგენდა მწვავე კორონარული სინდრომის არსებობა. კვლევაში ჩართული იყო 84 პაციენტი. პაციენტების კლინიკური და ლაბორატორიული გამოკვლევების შესახებ მონაცემები მოძიებული იყო პაციენტების ავადმყოფობის ისტორიებიდან. კვლევისთვის გამოყენებული იყო აღწერითი სტატისტიკა სიხშირების, საშუალოების და საშუალო სტანდარტული გადახრების გამოსათვლელად,  $\chi^2$  ტესტი კატეგორიზებული ცვლადების შესადარებლად და დამოუკიდებელი ჯგუფების t ტესტი – რაოდენობრივი ცვლადების შედარებისათვის. პაციენტთა საშუალო ასაკი იყო  $59.2 \pm 10.2$  წ. მამაკაც პაციენტთა უმრავლესობას ქალებთან შედარებით უფრო მაღალი სიხშირით აღენიშნებოდა კორონარული დაავადების რისკის ფაქტორები. ხოლო დეპრესიის კოგნიტური და სომატური სიმპტომების სიხშირე უფრო მაღალი იყო ქალებში. მწვავე კორონარული სინდრომით ქალებში გამოვლინდა უფრო მაღალი დეპრესიის სიმპტომების სიხშირე მამაკაცებთან შედარებით. დეპრესიის დროული გამოვლენა და მისი მართვა მნიშვნელოვანია მწვავე კორონარული სინდრომის მქონე პაციენტებში პროგნოზის გაუმჯობესებისათვის.

## FACTORS AFFECTING THE FATAL OUTCOME IN HIV-INFECTED PATIENTS WITH ENCEPHALITIS

Hvozdetzka M., Kozko V., Yurko K., Gavrylov A., Solomennyyk A.

*Kharkiv National Medical University, Ukraine*

According to World Health Organization statistics, there are more than 36,7 million people living with human immunodeficiency virus (HIV) nowadays. However, their actual quantity significantly exceeds the statistical data. Approximately 60% of people with HIV know their status and other 40% (over 14 million people) still need to access HIV testing services. High mortality rates among HIV-infected people and the rate of HIV-infection have a high demographic, social and economic significance for the whole world.

Based on data of the Public Health Center of the Health Ministry of Ukraine 14667 new cases of HIV were registered in 2017. According to UNAIDS experts, in Ukraine lives up to 240 thousand HIV-infected people and only 86,000 of them receive antiretroviral therapy (ART). Our country remains the leader in Europe in terms of the spread of HIV-infection [1].

Despite of highly active ART up to 40-70% of HIV-infected people have clinically different neurological manifestations, but according to autopsy data, this figure reaches 80-90% [2-4]. Neurologic complications of HIV can be primary, caused by HIV itself and secondary due to opportunistic infections (OIs) [5]. Studies presented that OIs are the most common causes of neurologic disorders in HIV/AIDS patients in developing countries and its remain a major cause of morbidity and mortality in HIV-positive (+) individuals [5-7]. Additionally, more than 20 percent of patients with HIV infection remain undiagnosed, and may initially present with AIDS-defining illnesses [8].

With progressive decline of immune function, the central nervous system (CNS) becomes susceptible to OIs and malignancy. The most common CNS OIs in late stage of HIV-infection are cerebral toxoplasmosis, herpes viral encephalitis, cryptococcal meningitis, primary central nervous system lymphoma, progressive multifocal leukoencephalopathy and neurotuberculosis [9,10]. Diagnosis of neurologic complications in HIV(+) patients has difficulties. Clinical manifestations may be atypical, mixed infections frequently coexist, and a number of differential diagnoses may need to be considered [9].

Unknown HIV-positive status, antiretroviral drug resistance, poor drug compliance, drug or alcohol abuse, hepatitis C, comorbidities such as stroke associated with metabolic syndrome are important contributory factors to the neurologic manifestations of HIV infection [5,11]. Analyzing the existing literature, we found similar studies only in HIV-infected individuals with cryptococcal meningitis, authors showed some factors that may contribute to death: high cerebrospinal fluid (CSF) cryptococcal antigen titer, low Glasgow coma scale (GCS) score, evidence of papilledema, CSF cell count >100cell/ml before treatment (contrary to other study showed low CSF cell count as a risk factor of death), low body weight, focal neurologic deficits, high CSF opening pressure, defaulting ART and vomiting, older age [12-18]. Another study in HIV-individuals with CNS complications in Ethiopia showed seizures and sensorium disturbance as factors associated with poor outcome [19]. About factors affecting mortality in case of other OIs of CNS information are extremely few, that makes direction of our study relevant.

The present study is aimed to assess factors affecting the fatal outcome in HIV(+) patients with encephalitis due to OIs.

**Material and methods.** 53 HIV-infected patients with encephalitis cause by OIs were enrolled to our study. Retrospectively they were divided in 2 groups: first one is HIV(+) patients with encephalitis who died (n=22) and second – HIV(+) patients with encephalitis who survived (n=31). All patients gave written consent to voluntary participation in the study. The inclusion of patients in the study conducted with the selection criteria. Inclusion criteria were: age of patients from 18 up to 61 years; HIV-infection with fourth clinical stage, presence of neurologic disorders with laboratory confirmed encephalitis due to OIs. Exclusion criteria were: prisoners, absence of voluntary consent of the patients to participate in the study, pregnancy and other neurologic disorders such as: acute disorders of cerebral circulation, brain tumors, multiple sclerosis etc. Other severe conditions that may affect on clinical course of the disease: coagulopathies, diabetes, cancer, generalized sarcoma Kaposi, disseminated tuberculosis etc.

Data that we used in our study was extracted from medical case records and it included: age, sex, anamnesis of the disease and life, clinical manifestation at the moment of admission to the hospital, co-morbidities and laboratory results (clinical and biochemical CSF and blood results; levels of CD4, CD3 cells and viral load of HIV).

The diagnosis of HIV-infection in all of the examined patients was established according to the clinical classification of HIV-infection stages in adults and adolescents (WHO, 2006, revised in 2010) after research into the presence of specific HIV antibodies by ELISA methods and further confirmation of their specificity by western blot. The level of viral load of HIV-1 RNA in the blood was determined by quantitative polymerase chain reaction (PCR). The levels of CD4 +, CD3 + were determined by flow cytometry.

Clinical and biochemical studies of CSF were performed to confirm the diagnosis of encephalitis as well as a brain MRIs. The etiological agent of encephalitis was detected with CSF culture studies for fungi and bacteria; PCR for cytomegalovirus (CMV), varicella-zoster virus (VZV), herpes simplex virus 1 and 2 (HSV), Epstein-Barr virus (EBV), herpes human virus 6 (HHV6) were done for all patients. The study was approved by the Bioethics committee of Kharkiv National Medical University, Ukraine № 8 from 05.10.2016.

The Fisher's angular transformation was used to compare the categorical variables. P-values less than 0,05 were considered statistically significant. Microsoft Excel and «BioStat» programs were used for calculating.

**Results and their discussion.** All 53 HIV(+) patients who were included in study were admitted to Kharkiv Regional Infectious Hospital, Ukraine, with the symptoms of nervous system involvement. All patients had fourth clinical stage of HIV-infection. Data from Table 1 show that there is no significant difference between comparison groups relative to age or sex.

Table 1. Distribution of patients in groups according to their sex and age

| Variables |        | Non-survivors (n=22) |       | Survivors (n=31) |       | P value |
|-----------|--------|----------------------|-------|------------------|-------|---------|
| Sex       | Male   | 11                   | 50%   | 16               | 51,6% | >0,05   |
|           | Female | 11                   | 50%   | 15               | 48,4% | >0,05   |
| Age       | ≤35    | 8                    | 36,4% | 13               | 41,9% | >0,05   |
|           | 36-45  | 10                   | 45,4% | 15               | 48,4% | >0,05   |
|           | ≥46    | 4                    | 18,2% | 3                | 9,7%  | >0,05   |

Table 2. Distribution of patients in groups according to clinical features

| Variables                      |           | Total % | Nonsurvivors n=22 |       | Survivors n=31 |       | P, value |
|--------------------------------|-----------|---------|-------------------|-------|----------------|-------|----------|
| Headache                       |           | 50,9%   | 9                 | 40,9% | 18             | 58,1% | >0,05    |
| Vomiting                       |           | 13,2%   | 4                 | 18,2% | 3              | 9,7%  | >0,05    |
| Dizziness                      |           | 20,8%   | 4                 | 18,2% | 7              | 22,6% | >0,05    |
| Double vision                  |           | 5,7%    | 3                 | 13,6% | 0              | 0     | <0,05*   |
| General condition              | moderate  | 62,3%   | 6                 | 27,3% | 27             | 87,1% | <0,001   |
|                                | severe    | 37,7%   | 16                | 72,7% | 4              | 12,9% | <0,001   |
| Temperature, °C                | ≤37       | 60,4%   | 12                | 54,5% | 20             | 64,5% | <0,05*   |
|                                | 37,1–37,9 | 18,9%   | 3                 | 13,6% | 7              | 22,6% | <0,05*   |
|                                | ≥38,1     | 20,7%   | 7                 | 31,9% | 4              | 12,9% | <0,05*   |
| GCS                            | ≤14       | 39,6%   | 14                | 63,6% | 7              | 22,6% | <0,01    |
| Neck stiffness score           | no        | 47,1%   | 5                 | 22,7% | 20             | 64,5% | <0,001   |
|                                | ≥3        | 22,6%   | 10                | 45,5% | 2              | 6,5%  | <0,001   |
| Kerning's sign                 |           | 49,5%   | 15                | 68,2% | 11             | 35,5% | <0,05    |
| Encephalopathy                 |           | 77,3%   | 18                | 81,8% | 23             | 74,2% | >0,05    |
| Cognitive disorders            |           | 52,8%   | 12                | 54,5% | 16             | 51,6% | >0,05    |
| Emotional disorders            |           | 62,2%   | 15                | 68,2% | 18             | 58,1% | >0,05    |
| Convergence reduction          |           | 58,5%   | 7                 | 31,8% | 24             | 77,4% | <0,01    |
| Photoreaction reduction        |           | 13,2%   | 4                 | 18,2% | 3              | 9,7%  | > 0,05   |
| Nystagmus                      |           | 30,1%   | 9                 | 40,9% | 7              | 22,6% | >0,05    |
| Anisocoria                     |           | 13,2%   | 6                 | 27,3% | 1              | 3,2%  | <0,01    |
| Ptosis                         |           | 28,3%   | 11                | 50%   | 4              | 12,9% | <0,01    |
| Exophthalmos                   |           | 7,54%   | 3                 | 13,6% | 1              | 3,2%  | > 0,05   |
| Ataxia                         |           | 77,4%   | 17                | 77,3% | 24             | 77,4% | >0,05    |
| Muscle weakness                |           | 52,8%   | 14                | 63,6% | 14             | 45,2% | >0,05    |
| Sphincters disturbances        |           | 45,2%   | 13                | 59,1% | 11             | 35,5% | <0,05*   |
| Sensory impairment             |           | 28,3%   | 6                 | 27,3% | 9              | 29,0% | >0,05    |
| Hemi-paresis                   |           | 20,7%   | 7                 | 31,8% | 4              | 12,9% | <0,05*   |
| Para-paresis                   |           | 15,9%   | 2                 | 9,1%  | 6              | 19,4% | >0,05    |
| Pathological foot signs        |           | 15,1%   | 6                 | 27,3% | 2              | 6,4%  | <0,05    |
| Facial nerve palsy             |           | 28,3%   | 12                | 54,5% | 13             | 41,9% | >0,05    |
| Aphasia                        |           | 13,2%   | 6                 | 27,3% | 1              | 3,2%  | <0,01    |
| Dysarthria                     |           | 15,1%   | 4                 | 18,2% | 6              | 19,4% | >0,05    |
| Dysphagia                      |           | 15,1%   | 7                 | 31,8% | 1              | 3,2%  | <0,01    |
| Strabismus                     |           | 18,9%   | 6                 | 27,3% | 4              | 12,9% | >0,05    |
| Eyeball movement abnormalities |           | 16,9%   | 6                 | 27,3% | 3              | 9,7%  | <0,05*   |
| Visual reduction               |           | 20,7%   | 2                 | 9,1%  | 9              | 29,0% | <0,05    |
| Asymmetry tendon reflexes      |           | 28,3%   | 2                 | 9,1%  | 13             | 41,9% | <0,001   |
| Seizures                       |           | 1,9%    | 1                 | 4,5%  | 0              | 0     | >0,05    |

|                        |       |    |       |    |       |        |
|------------------------|-------|----|-------|----|-------|--------|
| Psychomotor agitation  | 22,6% | 7  | 31,8% | 5  | 16,1% | >0,05  |
| Hearing loss           | 5,7%  | 2  | 9,1%  | 1  | 3,2%  | >0,05  |
| Pneumonia              | 39,6% | 14 | 63,6% | 7  | 22,6% | <0,001 |
| Chronic myocardiopathy | 43,4% | 15 | 68,2% | 8  | 25,8% | <0,001 |
| Oral candidiasis       | 88,7% | 21 | 95,5% | 26 | 83,9% | >0,05  |
| HIV-nephropathy        | 16,7% | 6  | 27,3% | 3  | 9,7%  | <0,05* |
| Liver dysfunction      | 26,4% | 10 | 45,4% | 4  | 12,9% | <0,001 |
| Chronic pyelonephritis | 28,3% | 7  | 31,8% | 8  | 25,8% | >0,05  |
| Hepatitis C            | 35,9% | 6  | 27,3% | 13 | 41,9% | >0,05  |
| Anemia                 | 67,9% | 14 | 63,6% | 22 | 71%   | >0,05  |
| Chronic pancreatitis   | 28,3% | 9  | 40,9% | 6  | 19,4% | <0,05* |

\* - One-sided test used to indicate statistical significance

Table 3. Distribution of patients in groups according to laboratory findings

| Variables                 | grades | 1 group (n=22) |      | 2 group (n=31) |      | P, value |
|---------------------------|--------|----------------|------|----------------|------|----------|
|                           |        | n              | %    | n              | %    |          |
| Total protein, g/L        | ≤0,50  | 9              | 40,1 | 14             | 45,2 | >0,05    |
|                           | ≥0,51  | 13             | 59,9 | 17             | 54,8 | >0,05    |
| Cells count/L             | ≤20    | 16             | 72,7 | 22             | 71   | >0,05    |
|                           | ≥21    | 6              | 27,3 | 9              | 29   | >0,05    |
| Limfocytes, %             | ≤75    | 11             | 50   | 15             | 48,4 | >0,05    |
|                           | ≥76    | 11             | 50   | 16             | 51,6 | >0,05    |
| Glucose, mmol/L           | ≤2,5   | 9              | 40,9 | 8              | 25,8 | >0,05    |
|                           | ≥2,6   | 13             | 59,1 | 23             | 74,2 | >0,05    |
| Chlorides, mmol/L         | ≤110   | 8              | 36,3 | 21             | 67,7 | <0,05    |
|                           | ≥111   | 14             | 63,7 | 10             | 32,3 | <0,05    |
| CD3, cell/ml              | ≤600   | 14             | 93,3 | 11             | 52,4 | <0,001   |
|                           | ≥601   | 1              | 6,7  | 10             | 47,6 | <0,001   |
| CD4, cell/ml              | ≤50    | 11             | 73,3 | 10             | 47,6 | <0,05    |
|                           | 51-100 | 3              | 20,0 | 4              | 19,0 | >0,05    |
|                           | ≥101   | 1              | 6,7  | 7              | 33,3 | <0,05    |
| Viral load, RNA copies/ml | ≤28000 | 2              | 13,3 | 12             | 37,1 | <0,001   |
|                           | ≥28001 | 13             | 86,7 | 9              | 42,9 | <0,001   |

Etiologic structure of encephalitis in mostly cases characterized by mixed pathogens such as: EBV (17%), *C. neoformans* (11,3%), EBV/*T.gondii* (11,3%), *T.gondii* (9,43%), CMV (3,77%), CMV/EBV (1,9%), HSV (1,9%), *Candida spp.* (1,9%), *C. neoformans*/EBV (1,9%), *C. neoformans*/HHV6 (1,9%), *C. neoformans*/*St. epidermidis* (1,9%), *C. neoformans*/*T.gondii*/*M. tuberculosis* (1,9%), EBV/*T.gondii*/VZV (1,9%), *C. neoformans*/*St. pneumonia* (1,9%), EBV/*St. pneumonia* (1,9%), *St. aureus*/*M. tuberculosis* (1,9%), HSV/*T.gondii* (1,9%), *St. epidermidis* (1,9%), *St. aureus* (1,9%). Only 12 HIV(+) patients from 53 had received ART prior to the admission, other 42 were ART naïve. The presence of ART was found in 32,3% of the HIV(+) patients in group of survivors, and in the alternative group it was registered in 9,1% of patients (p<0,05) [17].

Anamnesis data shows that acute onset of central nervous system deficiency occurred in the majority of HIV-infected patients with fatal outcome (68,2%) in comparison with survivors (41,9%; p<0,05), instead gradual onset of the disease was predominant for survivors and registered in 58,1% of HIV-infected

patients (p<0,05). Also duration of neurologic symptoms turned out to be significant. Manifestations of neurologic symptoms ≤1 month were registered in a significantly greater proportion of survivors (48,4%) than in patients of comparison group (27,2%, p<0,05), and more prolonged manifestations of neurologic symptoms appeared as a risk factor (p<0,05) for non-survivors.

Analysis of clinical manifestation of CNS infections in HIV(+) patients has shown that among complaints of the patients double vision determinate is a risk factor for fatal outcome. This complaint was found in 13,6% of non-survivors and didn't registered (p<0,05) in the comparison group. Talking about other complaints there are no significant differences between the comparison groups (p>0,05), only a tendency was found in the majority of HIV(+) patients with fatal outcome than in the comparison group: vomiting (in 1,9 times; p>0,05), limb weakness (in 1,3 times; p>0,05) and hearing loss (in 2,8 times; p>0,05).

In the group of non-survivors significantly more frequently than in the comparison group were diagnosed: the severe condition of the patient (p<0,001); positive neck stiffness (p<0,001);

GCS score less than 14 points ( $p<0,01$ ); aphasia ( $p<0,01$ ); dysphagia ( $p<0,01$ ); anisocoria ( $p<0,01$ ); ptosis ( $p<0,01$ ); febrile body temperature ( $p<0,05$ ); positive Kerning's sign ( $p<0,05$ ); sphincters disturbances ( $p<0,05$ ); pathologic foot signs ( $p<0,05$ ); eyeballs movement abnormalities ( $p<0,05$ ). Vision reduction ( $p<0,05$ ) and asymmetry of limb tendon reflexes ( $p<0,001$ ) in survivors were registered more often than in non-survivors. In a particular part ( $p<0,05$ ) neurologic symptoms are found in patients with fatal outcome of the disease. These data indicate the benefit of the synergistic effect of the combination of neurologic symptoms that didn't reveal any significant difference between the comparison groups (Table 2) [12,13,15,19].

It is known, that the fourth clinical stage of HIV infection is characterized by a numerous of co-morbidities and OIs [20]. Some types of co-morbidities have appeared with different frequency in comparison groups. Thus, in non-survivors in comparison with survivors, significantly more frequently were recorded: pneumonia (in 2,8 times;  $p<0,001$ ), chronic myocardiopathy (in 2,6 times;  $p<0,001$ ), HIV-nephropathy (in 2,8 times;  $p<0,05$ ); liver dysfunction (in 3,3 times;  $p<0,001$ ), chronic pancreatitis (in 2,1 times;  $p<0,05$ ) (Table 2).

Analysis of the total number of co-morbidities for one HIV(+) patient showed that a small (1-2) number of the diseases appeared relatively specific for survivors, since it was determined in 35,5% of this patients and only in 4,5% ( $p<0,001$ ) of non-survivors. Indicator  $\geq 5$  co-morbidities was recorded in 68,1% of non-survivors compared to 25,8% ( $p<0,001$ ) of survivors. Such level of co-morbidity was associated with unfavorable outcome.

CSF results showed reduction chlorides  $\leq 110$  mmol/L was a relatively specific feature for survivors, because it was determined in 67,7% of these patients and in 1,9 times less ( $p<0,05$ ) in the comparison group. Contrariwise, the level of chlorides  $\geq 111$  mmol/L in 2 times more frequently ( $p<0,05$ ) was diagnosed in a group of non-survivors. Other CSF variables didn't show any significant differences between comparison groups (Table 3).

Another factor associated with death was the level of CD3  $\leq 600$  cell/ml. It was determined in 93,3% of non-survivors and in 1,8 times less frequently in the comparison group. Higher level of CD3 ( $\geq 601$  cell/ml) was found in 47,6% of survivors and in 7,1 times less frequently ( $p<0,001$ ) in the comparison group. CD4 level  $\leq 50$  cell/ml was also relatively specific for non-survivors ( $p<0,05$ ). This indicator in range of 51-100 cell/ml was non-specific since it was found in the same number of patients in both groups ( $p>0,05$ ). The level of CD4  $\geq 101$  cell/ml was recorded in 5 times more frequently ( $p<0,05$ ) among survivors. Also the viral load of HIV  $\geq 28001$  RNA copies/ml acts as a risk factor for death ( $p<0,001$ ). Thus, development of encephalitis among HIV(+) patients in the background of significant depression of cellular immunity is an important risk factor for fatal outcome [1,21-23].

In conclusion the factors affecting the fatal outcome in HIV(+) patients with CNS infections are: the severity of the patient condition during admission, acute onset of the diseases, severity of neurologic symptoms, its duration before treatment, the degree of co-morbidity, the degree of the cellular immunity depression, viral load level of HIV in blood and absence of previous ART.

## REFERENCES

- Hoffmann C., Rockstroh J. K., HIV 2014/2015. Chief Editor: Hoffmann C., Rockstroh J. K. Eds HIV Hamburg. Medizin Focus Verlag. 2014/15. P. 906.
- Gandhi N.S., Moxley R.T., Creighton J., et al. Comparison of scales to evaluate the progression of HIV-associated neurocognitive disorder. HIV. 2010; 4(3): 371-379.
- Ferreira de Oliveira J., Greco D.B., Oliveira G.C., Christo P.P., Guimarães M.C., Corrêa-Oliveira R. Neurological disease in HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral treatment: a Brazilian experience. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2006; 39(2): 146-151.
- Weisberg L.A. Neurologic abnormalities in human immunodeficiency virus infection. South Med J. 2001; 94(3): 266-275.
- Bowen L.N., Smith B., Reich D., Quezado M., Nath A. HIV-associated opportunistic CNS infections: pathophysiology, diagnosis and treatment. Nat Rev Neurol. 2016 Oct 27; 12(11): 662-674.
- World Health Organization. WHO case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children. Geneva: World Health Organization; 2007. pp. 10-38.
- Modi M., Mochan A. Management of HIV-associated focal brain lesions in developing countries. QJM. 2004; 97(7): 413-421.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). HIV prevalence estimates – United States, 2006. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008; 57(39): 1073-1076.
- Gomes da Silva M.M., Oliveira J.F., Greco D.B., et al. Neurologic complications of HIV in the HAART era: where are we? Braz. J Infect Dis. 2012 July/Aug; 16(4).
- Patrick C.K. Neurological complications of HIV infection. Systems review. Available from: URL: <https://www.aids.gov.hk/pdf>
- Nath A. Neurologic Complications of Human Immunodeficiency Virus Infection. Neuroinfectious Disease. 2015 Dec; 21(6): 1557-76.
- Chaiwarith R., Vongsanim S., Supparatpinyo K. Cryptococcal meningitis in HIV-infected patients at Chiang Mai University Hospital: a retrospective study. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2014 May; 45(3): 636-46.
- Majumder S., Mandal S.K., Bandyopadhyay D. Prognostic markers in AIDS-related cryptococcal meningitis. J Assoc Physicians India. 2011 Mar; 59: 152-4.
- Kendi C., Penner J., Koech J. et al. Predictors of outcome in routine care for Cryptococcal meningitis in Western Kenya: lessons for HIV outpatients care in resource-limited settings. Postgrad Med J. 2013; 89(1048): 73-7.
- Lightowler J.V., Cooke G.S., Mutevedzi P., Lessels R.J., Newell M.L., Dedicoat M. Treatment of cryptococcal meningitis in KwaZulu-Natal, South Africa. PLoS One. 2010; 5: e8630.
- Anakthananon T., Manosuthi W., Chetchotiskakd P., et al. Predictors of poor clinical outcome of cryptococcal meningitis in HIV-infected patients. Int J STD AIDS. 2011; 22: 665-70.
- J. Hiesgen, C. Schutte, S. Olorunju, J. Retief Cryptococcal Meningitis in a tertiary Hospital in Pretoria, mortality and risk factors – a retrospective cohort study. International journal of STD and AIDS. 2017 Apr; 28(5): 480-485.
- Mathiesen I.H., Knudsen J.D., Gerstoft J., Cowan S., Benfield T. Outcome of HIV-1-associated cryptococcal meningitis, Denmark 198-2008. Scand J Infect Dis 2012; 44:197-200.
- Berhe T., Melkamu Y., Amare A. The pattern and predictors of mortality of HIV/AIDS patients with neurologic manifestation in Ethiopia: a retrospective study. AIDS Res Ther. 2012 Apr 10; 9: 11.
- CHU C., Selwyn P.A. A Systems-Based Approach. Complications of HIV Infection: Albert Einstein College of Medicine of Yeshiva University, Bronx, New York. Am. Fam. Physician. 2011 Feb 15; 83(4): 395-406.
- Mohammed B. Ayalew Mortality and Its Predictors among HIV Infected Patients Taking Antiretroviral Treatment in Ethiopia: A Systematic Review. AIDS Research and Treatment, 2017.
- Vrbic M., Jovanovic M., Popovic-Dragonjic L., Rankovic A., Djordjevic-Spasic M. Monitoring of immune response in virologic successfully treated HIV-infected patients in southeastern Serbia. Medicine and Biology. 2017; 19(2): 51-54.

23. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: Monitoring the response

to ART and the diagnosis of treatment. World Health Organization. 2013; 7:133–137.

## SUMMARY

### FACTORS AFFECTING THE FATAL OUTCOME IN HIV-INFECTED PATIENTS WITH ENCEPHALITIS

Hvozdetzka M., Kozko V., Yurko K., Gavrylov A., Solomennyyk A.

Kharkiv National Medical University, Ukraine

Despite the successful use of ART up to 40-70% of HIV(+) individuals have neurologic complications caused both by the HIV itself and by the reactivation of OIs on the background of severe immunodeficiency. Nowadays, there are no universally recognized criteria that allow predicting the outcome of encephalitis caused by OIs in this category of patients. The aim of our study was to assess factors affecting the fatal outcome in HIV(+) patients with CNS involvement. Retrospectively we selected 53 HIV(+) patients with confirmed encephalitis due to OIs. Depending on the outcome of the disease, patients were divided into groups: non-survivors (n=22) and survivors

(n=31), after compared their clinical manifestation, history of the disease and life, CSF results in the first days of admission. It has been established that the factors affecting the fatal outcome in HIV(+) patients with encephalitis are: the severity of the patient's condition upon admission, acuteness of the onset of the disease, the severity of neurologic symptoms, the degree of co-morbidity, the level of immunosuppression and viral load, absence of ART.

**Keywords:** HIV-infection, encephalitis, opportunistic infections, risk factors, CSF.

## РЕЗЮМЕ

### ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ЛЕТАЛЬНЫЙ ИСХОД У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ С ЭНЦЕФАЛИТАМИ

Гвоздецкая М.Г., Козько В.Н., Юрко Е.В., Гаврилов А.В., Соломенник А.О.

Харьковский национальный медицинский университет, Украина

Несмотря на успешное использование АРТ до 40-70% ВИЧ(+) лиц имеют неврологические осложнения, вызванные как ВИЧ, так и реактивацией оппортунистической инфекцией (ОИ) на фоне тяжелого иммунодефицита. В настоящее время нет общепризнанных критериев, которые позволяют прогнозировать результаты энцефалита, вызванного ОИ. Целью исследования явилось оценить факторы, влияющие на летальный исход у ВИЧ(+) пациентов с поражением ЦНС. Ретроспективно отобраны 53 ВИЧ(+) пациента с подтвержденным энцефалитом, обусловленным

ОИ. В зависимости от исхода заболевания пациенты были разделены на группы: умершие (n=22) и выжившие (n=31), затем сравнены клинические проявления, анамнез болезни и жизни, анализ цереброспинальной жидкости в первые дни госпитализации. Установлено, что факторами, влияющими на летальный исход ВИЧ(+) пациентов с энцефалитами, являются: тяжесть состояния пациента при поступлении, острота начала заболевания, тяжесть неврологических симптомов, степень коморбидности, уровень иммуносупрессии и вирусной нагрузки, отсутствие АРТ.

## რეზიუმე

ლეტალურ გამოსავალზე მომქმედი ფაქტორები აივ-ინფიცირებულ და ენცეფალიტით ავადმყოფებში

მ. გვოზეცკაია, ვ. კოზკო, ე. იურკო, ა. გავრილოვი, ა. სოლომენიკი

ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

მიუხედავად ART გამოყენებით მიღებული წარმატებული შედეგებისა 40-70% აივ-ინფექციით ვავდ-მყოფებს აღენიშნებათ ნევროლოგიური გართულებები, გამოწვეული როგორც თვით აივ-ინფექციით, ასევე ოპორტუნიზტიული ინფექციის რეაქტივაციით. მიმდინარე იმუნოდეფიციტის ფონზე. სადღეისოდ არ არსებობს ისეთი საკონსენსუსო მიღებული კრიტერიუმები, რომლებიც იძლევა ენცეფალიტის შედეგების პროგნოზირების საშუალებას.

აქედან გამომდინარე, წინამდებარე კვლევის მიზანს წარმოადგენდა აივ-ით და ცენტრალური ნერვული სისტემის დაავადებით პაციენტების ლეტალურ გამოსავალზე ზემოქმედი ფაქტორების შესწავლა. რეტროსპექტიულად შეჩვენებული იყო 53 აივ(+) პაციენტი,

ოპორტუნიზტიული ინფექციით გამოცვეული, დადასტურებული ენცეფალიტით. დაავადების გამოსავლის გათვალისწინებით, პაციენტები განაცილებული იყო 2 ჯგუფად: გარდაცვლილი (n=22) და სიკვდილს გადარჩენილი პირები (n=31). გაანალიზებული იყო კლინიკური მონაცემები, დაავადების და ცხოვრების წესის ანამნეზი, ცერებროსპინალური სითხის გამოკვლევის ანალიზი პოსტიტალიზაციის პირველ დღეებში. გამოვლენილია აივ(+) და ენცეფალიტით ავადმყოფების ლეტალურ გამოსავალზე მომქმედი ფაქტორები: პაციენტების მდგომარეობის სიმძიმე კლინიკაში შემოსვლის მომენტში, დაავადების სიმწვავე, ნევროლოგიური სიმპტომების სიმძიმე, კომორბიდობის ხარისხი, იმუნოსუპრესიის და ვირუსით დატვირთვის დონე და ART-ს არ არებობა.

## INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECTS OF SYNBIOTICS ON ALLERGOPATHY FORMATION

<sup>1</sup>Sharikadze O., <sup>2</sup>Zubchenko S., <sup>1</sup>Maruniak S., <sup>3</sup>Yuriev S.

<sup>1</sup>P Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kiev; <sup>2</sup>Danylo Halytsky Lviv National Medical University;

<sup>3</sup>Ukrainian school of molecular allergology and immunology, Kiev, Ukraine

The majority of scientists relate the beginning of epidemic increase in allergic diseases with environmental condition and progressive urbanization of the population (thorough hygiene, fewer family numbers, dietary changes and excessive use of antibiotics), which started already in the mid of the previous century [3]. Despite a rapid growth of new pharmaceutical technologies, active development of gene engineering, and elaboration of biological medicines, unavoidable increase in uncontrolled allergic pathology has been observed. Thus, a “new” strategic direction in combating allergy has appeared worldwide – search for the methods of primary prophylaxis. The key role is thought to belong to the influence of microbiota on the regulation of metabolic-immune mechanisms in the human body [2].

Intestinal microbiota of a human is an evolutionally formed individual composition of microorganisms and is regarded as a genetically defined sign. It is known that there are over  $10^{14}$  different kinds of bacteria in the human intestines. This microbiota was named commensal, despite a considerable degree of interconnection with the host's body. Thus, in 1992, a new term appeared – “hologenome” (combination of genetic material of microbiota and the host) as “a selection unit” of evolutionary development. Approximately 99% of hologenome are genes of microbial origin capable of dynamic changes throughout a person's life, including transmission of hereditary information. Thus, it can be stated that microbial DNA plays a dominant role in evolution of human immune system [18]. First of all, microbiota is regarded as a stimulating factor of immunological tolerance formation and Th1-immune response in a child's body. It is important for avoidance of early predisposition to Th2-induced allergic reactions [1]. Meanwhile, a special type of regulation of bacteria's gene expression is realized, depending on the density of the population (Quorum Sensing (QS)). Intercellular communication of bacteria in populations occurs by means of signaling molecules of QS-systems, which provides a coordinated response of bacteria to changes of environmental conditions [4]. Immunomodulating activity of intestinal microbiota in the formation of oral tolerance has been confirmed. Microorganisms by interacting with pattern recognition receptors of antigen-presenting cells provide the balance of cytokine profile on mucous membranes [5]. It is proved by the data that probiotics can change the level of cytokine production by macrophages and lymphocytes. In particular, it has been established that *Lactobacillus paracasei* ST11 reduced the production of systemic immune markers IL-5, IL-8, and IL-10 in peripheral blood [14]. In patients with pollinosis, reduction of eosinophil level and IFN- $\gamma$  in peripheral blood was observed after *B. Longum* intake, which was associated with *B. Longum* impact on Th1/Th2 balance in allergic rhinitis [6]. There were also reports about partial reduction of Th2 immune response after a course of *LGG* and *L. Gasseri*. Concerning children with a combined pathology – asthma and allergic rhinitis, consumption of probiotics caused inhibition of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-12 and IL-13 synthesis by mononuclear cells [17]. The ability of *Lactobacillus casei* Shirota to favorably change the balance of IgG and IgE levels, specific to pollen allergens in seasonal allergic rhinitis has been described [19].

Summarizing the data of scientific literature, we can assume that microbiota performs numerous functions, not encoded in human genome, however with preventive action concerning al-

lergopathy formation. Besides, it should be noted that the efficacy of each kind of microorganisms can be specific, depending upon the mechanism of influence or their combination as well as the immune system condition, especially in premature infants.

Thus, the aim of our research was to study the influence of synbiotics on bacteriological indices and the level of cytokine activity in premature infants with the assessment of its preventive role in allergopathy formation.

**Material and methods.** In National Children's Specialized Hospital “OKHMATDYT” in Kyiv of the Ministry of Health of Ukraine, 88 infants from one to four months of age, born in the period from the 28<sup>th</sup> to 37<sup>th</sup> week of gestation and average weight from 0.900 to 2.400 kg to healthy mothers and women with allergopathy, have been examined. Infants with severe congenital developmental disorders, severe infection and inborn immunodeficiency conditions were excluded from the research. All examined patients were divided into four groups, depend on parents's atopic disease and prescribing synbiotic: 1 group – 25 infants born to mothers with allergic pathology (AP) (allergic rhinitis, bronchial asthma, eczema etc.), and who received nutritional supplement synbiotic,

2 group – 20 infants born to healthy mothers and who received synbiotic,

3 group – 23 infants born to mothers with AP and who did not receive synbiotic,

4 group – 20 infants born to healthy women, without intake of synbiotic.

Obligatory methods of the research included: record of detailed anamnesis of the disease and life (mother-child), routine laboratory, instrumental and specific allergological investigations. Measurement of total serum IgE, cytokines IL-5, IL-10 and TNF- $\alpha$  in coprofiltrates was conducted by means of immunoenzymatic assay using reagents “Vector-BEST”, Ukraine and Bioscience – Bender Medsystems, USA – Austria, following instructions. Samples of blood and feces were collected before treatment and in four weeks of therapy. The research to determine histaminase activity was performed by means of “Histamine 50-Skin-Prick Test” [12].

All children received enteral nutrition containing breast milk and/or artificial adapted mixture. Tolerance to nutrition and the presence or the absence of clinical manifestations of allergic reactions was monitored every day.

Children from the first and the second groups of investigation were administered commercial synbiotic Preema sachet – nutritional supplement with probiotics and fructooligosaccharides in the dose: one billion viable microencapsulated bacteria *Lactobacillus rhamnosus GG* in combination with fructooligosaccharides. Nutritional supplement is permitted, licensed and certified by the Ministry of Health of Ukraine for newborns and young children. Daily dose was dissolved in 50 ml of breast milk or dairy mixture. Treatment lasted for two months with the control of indices every four weeks. The protocol was approved by Bioethics Commission of P.L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education according to all required conditions of confidentiality.

The data of the research were recorded in a patient's case history. Statistical processing of the results was performed by

means of a set of applied programs “SPSS 13.1” and “Excel”.

**Results and their discussion.** Analysis of a clinical characteristic given in Table 1 indicated that common problems for premature children were high incidence and duration of hospitalization in intensive care unit (on average > 24 days). From the analysis of case histories, it is obvious that children from the first and the third groups of investigation were more frequently administered antibiotics, which directly affected intestinal microbiome condition. It should be mentioned that most examined children (88.2%) were fed on breast milk only. At the same time, a high percentage of Cesarean delivery was observed in all groups of children (totally – 39.7%). This method of delivery is accompanied by impairment of a child's gastrointestinal tract contamination with a mother's

proper microflora, which further has a considerable impact on the formation of chronic somatic pathology, including allergic one [16]. Without detailed emphasis on the results of general clinical and instrumental investigations, it is worth stating that information about measurement of serum IgE for this category of children was not substantial. Thus, while determining indices in all four groups of investigation, the results revealed were not beyond age norm. On average, IgE index constituted  $45.4 \pm 5.8$  IU/ml before treatment and  $47.2 \pm 6.3$  IU/ml – after consumption of synbiotic Preema sachet in the first and the third groups (children with the risk for allergopathy development) and  $39.8 \pm 9.7$  IU/ml before and  $40.3 \pm 9.4$  IU/ml after treatment in the second and the fourth groups of children born to healthy parents.

Table 1. Clinical characteristics of children from groups of examination

| Signs                                                    | Group 1<br>n=25 | Group 2<br>n=20 | Group 3<br>n=23 | Group 4<br>n=20 |
|----------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Gestation period in weeks (m)                            | 35.1 (1.2)*     | 34.8 (1.7)*     | 34.5 (1.6)*     | 35.6 (1.4)*     |
| Gender, n                                                |                 |                 |                 |                 |
| Male                                                     | 16              | 14              | 12              | 14              |
| Female                                                   | 9               | 6               | 11              | 6               |
| Delivery specificity, n                                  |                 |                 |                 |                 |
| Natural route                                            | 18              | 12              | 15              | 12              |
| Cesarean delivery                                        | 7               | 8               | 8               | 8               |
| Weight at birth, (kg) (m)                                | 2.1 (1.2)*      | 2.1 (0.9)*      | 2.4 (1.2)*      | 2.2 (1.8)*      |
| Number of delivery, n                                    |                 |                 |                 |                 |
| 1                                                        | 14              | 15              | 12              | 8               |
| 2                                                        | 10              | 5               | 10              | 12              |
| 3                                                        | 1               | -               | 1               | -               |
| >3                                                       | -               | -               | -               | -               |
| Atopic family anamnesis in a mother/father:              |                 |                 |                 |                 |
| Eczema                                                   | 5/2             | -               | 2/4             | -               |
| Asthma                                                   | 1/3             | -               | 9/3             | -               |
| Allergic rhinitis                                        | 18/10           | -               | 6/2             | -               |
| Other allergic conditions                                | 5/8             | -               | 3/1             | -               |
| Antibiotic therapy (duration), M $\pm$ m                 | 25.7 $\pm$ 8.6  | 21.9 $\pm$ 10.2 | 18.4 $\pm$ 8.6  | 15.8 $\pm$ 9.9  |
| Hospitalization in Intensive care unit (days), M $\pm$ m | 22.4 $\pm$ 14.9 | 25.5 $\pm$ 6.4  | 31.1 $\pm$ 17.5 | 20.6 $\pm$ 16.3 |
| Only breastfeeding during treatment, n                   | 18              | 15              | 19              | 16              |
| Cigarette smoking of a mother/father, n                  | 5/12            | 2/9             | 5/4             | 4/7             |
| Animals at home, n                                       | 6               | 7               | 9               | 3               |

\* -  $p > 0.05$  - the statistical difference between the groups was absent

Table 2. Concentration of cytokines and activity of histaminase in children before treatment and in 4-week therapy

| Level of cytokines                                         | Group 1<br>n=25 | Group 2<br>n=20 | Group 3<br>n=23   | Group 4<br>n=20   |
|------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| TNF-a (pg/ml)                                              |                 |                 |                   |                   |
| Before treatment                                           | 402 $\pm$ 41.17 | 324 $\pm$ 71.92 | 398 $\pm$ 14.17   | 308 $\pm$ 16.22°  |
| In four weeks                                              | 214 $\pm$ 24.81 | 187 $\pm$ 57.91 | 302 $\pm$ 84.15*^ | 254 $\pm$ 81.11°# |
| IL -10 (pg/ml)                                             |                 |                 |                   |                   |
| Before treatment                                           | 96 $\pm$ 5.01   | 114 $\pm$ 8.34  | 68 $\pm$ 18.11*^  | 129 $\pm$ 6.20    |
| In four weeks                                              | 125 $\pm$ 9.13  | 168 $\pm$ 11.22 | 67 $\pm$ 15.14*^  | 103 $\pm$ 9.04°#  |
| Histamine 50-Skin-Prik Test<br>(in infants > 3 months), mm |                 |                 |                   |                   |
| Before treatment                                           | 3 $\pm$ 1       | 4 $\pm$ 2       | 4 $\pm$ 1         | 5 $\pm$ 0.5       |
| In four weeks                                              | 0               | 0               | 3 $\pm$ 0.5*^     | 4 $\pm$ 1°#       |

note: \* $p < 0.01$  – statistically significant differences between the first and the third groups

° $p < 0.05$  – statistically insignificant differences between the first and the fourth groups

^ $p < 0.05$  – statistically insignificant differences between the second and the third groups

# $p < 0.05$  – statistically insignificant differences between the second and the fourth groups

Bacteriological analysis of feces was done for all children before and after treatment. The results of investigation showed that there was no a significant difference in the results of bacteriological fecal analysis between groups of monitoring before administration of synbiotic. However, after 4-week treatment, the number of lacto- and bifidobacteria increased by 30% in children from the first and the second groups. Meanwhile, levels of cytokines (except for IL-5, indices of which could not be determined in coprofiltrates) TNF-alpha and IL-10 showed reliable differences, presented in Table 2.

Analysis of data in Table 2 implies that concentration of fecal TNF-alpha was high in all groups before therapy; however, after a course of treatment, reliable differences ( $p \leq 0.01$ ) were observed between groups of patients, who received synbiotic and groups of children, who did not take it. In our opinion, higher level of TNF-alpha activity before treatment is associated with the use of antibiotics, frequent Cesarean deliveries and children's stay in intensive care unit, which caused the development of gastrointestinal tract inflammation with high risk for allergopathy development than in to healthy infant [11]. It should be emphasized that on examination of premature infants, IL-10 indices were lower in children from the first and the third groups, where mothers had positive allergological anamnesis as compared to the groups of children born to healthy mothers. In premature children, colonization of gastrointestinal tract has its peculiarities, caused by Cesarean delivery, intake of antibiotics (mother or newborns), parenteral nutrition, delay of enteral feeding gestational age, and weight at birth, stay of the newborns at intensive care unit, absence of the first contact with a mother's skin and colostrum microflora etc. Thus, in premature infants with changes in microbiome, frequent development of different forms of inflammation in gastrointestinal tract is possible, which may further initiate allergopathy formation [9]. Having analyzed literature data, we can infer that the fact of decrease in anti-inflammatory cytokine activity plays a significant role in the development of allergic inflammation. It is known that IL-10, synthesized by activated T-lymphocytes, especially T-reg, B-lymphocytes, monocytes, macrophages, neutrophils, mast cells, performs many regulatory functions [10]. First of all, it inhibits secretion of IL-1 $\alpha$  and - $\beta$ , IL-6, CXCL8/IL-8, IL-12, G-CSF, GM-CSF, TNF- $\alpha$  by effector cells, as well as formation of reactive forms of oxygen and nitrogen; intensifies mucosal IgA1 and IgA2 synthesis. Thus, its reverse correlation with the disease intensity is explained. It was described that IL-10 level reversely correlated with the incidence and severity of bronchial asthma as well as with allergic skin problems [8].

Thus, the obtained results before treatment can be thought of as one of the risk factors for the development of allergic pathology in children. Therefore, a reliable ( $p \leq 0.05$ ) elevation of indices in the children, who received synbiotic in comparison with the groups of children, who did not take *Preema* sachet can prove inhibition of inflammatory process [13]. If the data, which would indicate the presence of genuine allergic mechanism in pathogenesis of the disease, are absent, it is necessary to explore the presence of the so-called non-allergic (pseudoallergic) reactions by activating mast cells, directly associated with age peculiarities, and intake of numerous drugs (antibiotics, NSAIDs etc.) [15]. Based on the results of histaminase activity determination, which we conducted by means of "Histamine 50-Skin-Prick Test", it has been revealed that administration of synbiotic had a positive effect on this index not only in children from risk group of atopy development, but also in the group of infants born to healthy mothers (Table 2).

In general, studies of synbiotic influence on possible prevention of allergic symptoms should continue. Issues associated with the period of their consumption, determination of the role

of different strains of probiotics and/or synbiotics in the development not only of allergic, but also autoimmune or infectious pathology, development of secondary immunodeficiency conditions etc. still remain unsolved. Prospective and catamnestic monitoring of children in this case is very important both from scientific and practical viewpoints.

It was first evaluated that the prescript of a synbiotic in premature infants significantly affects the state of the cytokine intestine profile, regulating the level of cytokines in favor of the prevention of allergopathology. The level of cytokines in coprofiltrate in preterm infants has been determined for the first time. Infants with severe congenital developmental disorders and inborn immunodeficiency conditions were excluded from the research

**Conclusion.** Addition of synbiotic, which contains one billion viable microencapsulated bacteria *Lactobacillus rhamnosus GG* in combination with fructooligosaccharides to complex therapy of premature infants, results in regulation of cytokine balance with the tendency to reduction of inflammatory process by decrease in pro-inflammatory cytokine TNF-alpha indices in coprofiltrates and activation of IL-10 with anti-inflammatory action.

Using nutritional supplement, which contains one billion viable microencapsulated bacteria *Lactobacillus rhamnosus GG* in combination with fructooligosaccharides preventively influence allergopathy development in premature infants. However, our results need future investigations during longer period of time. The obtained data require further prospective and catamnestic monitoring of children for final determination of possible primary prevention of allergopathy by means of combination of strain *Lactobacillus rhamnosus GG* with fructooligosaccharides.

**Acknowledgement.** We are grateful to administration of National Children's Specialized Hospital "OKHMATDYT" and the staff at the department for premature infants, as well as colleagues of neonatology department and Central scientific and research laboratory of P.L. Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, department of clinical immunology and allergology of Danylo Halytsky Lviv National Medical University for support and assistance in conduction of the research. We also appreciate consent of children's parents to cooperation.

## REFERENCES

1. Бениова СН, Жидков ЕМ, Маркелова ЕВ. Роль цитокинов в патогенезе ротавирусной инфекции у детей // Медицинская Иммунология. 2007;9(6):627–630.
2. Abrahamsson TR, Wu RY, Jenmalm MC. Gut microbiota and allergy: the importance of the pregnancy period // Pediatric Research. 2015;77(1):214–219.
3. Adlerberth I, Lindberg E, Aberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegard IL, Wold AE. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: an effect of hygienic lifestyle? // Pediatr Res. 2006;59:96–101.
4. Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases // N Engl J Med. 2002;347:911–920.
5. Brunser O, Figueroa G, Gotteland M, Haschke-Becher E, Magliola C, Rochat F, Cruchet S, Palfaman R, Gibson G, Chaffard F, Haschke F. Effects of probiotic or prebiotic supplemented milk formulas on fecal microbiota composition of infants // Asia Pac Clin Nutr. 2016;15:368–376.
6. Di Gioia D, Aloisio I, Mazzola G, et al. Bifidobacteria: their impact on gut microbiota composition and their applications as probiotics in infants // Appl Microbiol Biotechnol 2014;98:563–77.
7. Eberl G. A new vision of immunity: homeostasis of the super-organism // Mucosal Immunol. 2010;3(5):450-60.

8. Golab J., Jakobisiak M., Lasek W., Stoklosa T. Immunologia. Warszawa, Wydawnictwo naukowe PWN, 2017, 497 p.
9. ronlund MM, Lehtonen OP, Eerola E, Kero P. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery // *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;28:19–25.
10. Isolauri E, Arvola T, Sutas Y, Salminen S. Probiotics in the management of atopic eczema // *Clin Exp Allergy*. 2000;30:1604–1610.
11. Kapel N, Matarazzo P, Haouchine D, Abiola N, Guérin S, Magne D, Gobert JG, Dupont C. Fecal Tumor Necrosis Factor  $\alpha$ , Eosinophil Cationic Protein and IgE Levels in Infants with Cow's Milk Allergy and Gastrointestinal Manifestations // *Clin Chem Lab Med*. 1998; 37(1):29–32
12. Kofler L, Ulmer H. et al. Histamine 50-skin-prick test: a tool to diagnose histamine intolerance // *Allergy*. 2011;35:30–45.
13. Kopp MV, Goldstein M, Dietschek A, Sofke J, Heinzmann A, Urbanek R. Lactobacillus GG has in vitro effects on enhanced interleukin-10 and interferon-gamma release of mononuclear cells but no in vivo effects in supplemented mothers and their neonates // *Clin Exp Allergy*. 2008;38:602–610.
14. Penders J, Thijs C, van den Brandt P, et al. Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study // *Gut*. 2007;56:661–7.
15. Ponvert C, Scheinmann P. Allergic and pseudoallergic reactions to analgesics, antipyretics and non-steroidal anti-inflammatory drugs // *Arch Pediatr*. 2007 May;14(5):507-12.
16. Power SE, O'Toole PW, Stanton C, et al. Intestinal microbiota, diet and health. *Br J Nutr*. 2014;111:387–402.
17. Rosenfeldt V, Benfeldt E, Nielsen SD, Michaelsen KF, Jeppesen DL, Valerius NH, Paerregaard A. Effect of probiotic Lactobacillus strains in children with atopic dermatitis // *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:389–395.
18. Rosenfeldt V, Benfeldt E, Valerius NH, Paerregaard A, Michaelsen KF. (2004) Effect of probiotics on gastrointestinal symptoms and small intestinal permeability in children with atopic dermatitis // *J Pediatr* 145: 612–616
19. Scheepers LEJM, Penders J, Mbakwa CA, et al. The intestinal microbiota composition and weight development in children: the koala birth cohort study. *Int J Obes (Lond)*. 2015;39(1):16-25.

## SUMMARY

### INVESTIGATION OF PROTECTIVE EFFECTS OF SYNBIOTICS ON ALLERGOPATHY FORMATION

<sup>1</sup>Sharikadze O., <sup>2</sup>Zubchenko S., <sup>1</sup>Maruniak S., <sup>3</sup>Yuriev S.

<sup>1</sup>P Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kiev; <sup>2</sup>Danylo Halytsky Lviv National Medical University; <sup>3</sup>Ukrainian school of molecular allergology and immunology, Kiev, Ukraine

A strategic direction of modern medicine in combating allergy is the search for new methods of primary prophylaxis, among which a key role may belong to normalization of the human body microflora.

The aim of the research was to study the influence of synbiotics on bacteriological and immune indices in premature infants evaluating their preventive role in allergopathy formation.

During prospective cohort investigation, 88 babies from one to four months of age, born on the 27th to 37th week of gestation to healthy mothers and women with allergopathy, were examined. Routine laboratory, bacteriological and instrumental inves-

tigations were performed. Measuring total serum IgE, cytokines IL-5, IL-10 and TNF- $\alpha$  in coprofiltrates was performed by means of immunoenzymatic assay. The activity of histaminase was detected by means of "Histamine 50-Skin-Prick Test". All examined patients were divided into four groups, depend on parents's atopic disease and prescribing synbiotics. For month, children from the first and the third groups were administered a commercial synbiotic – nutritional supplement with probiotics and fructooligosaccharides in the dose: one billion viable microencapsulated bacteria Lactobacillus rhamnosus GG in combination with fructooligosaccharides. Children from the second and the fourth groups were not administered synbiotic. Control of indices was conducted after 4 weeks. On bacteriological analysis of feces, the number of lacto- and bifidobacteria increased by 30% in children from the first and the third groups. Indices of total serum IgE were within age norm both before intake of synbiotic (1-2 groups) and after treatment. A reliable ( $p \leq 0.01$ ) reduction of TNF- $\alpha$  and increase in IL-10 was revealed in coprofiltrates of children, who received synbiotic Preema sachet.

Inclusion of synbiotic, which contains one billion viable microencapsulated bacteria Lactobacillus rhamnosus GG in combination with fructooligosaccharides to complex therapy of premature children results in regulation of cytokine balance with the tendency to reduction of an inflammatory process and has a preventive effect concerning allergopathy formation.

**Keywords:** Lactobacillus rhamnosus GG, allergopathy, prevention, children.

## РЕЗЮМЕ

### ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТЕКТОРНЫХ ЭФФЕКТОВ СИНБИОТИКА НА ФОРМИРОВАНИЕ АЛЛЕРГОПАТОЛОГИИ

<sup>1</sup>Шарикадзе Е.В., <sup>2</sup>Зубченко С.А., <sup>1</sup>Маруниак С.Р., <sup>3</sup>Юрьев С.Д.

<sup>1</sup>Национальная академия постдипломного образования им. П.Л. Шупика, Киев; <sup>2</sup>Львовский национальный медицинский университет им. Д. Галицкого; <sup>3</sup>Украинская академия молекулярной аллергологии и иммунологии, Киев, Украина

Стратегическим направлением современной медицины в борьбе с аллергией является поиск новых методов первичной профилактики, среди которых ключевую роль играет нормализация микрофлоры организма человека.

Целью исследования было определение влияния синбиотика на бактериологические и иммунные показатели у преждевременно рожденных младенцев с оценкой их превентивной роли на формирование аллергопатологии. В рамках проспективного когортного исследования обследовано 88 детей в возрасте от 1 до 4 месяцев, родившихся в период с 28 по 37 недель гестации от здоровых матерей и от женщин с аллергопатологией. Проведены общие лабораторные, бактериологические и инструментальные исследования. Определение общего сыровоточного IgE, цитокинов IL-5, IL-10 и TNF- $\alpha$  в копрофильтратах осуществлено с помощью ИФА. Активность гистаминазы определяли с использованием «Histamin 50-Skin-Prik Test». Все обследованные пациенты были разделены на четыре группы, в зависимости от наличия атопической болезни у родителей и приема синбиотика. Детям I и III групп в течение месяца

назначали коммерческий синбиотик Preema sachet пищевая добавка с пробиотиками и фруктоолигосахаридами в дозах: 1 млрд. жизнеспособных микроинкапсулированных бактерий *Lactobacillus rhamnosus GG* в комплексе с фруктоолигосахаридами. Детям II и IV групп синбиотика не назначали. Контроль показателей проводили до назначения препарата и спустя 4 недели после терапии. При бактериологическом исследовании кала у детей I и III групп количество лакто- и бифидобактерий увеличилось на 30%. Показатели общего сывороточного IgE находились в пределах возрастной нор-

мы как и до приема синбиотика (1, 3 группы), так и после лечения. Выявлено достоверное ( $p \leq 0.01$ ) уменьшение ТНФ- $\alpha$  и увеличение IL-10 в копрофильтратах детей, получавших синбиотик. Добавление синбиотика, который содержит 1 млрд. жизнеспособных микроинкапсулированных бактерий *Lactobacillus rhamnosus GG* в сочетании с фруктоолигосахаридами в комплексной терапии недоношенных детей обеспечивает регуляцию цитокинового баланса в сторону уменьшения воспалительного процесса и превентивный эффект по формированию аллергопатологии.

#### რეზიუმე

სინბიოტიკის ალერგოპათოლოგიის ჩამოყალიბებაზე პროტექტორული ეფექტების შეფასება

1. შარიქაძე, <sup>2</sup>ს. ზუბენკო, <sup>1</sup>ს. მარუწიაკი, <sup>3</sup>ს. იურივი

<sup>1</sup>პ. შუპიკის სახ. დიბლომის შემდგომი განათლების ეროვნული აკადემიის კიევი; <sup>2</sup>ლეოვის დ. გალისკის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>3</sup>უკრაინის მოღვაწეული ალერგოლოგიის და იმუნოლოგიის აკადემია, კიევი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სინბიოტიკის გავლენის განსაზღვრა ბაქტერიულ და იმუნერ მანევრებზე ნაადრევად დაბადებულ ჩვილებში და მისი პრევენციული, როლის შეფასება ალერგიული პათოლოგიის ჩამოყალიბებაზე. პროსექტული და კოგორტული კვლევის ჩარჩოებში შესწავლილია 88 ასალ-შობილი 1-4 თვემდე ასაკში დაბადებული გესტაციის 28-დან 37 კვირის პერიოდში ჯანმრთელი და ალერგოპათოლოგიური დედებისაგან. ჩატარდა საერთო ლაბორატორიული, ბაქტერიოლოგიური ადა ინსტრუმენტული კვლევები. შრატისმიერი IgE, ციტოკინების IL-5, IL-10 და ТНФ- $\alpha$  განსაზღვრა განხორციელდა იმუნოფერმენტული მეთოდის გამოყენებით. პისტამინაზის განსაზღვრა – “Histamin 50 - Skin - Prik” ტესტით. პაციენტები გაყოფილი იყო 4 ჯგუფად მათ მიერ სინბიოტიკის მიღების გათვალისწინებით არსებობის და მშობლების მიერ სინბიოტიკის მოხმარების გათვალისწინებით და მათი მშობლებში ატოპიული დაავადების არსებობის მიხედვით. I და III ჯგუფის ბავშვებს ერთი თვის მანძილზე დანიშნული ჰქონდათ კომერციული სინბიოტიკი Preema sachet კვებითი დანამატი პრობიოტიკებთან და ხილისოლიგოშაქრებთან

ერთად დოზით: 1 მლრდ. ცხოველყოფილი მიკროინკაფსულირებული ბაქტერიები *Liactobacillus rhamnosus GG* ხილისოლიგოშაქრებთან ერთად. II და IV ჯგუფის ბავშვებს სინბიოტიკი არ ეძლეოდათ. მანევრების კონტროლი ხორციელდებოდა პრეპარატის დანიშნამდე და მკურნალობის 4 კვირის შემდეგ. განავალის ბაქტერიოლოგიურმა გამოკვლევამ აჩვენა, რომ I და III ჯგუფის ბავშვებში ლაქტო-და ბიფიდობაქტერიების რაოდენობა გაიზარდა 30%. საერთო შრატისმიერი IgE მანევრებელი იყო ასაკობრივ ნორმაში, როგორც სინბიოტიკისა (I და III ჯგუფი) მიღებამდე, ასევე მკურნალობის შემდეგ. გამოვლინდა ТНФ- $\alpha$  სარწმუნო ( $p \leq 0,01$ ) შემცირება და IL-10 მატება ბავშვების კოპროფილტრატებში, რომლებიც დეგულობდნენ სინბიოტიკს. ნაადრევად დაბადებული ბავშვების კომპლექსურ მკურნალობაში სინბიოტიკის, 1 მლრდ. ცხოველყოფილი მიკროინკაფსულირებული ბაქტერიების *Liactobacillus rhamnosus GG* ხილისოლიგოშაქრებთან ერთად უზრუნველყოფს ციტოკინური ბალანსის რეგულაციას აანთებითი პროცესის ნიველირების მიმართებით და ალერგოპათოლოგიის ჩამოყალიბების პრევენციას.

## CHROMOSOMAL INSTABILITY AS A CYTOGENETIC MARKER IN CHILDREN WITH VARYING DEGREES OF CONTROL OF ASTHMA

Lytvynets L.

SHEE “Ivano-Frankivsk National Medical University”, Department of Pediatric Disease, Ivano-Frankivsk, Ukraine

The health state of the population in industrialized countries is largely determined by multifactorial disease the development of which is the result of environmental factors on the organism against his genetic predisposition [1, 4]. One of these diseases is asthma (BA). Based on standardized methods for assessing the prevalence of asthma in adults and children, it can be argued that the figure in different countries ranges from 1 to 18% (GINA, 2016). In 2016 in Ukraine the prevalence of asthma among children was 5.7% and in the Carpathian region - 6.1% [9].

The comprehensive examination of children with asthma is an actual problem of clinical medicine, including pediatrics. Unfavorable environmental situation, pollution of the environment leads not only to increasing the number of environmentally dependent diseases, which include asthma but also cause serious genetic abnormalities in future generations [2,9].

Meticulous examination of children with asthma is an urgent problem of clinical medicine, including pediatrics. The unfavorable ecological situation and pollution of the environment lead

not only to an increase in the number of ecologically dependent diseases, including asthma, but also cause serious genetic deviations in subsequent generations.

Despite the urgency of the problem, the genetic aspects of asthma have become the subject of active research only during the last decade as a result of the introduction into practice of high-sensitivity and specific technologies at the cellular-molecular level, which made it possible to study the finest cellular mechanisms of asthma [1,2,7,9].

Identification of interacting specific genes and exogenous factors which form human resistance to the environment is of considerable interest for clinical medicine. However, the range of reactions of different individuals to the same type of the environmental influences is rather variable, ranging from preservation of health in some people to the development of serious diseases in others. If the same effects lead to different reactions, this poses the question of causal factors of such selectivity. It is known that children are the most susceptible to harmful external factors due to the incomplete development of all functional body systems. Therefore, due to unfavourable ecological situation the problem of influence of genetic and environmental factors on the pathogenesis of chronic respiratory diseases in children and its investigation is topical today. BA is a leader among bronchial and pulmonary diseases caused by the influence of pneumotropic pollutants. The enzymes of xenobiotic biotransformation system play an important role in protecting the lungs from toxic substances [1,2,6,8]. Biotransformation consists in the modification of xenobiotic physical properties from lipophilic to hydrophilic that facilitates their removal from the body. Protection system from xenobiotics is regulated by genes of xenobiotic detoxification (GXD) and presented by three-stage process, including the first phase of activation, the second phase – the neutralization, and the third phase – excretion of xenobiotics from the body [2,4-6]. Entering the body xenobiotics are activated by enzymes of cytochromes P-450, flavin-linked monooxygenases, esterases, aldehyde dehydrogenases and microsomal epoxide hydrolases which participate in the reactions of oxidation, restoring and hydrolysis of xenobiotic molecules, forming the intermediate electrophilic metabolites – soluble compounds possessing genotoxic properties. All these enzymes are localized in the membranes of the endoplasmic reticulum and belong to microsomal or monooxygenase system or metabolism [6,7,9].

Despite the urgency of the problem, genetic aspects of asthma are the subject of the active research in the last decade as a result of the practice of highly sensitive and specific technologies in cellular and molecular level, making it possible to study subtle cellular mechanisms of asthma [1,9]. The complexity of the pathogenesis of asthma, which involves the interaction of three main components (immunological and inflammatory components, and neurogenic control), make the most probable hypothesis about the multifactorial nature of this disease. This means that the number of genes responsible for the development of asthma is large enough. According to recent studies, the following genes are located in chromosomes 1, 2p, 4q, 5p, 9, 13q, 16q, 17q, 19q, 20p, and 21q. This list is not complete and is constantly expanding. Today the mechanisms of atopic asthma is associated about 35 different genes that belong to four main classes: 1) genes responsible for predisposition to the development of atopy (increased total Ig E); 2) genes that affect Ig E-response and 3) genes of bronchial hyperreactivity, independent of atopy, 4) genes which products are involved in the formation of inflammation, regardless of Ig E.

After the international project “Human Genome”, which recognized the nature of the genetic predisposition of asthma, the

extensive searches of genes, mutations which determine the development of atopy are conducted [4-6]. The following methods are used: cytogenetic, biochemical, genealogical, twins-method, populational-statistical, molecular genetic. The cytogenetic (chromosomal analysis method) is based on microscopic examination of the structure and number of chromosomes in metaphase of mitosis and prophase - metaphase of meiosis. This method is simple, it allows to diagnose many genetic diseases, to study mutation process, complex restructuring and smallest chromosomal abnormalities in cells that have entered the phase of separation and non-separation. Moreover, cytogenetic research method is one of the effective methods for diagnostic screening clarifying the application of cytogenetic diagnostics - molecular cytogenetic method.

Worldwide, the health care system envisages the possibility of screening a patient suspected of having a genetic, chromosomal, and genomic mutation diseases. Detection of chromosomal pathology in a child requires the use of both clinical-and-genealogical and standard cytogenetic methods of analysis.

Chromosomes are the main functional autoreproductive structures of the nucleus, in which the DNA is concentrated and with which the nucleus function is linked. During the mitotic division, the chromosomes condense and are well coloured with the main dyes. The morphology of chromosomes is described by the example of the metaphase chromosome when it is condensed at the highest level and consists of two chromatids. Much attention should be paid to the continuity of the existence of chromosomes: there is neither the degradation nor the disassembling of chromosomes, but there are only two basic states: condensed – during the mitosis and decondensed – in the interphase.

The chromosome regions, which condense during mitosis and decondensate in the interphase, are called euchromatinous regions of the chromosomes. Regions which remain condensed in the interphase are called heterochromatinous regions. Euchromatinous regions are active regions of the chromosomes, they contain active genes that are in the cell from 0.0001 to 0.001 of the total number of genes. There are the following stages of mitosis of the chromosomes: prophase, metaphase (d-chromosomes), anaphase, and telophase (s-chromosomes). Moreover, metaphase chromosomes resemble letter X or a compass (acrocentric), anaphases are half thinner, and telophase chromosomes begin to decondensate. Chromosomal aberrations or alterations are changes in the structure of chromosomes, caused by the action on mutagenic factors cells (xenobiotics, ionizing radiation, carcinogens, etc.). There are several types of chromosomal aberrations: deletions, duplications, translocations, inversions.

Karyotype is a characteristics group (number, shape, size) of a person's chromosome set. Tissue culture, the cells of which are divided by mitosis, are used in karyotyping.

The results of cytogenetic studies in children with asthma, depending on the degree of controllability were not found in the processed literature and determined the purpose of our work.

Purpose - the detection of the potential changes during the study cryogenic analysis of the karyotype and structural anomalies of chromosomes by analyzing metaphase preparations of chromosomes in children with asthma with varying degrees of control.

**Material and methods.** The study involved 82 children aged 6 to 18 years, patients with asthma who were treated in Allergic Department of Regional Pediatric Hospital of Ivano-Frankivsk in 2013-2014. Diagnosis was verified in accordance with the Protocol for diagnosis and treatment of asthma in children. Regarding the level of controlled asthma as a result of the application of test control asthma (GINA, 2011) children were distributed

as follows: - 22 (30.6%) with controlled (CBA), 24 (33.3%) - is partly controlled (PCBA) 26 (36.1%) - with uncontrolled asthma (NCBA). The control group children were selected by random sampling, living in different parts of the Ivano-Frankivsk region (10 persons).

Cytogenetic study was conducted by examining prometaphase chromosome specimens of peripheral blood lymphocytes [3]. We analyzed associations of acrocentric chromosomes (AAC), especially karyotype.

Preparations of prometaphase chromosomes are obtained from peripheral blood lymphocytes, synchronizing culture. To this end, a blocking agent, methotrexate, is added to the culture. After 17 hours of further cultivation with methotrexate, the thymidine is added to the culture for 5 hours, which neutralizes the effect of the inhibitor. The following stages of preparation of pro- and metaphase chromosomes include: processing of cell cultures by colchicine and alkaloid that destroys mitotic spindle and mitosis stops at the metaphase; cell treatment with a hypotonic solution of different composition and concentration of salts (most commonly a solution of potassium chloride) in order to isolate the chromosomes of the set; processing of cells with a fixative mixture of methyl or ethyl alcohol and glacial acetic acid in a ratio of 1: 3; preparation of preparations of chromosomes by means of application on a slide of glass with the fixed cells. Key factor for this stage is to obtain on the preparation of plates with the location of each chromosome separate from others within the same plate or with the smallest number of overlays of chromosomes one by one.

The results were analyzed with the help of the computer packages licensing program "STATISTICA" StatSoft Inc. and Excel XP to Windows using parametric and nonparametric methods of calculation. All patients were examined after the receiving of the information of consent from the child and his or her parents in accordance with GCP IHC.

**Results and their discussion.** The study of karyotype of children with asthma showed a large number of AAC. Very often in children with asthma met AAC DD. These patients accounted for one third

of all the patients with asthma ( $P_n < 0.05$ ). Approximately 20% of patients with asthma were associations AC D - G and AC G - G ( $P_n < 0.05$ ). Thus,  $(4.2 \pm 2.3)\%$  of the patients with asthma had a combination AAC D - D and D - G and D - D and G - G, respectively, and most patients with the presence of such combinations were represented among children with uncontrolled and partly controlled asthma ( $P_n < 0.05$ ). In healthy and examined with a combination of CBA AAC was not found (Table).

It should be noted that the number of associations AAC differed depending on the degree of controlled asthma. Thus, in children with NCBA often observed AAC DD and G-G. Their frequency was significantly higher than the one that was defined in the control group ( $P_n < 0.05$ ) and in patients with higher control of the disease ( $p < 0.05$ ). However, in children with NCBA on metaphase plates often were identified associations of two, three and four acrocentrics.

In patients with partial control of the disease prevailed associations AAC DD and DG. And if the incidence of detection of AAC patients with DD PCBA hardly differed from the other groups examined with asthma, the incidence of AAC DG was significantly higher not only in a healthy ( $P_n < 0.05$ ), but similar in patients with varying degrees of controlled asthma ( $p < 0.05$ ). Thus, children with low control of disease activity have decreased recovery processes, which leads to inhibition capacity for elimination of AAC.

In the group of patients with CBA compared with healthy children, the associations of AC GG ( $p < 0.05$ ) are recorded significantly higher. In addition, children with asthma have lower mitotic activity compared with that in healthy ones ( $P_n < 0.05$ ), and with a lower degree of controllability mitotic activity tended to regress.

It is known that the presence of AAC indicates a decrease in reparative processes of DNA and the genetic predisposition to the occurrence of mutations and chromosomal aberrations. As a result, the ability of the cell to the elimination of AAC is reduced, which may be the cause that they aren't separated [5,9].

The growth of AAC and their combinations as far as reducing the degree of disease control in children with asthma may be related to the intensity of proliferation and migration of lymphocytes in the body in response to an antigenic stimulus. The phe-

Table. Frequency of acrocentric chromosomes and their associations in children with varying degrees of control of asthma

| Indicators of mitotic activity | NCBA <sup>1</sup><br>(N = 26), %                      | PCBA <sup>2</sup><br>(N = 24), %                       | CBA <sup>3</sup><br>(N = 22), %                        | Total <sup>4</sup><br>(N = 72), %  | Healthy <sup>5</sup><br>(N = 10), % |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|
| AAC D and D                    | $34.6 \pm 2.7$<br>$P_{1-5} < 0.05$                    | $33.3 \pm 2.9$<br>$P_{2-5} < 0.05$                     | $31.8 \pm 3.1$<br>$P_{3-5} < 0.05$                     | $33.3 \pm 1.4$<br>$P_{4-5} < 0.05$ | $20.0 \pm 4.1$                      |
| AAC D and G                    | $19.2 \pm 4.3$                                        | $33.3 \pm 2.7$<br>$P_{1-2} < 0.05$<br>$P_{2-5} < 0.05$ | $18.2 \pm 4.6$<br>$P_{2-3} < 0.05$                     | $23.6 \pm 3.8$<br>$P_{4-5} < 0.05$ | $10.0 \pm 6.4$                      |
| AAC G and G                    | $26.9 \pm 1.7$<br>$P_{1-5} < 0.05$                    | $16.7 \pm 1.2$<br>$P_{1-2} < 0.05$<br>$P_{2-5} < 0.05$ | $18.2 \pm 1.6$<br>$P_{1-3} < 0.05$<br>$P_{3-5} < 0.05$ | $20.8 \pm 3.9$<br>$P_{4-5} < 0.05$ | -                                   |
| Combination AAC D-D and D-G    | $7.7 \pm 5.7$<br>$P_{1-5} < 0.05$                     | $4.2 \pm 2.4$<br>$P_{2-5} < 0.05$                      | -                                                      | $4.2 \pm 2.3$<br>$P_{4-5} < 0.05$  | -                                   |
| Combination AAC D-D and G-G    | $7.7 \pm 5.6$<br>$P_{1-5} < 0.05$<br>$P_{1-3} < 0.05$ | $4.2 \pm 2.4$<br>$P_{2-5} < 0.05$<br>$P_{2-3} < 0.05$  | -                                                      | $4.2 \pm 2.3$<br>$P_{4-5} < 0.05$  | -                                   |
| Mitotic activity is absent     | $11.5 \pm 6.0$<br>$P_{1-5} < 0.05$                    | $8.3 \pm 5.2$<br>$P_{2-5} < 0.05$                      | $9.1 \pm 5.3$<br>$P_{3-5} < 0.05$                      | $9.7 \pm 4.8$<br>$P_{4-5} < 0.05$  | -                                   |
| Low mitotic activity           | $15.4 \pm 5.3$<br>$P_{1-5} < 0.05$                    | $12.5 \pm 5.7$                                         | $13.6 \pm 5.3$                                         | $13.9 \pm 5.8$<br>$P_{4-5} < 0.05$ | $10.0 \pm 6.4$                      |

notes: - P probability of differences of index in patients with uncontrolled (1), partly controlled (2), controlled (3) asthma, the total number of the patients with bronchial asthma (4) and healthy (5)

nomenon of polymorphism AAC, as the variability, discovered in children with asthma can be explained by the hypothesis of a possible selective value in adaptation to extreme conditions of life, in this case to hypoxia, a major clinical features characteristic of asthma [1,6].

Perhaps this is why AAC can be a criterion for the severity of asthma in children. These changes are related to the intensity of proliferation and migration of lymphocytes in the body in response to the antigenic stimulus. The placement of chromosomes in the metaphase plate of lymphocytes, which are divided in culture for the first time, corresponds to their state in the interphase nucleus of intact lymphocyte circulating in the body (Gelehrter T. D. et al., 1998). The following mitotic cycles change the architectonics of the nucleus, which is accompanied by the loss of a part of the aberrations of the chromosomes and the destruction of AAC. Thus, using the cytogenetic method, immunological activity can be studied during the investigation. Analyzing the results, it can be argued that the frequency of AAC in the studied population of lymphocytes is a more informative parameter than the number of lymphocytes with chromosomal aberrations. Carrying out several times cytogenetic studies may be monitoring activity and the degree of controllability of asthma, as well as studying the effectiveness of treatment.

Thus, analyzing the results, it can be argued that the frequency of AAC and polymorphism in the studied population of lymphocytes are informative parameters that define the severity of asthma in children and may be regarded as cytogenetic markers of disease severity. Recognition of the genetic mechanisms of asthma leads to a new understanding of the genesis of the disease and can move forward in developing methods of treatment and prevention.

**Conclusions.** 1. For children with asthma who were treated in Allergic Department of Regional Pediatric Hospital of Ivano-Frankivsk was typical polymorphism associations of acrocentric chromosomes 13-15 and 21-22 on metaphase plates and often were identified associations by DD – DG and DD - GG.

2. With the decrease of the degree of controllability of asthma in children the amount of associations of acrocentric chromosomes increases and becomes the largest expression in patients with uncontrolled bronchial asthma.

Identifying the relationship between cytogenetic parameters lymphocytes and the severity of asthma in children offers the prospect of this method in practice to improve allergy diagnosis, selection of appropriate individualized treatment and effective prevention of disease.

## REFERENCES

1. Diagnosis and treatment of asthma in childhood: a PRAC-TALL consensus report (2013). Allergy 63: 5–34
2. Global Initiative for Asthma: Revised, 2016. www.ginaasthma.org
3. Hashimoto M, Sato EE, Hashimoto K (2015) Role of adrenocorticotrophic hormone in the modulation of pollinosis induced by pollen antigens. Neuroimmunomodulation 22(4): 256-262
4. Mc Donald NJ, Bara AD (2013) Anticholinergic therapy for chronic asthma in children over two years of age. Cochrane Database. Syst. Revised 3: CD 003535
5. Okhotnikova YeN, Sharikadze YeV (2015) Features of acute treatment of bronchial obstruction syndrome in infants. Health of children 4(39): 27–30
6. Mazurina SA (2011) Role of polymorphism of genes-candidates in the development of atopic asthma. Russian allergological journal 3(1): 14–22.

7. Kocherha ZR, Kovalchuk LE (2014) Cytogenetic markers of mutagenic pollution in children of different areas of Carpathian regions. Galician drug Gazette 4(2): 63 –67.

8. Sana MD, Galeotti NJ (2017) Central neuronal functions of histamine H4 receptors. Oncotarget 8(8): 123-126.

9. Umanets TR (2015) The new practice to basis therapy of bronchial asthma in children. The Health of Ukraine 4(12): 4-5.

## SUMMARY

### CHROMOSOMAL INSTABILITY AS A CYTOGENETIC MARKER IN CHILDREN WITH VARYING DEGREES OF CONTROL OF ASTHMA

Lytvynets L.

*SHEE “Ivano-Frankivsk National Medical University”, Department of Pediatric Disease, Ivano-Frankivsk, Ukraine*

The aim of investigation was to learn cytogenetic karyotype characteristics of children with asthma, with varying degrees of control in order to find markers of disease severity. The study involved 82 children aged 6 to 18 years, patients with asthma who were treated in Allergic Department of Regional Pediatric Hospital of Ivano-Frankivsk. Regarding the level of controlled asthma as a result of the application of test control asthma (GINA, 2011) children were distributed as follows: - 22 (30.6%) with controlled (CBA), 24 (33.3%) - is partly controlled (PCBA) 26 (36.1%) - with uncontrolled asthma (NCBA). The control group children were selected by random sampling, living in different parts of the Ivano-Frankivsk region (10 persons).

Research of cytogenetic features of the karyotype in children with bronchial asthma was conducted by studying specimens of prometaphase chromosomes of peripheral blood lymphocytes. We analyzed associations of acrocentric number of chromosomes, karyotype features. The study involved 82 children aged 6 to 18 years with asthma of varying degrees of its control over the outcome of asthma control test. Children with uncontrolled asthma received significantly higher rate of chromosome acrocentric associations 13-15 (DD), 21-22 (GG) and 13-15 - 21-22 (DG). In patients with asthma we observed a lower mitotic activity compared with that in healthy ones (PN <0.05), and with a lower degree of controllability it decreased. Recognition of the genetic mechanisms of asthma leads to a new understanding of the genesis of the disease and can move forward in developing methods of treatment and prevention.

**Keywords:** asthma, children, cytogenetic.

## РЕЗЮМЕ

### ХРОМОСОМНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ, КАК ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАРКЕР У ДЕТЕЙ С РАЗНЫМ КОНТРОЛЕМ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Литвинец Л.Я.

*Государственное высшее учебное заведение “Ивано-Франковский национальный медицинский университет”, кафедра педиатрии, Украина*

Целью исследования явилось изучение характеристик кариотипа у детей с разной степенью контроля бронхиальной

астмы. Обследовано 82 детей в возрасте 6-18 лет, больных бронхиальной астмой, которые лечились в аллергологическом отделении Областной детской больницы г. Ивано-Франковск с разной степенью контроля над заболеванием по результатам использования теста контроля астмы. Степень контроля определяли согласно АТС (GINA, 2011): 22 (30,6%) с контролируемым течением астмы (КБА), 24 (33,3%) – частично контролируемая (ЧКБА) и 26 (36,1%) – неконтролируемая астма (НКБА). Группу контроля составили 10 детей аналогичного возраста, проживающие в разных регионах Ивано-Франковской области.

Исследование цитогенетических особенностей кариотипа у детей, больных бронхиальной астмой, проводили путем изучения препаратов прометафазных хромосом лимфоци-

тов периферической крови. Анализировали количество ассоциаций акроцентрических хромосом, особенности кариотипа. У детей с неконтролируемой бронхиальной астмой получена большая частота ассоциаций акроцентрических хромосом 13-15 (D-D), 21-22 (G-G) и 13-15 – 21-22 (D-G). У пациентов с бронхиальной астмой отмечена низкая митотическая активность в сравнении со здоровыми ( $P_N < 0,05$ ), причем по мере снижения степени контроля, она уменьшалась. Выявление взаимосвязи между цитогенетическими показателями лимфоцитов и тяжестью течения бронхиальной астмы у детей открывает перспективы применения этого метода в практической аллергологии для улучшения диагностики, выбора адекватной индивидуализированной терапии и своевременной профилактики заболевания.

#### რეზიუმე

ქრომოსომული არასტაბილურობა, როგორც ციტოგენეტიკური მარკერი  
ბავშვებში ბრონქული ასთმის კონტროლის სხვადასხვა ხარისხით

ლ. ლიტვინეცი

ივანო-ფრანკოვსკის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, პედიატრიის კათედრა, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა კარიოტიპის შესწავლა ბავშვებში ბრონქული ასთმის კონტროლის სხვადასხვა ხარისხით.

გამოკვლეულია 6-18 წლის ასაკის ბრონქული ასთმით დაავადებული 82 ბავშვი, რომელიც, ასთმის კონტროლის ტესტის შედეგების შესაბამისად, დაავადების კონტროლის სხვადასხვა ხარისხით მკურნალობდა ივანო-ფრანკოვსკის ბავშვთა საოლქო საავადმყოფოს ალერგოლოგიის განყოფილებაში. კონტროლის ხარისხი განისაზღვრებოდა GINA, 2011-ის მიხედვით: 22 (30,6%) - ასთმის კონტროლირებული მიმდინარეობით, 24 (33,3%) - ნაწილობრივ კონტროლირებული მიმდინარეობით და 26 (36,1%) - არაკონტროლირებული ასთმა. საკონტროლო ჯგუფი შეადგინა ივანო-ფრანკოვსკის ოლქში მცხოვრებმა ანალოგიური ასაკის 10 ბავშვმა.

ბრონქული ასთმით დაავადებული ბავშვების კარიოტიპის ციტოგენეტიკური თავისებურებების კვლევა ტარდებოდა პერიფერიული სისხლის ლიმფოციტების

პრომეტაფაზური ქრომოსომების პრეპარატების კვლევით. გაანალიზდა აკროცენტული ქრომოსომების ასოციაციების რაოდენობა, კარიოტიპის თავისებურებები.

ბავშვებში არაკონტროლირებული ბრონქული ასთმით აღინიშნა აკროცენტული ქრომოსომების 13-15 (D-D), 21-22 (G-G) და 13-15 – 21-22 (D-G) ასოციაციების მაღალი სიხშირე. ბრონქული ასთმით დაავადებულებში, ჯანმრთელებთან შედარებით, აღინიშნა უფრო დაბალი მიტოზური აქტივობა ( $P_N < 0,05$ ), რაც კონტროლის ხარისხის შემცირებასთან ერთად მცირდებოდა.

გამოვლენილი ურთიერთკავშირი ლიმფოციტების ციტოგენეტიკურ მანევრებებსა და ბრონქული ასთმის მიმდინარეობას შორის ბავშვებში ხსნის ალერგოლოგიაში ამ მეთოდის გამოყენების ახალ პერსპექტივებს დაავადების დიაგნოსტიკის გაუმჯობესების, ადეკვატური ინდივიდუალიზებული თერაპიის შერჩევის და დროული პროფილაქტიკის თვალსაზრისით.

## BIOMARKERS OF RENAL INJURY RISK IN CHILDREN WITH PYELONEPHRITIS

<sup>1</sup>Sorokman T., <sup>1</sup>Sokolnyk S., <sup>2</sup>Popelyuk O., <sup>3</sup>Makarova O., <sup>4</sup>Kopchuk T.

*Bukovinian State Medical University, <sup>1</sup>Department of Pediatrics and Medical Genetics; <sup>2</sup>Department of human anatomy Mykola Turkevich; <sup>3</sup>Department nursing of higher nursing education; <sup>4</sup>Department of Pharmacology Chernivtsi, Ukraine*

Urinary tract infections (UTIs) in adolescent children, especially with underlying vesicoureteral reflux (VUR), are of the essence for the emergence and development of irreversible damage to the parenchyma of kidneys. The most common cause of fever in case of anomalies of the urinary system is pyelonephritis (PN) [12]. Despite the fact that an intensive search for informative clinical and laboratory markers of PN in children is being conducted in recent years, this problem remains unresolved. It is known that more than 30 enzymes that are excreted in the urine

are localized in the proximal part of the canalicular system of a kidney [14]. Other parts (Henle's loop, distal tubules, collecting ducts) contain fewer enzymes. The characteristics of changes in the urinary enzyme spectrum allow determining the level, degree and character of kidney damage, as well as their functional capabilities with a high probability [4].

The role of prophylactic markers in the emergence and maintenance of irreversible changes in the kidneys, which indicates the need for their study in case of UTI, in particular in infants

with PN is not adequately described in the scientific literature. The subjectivity of clinical manifestations, accompanying the course of PN in adolescent children, as well as the lack of the reliable clinical signs of the activity of the inflammatory process necessitate the search for new diagnostic markers of the activity of the inflammatory process and fibrosis in the renal parenchyma in young children. This will amend the diagnosis of the disease, reduce the frequency of formation of irreversible changes in kidneys and help to prevent the kidney disease (KD), which is a significant global health problem due to the expansion of extracellular matrix, resulting in the loss of nephrons. Over the last decade, the prevalence of KD has increased by 42% [13]. Renal fibrosis is considered the common pathway of renal failure in end-stage KD with different etiology [6]. As the prevalence of the end-stage KD increases, the lack of established antifibrotic methods of treatment is a significant unsolved problem in clinical practice. Therefore, it is important to identify a key factor that triggers the tubulointerstitial inflammation and subsequent kidney fibrosis [10]. The participation of galectin-3 (galectin-3, Gal-3) in the remodeling and process of kidney fibrosis is rather interesting [7]. Gal-3 has an average molecular weight of 29-35 kDa, consisting of an N-terminal domain with a repeating short sequence of amino acids (total length of 110-130 amino acids). Gal-3 has the ability to bind to the cell surface and glycans and to influence various physiological and pathological processes, including cell apoptosis, adhesion, migration, angiogenesis and inflammatory reactions (Fig. 1, [5]).

Gal-3 can protect the renal tubules from chronic trauma, limiting apoptosis and enhancing the remodeling of the matrix and fibrosis fading. In the research conducted by Henderson NC et al. [2] the controversial role of Gal-3 in renal fibrosis was studied, and Gal-3 deficiency resulted in a consistent decrease of the MFb activation. In addition, these results suggest that Gal-3 effects in renal fibrosis may be related to its role in modulating of inflammation and cell apoptosis. Subsequent studies, such as the use of Gal-3 inhibitors in renal fibrosis models, are needed for the further accurate determination of the role of Gal-3 in renal fibrosis.

Expression of Gal-3 in tissues is usually associated with its proliferative effect on macrophages and fibroblasts [15]. It can be expressed on eosinophils, neutrophils and labrocytes [3,11].

A significant change in levels of Gal-3 expression in pathological conditions was reported [5] (Fig. 2). Gal-3 is promoting the formation of fibrotic tissue. It is known that fibrosis and scar formation are key processes of the renal's parenchyma remodeling. In these processes, fibroblasts, myofibroblasts and macrophages take part. Recent evidence suggests that Gal-3 plays a key role in the development of fibrosis in the liver, blood vessels, kidney, heart, and lung. [3, 15].

It is well known that Gal-3 is involved in the regulation of inflammatory processes through its role in macrophage activation, which has been demonstrated in experimental works in animals [9]. Due to its functional diversity, the value of Gal-3 in progressive kidney disease remains controversial. In the study [8], when investigating the Gal-3 primary functions in the experimental

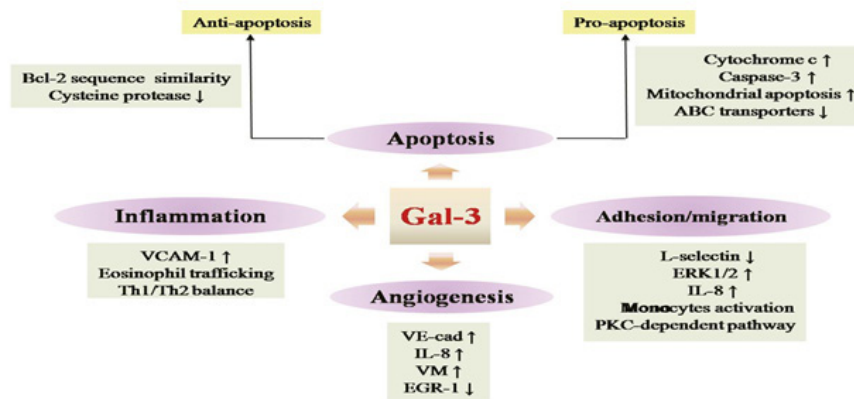


Fig. 1. The role of Gal-3 in cell apoptosis, adhesion, migration, angiogenesis and inflammation. ABC, ATP-binding cassette; EGR-1, early growth response-1; PKC, protein kinase C; VCAM-1, vascular cell adhesion molecule-1;

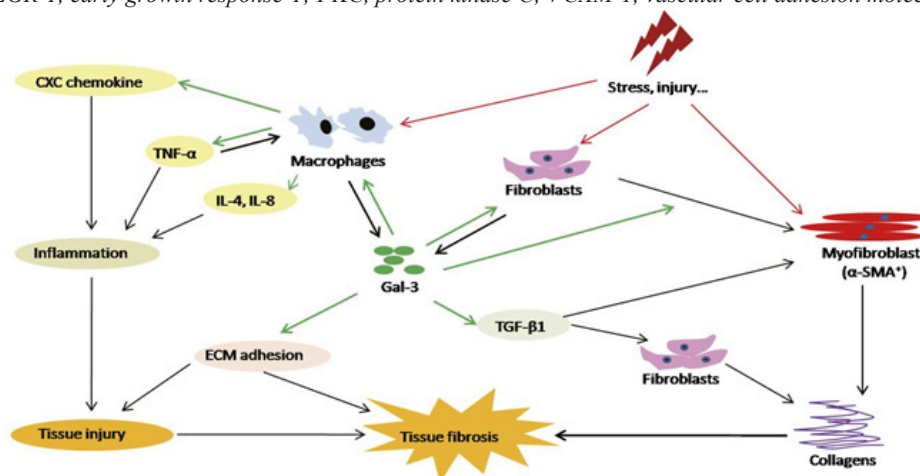


Fig. 2. The profibrotic network of Gal-3 secreted by macrophages and fibroblasts in tissue fibrosis. T NF-α, tumor necrosis factor-α. [5]

model of progressive fibrosis in Gal-3-deficient compared with wild-type mice, it was found that Gal-3 reduces renal fibrosis, limiting renal tubular apoptosis, and modulates the reconstruction of the extracellular matrix. In experimental models of moderate renal impairment, a parallel increase of Gal-3-expression and renal fibrosis could be demonstrated. These data suggest that Gal-3 may become a new participant in molecular, histological and functional changes in the initial stages of kidney damage.

**Objective** - to examine the content of organ-specific enzymes (neutral  $\alpha$ -glucosidase (NAG), L-alanine aminopeptidase (AAP),  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase (GGTP) in urine and galectin 3 (Gal-3), C-reactive protein (CPR) in blood serum.

**Material and methods.** A retrospective analysis of 125 case histories of children under the age of 1 year who were hospitalized for fever and changes in urine was conducted. A prospective, comprehensive clinical and laboratory-instrumental examination was performed in 75 children under the age of 1: 25 children with PN with underlying VUR (main group), 25 children with PN without signs of VUR (comparison group) and 25 healthy children (control group).

The inclusion criteria into the main group of the study were the following: children under 1 year of life, the prevalence of PN and VUR. The exclusion criteria were: genetic pathology, congenital malformations of organs and systems except for the urinary tract, renal dysfunction, surgical correction of VUR. The randomization method and the descriptive type of research were selected for sampling.

Clinical and laboratory examination of adolescent children with PN was carried out according to the Order of the Ministry of Health of Ukraine No.627 dated 03.11.2008 p. "On approval of the protocol for the treatment of children with urinary tract infections and tubulointerstitial nephritis"(general blood test, determination of creatinine, urea, C-reactive protein (CRP) general urine analysis, urine analysis according to Nechiporenko, urine analysis according to Zimnitsky, microbiological urine test, for girls - vaginal swab; renal ultrasound; the voiding cystography was performed for all boys in the first episode of the disease and for girls who suffered from PN repeatedly, after normalization of urine tests, excretory urography - for medical reasons).

The activity of organ-specific enzymes in the urine (neutral  $\alpha$ -glucosidase, NAG, gamma-glutamyltranspeptidase, GGTP, and L-alanine aminopeptidase, AAP activity were determined as a marker of damage to the proximal tubules. The activity of urinary NAG (EC number 3.2.1.20) was measured by the rate of glucose formation from maltose (value of maltose decayed in 1 hour in micromoles). The concentration of glucose was determined by glucose oxidase method using a set of reagents "Novogluc". The GGTP (EC number 2.3.2.2) was determined by the kinetic method using the Gamma-GT FS reagent kit. The activity of AAP (EC number 3.4.1.2) was measured by a kinetic photometric method using Sigma reagents (USA). The activity of all enzymes is attributed to 1 mmol creatinine urine. The research was carried out on a programmed photometer "STATE-FAX", a spectrophotometer "SF-2000 BIO", a semi-automatic urine analyzer "URILUX" (Roche, Switzerland).

The content of CRP and Gal-3 in serum were determined by immune enzyme method with the "HumanGalectin-3" kit (PlatinumELISA; eBioscience, BengerMedSystems, Austria) according to the manufacturer's instructions. Biomarkers' tests in patients with PN were performed three times: at initial admission to the in-patient department before the antibiotic therapy (1st test), 10 days after the start of treatment (2nd test), 1.5 months after the end of treatment (3rd test).

The results of the study were statistically processed using "STATISTICA" software packages for Windows 8.0.0. (SPSSINC.; 1989-1997), STATISTICS V.10.0 (Stat Soft Inc., 1984-1996), Microsoft Excel. The verification of the normality of the distribution of quantitative indices was carried out using descriptive statistics, statistical criteria of Shapiro-Wilk (for small samples  $n < 50$ ). In statistical variables calculating, the average arithmetic mean (M), the mean square deviation (S), the standard error (m), and the 95% confidence intervals for the arithmetic mean (SI) were calculated. In order to confirm the probability of difference, the commonly accepted in medical-biological studies probability (P) -  $p < 0,05$  was taken into account. The probability of the difference between the relative values was carried out by Fisher's Z-transformation.

The study was conducted in accordance with the ethical principles and human trial subjects are protected consistent with the principles that have their origin in the GCP ICH and the Helsinki Declaration of the World Medical Association for Biomedical Research, where the person acts as their object (World Medical Association Declaration Helsinki 1964, 2000, 2008), The Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine (2007) and the data and reported results are credible and accurate.

**Results and their discussion.** The retrospective analysis showed that the majority ( $62.99 \pm 5.33\%$ ) of hospitalized children with febrile temperature and urine changes were diagnosed with PN, which often arose with underlying congenital malformations of the urinary tract. Among them, VUR was observed in  $72.50 \pm 4.16\%$  of cases, whereas hydronephrosis ( $11.25 \pm 2.09\%$ ), polycystitis ( $7.54 \pm 1.12\%$ ) and horseshoe kidney ( $2.53 \pm 0.9\%$ ) were identified less often ( $p \leq 0.001$ ). Thus, the obtained data suggest that in most cases VUR is a risk factor for the onset of PN in young children. Nevertheless, a complex of exogenous causes was determined in  $37.54 \pm 3.63\%$  of cases, a significant role was played by overcooling and previous viral and bacterial infections. So, *Escherichia coli* was detected in 26 cases, *Proteus mirabilis* in 8, *Enterococcus faecalis* in 5, *Staphylococcus aureus* in 2 cases. For a prospective study 21 boys ( $42 \pm 1.33\%$ ) and 29 girls ( $58 \pm 2.14\%$ ) with PN were selected. The correlation between boys and girls in the group of surveyors coincides with the literature data, claiming that PN is more common in girls. Characteristics of the urinary syndrome in children are given in Table 1.

Evaluation of the activity degree of the PN was performed using the indices of leukocytosis, erythrocyte sedimentation rate (ESR), CRP. In children with PN with underlying VUR the II and III grades of inflammatory activity were significantly more frequent (22 children, 88%), whereas in children with PN without VUR the I and II grades of the inflammatory activity were identified (24 children, 96%). The severity of paraclinical symptoms in the examined children is presented in Table 2.

A comparative analysis of laboratory parameters of the inflammatory process activity in young children with PN, depending on sex, revealed a significant increase in the level of white blood cells in girls of both groups ( $15.98 \pm 1.26$  G/L in girls with PN with the underlying VUR and  $13.72 \pm 2.34$  G/L in girls with PN without VUR). In boys, the levels of leukocytes were significantly lower ( $p < 0,05$ ) and made up  $11.4 \pm 1.21$  G/L in PN with the underlying VUR and  $9.56 \pm 1.17$  G/L in PN without VUR. The same tendency was registered in the ESR and CRP indices: in girls, the levels were higher than ones in boys.

The level of enzymes in the urine was found to increase during the active phase of PN: NAG ( $96.14 \pm 4.32$ ) and GGTP ( $5.69 \pm 0.49$ ) compared with patients in the inactive phase of the disease ( $30.68 \pm 3.29$  and  $3.96 \pm 0.15$ , respectively) and healthy children ( $25.27 \pm 1.13$  and  $2.72 \pm 0.89$ ),  $p < 0.05$  (Figs. 3 and 4).

Table 1. Indicators of the urinary syndrome in the examined children

| Indicators                 | Examined children    |       |                   |       |
|----------------------------|----------------------|-------|-------------------|-------|
|                            | PN without VUR, n=25 |       | PN with VUR, n=25 |       |
|                            | abs.                 | %     | abs.              | %     |
| Urine transparency changes | 6                    | 24,4  | 15                | 60,0  |
| Bacteriuria                | 25                   | 100,0 | 25                | 100,0 |
| Proteinuria                | 4                    | 16,0  | 8                 | 32,0  |
| Leukocyturia               | 25                   | 100,0 | 25                | 100,0 |

note: PN- pyelonephritis; VUR - vesicoureteral reflux

Table 2. Indicators of the inflammatory process activity in kidneys

| Indicator           | I activity grade |    |             |    | II activity grade |    |             |    | III activity grade |   |             |   |
|---------------------|------------------|----|-------------|----|-------------------|----|-------------|----|--------------------|---|-------------|---|
|                     | PN without VUR   |    | PN with VUR |    | PN without VUR    |    | PN with VUR |    | PN without VUR     |   | PN with VUR |   |
|                     | abs              | %  | abs         | %  | abs               | %  | abs         | %  | abs                | % | abs         | % |
| Leukocytosis, 10G/l | 12               | 48 | 3           | 12 | 13                | 52 | 20          | 80 | -                  | - | 2           | 8 |
| ESR, mm/hr          | 17               | 68 | 2           | 8  | 7                 | 28 | 21          | 84 | 1                  | 4 | 2           | 8 |
| CRP, mg/l           | 16               | 64 | 2           | 8  | 8                 | 32 | 22          | 88 | 1                  | 4 | 1           | 4 |

note: PN- pyelonephritis; VUR - vesicoureteral reflux; ESR - erythrocyte sedimentation rate; CRP - C-reactive protein

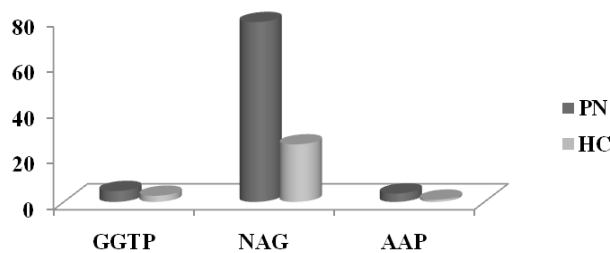


Fig. 3. Indices of enzymeuria in children with pyelonephritis and in healthy children

note: GGTP - Gamma-glutamyltranspeptidase, (U/mol creatinine); NAG - neutral alpha-glucosidase (micromole maltose/milimol creatinine/ 1 hour); AAP - L-alanine aminopeptidase (nkat/ mol creatinine); PN- pyelonephritis; HC - Healthy Children

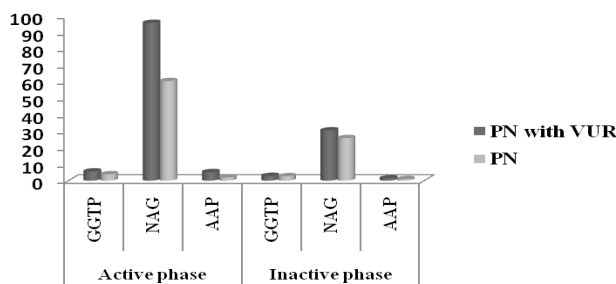


Fig. 4. Indices of enzymeuria in children with pyelonephritis  
note: GGTP - Gamma-glutamyltranspeptidase, (U/mol creatinine); NAG - neutral alpha-glucosidase (micromole maltose/milimol creatinine/ 1 hour); AAP - L-alanine aminopeptidase (nkat/ mol creatinine); PN- pyelonephritis; VUR - vesicoureteral reflux

The increase in the enzymes activity (NAG, GGTP) in patients with PN in the active phase correlated with the leukocyturia degree ( $r = 0.77$  and  $r = 0.71$ , respectively,  $p < 0.05$ ) and the level of CRP ( $r = 0.56$  and  $r = 0.66$ , respectively,  $p < 0.05$ ). In the inactive phase of PN with VUR, the level of GGTP in the urine is reliably higher ( $3.96 \pm 0.15$ ) compared to PN without VUR patients ( $2.82$

$\pm 0.17$ ,  $p < 0.05$ ), indicating in the first place on damage to a brush border of the epithelium of proximal tubules. NAG indices were also higher in children with PN and VUR. Indices of enzymes in children with PN in the inactive phase and in healthy children indicated no significant difference. No deviation in urine enzymes of ill children was noted depending on sex.

It is known that one of the profibrotic factors is Gal-3 - pleiotropic lectin, which plays an essential role in cell proliferation, adhesion, differentiation, angiogenesis and apoptosis. The obtained data indicate that Gal-3 activates many profibrotic factors, promotes the spread and transformation of fibroblasts and mediates collagen production. However, today in the scientific literature data on the indicators of these markers for inflammatory diseases of the kidneys in young children is solitary and contradictory. We had found high rates of Gal-3 in infants with underlying VUR ( $8.44 \pm 0.93$ ) [95% CI, 6.59-10.19] ng/ml. The concentration of this marker was significantly lower in children with PN without VUR ( $3.55 \pm 0.89$ ) [95% CI, 1.81-3.99] ng/ml and in healthy children ( $1.59 \pm 0.19$ ) [95% CI, 0.86-2.13] ng/ml,  $p < 0.01$ . In children with PN with underlying VUR, the level of Gal-3 was significantly increased with an increase of the activity grade. Thus, for the third grade, this marker was  $10.99 \pm 1.57$  ng / ml (95% CI, 8.43-11.99 ng/ml), and was significantly higher compared to the indices in I and II activity grades ( $5, 67 \pm 0.81$  ng / ml [95% CI, 3.59-5.83 ng/ml] and  $8.19 \pm 1.22$  ng/ml [95% CI, 4.79-9.59 ng/ml] respectively), ( $p < 0.05$ ). In patients with PN without VUR, the Gal-3 level did not vary depending on the activity grade. Also, no difference in the Gal-3 indices in children with PN depending on sex was identified. Nevertheless, a reliable connection between the Gal-3 indices and the renal cortical index (RCI) had been found. With RCI 0.07-0.16, the Gal-3 level was  $4.53 \pm 1.22$  [95% CI, 3.44-5.61] ng/ml. The highest Gal-3 level made up  $9.88 \pm 1.46$  [95% CI, 7.97-11.69] ng/ml ( $p < 0.01$ ) in children with PN with underlying VUR, and RCI higher than 0.17.

There was a tendency to increase of Gal-3 levels in children with PN without VUR, but we did not identify any significantly higher Gal-3 indices.

In our opinion the analysis of Gal-3 indices in children, depending on the duration of PN was important. In infants with

an increased duration of renal inflammation, the level of fibrosis formation rate has increased. Thus, a significantly higher level of Gal-3 ( $12.46 \pm 4.21$  ng/ml) [95% CI, 8.37-16.92 ng/ml] was in children who considered renal inflammation for 6 months and longer. While after the three months of the disease, the Gal-3 ( $6.13 \pm 1.77$  ng/ml) [95% CI, 4.01-11.11 ng/ml] was twice as lower ( $p < 0.05$ ). The positive correlation between the Gal-3 level and the CRP index ( $r_{xy} = 0.54$ ,  $p < 0.05$ ) was revealed.

The concept of “biomarkers” was defined in 2001 by the National Institutes of Health of the USA as “a characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal biological processes, pathogenic processes or pharmacologic responses to a therapeutic intervention” [1]. New research in the field of biomarkers allows exposing a new way to early diagnosis of diseases, selecting the most effective therapy (personalized medicine), monitoring the response to intervention, excluding patients who are most prone to the development of undesirable side effects, and predicting the outcome both in clinical trials and in everyday clinical practice. Biomarkers that have identical properties, both in animal models and in humans, can serve as a connecting link between a scientific research and clinical working out.

Complementary clinical studies are needed for finding out the possibilities of their use in everyday clinical practice and in the process of development of new antifibrotic medications. Further studies may demonstrate more distinct associations with clinical endpoints. The role of other biomarkers in assessing the activity of the inflammatory process and the fibrosis in kidneys is not finally established and actively discussed. More effort is needed in conducting of specially designed clinical studies with a high statistical capacity to clarify the place and role of biological markers in the diagnosis and treatment of patients with PN.

Conclusion. An elevated level of enzymes in the urine is a predictor of PN development and an early marker of microbial kidney damage in children with VUR. A direct correlation relationship was established between the level of the enzymeuria of the tubular type and the activity of PN. The Gal-3 can be used for an early diagnosis of fibrotic changes of the renal parenchyma in adolescent children with PN and underlying VUR.

## REFERENCES

1. Biomarker Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate end-points: preferred definitions and conceptual framework // *Clin Pharmacol Ther.* 2001; 69 (3):89–95.
2. Henderson NC, Mackinnon AC, Farnworth SL, Kipari T, Haslett C, Iredale JP et al. Galectin-3 expression and secretion links macrophages to the promotion of renal fibrosis // *Am J Pathol.* 2008; 172(2):288–98.
3. Ho JE, Liu C, Lyass A, Courchesne P, Pencina MJ, Vasan RS et al. Galectin-3, a marker of cardiac fibrosis, predicts incident heart failure in the community // *J Am Coll Cardiol.* 2012; 60:1249–1256.
4. Lavrenova TP. Enzymes of urine and their significance for the diagnosis of kidney damage. *Laboratornoe delo.* 1990; (7): 4–10. [in Russian]. РУССКАЯ СТАТЬЯ
5. Li LC, Li J, Gao J. Functions of galectin-3 and its role in fibrotic diseases // *J Pharmacol Exp Ther.* 2014; 351(2):336–43.
6. Liu Y. Cellular and molecular mechanisms of renal fibrosis. *Nature Reviews// Nephrology.* 2011; №7: 684–696.
7. Liu FT, Hsu DK. The Role of Galectin-3 in Promotion of the Inflammatory Response // *Drug News Perspect.* 2007; 20(7):455–60.
8. Okamura DM, Pasichny kK, Lopez-Guisa JM, Collins S, Hsu DK, Liu FT, Eddy AA. Galectin-3 preserves renal tubules and modulates extracellular matrix remodeling in progressive fibrosis // *Am J Physiol Renal Physiol.* 2011; 300(1):245–53.
9. Ravani PB, Brendan J. Galectin-3 and New-Onset CKD: Marker or Mediator? // *J Am Soc Nephrol.* 2013; 24(9): 1342–1344.
10. Shaikh N, Craig JC, Rovers MM, Da DL, Gardikis S, Hoberman A et al. Identification of children and adolescents at risk for renal scarring after a first urinary tract infection: a meta-analysis with individual patient data // *JAMA Pediatr.* 2014; 168:893.
11. Téllez-Sanz R, García-Fuentes L, Vargas-Berenguel A. Human galectin-3 selective and high affinity inhibitors. Present state and future perspectives // *Curr Med Chem.* 2013; 20(24):2979–90.
12. Trisha MJ, Heidi AS, Douglass BC, John CT, John CP et al. Incidence of abnormal imaging and recurrent pyelonephritis after first febrile urinary tract infection in children 2–24 months // *J Urol.* 2013; 190(40):1505–1510.
13. US Renal Data System 2008 Annual Data Report Bethesda: National Institutes of Health and National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2008.
14. Wilkinson D. Principles and Methods of Diagnostic Enzymology. Russian translation. 1981; Meditsina, Moscow: 592.
15. Yang RY, Rabinovich GA, Liu FT. Galectins: structure, function and therapeutic potential // *Expert Rev Mol Med.* 2008 Jun 13; 10: 17.

## SUMMARY

### BIOMARKERS OF RENAL INJURY RISK IN CHILDREN WITH PYELONEPHRITIS

<sup>1</sup>Sorokman T., <sup>1</sup>Sokolnyk S., <sup>2</sup>Popelyuk O., <sup>3</sup>Makarova O., <sup>4</sup>Kopchuk T.

*Bukovinian State Medical University, <sup>1</sup>Department of Pediatrics and Medical Genetics; <sup>2</sup>Department of human anatomy Mykola Turkevich; <sup>3</sup>Department nursing of higher nursing education; <sup>4</sup>Department of Pharmacology Chernivtsi, Ukraine*

The most common cause of fever in case of anomalies of the urinary system is pyelonephritis (PN). Despite the fact that an intensive search for informative clinical and laboratory markers of PN in children is being conducted in recent years, this problem remains unresolved.

Objective - to examine the content of organ-specific enzymes (neutral  $\alpha$ -glucosidase (NAG), L-alanine aminopeptidase (AAP),  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase (GGTP) in urine and galectin 3 (Gal -3), C-reactive protein (CPR) in blood serum.

A prospective, comprehensive clinical and laboratory-instrumental examination was performed in 75 children under the age of 1. The activity of organ-specific enzymes (NAG, AAP, GGTP) in urine and CPR, Gal-3 in the serum of blood were estimated as markers of proximal tubules' damage.

The majority ( $62.99 \pm 5.33\%$ ) of hospitalized children with febrile temperature and urine changes were diagnosed with PN, which often arose with underlying congenital malformations of the urinary tract. Among children with PN underlying with VUR, the II and III grades of activity were significantly more frequent. An increase of the level of the enzymes in the urine is observed in the active phase of PN, which correlated with the level of leukocyturia and the level of CRP. During the inactive phase of PN with VUR, the level of enzymes was also higher than the one in children with PN without VUR. High values

of Gal-3 were detected in case of underlying VUR, which increased together with increased activity and duration of the inflammatory process in kidneys and correlated with the level of CRP. The Gal-3 can be used for an early diagnosis of fibrotic changes of the renal parenchyma in adolescent children with PN and underlying VUR.

**Keywords:** children, pyelonephritis, vesicoureteral reflux, organ-specific enzymes, galectin 3.

## РЕЗЮМЕ

### БИОМАРКЕРЫ РЕНАЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ ПРИ ПИЕЛОНЕФРИТЕ У ДЕТЕЙ

Сорокман Т.В., Сокольник С.В., Попелюк МАВ,  
Макарова Е.В., Копчук Т.Г.

*Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет», Черновцы, Украина*

Наиболее частой причиной лихорадки на фоне аномалий мочевой системы является пиелонефрит (ПН). Несмотря на интенсивные поиски информативных клинико-лабораторных маркеров ПН у детей, проблема по сей день остается нерешенной.

Целью исследования явилось изучение содержания органоспецифических ферментов (нейтральная  $\alpha$ -глюкозидаза, L-аланинаминопептидаза,  $\gamma$ -глутамилтранспептидаза) в моче, галектина 3 и C-реактивного протеина - в сыворотке крови.

Проспективное комплексное клиническое и лабораторно-инструментальное обследование проведено у 75 детей в возрасте до 1 года. В качестве маркера повреждения проксимальных канальцев определялась активность ферментов - нейтральная  $\alpha$ -глюкозидаза (NAG), L-аланинаминопептидаза (AAP),  $\gamma$ -глутамилтранспептидаза (GGTP) в моче и содержание галектина 3 (Gal-3) и C-реактивного протеина (CRP) в сыворотке крови.

У большинства (62,99 $\pm$ 5,33%) госпитализированных детей с фебрильной температурой и изменениями в моче диагностирован ПН. Среди детей с ПН на фоне пузырно-мочеточникового рефлюкса (ПМР) достоверно чаще встречались II и III степени активности. В активную фазу ПН наблюдалось повышение уровня ферментов в моче, которое коррелировало со степенью лейкоцитурии и уровнем CRP. В неактивную фазу ПН с ПМР уровни ферментов также были выше, чем у детей с ПН без ПМР. Выявлены высокие показатели Gal-3 при наличии ПМР, которые увеличивались по мере повышения степени активности и продолжительности воспалительного процесса в почках и коррелировали с уровнем CRP.

Для ранней диагностики фибротических изменений со

стороны почечной паренхимы у детей раннего возраста при ПН на фоне ПМР можно использовать уровень Gal-3.

## რეზიუმე

რენული დაზიანების ბიომარკერები პიელონეფრიტის დროს ბავშვებში

ტ. სოროკმანი, ს. სოკოლნიკი, მ. პოპელიუკი,  
ე. მაკაროვა, ტ. კოპჩუკი

ბუკოვინის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ჩერნოვცი, უკრაინა

ციებ-ცხელების ყველაზე ხშირ მიზეზს საშარდე სისტემის ანომალიების დროს წარმოადგენს პიელონეფრიტი. მიუხედავად ბოლო წლების განმავლობაში ბავშვებში პიელონეფრიტის კლინიკურ-ლაბორატორიული მარკერების ინტენსიური ძიებისა, ეს პრობლემა დღემდე გადაუჭრელი რჩება.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ორგანოსპეციფიკური ფერმენტების (ნეიტრალური  $\alpha$ -გლუკოზიდაზა (NAG), L-ალანინამინოპეპტიდაზა (AAP),  $\gamma$ -გლუტამილტრანსპეპტიდაზა (GGTP) შარდში; გალექტინი 3 (Gal-3), C-რეაქტიული ცილა (CRP) სისხლის შრატში) გამოკვლევა.

პროსპექტული კომპლექსური კლინიკური და ლაბორატორიული-ინსტრუმენტული კვლევა ჩატარდა 1 წლამდე ასაკის 7 ბავშვს. ნეფრონის პროქსიმალური მილაკების დაზიანების მარკერად შარდში განისაზღვრა NAG, AAP, GGTP, ხოლო სისხლის პლაზმაში - CRP, Gal-3.

პოსპიტალიზებულ ბავშვთა უმეტესობას (62,99 $\pm$ 5,33%) ფეбриლური ტემპერატურით და ცვლილებებით შარდში დაუდგინდა პიელონეფრიტი. პიელონეფრიტიან ბავშვთა შორის შარდის ბუშტ-საშარდ-საწვეთის რეფლიქსი (ბსრ) ფონზე სარწმუნოდ უფრო ხშირია აქტივობის II და III ხარისხი. პიელონეფრიტის აქტიურ ფაზაში აღინიშნება ფერმენტების დონის მატება შარდში, რაც კორელირებს ლეიკოციტურიის ხარისხთან და CRP-ს დონესთან. ბსრ-ის ფონზე პიელონეფრიტის არააქტიურ ფაზაში ფერმენტების მაჩვენებელი იყო უფრო მაღალი, ვიდრე პიელონეფრიტის დროს MCP-ის გარეშე. გამოვლენილია Gal-3-ის მაღალი მაჩვენებლები ბსრ-ის დროს, რომელიც მატულობდა აქტივობის ხარისხისა და ზრდის თირკმლებში ანთებითი პროცესის ხანგრძლივობას და კორელირებდა C-რეაქტიული ცილის დონესთან.

თირკმლის პარენქიმაში ფიბროზული ცვლილებების ადრეული დიაგნოსტიკისათვის პიელონეფრიტის დროს ბსრ-ის ფონზე მცირეწლოვან ბავშვებში შესაძლებელია Gal-3-ის მაჩვენებლის გამოყენება.

## ASTHMA PREDICTIVE INDEX AND NITRIC OXIDE PROGNOSTIC VALUE IN YOUNG CHILDREN WITH RECURRENT WHEEZING

Mikeladze T., Zhorzholiani L., Saginadze L., Arveladze G., Sulaberidze I.

*Davit Aghmashenebeli University of Georgia; Institute of Pediatrics - Allergy Center,  
Evex Regional Hospital, Clinic CURACIO, Tbilisi, Georgia*

A broncho-obstructive syndrome (wheezing-syndrome), characterized with high prevalence in early childhood, complicated differential diagnosis and non-homogeneous prognosis, is considered as an actual issue of pediatrics and pediatric pulmonology [1,4,6]. According to the results of epidemiological studies, the prevalence of wheezing in early childhood was 30-40%. At the age of 1 year, wheezing was observed in 10-15%, up to 3 years – in every third child, while the prevalence of respiratory-associated diseases in children 5 years of age reached 50% and only in 1/3 of children with one or several episodes of bronchial obstructive syndrome in the age of up to 3 years developed bronchial asthma at the age of 6 years and above [4,9]. Hypodiagnoses was noted in 18-75% of children with asthma symptoms, and hyperdiagnoses of the disease (11%) was also common in the primary healthcare system, where despite of absence of medical conditions inhaled glucocorticosteroids are widely used, due to which bronchial asthma cannot be diagnosed in some cases or treatment of patients is irrational [1,8].

Thus, diagnosis of bronchial asthma is the actual problem of pediatric practice, especially in younger children. Diversity of phenotypic and age presentations of the disease significantly complicate the timely diagnosis of the disease in children with recurrent wheezing. Due to the above-mentioned, early identification of bronchial asthma predictive index is of great importance.

There are several predictive models of different diagnostic values, however, their application in clinical practice is complicated with methodological difficulties and/or limited with minimum age of the child and other related peculiarities [2,17].

One of the simplest, non-invasive and accessible asthma predictive index (API) was developed to determine the predictive risk of bronchial asthma formation, characterized with high specificity (97%) and successfully used in young children (Tucson Children's Respiratory Study) [5,10,20].

Determination of nitric oxide (NO) concentration in exhaled air, is considered as an early and reliable marker of eosinophilic activation in the lower respiratory tract, enabling selection of basic therapy and monitoring as well as compatibility assessment, especially in pediatric practice [11,14,16].

The aim of the study - the study is aiming at investigation of asthma predictive index and predictive value of quantitative changes in nitrogen oxide in children with recurrent wheezing of different phenotypes.

**Material and methods.** An observing cross-sectional clinical study where 120 patients 5 to 7 years of ages with wheezing syndrome were involved has been conducted. These patients were divided into two groups according to the triggering factors of wheezing. The first group consisted of 80 patients with multifactorial wheezing but the second group - 40 patients with episodic wheezing, respectively.

*Inclusion criteria were as follows:* age between 5 to 7 years; 3 or more episodes of wheezing during the past year; parental consent to allow the patient to participate in clinical trial.

*Exclusion criteria were as follows:* chronic disease of respiratory system; congenital anomalies of the cardiovascular system; neurological pathology.

During the study process, demographic data, hereditary anamnesis, age of wheezing debut and course features, personal atopic anamnesis (allergic reactions, atopic dermatitis, allergic conjunctivitis, drug or medication allergies), treatment efficiency and etc. A complex assessment of clinico-anamnesic, allergic and immunological characteristics has been performed.

The asthma predictive index (API) was used to determine the predictive risk of bronchial asthma formation, which is characterized with high specificity (97%) and low sensitivity (16%). The development of the mentioned index was based on 13 year observation of thousands of children [20]. Its positive predictive value (PPV) is 77% that makes it possible to assume that the probability of asthma formation in children, 6 - 13 years of age, with positive predictive index is 77% (evidence degree C), while in children with negative predictive index - only 3%, respectively. In addition, it should be noted that the probability of developing bronchial asthma in children with positive index was 4-10 times higher in comparison with the children with negative predictive index [3,19].

The predictive index is intended for young children who experienced 3 or more episodes of wheezing during the past year, at least one of which was confirmed by a doctor.

Although the investigation of predictive index validation showed high specificity of the method, the API does not belong to asthma screening methods used more frequently in children with recurrent wheezing [15,18].

The determination of nitric oxide concentration (FeNO) in exhaled air was carried out by using the inflammometers (NIOX MINO). The method is non-invasive and has been successfully used in young children. For statistical analysis of the obtained results, software packages - Microsoft Excel 2010 and SPSS / v18 have been used.

**Results and their discussion.** 120 patients, 5 to 7 of age, were examined (average age -  $6.13 \pm 0.86$  years). Among them girls were 32.5% (39 patients), and boys - 67.5% (91 patients), respectively. The first group included 80 patients (66.7%) with multifactorial wheezing syndrome, and the second group - 40 patients (33.3%) with episodic wheezing.

In the comparable groups, the major criteria of API index have been studied: family allegro-anamnesis (asthma in parents), atopic dermatitis diagnosed by the doctor (eczema) and minor criteria: allergic rhinitis diagnosed by the doctor, wheezing episodes in response to cold air and the number of eosinophils in peripheral blood > 4%. The obtained results are given in the Table 1.

Assessment of the asthma predictive index was carried out in accordance with summary assessment of the scores, corresponding to each criterion.

A probability of asthma formation in school age children was high (77%) and this result was assessed as positive – by Stringent criteria (Positive By Stringent Criteria) in case if the mentioned patient has 3 or more episodes of wheezing during the first three years of life as well as 1 major- and 2 minor diagnostic criteria.

Less than 3 wheezing episodes during the first three years of life, and 1 major and 2 minor diagnostic criteria indicate to 59% probability of asthma formation and were considered as positive by Loose Criteria. Results of the API index interpretation in children with recurrent wheezing are presented in Fig. 1.

Table 1. API- index criteria in the studied contingent (n=120)

| Criteria                                                   | Multifactorial (n=80) | Episodic (n=40) | In total (n=120) |
|------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------|------------------|
| More than 4 episodes of wheezing within the last 12 months | 67(83.8%)             | 4(10.0%)        | 71(59.2%)        |
| <b>Major criteria</b>                                      |                       |                 |                  |
| Asthma in family anamnesis (history)                       | 65(81.3%)             | 23 (57.5%)      | 88(73.3%)        |
| Atopic dermatitis diagnosed by the doctor (eczema)         | 56(70.0%)             | 20(50.0%)       | 76(63.3%)        |
| <b>Minor criteria</b>                                      |                       |                 |                  |
| Rhinitis diagnosed by a doctor                             | 74(92.5%)             | 9(22.5%)        | 83 (69.2%)       |
| Wheezing in response to cold air                           | 31(38.8%)             | 3(7.5%)         | 34 (28.3%)       |
| Number of eosinophils > 4%                                 | 34(42.5%)             | 4(10.0%)        | 38 (31.6%)       |

Table 2. Relative chance, specificity and sensibility of API Index in studied contingent (n=120)

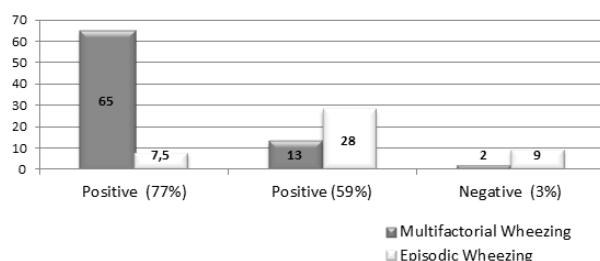
|                | Wheezing              |                 | OR (95%CI)        | Sensibility | Specificity | positive P value | negative P value |
|----------------|-----------------------|-----------------|-------------------|-------------|-------------|------------------|------------------|
|                | Multifactorial (n=80) | Episodic (n=40) |                   |             |             |                  |                  |
| Positive (77%) | 65 (81.35%)           | 3 (7.5%)        | 53.4 (13.2-253.0) | 0.81        | 0.93        | 0.96             | 0.71             |
| Positive(59%)  | 13 (16.45%)           | 27 (75.0%)      | 0.09 (0.03-0.25)  | 0.16        | 0.33        | 0.33             | 0.16             |
| Summary        | 78(65%)               | 30 (38.8%)      | 13.0 (2.44-91.74) | 0.98        | 0.25        | 0.72             | 0.83             |
| Negative       | 2 (2.5%)              | 10 (25.0%)      | 0.08 (0.01-0.41)  | 0.03        | 0.75        | 0.17             | 0.28             |

positive (77%) –  $\chi^2=56.10, p=0.000$ , positive (59%) –  $\chi^2=31.9, p=0.000$ , summary –  $\chi^2=10.5, p=0.002$ , negative –  $\chi^2=10.5, p=0.002$

Table 3. Relative chance, specificity and sensibility of nitric oxide (NO) in studied contingent (n=120)

| Increase in FeNO concentration/level | Wheezing              |                 | OR (95% CI)    | Sensibility | Specificity | positive P value | negative P value |
|--------------------------------------|-----------------------|-----------------|----------------|-------------|-------------|------------------|------------------|
|                                      | Multifactorial (n=80) | Episodic (n=40) |                |             |             |                  |                  |
| Positive (77%)                       | 19 (23.8%)            | 2 (5.0%)        | 5.92 1.2-39.1  | 0.24        | 0.95        | 0.90             | 0.38             |
| Positive (59%)                       | 3 (3.8%)              | 6 (15.0%)       | 0.22 0.04-1.1  | 0.04        | 0.85        | 0.34             | 0.31             |
| Summary                              | 22 (27.5%)            | 8 (20.0%)       | 1.52 0.56- 4.2 | 0.28        | 0.8         | 0.73             | 0.35             |
| Negative                             | 58 (72.5%)            | 32(80%)         |                | 0.72        | 0.2         | 0.64             | 0.27             |

positive (77%) –  $\chi^2=5.260, p=0.022$ , positive (59%) –  $\chi^2=3.37, p=0.066$ , summary –  $\chi^2=0.45, p=0.502$ , negative –  $\chi^2=10.5, p=0.002$



positive (77%) –  $\chi^2=53.4, p=0.000$ ,  
positive 77% – OR-53.4,  $p=0.000$ ,  
positive 59% - OR-0.09,  $p=0.001$   
negative 3% - OR – 0.08,  $p=0.000$

Fig. 1. API - Index interpretation results in studied contingent

In the group of multifactorial wheezing, 77%-positive results were revealed in 65% of patients much higher than in children with episodic wheezing (7.5%) indicating to high probability of © GMN

asthma formation in the first group of patients. According to our results, 59% positive results were fixed twice as much in children with episodic wheezing.

Having compared the data of children with multifactor and episodic wheezing, it was revealed that relative chance of 77% positive response was 53.4 (95% CI 13.2-253.0) and chance of 59% - positive response – OR 0.08 (95% CI 0.03- 0.22), respectively (Table 2).

According the data of table it is clear that the sensibility of 77%-positive outcome was 81% and the specificity - 93%. Consequently, predictive value of positive response to the API index was high (96%). The concentration of nitric oxide (FeNO) in exhaled air was measured in all patients with wheezing (Table 3).

The average level of nitric oxide concentration in patients with multifactorial wheezing was  $27.8 \pm 0.71$ . The increase in concentration was fixed in 22 patients (27.5%). The NO average index in patients with episodic wheezing was  $11.85 \pm 6.56$ . The increase in concentration was fixed in 8 cases (20.0%), among them 6 cases - children with 59% positive response to the API index, but 2 cases

with 77% positive response. Relative probability was high only at 77%-positive response and was equal to 5.92 (95%CI 1.2–39.1).

The relative chance was high only at 77%-positive response and was equal to 5.92 (95% CI 1.2–39.1). High specificity (95%) and relatively less sensitivity (24%) of nitric oxide (NO) concentration were revealed in the same cases.

In comparison to other studies [7,11,12], where high levels of API index and nitrogen oxide concentration were detected in children with wheezing, in our cases, moderate increase in FeNO concentration supposedly might be caused by common use and/or misuse of inhaled glucocorticosteroids has been observed. Despite the above-mentioned, it was noteworthy to emphasize the high specificity of FeNO-concentration (95%) at 77% positive response to the API index.

Consequently, the first attempt of applying the asthma predictive index (API) in Georgia showed that API appeared to be a convenient and useful additional clinical tool to assess the risk of bronchial asthma in young children population with wheezing syndrome.

In addition, according to the study, correlation/association between the positive indicators of API index and nitrogen oxide (NO) level at multifactorial wheezing makes it possible to provide long-term prediction of outcomes and determine the contingent requiring secondary prophylactic intervention.

## REFERENCES

1. Астафьева, Н. Г. Трудности диагностики и лечения бронхиальной астмы у детей первых пяти лет жизни / Н. Г. Астафьева, И. В. Гамова, Д. Ю. Кобзев // Лечащий врач. 2011. № 1. Спец. вып. С. 1–8.
2. Бурбела Э.И. Предикторы формирования бронхиальной астмы у детей школьного возраста на тернопольщине // Журнал здоровь ребенка. 2016, 4, с. 61–65.
3. Федоров И.А., Рыбакова О.Г. Модифицированный индекс риска астмы как инструмент ранней диагностики бронхиальной астмы у детей // Журнал Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2017. – 61 (4)
4. Мицкевич С.Э. Фенотипы бронхиальной астмы у детей и дифференцированная тактика диагностики и лечения. / С.Э. Мицкевич // Вестник Челябинского государственного университета. Образование и здравоохранение. - 2014. - Выпуск 3, № 4. - С. 79–86.
5. Akl E, Irani AM, Amin P, Levin L, Epstein T. (2014) Optimum Predictors of Childhood Asthma: Persistent Wheeze or the Asthma Predictive Index? // J Allergy Clin Immunol Pract; 2(6):709–715.
6. Bacharier LB, Guilbert TW. Diagnosis and management of early asthma in preschool-aged children // J Allergy Clin Immunol. - 2012;130:287–96
7. Balinotti JE, et al. Association between the Asthma Predictive Index and levels of exhaled nitric oxide in infants and toddlers with recurrent wheezing // Arch Argent Pediatr. 2013. 111(3):191–195.
8. Beigelman Avraham, Bacharier Leonard B Management of preschool recurrent wheezing and asthma: a phenotype-based approach // Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology 2017, 17 (2): 131–138
9. Burbank Allison J, J Szeffler Stanley Current and future management of the young child with early onset wheezing // Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology. - 2017, 17 (2): 146–152.
10. Castro-Rodriguez JA. The Asthma Predictive Index. A very useful tool for predicting asthma in young children // J Allergy Clin Immunol 2010;126(2):212–6.
11. Castro-Rodriguez JA, et al. Young infants with recurrent wheezing and positive asthma predictive index have higher lev-

- els of exhaled nitric oxide // J Asthma. 2013 Mar;50(2):162–5
12. Elliott M, Heltshe SL, Stamey DC, Cochrane ES, Redding GJ, Debley JS. Exhaled nitric oxide predicts persistence of wheezing, exacerbations, and decline in lung function in wheezy infants and toddlers // Clin Exp Allergy. 2013;43:1351–1361.
13. Ducharme FM, Tse SM, Chauhan B. Diagnosis, management, and prognosis of preschool wheeze // Lancet. 2014;383:1593–1604.
14. Duijts L, Granell R, Sterne JA, Henderson AJ. Childhood wheezing phenotypes influence asthma, lung function and exhaled nitric oxide fraction in adolescence // Eur Respir J. 2016;47(2):510–9.
15. Leonardi NA, Spycher BD, Strippoli MP, Frey U, Silverman M, Kuehni CE. (2011) Validation of the Asthma Predictive Index and comparison with simpler clinical prediction rules // J Allergy Clin Immunol. 2011 Jun;127(6):1466–72.
16. Oh MA, Shim JY, Jung YH, Seo JH, Kim HY, Kwon JW, et al. Fraction of exhaled nitric oxide and wheezing phenotypes in preschool children. Pediatr Pulmonol 2013;48:563–70.
17. Pescatore AM, Dogaru CM, Duembgen L, Silverman M, Gaillard EA, Spycher BD, Kuehni CE. A simple asthma prediction tool for preschool children with wheeze or cough // J Allergy Clin Immunol. 2014 Jan;133(1):111–8.e1–13.
18. Rodríguez-Martínez CE<sup>1</sup>, Sossa-Briceño MP<sup>2</sup>, Castro-Rodríguez JA<sup>3</sup>. Factors predicting persistence of early wheezing through childhood and adolescence: a systematic review of the literature // J Asthma Allergy. 2017 Mar 27;10:83–98.
19. Savenije OE, Kerkhof M, Koppelman GH, Postma DS. Predicting who will have asthma at school age among preschool children // J Allergy Clin Immunol. 2012 Aug;130(2):325–31.
20. Taussig LM<sup>1</sup>, Wright AL, Holberg CJ, Halonen M, Morgan WJ, Martinez FD. Tucson Children's Respiratory Study: 1980 to present // J Allergy Clin Immunol. 2003 Apr;111(4):661–75.

## SUMMARY

### ASTHMA PREDICTIVE INDEX AND NITRIC OXIDE PROGNOSTIC VALUE IN YOUNG CHILDREN WITH RECURRENT WHEEZING

Mikeladze T., Zhorzholiani L., Saginadze L., Arveladze G., Sulaberidze I.

Davit Aghmashenebeli University of Georgia; Institute of Pediatrics - Allergy Center, Evex Regional Hospital, Clinic CURA-CIO, Tbilisi, Georgia

The study was aiming at investigation of Asthma Predictive Index (API) and predictive value of quantitative changes in nitric/nitrogen oxide (NO) in children with recurrent wheezing of different phenotypes. An observing cross-sectional clinical study where 120 patients 5 to 7 years of ages with wheezing syndrome were involved has been conducted. In the group of patients with multifactorial wheezing, 77%-positive results revealed in 65% of patients indicated to high probability of asthma formation. 59%-positive response to the API index prevailed in patients with episodic wheezing (28%). 77%-positive response sensitivity was 81% and specificity -93%, respectively. The increase in NO concentration (27.8±0.71) was fixed in 27.5% of patients with multifactorial wheezing, especially at 77% positive response to the API index. Measurement of API index and NO levels at early ages to reveal the contingent with high probability of asthma formation, especially in young children with multifactorial wheezing is of great importance.

**Keywords:** Asthma Predictive Index (API), nitrogen oxide, children, recurrent wheezing.

РЕЗЮМЕ

**ИНДЕКС РИСКА АСТМЫ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ЦЕННОСТИ ОКСИДА АЗОТА  
У ДЕТЕЙ МЛАДШЕГО ВОЗРАСТА С РЕЦИДИВИРУЮЩИМ ВИЗИНГОМ**

Микеладзе Т.З., Жоржоллиани Л.Д., Сагинадзе Л.К., Арвеладзе Г.А., Сулаберидзе И.Е.

*Университет им. Давида Агмашенебели; Институт педиатрии - Аллергологический центр,  
Региональный Госпиталь "Евекс", Клиника КУРАЦИО, Тбилиси, Грузия*

Целью исследования явилось определение индекса риска астмы (API) и прогностической ценности количественных изменений концентрации оксида азота (NO) у детей с рецидивирующим визингом различного фенотипа.

Проведено обсервативное, кросс-секционное клиническое исследование с участием 120 пациентов в возрасте от 5 до 7 лет с синдромом визинга. В группе пациентов с мультифакторным визингом 77%-положительный ответ выявлен у 65% пациентов, что указывает на высокую вероятность формирования астмы. В случае эпизодического визинга

(28%) преобладал 59%-положительный ответ на индекс риска астмы (API). Чувствительность 77%-положительного ответа составила 81%, специфичность - 93%. Увеличение концентрации NO до  $27.8 \pm 0.71$  зафиксировано у 27,5% пациентов с многофакторным визингом, особенно при 77%-положительном ответе на индекс риска астмы. Определение индекса API и уровня оксида азота у детей младшего возраста с многофакторными хрипами имеет прогностическую ценность для выявления контингента с высокой вероятностью формирования астмы.

რეზიუმე

ასთმის პრედიქტული ინდექსისა და აზოტის ოქსიდის პროგნოზული მნიშვნელობა მორეციდივე ვიზინგის მქონე ადრეული ასაკის ბავშვებში.

თ. მიქელაძე, ლ. ჯორჯოლიანი, ლ. საგინაძე, გ. არველაძე, ი.სულაბერიძე

*საქართველოს დავით აღმაშენებლის უნივერსიტეტი, პედიატრიის ინსტიტუტი - ალერგიის ცენტრი,  
ევექსის რეგიონალური ჰოსპიტალი, კლინიკა კურაციო, თბილისი, საქართველო*

კვლევის მიზანს შეადგენდა ასთმის პრედიქტული ინდექსისა (API) და აზოტის ოქსიდის რაოდენობრივი ცვლილებების პროგნოზული მნიშვნელობის შესწავლა მორეციდივე მსტინავი სუნთქვის სხვადასხვა ფენოტიპის მქონე ბავშვებში.

ჩატარდა ობსერვაციული, კროს-სექციური კლინიკური კვლევა, რომელშიც ჩაერთო მსტინავი სუნთქვის მქონე 5-დან 7 წლამდე ასაკის 120 პაციენტი. მულტიფაქტორული ვიზინგის ჯგუფში ასთმის პრედიქტული ინდექსის 77%-იანი პოზიტიური შედეგი გამოვლინდა გამოკვლეულთა 65%-ში, რაც მეტწილად ასთმის ფორმირების მაღალ ალბათობაზე. ეპიზოდური ვი-

ზინგის შემთხვევებში (28%) ჭარბობდა API ინდექსის 59%-იანი პოზიტიური შედეგი. 77%-იანი პოზიტიური შედეგის მგრძნობელობა შეადგენდა 81%-ს, ხოლო სპეციფიურობა - 93%-ს. აზოტის ოქსიდის კონცენტრაციის მატება ( $27.8 \pm 0.71$ ) დაუფიქსირდა მულტიფაქტორული ვიზინგით 27,5%-ს, ძირითადად API ინდექსის 77%-იანი პოზიტიური პასუხის დროს. ადრეულ ასაკში API ინდექსის და აზოტის ოქსიდის დონის განსაზღვრა მნიშვნელოვანია იმ კონტინგენტის გამოსავლენად, რომელთაც გააჩნია ბრონქული ასთმის ფორმირების მაღალი ალბათობა, განსაკუთრებით მულტიფაქტორული ვიზინგის მქონე ადრეული ასაკის ბავშვებში.

**АНАЛИЗ СОЦИАЛЬНО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА НЕДОНОШЕННОСТИ  
НОВОРОЖДЕННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

Джамединова У.С.

*Государственный медицинский университет города Семей,  
кафедра общественного здравоохранения, Республика Казахстан*

Преждевременные роды являются причиной почти половины всех случаев смертности новорожденных детей в мире и второй по значимости после пневмонии причиной смерти детей в возрасте до пяти лет [5]. Недоношенные дети - это дети, рожденные живыми до 37 недель гестационного срока. Каждый год в мире погибает около 1 мил-

лиона недоношенных детей. В развитых странах 9 из 10 недоношенных детей выживают при оказании специальной медицинской помощи, тогда как в странах с низким доходом выживает 1 из 10 [9]. Преждевременные роды и их последствия являются серьезной проблемой здравоохранения во всем мире [3].

Преждевременно рожденные дети более подвержены развитию патологических состояний в сравнении с детьми, рожденными в срок [2], и показатель смертности и заболеваемости у них выше [21]. Наибольшему риску подвержены дети, рожденные на гестационном сроке до 28 и 32 недель. Они составляют группу высокого риска по частоте заболеваемости, физической, интеллектуальной и эмоциональной неполноценности [22].

Имеется множество публикаций, в которых представлен анализ факторов риска рождения детей преждевременно, однако от 30% до 50% преждевременных родов происходят без видимой причины [20]. Период беременности - один из самых значимых предикторов будущего здоровья и выживания ребенка [16]. Согласно литературным данным [6], наиболее значимыми факторами риска являются возраст матери (юные и поздние роды), короткий интервал между беременностями [12], многоплодная беременность (перерастяжение матки во время вынашивания детей).

Более высокие показатели преждевременных родов обнаруживаются у матерей, не состоящих в браке [13]. Значимыми факторами риска являются низкий социально-экономический статус матерей [10,18,19], образ жизни, наличие вредных привычек, чрезмерные физические нагрузки и характер трудовой деятельности [14]. Мужской пол более подвержен риску рождения преждевременно; у недоношенных детей мужского пола выявлены более высокие показатели смертности [7]. Согласно результатам проведенного обзора литературы выявлена многофакторность преждевременных родов. Однако исследований, посвященных анализу факторов риска рождения недоношенных детей на территории Республики Казахстан, очень мало.

Целью исследования явилось на основании анализа ретроспективной и текущей научной информации определить факторы риска рождения недоношенных детей в городе Семей, Казахстан.

**Материал и методы.** Дизайн исследования - ретроспективное когортное исследование материнских факторов риска преждевременного рождения детей. Ретроспективно проанализированы карты стационарных больных Перинатального центра г. Семей. В Казахстане действуют 26 перинатальных центров по выхаживанию детей со сроком гестации менее 28 недель. Восточно-Казахстанская область занимает лидирующие позиции по уровню младенческой смертности в Республике. На базе Перинатального центра города Семей (ПЦ г. Семей) проходит реабилитацию все недоношенные дети Семейского региона (город Семей и близлежащие по территориальному признаку районы и сельские населенные пункты). В 90% случаев недоношенные дети рождаются в ПЦ г. Семей, остальные 10% доставляются посредством скорой помощи и сан.авиации в первые часы после рождения. Процесс реабилитации 100% недоношенных детей до выписки проходят в ПЦ г. Семей. В исследование включено 722 детей, из них 358 недоношенных и 364 доношенных. Критерии включения: живорожденные дети со сроком гестации от 21-37 недель, согласно определению ВОЗ (гестационный возраст определяли с даты последнего менструального цикла), дети, родившиеся с 1 января 2012 г. по 31 декабря 2015 г. Критериями исключения из исследования явились все случаи с неполными данными.

За генеральную совокупность взяты все случаи родов на базе Перинатального центра г. Семей согласно данным журнала учета приема беременных, рожениц и родильниц (форма 002/у). С целью отбора случаев использован генера-

тор случайных чисел Random.org. Расчёт выборки производился с помощью программы SampleXS.

Из карт стационарного больного заимствованы следующие данные: дата рождения матери и ребенка, гестационный срок, пол, вес и рост ребенка при рождении, балл по шкале Апгар на 3 и 5 минутах, количество плодов у матери, национальность, семейное положение, количество родов и беременностей, выкидышей и аборт в анамнезе матери, дата начала учета по беременности, возраст менархе, сопутствующие гинекологические заболевания.

Согласно классификации ВОЗ, недоношенные дети разделены на три группы: 1) дети, рожденные крайне преждевременно (менее 28 недель); 2) дети, рожденные значительно преждевременно (от 28 до 32 недель); 3) дети, рожденные умеренно и незначительно преждевременно (от 32 до 37 недель).

В изучаемой группе преобладал женский пол 39,3% (48,6% в группе недоношенных и 29,1% в группе доношенных детей). В таблице 1 данные по полу представлены отношением мужского пола к женскому, проценты представлены по мужскому полу.

Средний вес недоношенных детей составил на 1930 грамм меньше веса доношенных детей, рост - на 11 см меньше. Окружность головы и груди детей, рожденных преждевременно, была, в среднем, на 4,8 см и 6,8 см меньше в сравнении с детьми, рожденными в срок. Балл Апгар на 3 и 5 минуте был на 4 и 3 балла меньше в сравнении с детьми, рожденными в срок. Средний возраст менархе у матерей в обеих группах составил 13 лет. Матери детей, рожденных преждевременно, поставлены на учет по беременности в позже почти на 1 неделю гестационного срока (таблица 1).

В подавляющем большинстве случаев у 640 (88,6%) матерей была одноплодная беременность, 2 и более плодов - у 82 (11,4%).

В исследуемой популяции преобладали матери казахской национальности - 584 (81%), затем русской - 122 (17%), другие национальности - 16 (2%), среди всех других национальностей наиболее часто повторялись татары и немцы.

У 347 (48,1%) матерей роды были первыми в анамнезе, у 210 (29,1%) - вторыми, у 117 (16,3%) - третьими. Четыре и более родов в анамнезе имели 46 (6,5%) матерей.

Подавляющее большинство исследуемых матерей состояли в браке (n=672, 93,3%).

1-2 беременности в анамнезе имели 421 (58,4%) матерей, 3-4 беременности - 215 (29,8%) матерей, 5 и более беременностей - 86 (11,9%) матерей.

У 556 (77,2%) матерей в анамнезе отсутствовали аборты, у 693 (96,2%) - выкидыши. Анализ взаимосвязи рождения недоношенных детей с некоторыми материнскими факторами представлен в таблице 2.

Для анализа количественных переменных использован критерий Манна-Уитни (U) для непараметрических данных, а параметрических данных - t-критерий Стьюдента для независимых выборок, анализ качественных данных проведен с применением критерия  $\chi^2$  Пирсона для номинальных переменных и Тау-С критерия Кендала для ранговых переменных. С целью определения факторов риска рождения детей преждевременно проведен множественный логистический регрессионный анализ.

Критическим уровнем значимости принято значение  $p < 0,05$ . Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы SPSS v. 20 (SPSS Inc., Чикаго, Иллинойс, США).

Таблица 1. Общая характеристика участников исследования

| Факторы                             | Недоношенные  |               |                 | Доношенные      | Всего           |
|-------------------------------------|---------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                     | >28           | 28-31         | 32-36           |                 |                 |
| Пол ребенка (муж/жен)               | 22/17 (56,4%) | 34/33 (50,7%) | 113/139 (44,8%) | 115/249 (29,1%) | 284/438 (39,3%) |
| Вес, гр (M±SD)                      | 791,1 ±21,5   | 1457,8±51,5   | 2003,5±298,1    | 3407,4±472,3    | 2520,4±964,5    |
| Рост, см (M±SD)                     | 37,6±1,24     | 42,2±0,73     | 45,2±0,22       | 52,3±0,13       | 48,1±0,22       |
| Окружность головы, см (M±SD)        | 27,6±0,51     | 29,3±0,18     | 31,1±0,11       | 35,1±0,52       | 32,7±0,11       |
| Окружность груди, см (M±SD)         | 25,6±0,57     | 27,6±0,19     | 28,6±0,13       | 34,1±0,62       | 31,1±0,13       |
| Оценка по Апгар 3, балл (M±SD)      | 2±1,53        | 4±1,91        | 7±1,352         | 8±0,58          | 7±1,86          |
| Оценка по Апгар 5, балл (M±SD)      | 3,56±1,56     | 5±1,61        | 7±1,076         | 8±0,77          | 7±1,75          |
| Возраст менархе                     | 13±3,84       | 13±4,64       | 13±4,32         | 13±5,1          | 13±4,71         |
| Срок взятия на учет по беременности | 11±4,3        | 11±6,1        | 11±5,6          | 10±5,3          | 11±5,5          |

Таблица 2. Взаимосвязь рождения детей преждевременно с некоторыми материнскими факторами

| Факторы                             | Недоношенные | Доношенные  | p-value |
|-------------------------------------|--------------|-------------|---------|
| Пол ребенка                         | 169 (59,5%)  | 115 (40,5%) | 0,0001  |
| Количество плодов                   | 1            | 279 (43,6%) | 0,0001  |
|                                     | 2            | 76 (96,2%)  |         |
|                                     | 3            | 3 (100%)    |         |
| Национальность                      | казахи       | 292 (50%)   | 0,024   |
|                                     | русские      | 53 (43,4%)  |         |
|                                     | другие       | 13 (81,3%)  |         |
| Семейное положение матери           | замужем      | 327 (48,7%) | 0,125   |
|                                     | не замужем   | 29 (60,4%)  |         |
| Количество родов                    | 1            | 182 (52,5%) | 0,24    |
|                                     | 2            | 97 (46,1%)  |         |
|                                     | 3            | 54 (46,2)   |         |
|                                     | 4 и более    | 25 (52,1%)  |         |
| Беременность                        | 1 и 2        | 202 (47,9%) | 0,027   |
|                                     | 3 и 4        | 111 (51,6%) |         |
|                                     | 5 и 6        | 30 (46,8%)  |         |
|                                     | 7 и более    | 15 (68,1%)  |         |
| Наличие аборт                       | 0            | 319 (48,7%) | 0,94    |
|                                     | 1            | 36 (63,2%)  |         |
|                                     | 2            | 1 (14,2%)   |         |
|                                     | 3 и более    | 2 (50%)     |         |
| Наличие выкидышей                   | 0            | 343 (49,1%) | 0,127   |
|                                     | 1            | 12 (60%)    |         |
|                                     | 2            | 2 (100%)    |         |
|                                     | 3 и более    | 1 (100%)    |         |
| Срок взятия на учет по беременности | 11±5,7       | 10±5,3      | 0,016   |

**Результаты и их обсуждение.** Выявлена статистически значимая связь недоношенности со следующими материнскими факторами: национальность, количество беременностей в анамнезе и срок взятия на учет по беременности. После отбора наиболее сильных ассоциаций проведён многофакторный регрессионный анализ. Учитывая тот факт, что исследовалась связь бинарного

признака (два возможных исхода события – преждевременные роды или нет) с несколькими количественными и качественными признаками, использовался метод множественной логистической регрессии. В ходе анализа рассчитано уравнение регрессии для возможности прогнозирования влияния сочетаний различных факторов на рождение детей преждевременно.

Таблица 3. Множественный логистический регрессионный анализ риска рождения ребенка преждевременно

| Факторы риска                       | В      | Знач.        | Exp (В) | 95% доверительный интервал для EXP(В) |         |
|-------------------------------------|--------|--------------|---------|---------------------------------------|---------|
|                                     |        |              |         | Нижняя                                | Верхняя |
| Пол ребенка                         | -0,647 | <b>0,000</b> | 0,524   | 0,368                                 | 0,746   |
| Количество плодов                   | 21,133 | 0,996        | 1,480   | 0,000                                 |         |
| Семейное положение матери           | 0,452  | 0,231        | 1,571   | ,750                                  | 3,292   |
| Количество родов                    | -0,297 | <b>0,040</b> | 0,743   | 0,560                                 | 0,986   |
| Количество аборт                    | 0,020  | 0,922        | 1,020   | 0,688                                 | 1,511   |
| Беременность                        | 0,228  | <b>0,022</b> | 1,256   | 1,033                                 | 1,528   |
| Наличие выкидышей                   | 0,609  | 0,131        | 1,839   | 0,835                                 | 4,049   |
| Срок взятия на учет по беременности | 0,041  | 0,052        | 1,042   | 1,000                                 | 1,087   |
| Возраст менархе                     | -0,059 | <b>0,027</b> | 0,943   | 0,895                                 | 0,993   |

На основании представленных в таблице 3 данных следует заключить, что статистически значимое влияние на риск рождения детей преждевременно оказывают такие показатели, как пол ребенка, количество родов и беременностей в анамнезе матери, возраст менархе матери.

В результате исследования выявлены риски преждевременных родов: мужской пол ( $p=0,001$ ), каждая последующая беременность матери увеличивает риск родить недоношенного ребенка в 1,2 раза ( $p=0,022$ ), с каждым последующими родами - в 0,7 раз ( $p=0,04$ ), увеличение возраста менархе на 1 год - в 0,9 раз ( $p=0,027$ ).

В проведенном исследовании значимой разницы в данных рождения недоношенных детей в зависимости от возраста матери не выявлено, тогда как исследования ученых из Канады Neaman M, Kingston D. [15] и Vaughan DA, Cleary BJ. [24] указывают, что юные (моложе 20 лет) и поздние ( $\geq 40$  лет) роды, т.е. возраст матери также является риск-фактором. Следует отметить, что в данном исследовании случаи родов до восемнадцати лет отсутствовали.

Разница в сроках взятия на учет по беременности в данном исследовании статистически значима, однако при включении в модель многомерной логистической регрессии оказалась незначима. Имеются исследования [17,23], указывающие, что чем раньше поставлена на учет по беременности женщина, тем ниже риск рождения недоношенного ребенка.

В представленном исследовании мальчики рождались преждевременно чаще, в сравнении с девочками, что согласуется с результатами других исследований [8,11].

С каждой последующей беременностью и родами риски рождения недоношенного ребенка увеличиваются, данные результаты аналогичны с таковыми других исследований [1]. Две и более беременностей в анамнезе увеличивают риск недоношенных родов в сравнении с первобеременными, причем независимо от возраста.

В результате проведенного исследования установлено, что позднее менархе в анамнезе у матерей является риск фактором родить ребенка преждевременно, однако имеются данные, утверждающие, что возраст наступления менархе не имеет значения [4].

Проведенное исследование по установлению факторов риска преждевременных родов одно из первых на территории Казахстана. Ввиду ретроспективного характера исследования не представилось возможности изучить поведенческие факторы риска матери и их зависимость от ее уровня образования. В литературе имеются данные о том, что существует взаимосвязь между преждевременными родами и уровнем образования матери, курением и чрезмерным употреблением алкогольных напитков. Выявленные факторы риска указы-

вают на необходимость проведения профилактической работы среди женщин фертильного возраста.

Таким образом, анализ данных, полученных в результате проведенного исследования позволяет заключить, что мужской пол ( $p=0,001$ ), каждая последующая беременность матери увеличивают риск рождения недоношенного ребенка в 1,2 раза ( $p=0,022$ ), с каждым последующими родами - в 0,7 раз ( $p=0,04$ ), увеличение возраста менархе на 1 год - в 0,9 раз ( $p=0,027$ ).

Преждевременные роды являются многофакторным процессом. Выявлено, что частота родов и беременностей, а также пол ребенка и возраст менархе матери являются факторами риска рождения ребенка преждевременно. С целью профилактики рождения детей преждевременно необходимо проводить санитарно-просветительскую работу среди женщин фертильного возраста.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Богданова Г. С., Зайдиева З. С., Магометханова Д. М., Заякин В. А., Назарова Е. А. Невынашивание беременности: общий взгляд на проблему // МС. 2012. №3.
2. А.Я. Валиулина, Э.Н. Ахмадеева Н.Н.К. Проблемы и перспективы успешного выхаживания и реабилитации детей, родившихся с низкой и экстремально низкой массой тела // Вестник современной клинической медицины. 2013. Т. 6. № 1. 34-41.
3. Протопопова Н.В., Шапошникова М.А. Современный взгляд на проблему преждевременных родов // Сибирский Медицинский Журнал. 2009. № 3. С. 28-33.
4. Семенов Ю.А. и др. Оценка факторов риска развития преждевременных родов у женщин с недоношенной беременностью //Современные проблемы науки и образования. - 2015.-№.4.-493-493.
5. Blencowe, H., Cousens, S., Oestergaard, M., Chou, D., Moller, A.B., et al. National, regional and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends for selected countries since 1990: a systematic analysis. For CHERG/WHO Lancet. 2012; 379: 2162-72.
6. Blondel B. и др. Preterm birth and multiple pregnancy in European countries participating in the PERISTAT project // BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol. 2006. Т. 113. № 5. С. 528-535.
7. Braun T. et al. Early-life glucocorticoid exposure: the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, placental function, and long-term disease risk //Endocrine reviews. 2013. Т. 34. № 6. С 885-916.
8. Challis J, Newnham J, Petraglia F, Yeganegi M, Bocking A (2013) Fetal sex and preterm birth. Placenta 34: 95-99.
9. Christopher P Howson, Mary V Kinney, Lori McDougall, Joy

E Lawn, the Born Too Soon Preterm Birth Action Group. Born Too Soon: The Global Action Report on Preterm Birth. Reprod Health. 2013; 10 (Suppl 1):S1.

10. Fedrick J., Anderson A.B. Factors associated with spontaneous pre-term birth. An Int. J. Obstet. Gynaecol. 1976; 83(5): 342–350.

11. Gargus R.A. Mortality and Adverse Neurologic outcomes are greater in preterm male infants // Pediatrics. 2009; 124(1): 112–121.

12. Goldenberg R.L. и др. Epidemiology and causes of preterm birth. // Lancet (London, England). 2008. T. 371. № 9606. C. 75–84.

13. Golding J., Henriques J., Unmarried at delivery. II. Perinatal morbidity and mortality. // Early Hum. Dev. 1986; 14(3–4):217–27.

14. Gravett M.G., Rubens C.E., Nunes T.M. Global report on preterm birth and stillbirth (2 of 7): Discovery science // BMC Pregnancy Childbirth. 2010. T. 10. № SUPPL. 1. C. 1–16.

15. Heaman M, Kingston D, Chalmers B, Lee L, Young D. Risk factors for preterm birth and small-for-gestational-age births among Canadian women. Paediatr Perinat Epidemiol 2013;27:54–61.

16. Heather A.Frey M.A.K. The epidemiology, etiology, and costs of preterm birth // Semin. Fetal Neonatal Med. 2016. C. 68–73.

17. Ip M, Peyman E, Lohsoonthorn V, Williams MA. A case-control study of preterm delivery risk factors according to clinical

subtypes and severity. J Obstet Gynaecol Res 2010;36:34–44.

18. Kleiman Joel C K.S.S. Racial differences in low birth weight // 2015. C. 749–753.

19. Kramer M.S., Kramer M.S. Determinants of low birth weight: methodological assessment and meta-analysis 4828 663 // Bull. World Heal. Organ. World Heal. Organ. 1987. T. 65. № 5. . 663–737.

20. Lumley J. Defining the problem: The epidemiology of pre-term birth//International Preterm Labour Congress, Montreux, June, 2002 // BJOG: Int. J. Obstet. and Gynaecol. – 2003. – Vol. 110. – P.3–7.

21. Osama Abu-Salah. Unfavourable outcomes associated with late preterm birth: observations from Jordan // J. Pakistan Med. Assoc. 2011. T. 61. C. 769–770.

22. Patel R.M. и др. Causes and Timing of Death in Extremely Premature Infants from 2000 through 2011 // 2015. C. 1–5.

23. Tedesco RP, Passini R Jr, Cecatti JG, Camargo RS, Pacagnella RC, Sousa MH. Estimation of preterm birth rate, associated factors and maternal morbidity from a demographic and health survey in Brazil. Matern Child Health J 2013;17:1638–47.

24. Vaughan DA, Cleary BJ, Murphy DJ. Delivery outcomes for nulliparous women at the extremes of maternal age - a cohort study. BJOG 2014;121:261–8.

## SUMMARY

### ANALYSIS OF SOCIO-DEMOGRAPHIC FACTORS OF THE RISK OF BIRTH OF CHILDREN IS PREMATURE IN REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

Jamedinova U.

*Semey State Medical University, Department of Public Health, Republic of Kazakhstan*

Aim of the study was the analysis of risk factors for the birth of premature infants in the city of Semey, Kazakhstan.

We conducted a retrospective cohort study of maternal risk factors for the birth of children prematurely. Prematurely born are children born alive at the time of 37 full weeks of pregnancy. The study included live births born between 2012 and 2015 in the Perinatal Center of the City of Semey. We analyzed the karts of hospitalized sick mothers and their children.

A total of 722 children were included in the study, of which 358 were premature babies and 364 full-term infants. Statistical processing of data was performed using IBM SPSS 20. With each subsequent pregnancy, the mother has a 1.2-fold increase in the chances of having a baby prematurely ( $p=0.022$ ). With each subsequent birth, the chances of having a baby increase prema-

turely 0.7 times ( $p=0.04$ ). An increase in the age of menarche for 1 year increases the chances of having a baby prematurely 0.9 times ( $p=0.027$ ). The male gender of the baby is also prematurely at risk ( $p=0.001$ ).

Premature birth is a multifactorial process we have found out that the frequency of childbirth and pregnancy, as well as the sex of the child and the age of the mother's menarche are factors of the child's birth prematurely. In order to prevent the birth of children, it is premature to conduct educational work with girls and women of childbearing age.

**Keywords:** premature babies, risk factors for the birth of premature infants, prevention of the birth of children prematurely.

## РЕЗЮМЕ

### АНАЛИЗ СОЦИАЛЬНО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА НЕДОНОШЕННОСТИ НОВОРОЖДЕННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Джамединова У.С.

*Государственный медицинский университет города Семей, кафедра общественного здравоохранения, Республика Казахстан*

Целью исследования явилось на основании анализа ретроспективной и текущей научной информации определение факторов риска рождения недоношенных детей в городе Семей, Казахстан.

Проведено ретроспективное когортное исследование материнских факторов риска преждевременного рождения детей в период с 2012 по 2015 год в Перинатальном центре города Семей. В исследование включено 722 живорожденных детей, из них 358 недоношенных и 364 доношенных.

Таким образом анализ данных исследования позволяет заключить, что мужской пол ( $p=0,001$ ), каждая последую-

щая беременность матери увеличивает риск родить ребенка преждевременно в 1,2 раза ( $p=0,022$ ), с каждым последующими родами - в 0,7 раз ( $p=0,04$ ), увеличение возраста менархе на 1 год - в 0,9 раз ( $p=0,027$ ).

Преждевременные роды являются многофакторным процессом, выявлено, что частота родов и беременностей, пол ребенка и возраст менархе матери являются риск-факторами рождения ребенка преждевременно. С целью профилактики рождения детей преждевременно необходимо проводить санитарно-просветительскую работу среди женщин фертильного возраста.

## რეზიუმე

დღენაკული ბავშვების დაბადების რისკ-ფაქტორების ანალიზი ყაზახეთის რესპუბლიკის მასალებზე

უ. ჯამელინოვა

სემეის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, საზოგადოებრივი ჯანდაცვის კათედრა, ყაზახეთის რესპუბლიკა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა რეტროსპექტული და მიმდინარე სამეცნიერო ლიტერატურის ანალიზის საფუძველზე დღენაკული ბავშვების დაბადების რისკ-ფაქტორების განსაზღვრა ყაზახეთის ქ. სემეის მასალების მიხედვით.

ნატარებულია რეტროსპექტული კოორტული კვლევა ნაადრევი მშობიარობის რისკ-ფაქტორების გამზახვის

მიზნით. კვლევაში ჩართული იყო 722 ცოცხლადშობილი ჩვილი: 358 დღენაკული და 364 დროულად დაბადებული. მიღებული მონაცემები სტატისტიკურად დამუშავებულია SPSS v. 20 პროგრამის მეშვეობით.

კვლევის ანალიზის შედეგად ავტორების დაასკვნიად, რომ მამრობითი სქესი ( $p=0,001$ ) ყოველი შემდგომი მშობიარობა, 1,2-ჯერ ზრდის ბავშვის ვადაზე დარე დაბადების რისკს ( $p=0,022$ ), ყოველი შემდგომი მშობიარობა - 0,7-ჯერ, ( $p=0,04$ ) მენარხეს ასაკის მატება 1 წლით - 0,9-ჯერ ( $p=0,027$ ).

ნაადრევი მშობიარობა წარმოადგენს მრავალფაქტორულ პროცესს. ამგვარად, კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ ფეხმძიმობის და მშობიარობის სიხშირე, ბავშვის სქესი, დედის მენარხეს ასაკი წარმოადგენენ ბავშვის დროზე ადრე დაბადების რისკ-ფაქტორებს. სტატისტიკური ავტორი მიზანშეწონილად თვლის ფერტილური ასაკის ქალებში სანიტარულ-განმანათლებლური მუშაობის აუცილებლობას.

## POSSIBLE IMPLEMENTATION OF GABAergic AND GLUTAMATERGIC SYSTEMS IN REALIZATION OF ANTIEPILEPTIC EFFECTS OF ACOUSTIC RANGE ELECTRO – MAGNETIC FIELDS

<sup>1</sup>Bukia N., <sup>1</sup>Butskhrikidze M., <sup>1</sup>Machavariani L., <sup>1</sup>Kekelia G., <sup>2</sup>Svanidze M.

<sup>1</sup>LEPL Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi; <sup>2</sup>I. Javakhishvili Tbilisi State University, Tbilisi, Georgia

The electromagnetic stimulation (EMS) is a noninvasive method, which is used as a complementary to drug for the treatment of epilepsy. Low-frequency electromagnetic fields (EMF) are biologically active and are able to penetrate and pass through a living tissue without having any obstacles. The EMF results in changes of electric and current density fields, accompanied by modification of synaptic activity, modes of synchronous bursts of neuronal populations, ion dynamics, and other phenomena [6,7,10,15].

*G-Aminobutyric acid* (GABA), the principal inhibitory neurotransmitter in the cerebral cortex, maintains the inhibitory tone that counterbalances neuronal excitation. When this balance is perturbed, seizures may ensue. GABA is formed within GABAergic axon terminals and released into the synapse, where it acts at one of two types of receptors: GABA-A, which controls chloride entry into the cell, and GABA-B, which increases potassium conductance, decreases calcium entry, and inhibits the presynaptic release of other transmitters. GABA-A receptor binding influences the early portion of the GABA mediated inhibitory postsynaptic potential, whereas GABA-B binding affects the late portion. GABA is rapidly removed by uptake into both glia and presynaptic nerve terminals and then catabolized by GABA transaminase [5].

*Glutamic acid* is implicated in epileptic seizures. Microinjection of glutamic acid into neurons produces spontaneous depolarization around one second apart, and this firing pattern is similar to what is known as paroxysmal depolarizing shift in epileptic attacks. This change in the resting membrane potential at seizure foci could cause spontaneous opening of voltage activated calcium channels, leading to glutamic acid release and further depolarization. Its earliest component is due to activation of AMPA receptors and its later component to activation of NMDA receptors. Moreover, glutamic acid is found to be associated with N-acetylglutamate synthetase deficiency, which is an inborn error of metabolism [2-4,17].

The purpose of this investigation was to study participation of GABA-A and GABA-B receptors antagonists, and glutamate agonist in realization of antiepileptic effects of acoustic range EMF.

**Material and methods.** Experiments were conducted on the male genetically epilepsy-prone rats (GEPRs) of Krushinsky-Molodkina [16] strain weighing 200-250 g. Animals were housed in laboratory cages with food and water ad libitum. This strain of rats manifests short lasting seizure activity in neonatal age, while fully fledged seizure activity manifests itself after hierarchical implication of brain stem structures [14,15].

*Audiogenic seizures.* GEPRs were placed in an audiogenic stimulation chamber. In this chamber, audiogenic stimulus (90 dB, time 60 sec), was presented. In response to the stimulus they developed: a) fear reaction and facial muscle clonus, or b) fear reactions with elevated motor activity responses (wild running, jumps), which were accompanied with tonic-clonic behavioral seizures (forepaw myoclonus; myoclonus of fore- and hindpaws, fall on a side; clonus of the fourpaws). This activity was finished with skeletal muscle rigidity, ataxia and asphyxia [12, 18, 19]. Experiments were conducted only on animals of the b group ( $n=28$ ).

*EMF Exposure* - EMF stimulation was carried out in the coil, designed at Tbilisi Technical University (Georgia). Parameters of EMF (stimulus frequency, its intensity and train duration), which partially or fully depressed behavior manifestation of seizure activity, were established during pilot experiments. For EMS were used the following parameters of EMF: 10-15 kHz, 1-1,5 m/Tesla, duration 20 min, during 5 days [1].

*Reagents:* In order to elucidate the mechanism of EMS on behavioral seizure activity, were used: 1. GABA-A receptor antagonist Bicuculline (2 mg/kg) ( $n=7$ ); which blocks chloride ion channels, as well as has an effect on calcium dependent potassium channels; 2. GABA-B (metabotropic) receptor antagonist - CGP 36742 (2 mg/kg) ( $n=7$ ); 3. Selective agonists of ionotropic

and metabotropic receptors – L-glutamine acid (1 mg/kg), which acts mainly on sodium ion channel (n=7). All reagents were injected intraperitoneally.

**Statistical processing** – obtained results were processed using an adequate statistical program. Data reliability was assessed using parametric and non-parametric techniques, with the use of one- and two way layout of factorial analysis.

**Experimental Paradigm.** Experiments were performed on GEPRs on the background of EMS (10-15 kHz, 1-1,5 m/Tesla, duration 20 min, during 5 days prior to medication) or without it. Both groups of rats were divided into 3 experimental subgroups. GABA-A receptor antagonist - Bicuculline, GABA-B receptor antagonist - CGP 36742 and Glutamate receptor agonist – L-Glutamine acid were injected intraperitoneally respectively in the first, second and third subgroups of GEPRs. Control group were injected with the same amount of saline in the same experimental design (n=7). Audiogenic stimulus (90 DB, during 60 sec) was given 30 min after reagents injection in experimental and control groups of GEPRs. Latency period of the first wild run, the first wild run, pause, between the first and second wild runs, second wild run, tonic-clonic seizure, post-ictal motor activity (skeletal muscle rigidity, ataxia, asphyxia) were monitored immediately after audiogenic stimulus presentation.

## Results and their discussion.

**1. Effects of EMS on behavior seizure manifestation in GEPRs.** In the control group of GEPRs, EMS increased latency period of the first wild run from  $20 \pm 3$  sec to  $50 \pm 4$  sec ( $P \leq 0.01$ ), decreased duration of the first and second wild runs (from  $14 \pm 3$  to  $9 \pm 2$  sec and from  $14 \pm 3$  to  $5 \pm 1$  sec ( $P \leq 0.05$ ) respectively, increased the pause between the first and second wild runs from  $7 \pm 2$  to  $25 \pm 3$  sec ( $P \leq 0.01$ ) and cope tonic-clonic seizure activity compared to non-stimulated GEPRs (Fig. 1).

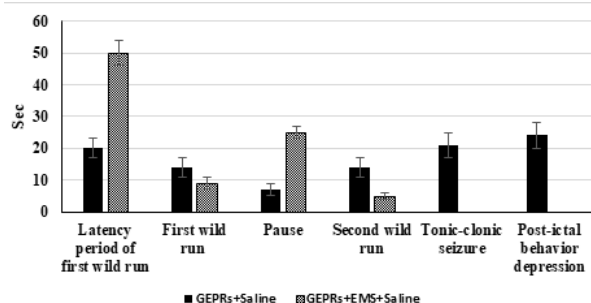


Fig. 1. Effects of EMS on behavior seizure manifestation in GEPRs. 2. Effects of GABAergic system in manifestations of behavior seizure activity on the background of EMS in GEPRs

On the background of Bicuculline, without EMS, audiogenic stimulus causes development of tonic-clonic seizure with  $27 \pm 4$  sec duration and post-ictal deprivation of behavior activity ( $42 \pm 4$  sec). Also observed was an increase in the first and second wild running from  $14 \pm 4$  to  $21 \pm 4$  sec and from  $14 \pm 4$  to  $19 \pm 4$  sec ( $P \leq 0.05$ ) compared to non-stimulated control group (Figs. 1 and 2).

In the first experimental group of GEPRs, after blocking of GABA-A receptors, low-frequency EMS did not cause the arrest of convulsive activity. The sound stimulation, on the background of EMS, increased the latency period of the first wild run from  $11 \pm 3$  to  $17 \pm 2$  sec ( $P \leq 0.05$ ). Decreased duration of the first and second wild runs was seen from  $21 \pm 3$  to  $10 \pm 2$  sec and  $19 \pm 3$  to  $13 \pm 2$  sec respectively ( $P \leq 0.05$ ). The time between the first and second run was increased from  $6 \pm 2$  to  $15 \pm 4$  sec ( $P \leq 0.05$ ). In this condition, GEPRs developed tonic-clonic seizure activity ( $25 \pm 4$  sec), followed by post ictal inhibition of motor activity (skeletal muscle rigidity, ataxia, asphyxia) ( $33 \pm 5$  sec). After EMS, the time of post-ictal inhibition of

behavior activity was low in Bicuculline-injected GEPRs compared to non-stimulated ones ( $P \leq 0.01$ ) (Fig. 2).

Therefore, EMS in Bicuculline-injected GEPRs, had not important influence on convulsive behavior manifestations, but parameters of motor activity were low compared to the non-stimulated ones.

GABA-A receptor antagonist Bicuculline is known to block chloride ion channels, as well as effects on calcium dependent potassium channels [2,10,13]. We suppose that EMS might activate ion channels, as well as prolongs the duration of channel opening time for inward chloride conductance. This might result in enhanced polarization degree, cause hyperpolarization and inhibition of behavior seizure activity. Accordingly, EMS might have a rapid inhibitory effect.

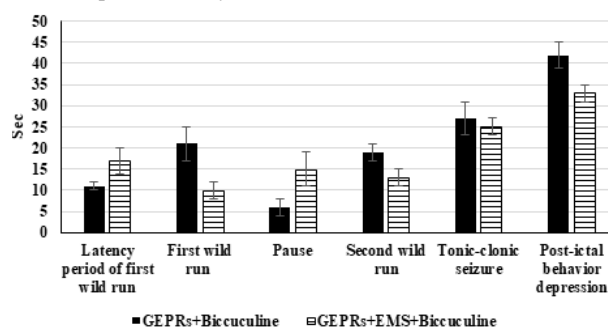


Fig. 2 Effect of acoustic range EMF on behavior manifestation of seizure activity in the first group of GEPRs on the background of GABA-A receptor antagonist Bicuculline

In the second group of GEPRs, after blocking of GABA-B receptors with CGP 36742, latency period of the first run was decreased from  $20 \pm 4$  to  $13 \pm 1$  sec ( $P \leq 0.01$ ), the first and second wild run was increased from  $14 \pm 1$  to  $19 \pm 2$  ( $P \leq 0.05$ ) and from  $14 \pm 1$  to  $22 \pm 2$  sec ( $P \leq 0.01$ ) respectively. Presented audiogenic stimulus causes convulsive behavior activity ( $34 \pm 4$  sec) followed by post-ictal behavior deprivation ( $37 \pm 3$  sec) (Fig. 1 and 3).

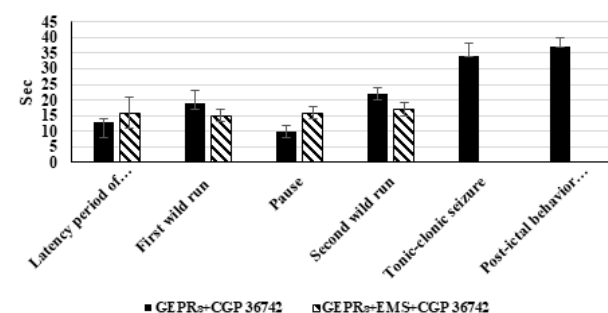


Fig. 3. Effect of acoustic range EMF on behavior manifestation of seizure activity in the second group of GEPRs on the background of GABA-B blocker CGP 36742

Injection of CGP 36742 after EMS, causes the arrest of convulsive activity in response to audiogenic stimulus. Important changes in duration of the first and second wild running time have not been detected. The time between the first and second run increased from  $10 \pm 2$  to  $16 \pm 2$  sec ( $P \leq 0.05$ ). We suppose that prolonged pause between the first and second wild run triggers endogenous mechanisms, which activate the neuronal ways for inhibition of behavior seizure manifestations.

It is known that, GABA-B receptors are G protein-linked receptors that hyperpolarize the neuron by increasing potassium conductance. GABA-B receptors decrease calcium entry and have a slow inhibitory effect [5,11].

It was suggested that a. activation of GABA-A receptors is necessary to block audiogenic seizure activity and b. participation of GABA-B receptors, without GABA-A receptor activation, is insufficient for this process.

Olsen and Avoli [11] have recently described the role of GABA-A and GABA-B receptors in the generation of GABA-mediated inhibitory postsynaptic potentials (IPSPs). Bicuculline methiodide, a GABA-A inhibitor, inhibits the early portion of the IPSP, whereas CGP- 35348, a GABA-B inhibitor, blocks the slow inhibitory effect seen as the late portion of the IPSP.

In addition, impulses from the inferior colliculus enter in the anterior colliculus, as well as in the reticular formation of the brain stem, from which the impulse reaches the spinal cord. This is a necessary condition for the development of tonic-clonic seizures [9,10]. Destruction of the pathways connecting the colliculus with the neocortex or diencephalon was shown not to prevent the development of audio convulsions. There is evidence showing that the involvement of the brainstem is important for the development of audiogenic seizure. The presentation of the sound stimulus (90 dB) leads to a cascade effect of the auditory region of the brain stem. This especially applies to the inferior colliculus, which contains both GABA and Glutamate receptors.

3. *Effects of Glutamatergic system in manifestations of behavior seizure activity on the background of EMS in GEPRs.*

In the third group of GEPRs intraperitoneal injection of L - Glutamine acid causes increased behavior seizure activity. This was manifested by a decrease of latency period of the first wild run  $20 \pm 2$  to  $7 \pm 1$  sec ( $P \leq 0.01$ ), followed by development of tonic-clonic seizure ( $32 \pm 4$  sec) and inhibition of behavior activity, asphyxia, ataxia ( $51 \pm 3$  sec) without the second wild run (Figs. 1 and 4).

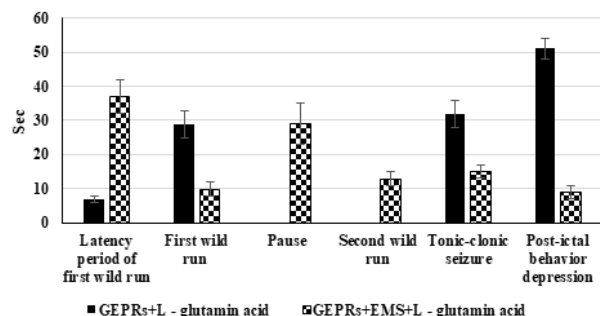


Fig. 4. *Effect of acoustic range EMF on behavior manifestation of seizure activity in the third group of GEPRs on the background of Glutamate receptor agonist – L - glutamin acid*

In the third group of GEPRs, on the background of EMS, the latency period of the first wild run was increased from  $7 \pm 1$  to  $37 \pm 5$  sec ( $P \leq 0.01$ ). Duration of the first wild run was decreased from  $29 \pm 3$  to  $10 \pm 2$  sec ( $P \leq 0.01$ ). Again, it was possible to observe the manifestations of the second run ( $13 \pm 2$  sec) and a pause between the first and second wild runs ( $29 \pm 2$  sec). At sound stimulation, there developed tonic-clonic seizure ( $15 \pm 2$  sec), ending with post ictal inhibition of motor behavior ( $9 \pm 2$  sec). Therefore, EMS causes tonic-clonic seizure with less degree of intensity and duration time ( $P \leq 0.01$ ) compared to non-stimulated ones (Fig. 4).

We infer that in the third group of animals, in spite of the Glutamatergic system activation by the introduction of L-glutamin acid, EMS might cause additional stimulation of the GABAergic system. Presumably, the decrease in the behavioral convulsive activity might be associated with the amplification of the GABAergic system. However, under conditions of increased activity of Glutamatergic madiation, the activity of the inhibitory

GABAergic system is not sufficient to arrest seizures. Therefore, the glutamate is a critical neuromediaor, which activates the mechanisms leading to seizures.

We tried to understand the possible mechanisms by which EMS with acoustic range EMF, is capable of positively effecting GEPRs to depress or cope seizure activity. The first possible cause of above mentioned positive influence may be the frequency (acoustic) range of impact, and second - the source of the acoustic waves is the EMF. The modulation of the brain function is carried out in several ways: by magnetic, electric and acoustic stimulation. Brain structures are subjected not only to direct transcranial stimulation, but they also receive afferent signals from the whole body [8,13,14]. We suggest that the artificially created EMF may change the tonic activity of afferent impulses to the inferior colliculus. Therefore, low-frequency EMS has neurostimulating and neuromodulating effect that is based on electromagnetic induction of electric field in the brain. Under the conditions of certain amplitude, frequency and exposure time, low-frequency EMF would induce depolarization of separate neurons, and change the total cortical excitability. Perhaps, these influences mediated by changes in membrane ion- channel permeability, which occur under the effect of low frequency EMF [13].

**Conclusion.** EMS with acoustic range EMF causes enhancement of inhibitory GABAergic system activity and decrease excitatory Glutamatergic system activity. Thus, acoustic range EMF can be applied for suppression of behavioral manifestation of seizures.

**Acknowledgement.** Research was supported by the Shota Rustaveli National Foundation FR /257/7-270/14.

## REFERENCES

1. Bukia N., Kekelia G., Butskhrikidze M., Machavariani L., Svanidze M. Acoustic range electric-magnetic field exposure decreases cortical excitability in genetically epilepsy-prone rats // International Journal of Biochemistry and Physiology, 2017, v. 1, issue 2, pp 1-6.
2. Albrecht J., Zielińska M. Mechanisms of Excessive Extracellular Glutamate Accumulation in Temporal Lobe Epilepsy // Neurochemical Research, 2017, Volume 42, Issue 6, 1724–1734.
3. Alexander GM, Godwin DW. Metabotropic glutamate receptors as a strategic target for the treatment of epilepsy // Epilepsy Res. 2006, 71:1–22.
4. Cartmell J, Schoepp DD. Regulation of neurotransmitter release by metabotropic glutamate receptors // J Neurochem. 2000, 75:889–907.
5. Çavuş I, Jonathan C. Romanyshyn, Jeremy T. Kennard, Pue Farooque, Anne Williamson, Tore Eid, Susan S. Spencer, Robert Duckro, James Dziura, Dennis D. Spencer M. Elevated basal glutamate and unchanged glutamine and GABA in refractory epilepsy: Microdialysis study of 79 patients at the yale epilepsy surgery program // Ann Neurol., 2016, 80:35–45
6. Chen R1, Spencer DC, Weston J, Nolan SJ. Transcranial magnetic stimulation for the treatment of epilepsy // Cochrane Database Syst Rev. 2016, 11 (8):CD011025.
7. Consales C, Merla C, Marino C, Benassi B. The epigenetic component of the brain response to electromagnetic stimulation in Parkinson's Disease patients: A literature overview // Bioelectromagnetics. 2018, 39(1):3-14.
8. Faingold CL, Naritoku DK, Copley CA et al: Glutamate in the inferior colliculus plays a critical role in audiogenic seizure initiation // Epilepsy Res, 1992; 13: 95–105.
9. Garcia-Cairasco N A critical review on the participation of in-

ferior colliculus in acoustic-motor and acoustic limbic networks involved in the expression of acute and kindled audiogenic seizures // *Hear Res.* 2002, 168(1-2):208-222.

10. Garcia-Cairasco N, Umeoka EHL, Cortes de Oliveira JA. The Wistar Audiogenic Rat (WAR) strain and its contributions to epileptology and related comorbidities: History and perspectives // *Epilepsy Behav.* 2017, 71 (Pt B):250-273.

11. Jeffrey L. Noebels, Massimo Avoli, Michael Rogawski, Richard Olsen, Antonio V. Delgado-Escueta. Introduction to the 'Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies' workshops // *Epilepsia*, 2010, 51(0 5): 1-5.

12. Kistsen V, Evstigneev V, Ulashchik V. The Effects of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation on Picrotoxin-Induced Convulsions in Mice. *Adv Clin Exp Med.* 2016, 25(2):317-25.

13. Macdonald RL. Mechanisms of anticonvulsant drug action. In: Pedley TA, Meldrum BS, eds. Recent advances in epilepsy I. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1983, 1-23.

14. Naritoku DK, Mecozzi LB, Aiello MT, Faingold CL. Repetition of audiogenic seizures in genetically epilepsy-prone rats induces cortical epileptiform activity and additional seizure behaviors // *Exp Neurol.* 1992, 115(3):317-24.

15. Pereira LS, Müller VT, da Mota Gomes M, Rotenberg A, Fregni F. Safety of repetitive transcranial magnetic stimulation in patients with epilepsy: A systematic review // *Epilepsy Behav.* 2016, 57 (Pt A):167-76.

16. Ross KC, Coleman JR. Developmental and genetic audiogenic seizure models: behavior and biological substrates // *Neurosci Biobehav Rev.* 2000, 24(6):639-53.

17. Tokay T, Kirschstein T, Rohde M, Zschorlich V, Köhling R. NMDA receptor-dependent metaplasticity by high-frequency magnetic stimulation // *Neural Plast.* 2014:684238.

18. Tupal S, Faingold CL. The amygdala to periaqueductal gray pathway: Plastic change induced by audiogenic kindling and reversal by gabapentin // *Brain Res.* 2012; 1475: 71-79.

19. Vataev SI, Mal'gina NA, Oganessian GA. Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova. Inferior colliculus stimulation effects in Krushinski-Molodkina strain rats. 2014, 100 (6):699-709.

## SUMMARY

### POSSIBLE IMPLEMENTATION OF GABAergic AND GLUTAMATERGIC SYSTEMS IN REALIZATION OF ANTIEPILEPTIC EFFECTS OF ACOUSTIC RANGE ELECTRO – MAGNETIC FIELDS

<sup>1</sup>Bukia N., <sup>1</sup>Butskhrikidze M., <sup>1</sup>Machavariani L., <sup>1</sup>Kekelia G., <sup>2</sup>Svanidze M.

<sup>1</sup>LEPL Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi;  
<sup>2</sup>I. Javakhishvili Tbilisi State University, Tbilisi, Georgia

Seizure is a clinical manifestation of a hyperexcitable neuronal network, in which, the electrical balance underlying the normal neuronal activity is altered pathologically-excitation (Glutamatergic activity) predominates over inhibition (GABAergic activity). Arresting of seizure activity is carried out by restoration of neurotransmitter balance. This process has a direct relation with ion channel permeability in cell and ion transmembrane movement. Low frequency EMS may have a neurostimulating and neuromodulating effect that is based on electromagnetic induction of electric field in the brain. Under the conditions of certain amplitude, frequency and relaxation time low-frequency

electromagnetic field (EMF) induces depolarization of separate neurons, and changes the total cortical excitability in case of repeatedly carried out procedures. It was shown that the exposure of acoustic range EMS in GEPRs treated with GABA-A or GABA-B receptors antagonists decreased behavior seizure activity in response to audiogenic stimuli. Injection of Glutamate receptor agonist on background EMS causes seizure activity, but seizure manifestations have less degree compared to non-stimulated rats.

Thus, in response to electromagnetic stimulation, the reduction or complete cramping of seizures can be explained by a change in the activity of the neurotransmitter systems.

**Keywords:** electromagnetic stimulation, GABA, Glutamate, seizure.

## РЕЗЮМЕ

### ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ ГАМКЕРГИЧЕСКОЙ И ГЛЮТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМ В РЕАЛИЗАЦИИ ПРОТИВОЭПИЛЕПТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ АКУСТИЧЕСКОГО ДИАПАЗОНА

<sup>1</sup>Букия Н.Г., <sup>1</sup>Буцхрикидзе М.П., <sup>1</sup>Мачавариани Л.И., <sup>1</sup>Кекелия Г.В., <sup>2</sup>Сванидзе М.Дж.

<sup>1</sup>Центр экспериментальной биомедицины им. И. Бериташвили, Тбилиси; <sup>2</sup>Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, Грузия

Судороги являются клиническим проявлением гипервозбудимой нервной системы, в которой электрическое равновесие, лежащее в основе нормальной нейронной активности, патологически изменено - возбуждение (глутаматергическая активность) преобладает над ингибированием (ГАМКергическая активность). Блокирование судорог, в основном, осуществляется путем восстановления баланса нейромедиаторов. Этот процесс на клеточном уровне зависит от проницаемости ионных каналов и трансмембранного движения ионов. Низкочастотная электромагнитная стимуляция может иметь как стимулирующий, так и модулирующий эффект, который основан на электромагнитной индукции электрического поля в головном мозге.

Многokратная экспозиция низкочастотного электромагнитного поля определенной амплитуды, частоты и времени экспозиции может вызвать деполяризацию отдельных нейронов и изменение общей возбудимости коры.

Показано, что предвортельное введение антагонистов ГАМК-А или ГАМК-Б рецепторов на фоне экспозиции низкочастотного электромагнитного поля вызывает снижение реакций поведенческой судорожной активности на аудиогенный раздражитель у предрасположенных к эпилепсии аудиогенных крыс.

Инъекция агониста глутаматергических рецепторов на фоне электромагнитной стимуляции вызывает увеличение судорожной активности. Однако, поведенческие проявления припадков менее выражены в сравнении с необлученными крысами.

Таким образом, снижение или полное купирование судорог в ответ на электромагнитную стимуляцию следует объяснить изменением активности нейромедиаторных систем.

## რეზიუმე

გამკერგული და გლუტამატერგული სისტემების შესაძლო მონაწილეობა აკუსტიკური დიაპაზონის ელექტრომაგნიტური ველის ანტიეპილეფსური ეფექტების რეალიზაციაში

<sup>1</sup>ნ. ბუკია, <sup>1</sup>მ. ბუცხრიკიძე, <sup>1</sup>ლ. მაჭავარიანი, <sup>1</sup>გ. კეკელია, <sup>2</sup>მ. სვანიძე

<sup>1</sup>ი. ბერიტაშვილის სახ. ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრი, თბილისი; <sup>2</sup>ი. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო

კრუნჩხვები ჰიპერაგზნებული ნერვული სისტემის კლინიკური გამოვლინებაა. ამ დროს ელექტრული ბალანსი, რომელიც საფუძვლად უდევს თავის ტვინის ნორმალურ აქტივობას, პათოლოგიურადაა შეცვლილი. კერძოდ, აგზნება (გლუტამინერგული აქტივობა) დომინირებს შეკავებაზე (გამერგული აქტივობა). კრუნჩხვითი აქტივობის კუპირება შესაძლებელია ნეირომედიტორების ბალანსის აღდგენის შემდეგ. ეს პროცესი დაკავშირებულია იონური არხების გამტარებლობასთან და იონების ტრანსმემბრანულ მოძრაობასთან.

დაბალსიხშირულ ელექტრომაგნიტურ სტიმულაციას შესაძლოა ქონდეს ნეირომასტიმულირებელი, ასევე ნეირომოდულაციური მოქმედება, რომელიც ეფუძნება თავის ტვინში ელექტრული ველის ელექტრომაგნიტურ ინდუქციას. განსზღვრული ამპლიტუდის, სიხშირისა და ზემოქმედების ხანგრძლივობის პირობებში, დაბალსიხშირული ელექტრომაგნიტური ველი იწვევს ცალკეული ნეირონების დეპოლარიზაციას, ხოლო პროცედურის რამოდენიმეჯერ განმეორების შემთხვევაში კი ცვლის მთლიანი ქერქის აგზნებადობას.

ნაჩვენებია, რომ აკუსტიკური დიაპაზონის ელექტრომაგნიტური ველით ექსპოზიცია აუდიოგენური კრუნჩხვებისადმი გენეტიკურად დეტერმინირებულ ვირთაგვებში გაემ-ა და გაემ-ბ რეცეპტორების ბლოკატორის შეყვანის შემდეგ ამცირებს აუდიოგენურ სტიმულზე კრუნჩხვების ქცევით გამოვლინებას. გლუტამატის რეცეპტორების გააქტივება ელექტრომაგნიტური ველით ექსპოზიციის პირობებში ვერ აღდგენს კრუნჩხვების კუპირებას, თუმცა პასუხი შედარებით უფრო სუსტია დაუსხივებელ ვირთაგვებთან შედარებით.

ამრიგად, აკუსტიკური დიაპაზონის ელექტრომაგნიტური ველების საპასუხოდ კრუნჩხვების ქცევითი გამოვლინების შესუსტებას ან სრულ კუპირებას შეიძლება საფუძვლად ედოს ნეირომედიტორული სისტემების აქტივობის ცვლილება.

## СОХРАНЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ОРГАНОВ ПОСРЕДСТВОМ АППАРАТА ИСКУССТВЕННОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ У ДОНОРОВ С НЕБЬЮЩИМСЯ СЕРДЦЕМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Чхаидзе З.А., Шенгелия О.С., Пилишвили О.Д., Ходели Н.Г.

Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, Грузия

С начала XXI столетия, ежегодно в мире выполняется до 100 тысяч трансплантаций органов и более 200 тысяч – тканей и клеток человека. Из них около 26 тысяч приходится на трансплантацию почек, 8-10 тысяч – печени, 4,5 тысяч – сердца, 1,5 тысячи – легких, 1 тысяча – поджелудочной железы [2,14,21,35].

Трансплантируемые органы и ткани, в зависимости от их функций, условно можно разделить на: а) гомовитальные, которые должны сохранять двигательную или секреторную активность и способность клеток к размножению, т.е. должны быть жизнедеятельными (сердце, почки, печень, поджелудочная железа) и б) гомостатические, которые выполняют, в основном, опорную или покровную функцию, и сохранение жизнедеятельности их клеток не обязательно (кость, роговица). Поэтому, естественно, что консервирование гомовитальных трансплантатов должно быть более физиологичным, чем гомостатических [1,6,10].

Клетки органов имеют некоторый запас питательных веществ, однако не имеют запаса кислорода, поэтому в нарушении их жизнедеятельности первостепенную роль играет аноксия. В отсутствие кислорода энергетические потребности клеток покрываются за счет бескислородного расщепления глюкозы, что приводит к накоплению недоокисленных продуктов (молочная кислота) и ацидозу, при котором повреждаются клеточные мембраны, нарушаются внутриклеточные структуры, освобождаются ферменты, вызывающие аутолиз, что, в конечном счете, приводит к гибели ткани или органа [20,23,28]. Для сохранения органов с целью уменьшения этих повреждений применяют два вида воздействия:

1. Заместительное консервирование (искусственное поддержание обмена веществ путем доставки кислорода и питательных веществ):

- 1.1. Биологическая перфузия;
- 1.2. Нормотермическая аппаратная перфузия

2. Консервирование, подавляющее обмен веществ (искусственное снижение уровня обменных процессов, а следовательно, и потребности в кислороде, питательных веществах):

- 2.1. Охлаждение до температуры, близкой к 0°C, в жидких солевых средах или в других жидкостях без питательных веществ;
- 2.2. Гипотермическая перфузия;
- 2.3. Бесперфузионный метод;
- 2.4. Охлаждение в твердых средах до температуры, близкой к 0°C;
- 2.5. Замораживание при температуре ниже 0°C [25,27, 30].

Более широкое применение получили комбинированные методы (заместительные и подавляющие обмен веществ) консервации, которые подразделяются на:

- 3.1. Гипотермическая перфузия плазмозамещающими растворами;
- 3.2. Гипотермия в сочетании с гипербарической оксигенацией;
- 3.3. Бесперфузионное охлаждение до температуры, близкой к 0°C, в жидких средах, содержащих кровь, плазму, сахар, АТФ.

Теоретической предпосылкой использования охлаждения для сохранения тканей является феномен Вант-Гоффа, со-

гласно которому снижение температуры на 10°C уменьшает потребность ткани в кислороде вдвое, а при t 2-4°C кислородная потребность составляет 4-5% от исходного уровня. Гипотермическая перфузия проводится с использованием разведенной крови, оксигенированной плазмы или специально разработанных фармакологических средств: «Кустодиол», раствор «Коллинза», раствор «Висконсинского университета» (UW solution) [5,18,32].

Согласно литературным данным, дефицит донорских органов может быть истинным или искусственным, а причины в обоих случаях делят на частные и общие. К частным причинам относятся особенности оказания экстренной помощи в разных странах (за последние 5 лет в странах Евросоюза с 43 до 35% снизилась доля доноров, погибших от черепно-мозговой травмы [10,15]), распределения донорских органов [4], организационного свойства. Общими причинами дефицита донорских органов следует рассматривать проблемы соответствующей организации всего донорского процесса, наиболее значимыми из них являются проблемы этического характера, так как большинство населения планеты не готово к рутинному, выполняемому «по умолчанию» изъятию донорских органов после смерти индивида [7,8]. Исключением можно считать Испанию, где проявляется прогрессивный подход к этому, довольно сложному этико-религиозному вопросу. В Испании во многих церквях можно увидеть табличку с надписью: «Не забирай органы на небеса, они нужны здесь, на земле!».

#### *Выбор донора*

На начальных этапах развития трансплантации гарантия положительного исхода пересадок обеспечивалась идеальным качеством донорского органа и самого донора. По понятным причинам все трансплантаты не могут быть идеального качества, и с середины 90-х годов изменяется стратегия их дооперационной селекции, заготовки, распределения и консервации, критерии отбора и приемлемости для трансплантации. Снижение числа доноров со смертью мозга и критическая нехватка донорских органов в целом обусловили необходимость изыскания альтернативных источников донорских органов [3,9,14,16]. В литературе такие органы называют по-разному: «organs from the expanded criteria donors», а также «органы от доноров с необратимой остановкой сердечной деятельности», «асистолические доноры (АСД)», или «доноры с небыющим сердцем (ДНС)» [12,16,26].

В связи с успехами в области клинической трансплантации органов, существенно расширились показания к выполнению пересадки почки, печени, сердца, поджелудочной железы и, как следствие, еще более возросла потребность в донорских органах. Одним из направлений преодоления дефицита донорских органов является расширение критериев их пригодности для трансплантации. Такой подход позволяет увеличить количество операций, сократить летальность в период ожидания трансплантации, однако достоверно увеличивает риск плохой начальной функции пересаженного органа и сокращает выживаемость реципиентов. Сложившаяся ситуация обусловила актуальность двух задач:

- объективная оценка функционального состояния органа и прогнозирование его начальной функции;

- реабилитация органа исходно не пригодного для трансплантации, восстановление его функциональных параметров и обоснованное использование для пересадки.

Для решения обеих задач перспективным является использование перфузионных машин. Многие из предложенных сегодня образцов представляют собой модернизированные аппараты экстракорпоральной мембранной оксигенации или

искусственного кровообращения. Ряд экспериментальных и клинических исследований показал улучшение функции органов и исходов трансплантации при использовании перфузионных машин [11,17,29]. Выявленные эффекты включают в себя:

- продление времени консервации без увеличения частоты плохой начальной функции трансплантата;
- восстановление уровня кислорода в митохондриях (при оксигенации перфузионного раствора);
- улучшение микроциркуляции;
- уменьшение степени стеатоза (при консервации печени);
- уменьшение выраженности неспецифических воспалительных изменений.

#### *Ишемически-реперфузионные повреждения*

Однако, в некоторых публикациях встречается сдержанное отношение к результатам пересадок органов от ДНС [19, 20, 32, 34]. Почему же в ряде случаев, такие донорские органы являются «органами второго сорта»? Основными ограничениями жизнеспособности трансплантатов, полученных от доноров с расширенными критериями, являются ишемически-реперфузионные повреждения. Такие повреждения органов не позволяют использовать те стандартные методы консервации, которые приняты при работе с органами от идеальных доноров. Последствия тепловой ишемии в донорском органе могут быть обратимы только лишь на инициальном этапе консервации и только в условиях аппаратной перфузии, позволяющих устранить или минимизировать возникшие изменения. К этим изменениям относят также редукцию активированных форм лейкоцитов и их конгломератов, которые связываются с активированными тромбоцитами образуя на клетках эндотелия адгезивные молекулы, что, в конечном итоге, ведет к микро-тромбозу с нарушением кровообращения в микроциркуляторном русле. Поэтому, на инициальном-же этапе консервации, для максимального восстановления функционального резерва необходимо произвести «санацию» и «реабилитацию» микроциркуляторного русла донорского органа. Под «санацией» подразумевают удаление из просвета артериол и венул активированных форм лейкоцитов и их конгломератов, т.н. «де-активацию» эндотелия, что в литературе получило название «leucocytes depletion» – удаление лейкоцитов, и ряд авторов указывают на необходимость размещения в системах нормотермической экстракорпоральной аппаратной гемоперфузии лейкоцитарного фильтра, с целью предотвращения индуцированного лейкоцитами повреждения тканей и уменьшения интенсивности иммунного ответа [19, 31]. При этом, сохраняется доставка кислорода, восстанавливаются и сохраняются энергетические ресурсы эндотелия; в этом и заключается перфузионная «реабилитация» поврежденного органа, подготовка его для последующего хранения и трансплантации, снижение степени реперфузионных расстройств после возобновления кровотока.

Однако возникает вопрос как минимизировать ишемически-реперфузионные повреждения для достижения реабилитации таких донорских органов перед трансплантацией?

#### *Аппаратная перфузия*

В современном арсенале технологий консервации органов имеется способ воздействия на донорский орган до и после его эксплантации – это метод аппаратной перфузии. Следует отметить, что в литературе имеются разногласия об эффективности применения аппаратной перфузии. Сторонники традиционного, бесперфузионного – простого холодового способа консервации органов ссылаются на дороговизну и сложность метода аппаратной перфузии. С возникновением актуального интереса к донорам с расширенными критериями появилось множество работ, свидетельствующих

о преимуществах применения перфузионного вида консервации [11,13,17,19-21,23,28,32]. Современные средства и методы перфузионной консервации позволяют улучшить качество трансплантата на предтрансплантационном этапе, что предоставляет возможность использования органов, которые ранее признавались непригодными для трансплантации. На сегодняшний день большинство исследователей обоснованно полагают, что преимущества использования аппаратной перфузии особенно заметны при работе с органами, полученными от ДНС [8,14,22,24,26].

В современной практике донорства определяется два принципиальных направления применения аппаратной перфузии: экстракорпоральная перфузия целого региона *in situ* (например, абдоминального), или всего организма с применением аппарата искусственного кровообращения, и аппаратная перфузия отдельных (изолированных) органов *ex vivo*, с применением органоспецифичных аппаратов [1,2,9,11,19,22,24,27,31,35]. В отношении консервации печени, например, применяются термины «рециркуляция» и «реперфузия» [28, 33, 34]. В первом случае речь идет о перфузии донорской печени аутологичной кровью с различными модификациями, а во втором случае – о изолированной перфузии печени аппаратом с обеспечением потока раздельно – через систему воротной вены и артериальное русло. Все больший интерес вызывает способ консервации донорских органов нормотермической перфузией (в том числе и цельной кровью) [11,18,19,21,23,25,33], что является не совсем традиционным подходом, так как основным принципом консервации долгое время считалось понижение кислородного запроса тканей за счет охлаждения [24]. Многие авторы считают, что применение нормотермической перфузии способно восстановить энергетический и функциональный потенциал поврежденного ишемией органа [18,20,28,32]. В современной литературе все чаще встречаются сообщения о результатах применения аппаратной перфузии «поврежденных» донорских органов с удовлетворительными послеоперационными результатами [33,34]. Основной причиной применения этого сложного способа аппаратной перфузии органов как *in situ*, так и *ex vivo*, как в эксперименте, так и в клинике, явилось стремление улучшить состояние донорского органа перед трансплантацией за счет «отмывки» микроциркуляторного русла от лейкоцитарных масс, купирования отека эндотелия вследствие вымывания недоокисленных продуктов анаэробного гликолиза и «деактивации» эндотелия – т.е. подготовки трансплантата к возобновлению обычного кровотока. Дефицит донорских органов часто обусловлен принятием решения о пригодности органа в пользу реципиента – к пересадке предоставляются только органы идеального и стандартного качества, а органы, качество которых вызывает сомнение, отвергаются. Между тем, аппаратная перфузия трансплантатов является методом действенного определения пригодности трансплантатов и воздействия на донорский орган после прекращения в нем кровообращения.

#### *Консервация почек*

Наиболее изученным является влияние аппаратной перфузии на результаты пересадок почек. И здесь первоначальный скептицизм, вызванный относительной дороговизной метода [9,11,28,35], отступает на второй план. Так, в исследованиях последних 10 лет в США авторы показали, что использование донорских почек со стандартными критериями после аппаратной перфузии равно таковому для таких же почек, не подвергавшихся перфузии (холодовая консервация), – 92,9 и 92,5% соответственно, а в группах почек от ДНС была существенно выше: почки после аппаратной

перфузии были трансплантированы в 70,1% случаев, а без перфузии – в 58,9%. По данным других авторов [20,32], использование гипотермической аппаратной перфузии почек, полученных от ДНС, в сравнении со стандартной, бесперфузионной холодовой консервацией, дает лучшие результаты в раннем послеоперационном периоде и определяет высокую годовичную выживаемость трансплантата – в 94% [34].

#### *Консервация печени*

В литературе достаточно широко представлена тема аппаратной перфузии печени, в основном, экспериментальными данными [9,13-15,17,19-21,23,26,28,29,31-35]. Приводятся результаты аппаратной нормотермической перфузионной консервации печени в сравнении с простой холодовой консервацией. Этими экспериментами установлено достоверное улучшение морфологии гепатоцитов, увеличение уровня вырабатываемого гликогена и низкий уровень свободных кислородных радикалов, выделяемых синусоидальными клетками печени при перфузионной консервации. Эти же исследования показали, что последовательное применение холодовой перфузии, а затем нормотермической аппаратной перфузии значительно улучшает результаты трансплантации при взятии печени у ДНС (с временем тепловой ишемии 45 мин), в отличие от статической холодовой консервации с применением UW solution [20,28,32].

**Заключение.** В свете вышеизложенного, сегодня, под консервацией органов следует понимать широкий, комплексный процесс, охватывающий все этапы получения донорского органа начиная от звонка трансплантационного координатора до операции пересадки: мероприятия по профилактике, лечению и реабилитации тепловых ишемических повреждений трансплантатов и их реперфузионных осложнений; процесс, включающий в себя выбор и ведение донора, максимальное сохранение энергетических ресурсов органов, дезактивацию эндотелия путем аппаратной перфузионной санации микроциркуляторного русла как *in situ*, так и *ex vivo*, полный мониторинг параметров перфузии и функциональную оценку качества трансплантата.

Использование нормотермической экстракорпоральной аппаратной перфузии с мембранной оксигенацией *in situ* у асистолических доноров способно увеличить донорский пул не менее чем на 30% [73]. Результаты пересадок и функциональное состояние таких донорских органов эквивалентны органам, полученным от доноров со смертью мозга (ДСМ) и ассоциированы с низким уровнем первично нефункционирующих трансплантатов.

Применение аппаратной перфузии является технологией, возможности которой позволяют радикально изменить подходы к трансплантации органов.

**Благодарность.** Работа выполнена в рамках Проекта №217382 – «Новый метод перфузионной «*in situ*» консервации органов (экспериментальное исследование)» - финансируемого Национальным Научным Фондом Грузии им. Шота Руставели.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Багненко СФ, Мойсюк ЯГ, Скворцов АЕ, Резник ОН. Реабилитация Донорских Органов. Направление в консервации или новая парадигма трансплантологии? Вестник Трансплантологии и Искусственных Органов. 2009;11(3):17-29.
2. Готье СВ, Мойсюк ЯГ, Хомяков СМ. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2013 году. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2014;16(2):5-23.
3. Погребниченко ИВ. Эффективное использование печени

- мультиорганного донора для трансплантации. Дисс. канд. мед. наук. Москва. 2014.
4. Резник ОН. Аппаратная перфузия почечных трансплантатов: эволюция представлений о технологии, собственные практические результаты и перспективы применения. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2008;2(40):49-56.
5. Щерба АЕ, Коротков СВ, Лебедь ОА, Савчук ММ, Дзядзько АМ, Минов АФ, Сантоцкий ЕО, Руммо ОО. Экспериментальная Гипотермическая Машинная Перфузия Трансплантатов Печени Раствором «Кустодиол» (НТК). Новости хирургии. 2014;22(1):75-82.
6. Яковец НМ, Федорук ДА, Кирковский ЛВ, Ленкевич ВА, Гулевич ЕВ, Руммо ОО. Испытательный стенд для перфузионного кондиционирования трансплантатов органов. Наука и инновации. 2016;8(162):26-29.
7. Abrams DC, Prager K, Blinderman CD, Burkart KM, Brodie D. Ethical dilemmas encountered with the use of extracorporeal membrane oxygenation in adults. Chest. 2014;145(4):876-882.
8. Antommaria AHM. Ethical Controversies in Organ Donation After Circulatory Death. Pediatrics. 2013;131(5):1021-1026.
9. Carter T, Bodzin AS, Hirose H, West S, Hasz R, Maley WR, Cavarocchi NC. Outcome of organs procured from donors on extracorporeal membrane oxygenation support: an analysis of kidney and liver allograft data. Clin Transplant. 2014;28(7):816-20.
10. Chaib E. Non heart-beating donors in England. Clinics. 2008;63(1):121-134.
11. Chew Y.V., Matthews R., Yuen G.O.L. et al. Extra-corporeal normothermic machine perfusion of the porcine kidney: working towards future utilization in Australasia. Royal Australasian College of Surgeons. 2017;1-6.
12. Chkhaidze Z, Khodeli N, Kordzaia D, Partsakhashvili J, Pilishvili O. Fruitless resuscitation? Journal of Surgery of Georgia. 2016;1:53-56.
13. Detelich D., Markmann J.F. The dawn of liver perfusion machines. Liver transplantation. 2018;1-11.
14. Dubbeld J, Hoekstra H, Farid W, Ringers J, Porte RJ, Metseelaar HJ, Baranski AG, Kazemier G, van den Berg AP, van Hoek B. Similar liver transplantation survival with selected cardiac death donors and brain death donors. BJS. 2010;97(5):744-753.
15. Dutkowski P, De Rougemont O, Mullhaupt B, Clavien PA. Current and future trends in liver transplantation in Europe. Gastroenterology. 2010;138:802-809.
16. Fatullayev J, Samak M, Sabashnikov A, Weymann A, Mohite PN, García-Sáez D, Patil NP, Dohmen PM, Popov A-F, Simon AR, Zerihouh M. Non-Heart-Beating Donor Heart Transplantation: Breaking the Taboo. Med Sci Monit Basic Res. 2015;21:153-156.
17. Graham JA, Guarrera JV. "Resuscitation" of marginal liver allografts for transplantation with machine perfusion technology. Journal of Hepatology. 2014;61:418-431.
18. Hessheimer AJ, Billault C, Barrou B, Fondevila C. Hypothermic or normothermic abdominal regional perfusion in high-risk donors with extended warm ischemia times: impact on outcomes? Transplant International. 2015;28:700-707.
19. Izamis ML, Tolboom H, Uygun B, Berthiaume F, Yarmush ML, Uygun K. Resuscitation of ischemic donor livers with normothermic machine perfusion: a metabolic flux analysis of treatment in rats. PLoS One. 2013;8(7):e69758.
20. Jomaa A, Gurusamy K, Siriwardana PN, Clavworthy I, Collier S, de Muijder P, Fuller B, Davidson B. Does Hypothermic Machine Perfusion of Human Donor Livers Affect Risks of Sinusoidal Endothelial Injury and Microbial Infection? A Feasibility Study Assessing Flow Parameters, Sterility, and Sinusoidal Endothelial Ultrastructure. Experimental Transplantation. 2013;45(5):1677-1683.
21. Laing R.W., Mergental H., Yap C. et al. Viability testing and transplantation of marginal livers (VITTAL) using normothermic machine perfusion: study protocol for an open-label, nonrandomised, prospective, single-arm trial. BMJ Open. 2017;1-15.
22. Lazzeri C, Bonizzoli M, Valente S, Cianchi G, Migliaccio ML, Gensini GF, Peris A. The role of extracorporeal membrane oxygenation in donation after circulatory death. Minerva Anestesiologica. 2014;80(11):1217-27.
23. Liu Q, Nassar A, Farias K, Buccini L, Baldwin W, Mangino M, Bennett A, O'Rourke C, Okamoto T, Uso TD, Fung J, Abu-Elmagd K, Miller C, Quintini C. Sanguineous normothermic machine perfusion improves hemodynamics and biliary epithelial regeneration in DCD porcine livers. Liver Transpl. 2014;20(8):987-999.
24. Matevosian E, Kordzaia D, Chkhaidze Z, Khodeli N, Partsakhashvili J, Khachiperadze Z, Doll D, Lobzhanidze G. Abdominal Organ Donation: Surgical Aspects and Recommended Practice Guidelines for Controlled Donation of Brain-Dead Donor. Georgian Medical News. 2015;2:81-89.
25. Messer S, Ardehali A, Tsui S. Normothermic donor heart perfusion: current clinical experience and the future. Transplant International. 2015;28:634-642.
26. Monbaliu D, Vekemans K, Liu Q, Heedfeld V, Wylm T, Van Breussegem A, Pirenne J. Liver transplantation from non-heart-beating donors: Current status and future prospects in an experimental model. Acta Chir Belg. 2008;108:45-51.
27. Mongero LB, Beck JR, Charette KA. Managing the extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) circuit integrity and safety utilizing the perfusionist as the "ECMO Specialist". Perfusion. 2013;28(6):555-556.
28. Nachbar E, Tulipan J, Stone J, Bae C, Reznik L, Kato T, Samstein B, Emond JC, Guarrera JV. Hypothermic Machine Preservation Reduces Molecular Markers of Ischemia/Reperfusion Injury in Human Liver Transplantation. American Journal of Transplantation. 2012;12(9):2477-2486.
29. Partsakhashvili D., Chkhaidze Z., Khodeli N., Pilishvili O., Jangavadze M., Kordzaia D. Experimental Liver Autotransplantation With Novel Scheme of Veno-venous Bypass as a Model of Liver Denervation and Delymphatization. Transplantation Proceedings, 2013;45:1739-1742.
30. Reich D.J., Mulligan D.C., et al. ASTS recommended practice guidelines for controlled donation after cardiac death organ procurement and transplantation. Am. J. Transplant. 2009;(9):2004-11.
31. Tung Wan Song A, Avelino-Silva VI, Pecora RAA, Pugliese V, D'Albuquerque LAC, Abdala E. Liver transplantation: Fifty years of experience. World J Gastroenterol. 2014;20(18):5363-5374.
32. Van Rijin R., Karimian N., Matton A.P.M. et al. Dual Hypothermic Oxygenated Machine Perfusion In Liver Transplants Donated After Circulatory Arrest. British Journal of Surgery. 2017;(104):907-17.
33. Vogel T., Brockmann J.G, Pigott D. et al. Successful transplantation of porcine liver grafts following 48-hour normothermic preservation. PLOS ONE. 2017;1-15.
34. Zhai Y, Petrowsky H, Hong JC, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Ischaemia-reperfusion injury in liver transplantation—from bench to bedside. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. 2013;10:79-89.
35. Zorzia D, Rastellinia C, Freeman DH, Eliasc G, Duchinia A, Cicalesea L. Increase in Mortality Rate of Liver Transplant Candidates Residing in Specific Geographic Areas: Analysis of UNOS Data. American Journal of Transplantation. 2012;12:2188-2197.

## SUMMARY

### PRESERVATION OF ORGANS VIABILITY BY THE HEART-LUNG BYPASS MACHINE IN THE NON-HEART-BEATING DONORS (REVIEW)

Chkhaidze Z., Shengelia O., Pilishvili O., Khodeli N.

*I. Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia*

In a wide range of acute, debatable problems of transplantology, the problem of donation should be highlighted. It includes the selection and management of the donors, ethical and religious aspects and issues on the prevention, treatment and rehabilitation of the organ before its transplantation. Among the many methods of organ preservation, in the last decade, machine perfusion methods are on the forefront. They are designed to minimize or repair the ischemic-reperfusion damages in tissues and cells. This became possible in conditions of technical progress and the introduction of artificial circulation systems that provide adequate tissue microcirculation in non-heart-beating donors. However, this approach should take into account the complexity of the perfusion machines design, its various connection schemes and the nature of the perfusion parameters - the composition and temperature of the perfusion liquor.

Experimental studies confirm that the use of machine perfusion is a technology whose possibilities will radically change the approaches to organ transplantation.

**Keywords:** non-heart beating donor, extracorporeal life support, adequate perfusion.

## РЕЗЮМЕ

### СОХРАНЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ОРГАНОВ ПОСРЕДСТВОМ АППАРАТА ИСКУССТВЕННОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ У ДОНОРОВ С НЕБЬЮЩИМ СЕРДЦЕМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Чхаидзе З.А., Шенгелия О.С., Пилишвили О.Д., Ходели Н.Г.

*Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, Грузия*

В широком спектре острых, дискуссионных проблем трансплантологии следует выделить проблему донорства. Она включает в себя выбор и ведение донора, этические и религиозные аспекты и вопросы по профилактике, лечению и реабилитации органа до его трансплантации. Среди множества

способов консервации органов в последнем десятилетии на передний план выступают перфузионные методы. Они призваны минимизировать, либо восстановить ишемически-реперфузионные повреждения на тканевом и клеточном уровнях, что стало возможно в условиях технического прогресса и внедрения систем искусственного кровообращения, обеспечивающих адекватную тканевую микроциркуляцию при асистолии. Однако, при таком подходе следует учитывать сложность конструкции перфузионного аппарата, разнообразные схемы его подключения и характер перфузионных параметров – состав и температуру перфузата.

Экспериментальные исследования подтверждают, что применение аппаратной перфузии является технологией, возможности которой позволят радикально изменить подходы к трансплантации органов.

## რეზიუმე

ორგანოთა სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნება გულ-გაჩერებულ დონორებში ხელოვნური სისხლის მიმოქცევის აპარატის გამოყენებით (ლიტერატურის მიმოხილვა)

ზ. ჩხაიძე, ო. შენგელია, ო. ფილიშვილი, ნ. ხოდელი

*ი. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი*

ტრანსპლანტოლოგიის მწვავე, სადისკუსიო პრობლემების ფართო სპექტრში განსაკუთრებულად გამოირჩევა დონორების პრობლემა. იგი მოიცავს დონორის შერჩევის, ეთიკო-რელიგიურ და ტრანსპლანტაციამდე ორგანოთა პროფილაქტიკის, მეურნეობისა და რეაბილიტაციის საკითხებს. ორგანოთა კონსერვაციის არსებულ მეთოდთა შორის უკანასკნელ ათწლეულში წინა პლანზე გამოდის პერფუზიული მეთოდი. იგი მოწოდებულია ქსოვილოვან და უჯრედულ დონეზე დაიცვას ან აღადგინოს თბური იშემიით გამოწვეული დაზიანებები. ეს შესაძლებელი გახდა დღევანდელი ტექნოლოგიური პროგრესის პირობებში ხელოვნური სისხლმიმოქცევის ისეთი სისტემების დანერგვის გამო, რომლებიც უზრუნველყოფენ ადეკვატურ ქსოვილოვან მიკროცირკულაციას მყარი ასისტოლიის პირობებში. ასეთი მიდგომისას გასათვალისწინებელია საპერფუზიო აპარატის სირთულე, მისი ორგანიზმთან მიერთების სქემების ნაირსახეობა და საპერფუზიო ხსნარის შემადგენლობა და ტემპერატურა.

ექსპერიმენტული კვლევები ცხადყოფს, რომ აპარატული პერფუზიების გამოყენების ტექნოლოგიას შეუძლია რადიკალურად შეცვალოს მიდგომები ორგანოთა ტრანსპლანტაციის მიმართ.

### ANTINOCICEPTIVE TOLERANCE TO NSAIDS PARTIALLY MEDIATED VIA ENDOCANNABINOIDS IN ANTERIOR CINGULATE CORTEX OF RATS

<sup>1,2</sup>Tsagareli N., <sup>1</sup>Tsiklauri N., <sup>2</sup>Kvachadze I., <sup>1,2</sup>Tsagareli M.

<sup>1</sup>Laboratory of Pain and Analgesia, Beritashvili Center for Experimental Biomedicine, Tbilisi;

<sup>2</sup>Tbilisi State Medical University, Department of Physiology, Georgia

Among several brain cortical areas the anterior cingulate cortex (ACC) is a key cortical region for pain perception. This structure is considered as a part of the neural pain matrix that is

involved in emotional processing, cognitive-affective evaluation and reflected in pain unpleasantness ratings in human subjects. Anatomically, the ACC is a complex and heterogeneous cortex,

receives afferent inputs mainly from the medial thalamic nuclei (midline and intralaminar nuclei) that contain nociceptive neurons that receive input from the spinothalamic tract [22].

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are the most widely used analgesics in the treatment of mild pain. They elicit antinociception by action on the central nervous system (CNS) structures, besides their well-known action on peripheral tissues inhibiting cyclo-oxygenase (COX), a key enzyme in the production of prostaglandins [14].

We have recently shown that tolerance develops to analgesic effects of the commonly used NSAIDs (metamizol, diclofenac, ketorolac and xefocam) given intraperitoneally (i.p.) in juvenile and adult rats in models of acute [20] and chronic pain (the 'formalin test') [17]. We have also revealed that repeated microinjections of these non-opioids into the dorsal hippocampus (DH) [5], the nucleus raphe magnus (NRM) [13], the central nucleus of amygdala (CeA) [15,16], the rostral insular cortex (RIC) [12], and the anterior cingulate cortex (ACC) [19] induce antinociception and the effects of tolerance and cross-tolerance to morphine. These findings strongly support the suggestion of endogenous opioids involvement in NSAIDs antinociception and tolerance in the descending pain-control system [3,14,16,18,21].

The second neuromodulatory system involved in the pathophysiology of pain that has recently raised a particular interest for the development of new therapeutic strategies is the endocannabinoids system (ECS) that plays a key role in pain control. This system is integrated by the cannabinoid receptors, their endogenous ligands, and the enzymes involved in the synthesis and degradation of these ligands [2,4,6-8,10]. Experimental and clinical studies have shown the importance of the ACC in affective aspects of pain [1]. In this work we investigated the central brain mechanisms of NSAIDs antinociception in one of non-acute pain models of rats, such as the 'formalin test' in the developing of tolerance. To study a relation these antinociceptive effects with endocannabinoids we treated experimental rats with CB1 receptor antagonist AM-251 in the ACC following injections with NSAIDs.

**Material and methods. Animals.** The research was carried out on adult male Wistar rats weighing 200-250 g, bred at the Beritashvili Exp. BMC. The animals were kept under standard housing conditions ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 65% humidity, and light from 7:00 a.m. to 8:00 p.m.) and kept on a standard dry diet with water freely available. Every effort was made to minimize both the number of animals used and their suffering. Six rats were used for each experimental and control groups. The local Bioethic Committee of the Beritashvili Center for Experimental Biomedicine approved the experimental protocols, adhering to the Guidelines of the International Association for the Study of Pain regarding investigations of experimental pain in conscious animals.

**Surgical procedures.** Under anesthesia with intramuscular administration of ketamine (100 mg/kg, "KharkovPharm", Ukraine), a 12-mm-long stainless steel guide cannula (Small Parts, Inc., USA) was stereotactically implanted bilaterally into the rostral part of ACC (area I) (AP: 2.70; L: +0.5; H: 2.5) according to the coordinates in the atlas of Paxinos and Watson [11]. The guides were anchored to the cranium by dental cement. The guide cannula was plugged with a stainless steel stylet. Thereafter, the animals were handled every day for 3-4 days for 15-20 min to get familiar with the testing protocol and experimental environment. During this time, the stylet was removed and 14 mm-long stainless steel microinjection cannula was inserted into the guide cannula to reach the ACC, but no drug was injected. Five days after surgery the microinjection cannula, attached to Hamilton syringe (Hamilton, Inc., USA), was joined to

the guide cannula, and the drug was introduced through it while the rat was gently restrained.

**Drugs.** Diclofenac (diclofenac sodium, 75  $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ , Hemofarm, Serbia), ketonal (ketoprofen, 25  $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ , Sandoz, Slovenia) or xefocam (lornoxicam, 12  $\mu\text{g}/0.5 \mu\text{l}$ , Nycomed, Austria) were injected through the microinjection cannula as we used in previous works [5,12,13,15,19]. The guide cannula was then plugged with a stainless steel stylet. Isotonic saline was injected in the same volume (0.5  $\mu\text{l}$ , GalichPharm, Ukraine) and manner in a separate group of rats for controls. In the second set of experiments CB1 receptor antagonist AM-251 (1  $\mu\text{M}/0.5 \mu\text{l}$ , Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) was injected through the microinjection cannula. A similar procedure was followed for the repeated microinjections of diclofenac, ketoprofen, xefocam or saline into the ACC for four consecutive days to develop tolerance to these three NSAIDs. Solutions were microinjected in about 10-12 seconds.

**Behavioral testing.** Twenty minutes post microinjection of NSAIDs or saline into the ACC, i.e. 10-min before the peak of the drugs' effect is normally reached, rats were tested for antinociception using the thermal paw withdrawal (Hargreaves) test (IITC #390, IITC Life science, Inc., Woodland Hills, CA, USA) and mechanical paw withdrawal threshold (von Frey) test (IITC Life science, Inc., USA). For Hargreaves' test Rats were first habituated over three successive daily sessions to stand on a glass surface heated to  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  within a ventilated Plexiglas enclosure. Before formal testing, baseline latencies for paw withdrawals evoked by radiant thermal stimulation were measured five times per paw, with at least 5 min intervals between tests of a given paw. A light beam (Plantar Test 390, IITC) was focused onto the plantar surface of the hindpaw through a glass plate from below, and the latency from onset of the light to brisk withdrawal of the stimulated paw was measured. To prevent potential tissue damage, a cutoff time of 20 s was used if no paw movement occurred. For von Frey test baseline mechanical withdrawal thresholds were assessed using an electronic von Frey filament with 90 g range (1601C, IITC) pressed against the plantar surface of one hindpaw. This device registered the force (g) at the moment that the hindpaw was withdrawn from the filament.

In the second set of experiments, pretreatment of rats with AM-251 in the ACC was followed by thermal and mechanical tests. 10 min after they were treated with NSAIDs in the same dose as in the first set of experiments and were then retested again. Different animal groups were used for the first and second sets of experiments. The number of rats in each group was six.

**Formalin-induced nociception test.** Rats were placed in plastic cylinders on a room temperature glass surface and allowed to acclimate for approximately one hour before injection. The formalin solution was prepared at 10% in saline from a formalin stock (Sigma-Aldrich, USA) and a unilateral intraplantar injection (right hindpaw) was made in a volume of 50  $\mu\text{l}$ . The formalin stock corresponded to a 37% formaldehyde solution. In rodents, intraplantar injections of formalin produce a biphasic behavioral reaction consisting of an initial phase of paw-flinching occurring about 3-5 min after the injection, followed by a quiescent period, a then second phase of flinching beginning after 20-30 min. The intensities of these behaviors are dependent on the concentration of formalin that is administered [9]. We presently collected data at minute 5 post-formalin injections representing the first phase, and at minutes 15 and 60 post-formalin injections representing the second phase.

**Histology.** At the end of each set of experiments, the microinjection sites were marked with 2  $\mu\text{l}$  of saturated solution of Pontamine Sky Blue (Sigma-Aldrich, USA) and the animal was euthanized with pentobarbital. After fixation by immersion in 10% formalin,

the brain was sectioned and counterstained with Cresyl Violet. The microinjection sites were histologically verified and plotted according to Paxinos and Watson (1997) stereotaxic atlas coordinates [11].

All mean control and experimental groups' values are presented as mean  $\pm$  S.E.M. One-way analysis of variance (ANOVA) with post-hoc Tukey-Kramer or Dunnett's multiple comparison tests were used for statistical evaluation of comparisons between treated and saline groups, and treated and naloxone groups, respectively. The Kolmogorov-Smirnov test was applied to verify normality. The statistical software utilized was InStat 3.05 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Differences between means of saline control and treated groups, and AM-251 and treated groups of rats were acknowledged as statistically significant if  $P < 0.05$ .

# Results and their discussion. Antinociceptive effects of NSAIDs in the ACC

The first experiment tested the acute effects of the NSAIDs on thermal and mechanical paw withdrawals during phase II post-formalin. Five min following intraplantar formalin injection (phase I), prior to the injection of NSAIDs into the ACC, all animals showed a significant reduction in thermal paw withdrawal latency and mechanical withdrawal threshold compared

to pre-baseline values ( $P < 0.001$ ) (Fig. 1A, C). These data show some spreading hyperalgesia from the formalin-injected paw to the non-injected paw ( $P < 0.05$ ) (Fig. 1B, D).

Fifteen minutes after formalin injection, either saline, diclofenac, ketoprofen or xefocam was administered into the ACC, and thermal and mechanical paw withdrawals were assessed again bilaterally 15 and 45 min later (i.e., at minute 30 and 60 post-formalin) during phase II. As can be seen in the saline treatment group, withdrawals recovered to near pre-formalin baseline levels. A simple comparison of pre-formalin baselines with thermal paw withdrawal latencies and threshold data at minute 30 and 60 post-formalin clearly shows antinociceptive effects of NSAIDs ( $P < 0.001$ ).

# Pretreatment with AM-251 prevents NSAIDs-induced antinociception

In the second set of experiments, we tested if pretreatment with AM-251 would prevent NSAIDs-induced antinociception in the ACC in the post-formalin phase II. Ten minutes after unilateral intraplantar injection of formalin, rats received AM-251, followed 15 min later by microinjection of one of the NSAIDs or saline. Pretreatment with AM-251 completely prevented any thermal or mechanical antinociceptive or antihyperalgesic effect of all three NSAIDs

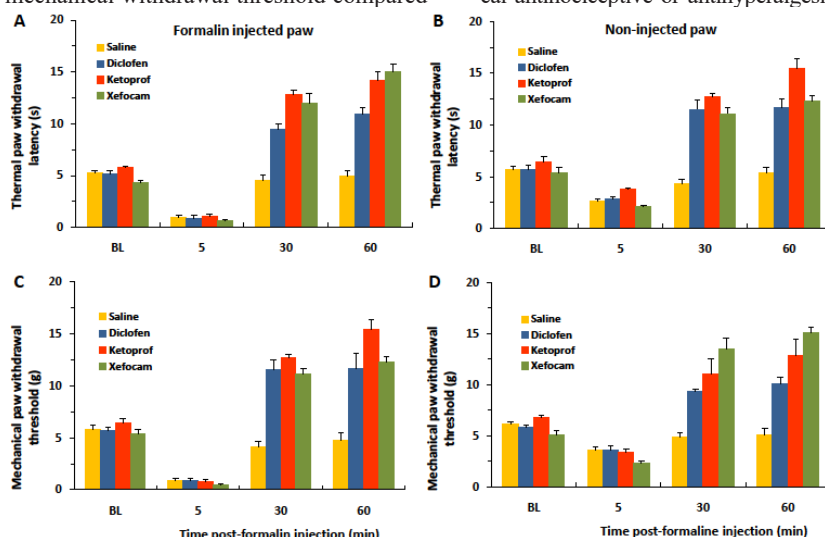


Fig. 1. Latencies of the thermal paw withdrawal reflex (s) (A, B) and thresholds of the mechanical paw withdrawal reflex (g) (C, D) after intraplantar formalin injection to one (right) paw. Note analgesics result in a significant increase in latencies and thresholds compared to the saline control for post-formalin phase II (30 min and 60 min), in formalin injected (A, C) and non-injected (B, D) paws. BL – pre-formalin baseline

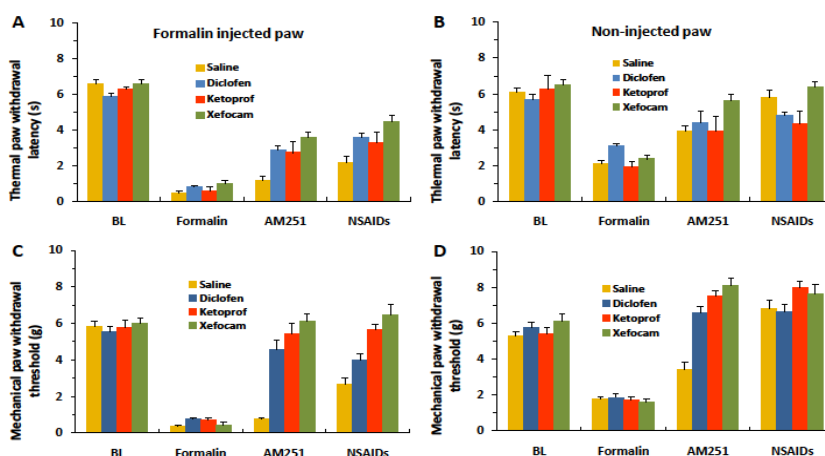


Fig. 2. Pretreatment with CB1 receptor antagonist AM-251 completely prevents analgesic effects of NSAIDs in ipsilateral (formalin injected) paw (A, C) and contralateral (non-injected) paw (B, D) in latencies of the thermal paw withdrawal reflex (s) (A, B) and thresholds of the mechanical paw withdrawal reflex (g) (C, D) for post-formalin phase II (30 min), respectively

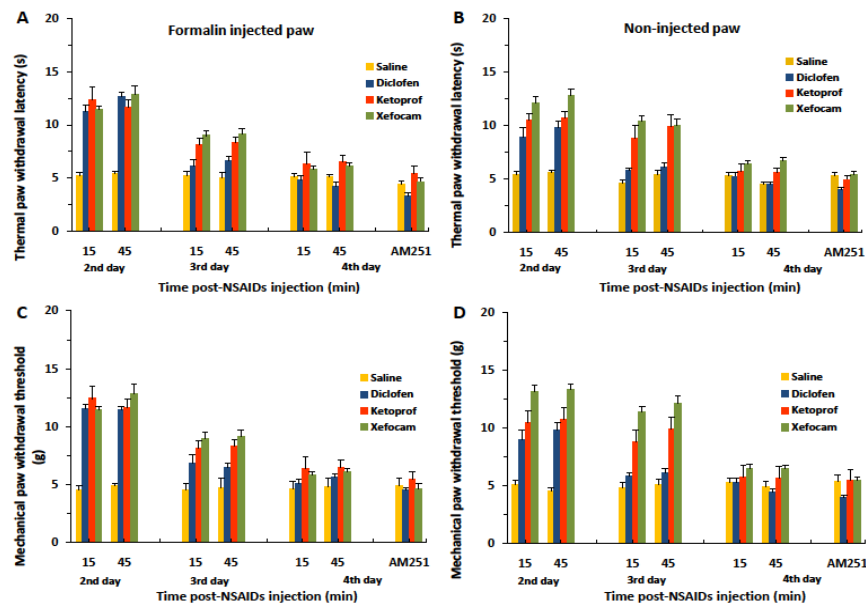


Fig. 3. Latencies of the thermal paw withdrawal reflex (s) (A, B) and thresholds of the mechanical paw withdrawal reflex (g) (C, D) after NSAIDs administration into the ACC for three consecutive days. Note in subsequent 2–4 days antinociception decreased gradually for formalin injected (A, C) and non-injected (B, D) paws, respectively, i.e., developed tolerance

during the phase II in the formalin-injected paw (Fig. 2 A, C). In the non-injected paw we observed almost same reduction of antinociceptive effects of all three NSAIDs in the ACC during phase II for thermal and mechanical paw withdrawal reflexes (Fig. 2 B, D).

**Tolerance to antinociceptive effects of NSAIDs.** In the third set of experiments, four consecutive days NSAIDs microinjections into the ACC caused progressively less antinociception, so by day 4 there was no effect, similar to saline microinjections for both behavioral tests, i.e. induced tolerance. At the last, the fourth day, post-treatment with AM-251 did not change the latency of thermal and threshold of mechanical withdrawal reflexes (Fig. 3). This means that the CB1 receptor antagonist does not affect behavioral responses in the tolerant rats group, unlike the tolerant group of rats on the first experimental day (Fig. 1).

The present study has shown that injection of commonly used NSAIDs (diclofenac, ketoprofen and xefocam) in the ACC induces antinociception in an inflammatory pain model induced by intraplantar injection of formalin into one (right) hindpaw of rats. These findings are in line with the results of our previous investigations in an acute pain model with tail-flick and hot plate tests, and in which metamizol, diclofenac, xefocam, and ketorolac were given systemically or microinjected into the periaqueductal gray matter (PAG) [14], into the CeA [15,18], the NRM [13,16], and the DH [5].

According to our data, CB1 receptor antagonist AM-251 completely prevented the analgesic effects of diclofenac, ketoprofen and xefocam in both ipsilateral and contralateral paws. These findings confirm previous evidence where pretreatment with AM-251 either into the lateral-ventro-lateral (LVL) PAG or into the rostral ventro-medial medulla (RVM) prevented antinociceptive effects of metamizol in Carrageenan model of hind paw inflammation of rats [3]. As authors concluded, NSAIDs might induce analgesia by acting through three mechanisms in the PAG – RVM axis. Firstly, inhibition of COXs would depress the pro-nociceptive effects caused by prostaglandins via the RVM. Secondly, inhibition of prostaglandin synthesis would increase the availability arachidonic acid, whose products decrease synaptic inhibition. Thirdly, by inhibiting the COXs, NSAIDs protect endocannabinoids from degradation and this also decrease

synaptic inhibition [3]. As we have shown, in this pathway NSAIDs synergized with endogenous opioids [5,14,16-19].

In the PAG – RVM axis, the action NSAIDs is reduced by the CB1 receptor antagonist AM-251. Reduction of gamma-amino butyric acid (GABA) inhibition increases the activity PAG output neurons, which, via the RVM cause descending antinociception at the spinal cord level [3]. Taken together, these and our results suggest that descending inhibition of nociception triggered at the PAG by non-opioid analgesics, as well as by opioids, cannabinoids, GABA antagonists and other agents, depends at least partly on endocannabinoid-induced and CB1 receptor-mediated decrease in GABAergic inhibition of spinally projecting, pain-inhibiting neurons in the RVM [3,14,18,21].

**Acknowledgement.** The work was supported by the grant from Shota Rustaveli National Science Foundation of Georgia (# 217148).

## REFERENCES

1. Craig K.D. Emotions and psychobiology. In: Wall and Mellzack's Textbook of Pain, McMahon S.B., Koltzenburg M. (eds.). 5th ed. London, Elsevier, 2006, pp. 231-240.
2. Di Marzo V., Stella N., Zimmer A. Endocannabinoid signaling and the deteriorating brain // *Nature Rev. Neurosci.*, 2015; 16: 30-42.
3. Escobar W., Ramirez K., Avila C., Limongi R., Vanegas H., Vazquez E. Metamizol, a non-opioid analgesic, acts via endocannabinoids in the PAG-RVM axis during inflammation in rats // *Eur. J. Pain*, 2012; 16: 676-689.
4. Guindon J., Hohmann A.G. Cannabinoid CB2 receptors: a therapeutic target for the treatment of inflammatory and neuropathic pain // *Brit. J. Pharmacol.*, 2008; 153: 319-334.
5. Gurtskaia G., Tsiklauri N., Nozadze I., Nebieridze M., Tsagareli MG Antinociceptive tolerance effects of NSAIDs microinjected into dorsal hippocampus *BMC Pharmacol. Toxicol.*, 2014; 15, art. 10
6. Hohmann A.G., Rice A.S.C Cannabinoids. In: Wall and Melzack's Textbook of Pain. McMahon S.B. et al., (eds.), Elsevier, 2013, 538-551.
7. Khasabova I.A., Gielissen J., Chandiramani A., Harding-Rose C., Odeh D.A., Simone D.A., Seybold V.S. CB1 and CB2 re-

ceptor agonists promote analgesia through synergy in a murine model of tumor pain // *Behav. Pharmacol.*, 2011; 22: 607–616.

8. Lau B.K., Vaughan C.W. Targeting the endogenous cannabinoid system to treat neuropathic pain. *Front. Pharmacol.*, 2014; 5(3), art. 28.

9. Le Bars M., Gozariu M., Cadden S.W. Animal models of nociception // *Pharmacol. Rev.*, 2001; 53: 597–652.

10. Maldonado R., Banos J.E., Cabanero D. The endocannabinoid system and neuropathic pain // *Pain*, 2016; 157 (2), Suppl. 1: 23–32.

11. Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. San Diego, Academic Press, 1997.

12. Pirkulashvili N., Tsiklauri N., Nebieridze M., Tsagareli M.G. Antinociceptive tolerance to NSAIDs in the agranular insular cortex is mediated by opioid mechanism // *J. Pain Res.*, 2017; 10: 1561–1568.

13. Tsagareli M.G., Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G. Tolerance to non-opioid analgesics is opioid-sensitive in nucleus raphe magnus. *Front. Neurosci.*, 2011; 5(7), art 92.

14. Tsagareli M.G., Tsiklauri N. *Behavioral Study of 'Non-Opioid Tolerance'*. New York: Nova Biomedical, 2012.

15. Tsagareli M.G., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Nozadze I., Abzianidze E. The central nucleus of amygdala is involved in tolerance to the antinociceptive effect of NSAIDs // *Health*, 2010; 2: 64–68.

16. Tsagareli M.G., Tsiklauri N., Nozadze I., Gurtskaia G. Tolerance effects of NSAIDs microinjected into central amygdala, periaqueductal grey, and nucleus raphe: Possible cellular mechanism // *Neural Regen. Res.*, 2012; 7: 1029–1039.

17. Tsiklauri N., Nozadze I., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. Antinociceptive tolerance to NSAIDs in the rat formalin test is mediated by the opioid mechanism // *Pharmacol. Reports*, 2017; 69: 168–175.

18. Tsiklauri N., Nozadze I., Pirkulashvili N. Cellular mechanisms of antinociceptive tolerance to non-steroidal anti-inflammatory drugs. In: *Systemic, Cellular and Molecular Mechanisms of Physiological Functions and Their Disorders*. Chapter 26. New York, Nova Biomedical, 2016, pp. 339–362.

19. Tsiklauri N., Pirkulashvili N., Nozadze I., Nebieridze M., Gurtskaia G., Abzianidze E., Tsagareli M.G. Anti-nociceptive tolerance to NSAIDs in the anterior cingulate cortex is mediated via endogenous opioid mechanism // *BMC Pharmacol. Toxicol.*, 2018; 19(1), art. 2.

20. Tsiklauri N., Viatchenko-Karpinsky V., Voitenko N., Tsagareli M.G. Non-opioid tolerance in juvenile and adult rats // *Eur. J. Pharmacol.*, 2010; 629: 68–72.

21. Vanegas H., Vazquez E., Tortorici V. NSAIDs, opioids, cannabinoids and the control of pain by the central nervous system // *Pharmaceuticals*, 2010; 3:1335–1347.

22. Xiao X., Zhang Y-Q., A new perspective on the anterior cingulate cortex and affective pain // *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 2018; 90: 200–211.

## SUMMARY

### ANTINOCICEPTIVE TOLERANCE TO NSAIDS PARTIALLY MEDIATED VIA ENDOCANNABINOIDS IN ANTERIOR CINGULATE CORTEX OF RATS

<sup>1,2</sup>Tsagareli N., <sup>1</sup>Tsiklauri N., <sup>2</sup>Kvachadze I., <sup>1,2</sup>Tsagareli M.

<sup>1</sup>Laboratory of Pain and Analgesia, Beritashvili Center for Experimental Biomedicine, Tbilisi; <sup>2</sup>Tbilisi State Medical University, Department of Physiology, Georgia

Pain is characterized as a complex experience, dependent not only on the regulation of nociceptive sensory systems but also on the activation of mechanisms that control emotional processes in limbic brain areas. Non-opioid, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are the most widely used analgesics in the treat-

ment of not-severe pain. We have recently shown that repeated doses result in tolerance to these drugs like opioids. Here we investigated the central brain mechanisms of non-opioid induced antinociception in the non-acute pain models of rats, such as the 'formalin test' and a relation between administration of NSAIDs in the limbic brain area, – the anterior cingulate cortex (ACC), – and the endocannabinoid system.

We measured nociceptive thermal paw withdrawal latencies and mechanical thresholds monolaterally in rats following microinjections of NSAIDs (diclofenac, ketoprofen, xefocam), saline or the cannabinoid receptor 1 (CB1) antagonist (AM-251) in the ACC.

Five min following intraplantar formalin injection all animals showed a significant reduction in thermal paw withdrawal latency and mechanical withdrawal threshold compared to pre-baseline values. Fifteen minutes after formalin injection, diclofenac, ketoprofen, xefocam clearly showed antinociceptive effects of NSAIDs. When pretreated with AM-251 we found a significant reduction of analgesic effects of NSAIDs.

The present data support the notion that endocannabinoids' CB1 receptor contributes in part to antinociceptive effects of NSAIDs and probably involved in activation of the descending opioid modulatory system of pain.

**Keywords:** antinociception, endocannabinoids, formalin test, hyperalgesia, pain.

## РЕЗЮМЕ

### АНТИНОЦИЦЕПТИВНАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ К НЕ-СТЕРОИДНЫМ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ ОПОСРОДОВАНА ЭНДОКАНАБИНОИДАМИ В ПЕРЕДНЕЙ ЦИНГУЛЯРНОЙ КОРЕ КРЫС

<sup>1,2</sup>Цагарели Н.М., <sup>1</sup>Циклаური Н.Д., <sup>2</sup>Квачадзе И.Д.,  
<sup>1,2</sup>Цагарели М.Г.

<sup>1</sup>Лаборатория боли и анальгезии, Центр экспериментальной биомедицины им. И.С. Бериташвили, Тбилиси; <sup>2</sup>Тбилисский государственный медицинский университет, департамент физиологии, Грузия

Целью исследования являлась оценка центральных мозговых механизмов неопиоидной индуцированной антиноцицепции на модели неострой боли у крыс, т.н., «тест на формалин», а также связи между введением нестероидных противовоспалительных препаратов в область лимбического мозга передней цингулярной коры и эндоканнабиноидной системы.

Исследования проведены на экспериментальных и контрольных белых крысах-самцах линии Вистар, весом 200–250 гр. Животным имплантировали направляющую канюлю в переднюю цингулярную кору (ПЦК) и тестировали на антиноцицепцию после микроинъекции нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Измеряли латентный период ноцицептивного рефлекса отдергивания лапы и пороги механического давления у крыс после микроинъекций НПВП (диклофенак, кетопрофен, ксефокам), физраствора или антагониста каннабиноидного рецептора CB-1 (AM-251) в ПЦК.

Спустя 5 минут после подоподшвенного введения формалина у всех животных обнаружено значительное снижение латентности отвода лапы и порога механического давления в сравнении с предварительными исходными значениями. Спустя 15 минут после инъекции формалина, диклофенак, кетопрофен, ксефокам четко проявили антиноцицептивные эффекты НПВП. При предварительной обработке ан-

тагонистом CB-1 рецептора AM-251 обнаружено значительное снижение болеутоляющих эффектов НПВП.

Полученные результаты подтверждают, что рецептор CB1 эндоканнабиноидов частично способствует антиноцицептивным эффектам НПВП и, вероятно, участвует в активации нисходящей системы опиоидной модуляции боли.

#### რეზიუმე

ანტინოციცეპტური ტოლერანტობა არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატების მიმართ ნაწილობრივ განპირობებულია ენდოკანაბინოიდით ვირთაგვების წინა ცინგულარულ ქერქში

<sup>1,2</sup>ნ. ცაგარელი, <sup>1</sup>ნ. წიკლაური, <sup>2</sup>ი. კვაჭაძე, <sup>1,2</sup>მ. ცაგარელი

<sup>1</sup>ივ. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრი, ტბილისა და ანალგეზიის ლაბორატორია, თბილისი; <sup>2</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ფიზიოლოგიის დეპარტამენტი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა არაოპიოიდებით გამოწვეული ანტინოციცეპტური ტოლერანტობის ცენტრალური მექანიზმების შეფასება ე.წ. ფორმალინის ტესტში.

ქცევითი ტესტების გამოყენებით, გაანალიზებულია თათის მოცილების თერმული რეფლექსის ფარული პერიოდი და მექანიკური სტიმულის ზღურბლი არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატების (ასპ), ფიზიოლოგიური ხსნარისა (კონტროლი) და კანაბინოიდური რეცეპტორის 1 (CB1) ანტაგონისტის (AM-251) შეყვანაზე წინა ცინგულარულ ქერქში.

ფორმალინის თათქვეშა ინიექციიდან ხუთი წუთის გასვლის შემდეგ გამოვლინდა თერმული სტიმულის ფარული პერიოდისა და მექანიკური ზღურბლის მნიშვნელოვანი შემცირება საკონტროლო მონაცემებთან შედარებით. ფორმალინის ინიექციიდან თხუთმეტი წუთის გასვლის შემდეგ დიკლოფენაკმა, კეტოპროფენმა და ქსეფოკამმა გამოიწვია სტატისტიკურად სარწმუნო ანალგეზიური ეფექტი. დადგენილია, რომ AM-251-ის წინასწარი ინიექცია იწვევდა ასპ-ით განპირობებული ანტინოციცეპციის სარწმუნო შემცირებას. ასპ-ის განმეორებითი ინიექციების შედეგად განვითარებული ტოლერანტობის ფონზე, AM-251 პოსტინექცია არავითარ ეფექტს არ იწვევდა.

მიღებული შედეგები ადასტურებს მოსაზრებას, რომ ენდოკანაბინოიდური რეცეპტორი (CB1), როგორც ჩანს, მონაწილეობს ასპ-ის ანტინოციცეპტურ ეფექტებში და ჩართულია ტბილის დადამავალი ოპიოიდური სისტემის აქტივაციაში.

## CONTENT OF CATECHOLAMINES IN BLOOD SERUM OF RATS UNDER FLUORIDE INTOXICATION

Bagmut I., Kolisnyk I., Titkova A., Petrenko T., Filipchenko S.

*Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine*

The neuroendocrine system plays a key role in the formation of adaptive reactions to the action of chemical environmental factors and the preservation of the constancy of the internal environment of the body. Among the indicators of the condition of this system, the leading place is given to: biogenic amines – epinephrine, norepinephrine, serotonin; neurotransmitters of amino acids – glutamate, aspartate,  $\gamma$ -aminobutyrate, glycine; thyroid hormones – thyroxine, triiodothyronine, thyrotropin. Disruption of the synthesis and exchange of these biologically active substances may act as a “triggering mechanism” in the event of failure of adaptation processes [10,18]. The content of catecholamines derives from sympathetic nerves, but the proportion reaching the circulation before being metabolized varies with the type of nerve ending-effector junctions in the tissue. Plasma levels of catecholamines also will fluctuate because of rapid metabolism rates and environmental, emotional, and endogenous stimuli provoking a sympathetic response. Precisely in this regard, as well as in connection with the lack of data in the literature on the content of these neuroendocrine parameters in warm-blooded animals under fluoride intoxication, we aspire to elucidate the pathochemical mechanisms of SF action [7,12].

The aim of the research - to determine the content of catecholamines in serum of rats exposed to sodium fluoride in the experiment.

#### Objectives of the study:

1. To determine the content of epinephrine and norepinephrine in the serum of rats under the influence of sodium fluoride (SF).

2. To study the dynamics of changes in the level of epinephrine and norepinephrine in blood serum of rats when intoxicated with SF at doses of 1/10 and 1/100 DL50.

3. To determine the effect of changes in the level of catecholamines on the development of pathogenetic changes in the body.

**Material and methods.** The studies were conducted on adult Wistar rats weighing 180-220 g, which were kept under steady state vivarium at constant temperature and natural light in plastic cages on a balanced diet. Rats were subjected to oral exposure by means of a probe with aqueous solutions of sodium fluoride (SF) once daily, for 60 days at doses of 1/10, 1/100 and 1/1000 DL50, which correspondingly amounts to 20 mg/kg, 2 mg/kg and 0.2 mg/kg of body weight (the average lethal dose of SF for rats, given orally, is 200 mg/kg). Animals of the control group were given appropriate amounts of drinking water. The study of indices was conducted at the 10th, 20th, 30th, 50th and 60th days after the experiment began. Each group included 10 animals. Animals were euthanized by decapitation with a guillotine knife, pre-anesthetizing with sodium thiopental in a dose of 50 mg/kg of body mass.

The content of norepinephrine and epinephrine in blood serum was determined spectrofluorometrically with «Hitachi MPF-4A» at an excitation wavelength of 395 nm and a luminescence wavelength of 485 nm for norepinephrine, 445 and 490 nm for epinephrine. Preliminary chromatographic separation of catecholamines was performed using columns with cation-exchange resin (Dowex 50 Wx 4, 200-400 mesh, sodium form, column parameters d=4 mm, h=75 mm) [11]. 1 nM hydrochloric acid was used for elution of epinephrine and norepinephrine. Statistical analysis of the results was performed using Statistica 6.1 (StatSoft, Inc., USA). The comparison of two normal distributions was carried out Student's t-test. If at least one of the distributions was not normal, Mann-Whitney Ranking Criterion

Table. The content of adrenaline and norepinephrine in the blood serum of rats under the action of sodium fluoride in sub-toxic doses ( $n=10$ ; Me [25%; 75%] or  $M \pm s$ )

| Dose       | Day of observation | Epinephrine, nM / l        | Norepinephrine nM / l     |
|------------|--------------------|----------------------------|---------------------------|
| 1/10 DL50  | 10                 | 10.3 [9.9; 11.2] $p<0.001$ | 6.71 $\pm$ 0.84 $p<0.001$ |
|            | 20                 | 9.65 [8.5; 10.8] $p<0.001$ | 5.4 [4.8; 5.9] $p<0.001$  |
|            | 30                 | 9.25 [7.6; 10.6] $p<0.001$ | 5.3 [5.0; 5.6] $p<0.001$  |
|            | 50                 | 7.15 [6.5; 8.7] $p<0.001$  | 3.1 [1.7; 4.8] $p=1.000$  |
|            | 60                 | 3.75 [3.2; 4.0] $p=0.002$  | 1.45 $\pm$ 0.25 $p<0.001$ |
| 1/100 DL50 | 10                 | 8.1 [7.9; 9.5] $p<0.001$   | 5.38 $\pm$ 0.58 $p<0.001$ |
|            | 20                 | 10.7 [8.9; 11.6] $p<0.001$ | 5.55 [4.9; 6.2] $p<0.001$ |
|            | 30                 | 9.45 [9.0; 10.5] $p=0.003$ | 5.1 [4.6; 5.5] $p<0.001$  |
|            | 50                 | 7.91 $\pm$ 0.61 $p<0.001$  | 4.7 [4.3; 5.1] $p<0.001$  |
|            | 60                 | 6.6 [6.0; 7.6] $p<0.001$   | 3.94 $\pm$ 0.66 $p<0.001$ |
| COMPARISON | 10                 | 5.69 $\pm$ 0.49            | 2.97 $\pm$ 0.46           |
|            | 20                 | 5.78 $\pm$ 0.66            | 2.83 $\pm$ 0.31           |
|            | 30                 | 5.5 [5.0; 5.8]             | 3.4 [2.8; 3.6]            |
|            | 50                 | 5.6 [5.0; 5.8]             | 2.6 [2.5; 2.9]            |
|            | 60                 | 5.1 [4.8; 5.4]             | 2.4 [2.1; 2.5]            |

note:  $p$  is the level of statistical significance in relation to the comparison group

was used to compare independent samples.  $p<0.05$  was considered as the critical level of significance.

**Results and their discussion.** On the 10th, 20th and 30th days of oral administration of SF at a dose of 1/10 DL50 there was a reliable ( $p<0.001$ ), as contrasted to the comparison group, increase of epinephrine levels in the blood serum, by 83, 65 and 63%, respectively (Table). On the 50th day of observation, there was some tendency to decrease in the level of this catecholamine as contrasted with the previous results, but it remained increased in relation to the control group of animals ( $p<0.001$ ) with an average of 37.5%. On the 60th day of SF toxification at a dose of 1/10 DL50, a statistically significant ( $p=0.002$ ) decrease was observed, as compared with a control of serum epinephrine concentration, on average by 29% (Fig. 1).

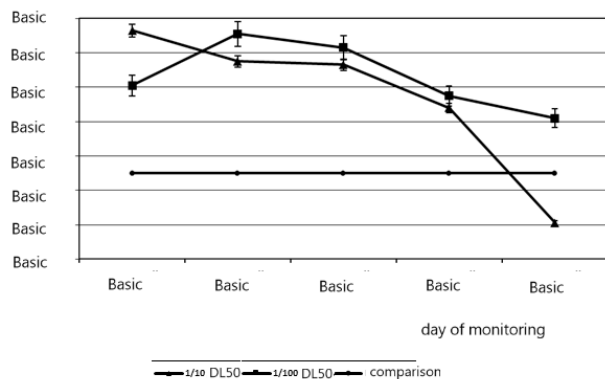


Fig. 1. Dynamics of changes in the content of epinephrine (in % relative to the comparison) in the blood serum of rats when toxified with sodium fluoride at doses of 1/10 and 1/100 DL50.

note: content in the comparison group of animals is considered 100%

Oral administration of SF to experimental animals in a dose of 1/100 DL50 was accompanied by an increase ( $p<0.003$ ) of serum epinephrine in all terms of observation, most expressed on the 20th day (an average of 81%), and the least – on the 60th day (32%) (Table 1, Fig. 1).

The detected increase in the level of epinephrine in the blood of rats under fluoridic intoxication indicates an increase in its secretion by the adrenal glands. It is known that more than 90% of epinephrine circulating in blood is synthesized in the adrenal glands [4,22].

Toxification of rats at a dose of 1/10 DL50 contributed to a statistically significant ( $p\leq 0.001$ ), when compared with control group,

serum norepinephrine up to 50 days of experiment (the most pronounced on the 10th day – an average of 126%) (Table 1). On the 60th day of observation, the level of norepinephrine under the conditions of SF at a dose of 1/10 DL50 reliably ( $p<0.001$ ) decreased by an average of 39%. Exposure of experimental animals at a dose of 1/100 DL50 was associated with a reliable increase in the concentration of norepinephrine in all observation periods, especially on the 20th day – an average of 103% (Fig. 2).

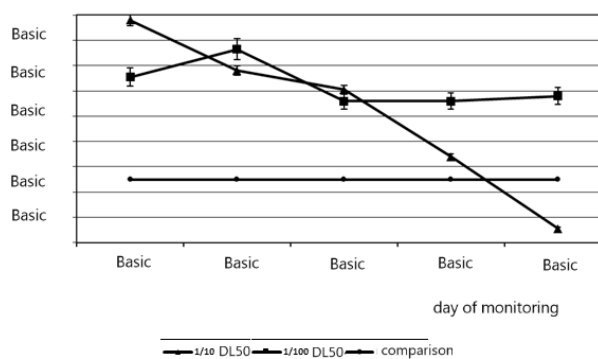


Fig. 2. Dynamics of changes in the content of norepinephrine (in % relative to the comparison group) in blood serum of rats when toxified with sodium fluoride at doses of 1/10 and 1/100 DL50. Note: content in the comparison group of animals is considered 100%

It has been proven that about 7% of norepinephrine, produced from adrenal glands, mainly blood norepinephrine, is the result of the production of postganglionic cells of the sympathetic nervous system [5,17,20]. Therefore, an increase in the concentration of this catecholamine in the blood of rats at oral administration of SF (50 days in case of 1/10 DL50, for 60 days in case of 1/100 DL50) is to a lesser extent due to increased secretion of the adrenal glands, and in a larger – due to activation of the sympathetic nervous system. The latter leads in turn to release of epinephrine in the blood and implements of its effects. However, prolonged activation of the sympathetic nervous system may cause additional stress on the nervous system as a whole. This may be due, for example, to the disruption of the inclusion of the reaction-response in the parasympathetic nervous system, which means reducing the ability of the body to return to the state of homeostasis. That is, the adaptive stress response in rats under prolonged fluoride intoxication may be transformed into the anti-adaptive one due to the absence of relaxation reaction, opposite by physiological orientation [1,6,13].

The detected increase of epinephrine and norepinephrine in blood serum under fluoride intoxication of rats also reflects the hyperactivation of the mediator and hormonal parts of the sympathoadrenal system, but in this case it is uneven, indicating a decrease in the ratio of epinephrine/norepinephrine in the course of the entire duration of SF exposure. This indicates a more significant activation of the mediatory part of the sympathoadrenal system than humoral [9,15,18].

It should be noted that the activation of sympathoadrenal system with prolonged catecholema may turn from the factor of adaptation to the pathogenesis factor through the inclusion of the quinidine pathway of catecholamines conversion to the formation of quinones to adrenochrome. By the chemical structure, catecholamines are electron donors; this property is implemented by quinidic oxidation with the formation of intermediate products – the radicals of semichinone, adrenaline quinone, and superoxide anion-radicals with one-electron oxygen recovery [3,10,13]. Currently, the quinidine pathway of catecholamines transformation is actively discussed in the literature precisely because of the ability to generate active forms of oxygen, as well as due to neurotoxicity of catecholamines in quinidic oxidation, which is associated not only with its own toxic properties of aminochromes and active forms of oxygen, but also with local hypoxia in those parts of the cell or tissue where this process takes place [8]. Taking into account the preliminary results of the activation of free radical processes in rats under fluoridic intoxication against the background of reduction of antioxidant reactions, it is possible to assume that these disorders involve catecholamines, excessive formation of which occurs for quite a long period of time.

Reduced serum content of catecholamines on the 60th day of oral administration in rats at a dose of 1/10 DL50 reflects, on the one hand, a decrease in their tissue deposit, and, on the other, a decrease in the activity and reserve capacities of the sympathoadrenal system.

**Conclusions.** Toxication of rats at a dose of 1/100 DL50 for 60 days and at a dose of 1/10 DL50 for 50 days is accompanied by an increase in blood levels of norepinephrine and epinephrine; indicating the hyperactivation of the mediator and hormonal parts of the sympathoadrenal system, and tension of the protective and adaptive reactions of the organism. Prolonged hypercatecholema may become a pathogenic factor due to intensification of the quinidine route of oxidation of norepinephrine and epinephrine with the formation of reactive radicals and active forms of oxygen. Reduced serum content of catecholamines on the 60th day of oral administration in rats at a dose of 1/10 DL50 reflects, on the one hand, a decrease in their tissue deposit, and, on the other, a decrease in the activity and reserve capacities of the sympathoadrenal system.

## REFERENCES

1. Агаджанян Н. А. Адаптационная физиология и экология человека: культура, нравственность, духовность / Н.А. Агаджанян // Физиологический журнал. – 2011. – Т. 57, № 5. 23-25.
2. Багмут І.Ю., Жернова М.Є., Жарова Н.В., Колесник І.Л., Попова Т.М., Погорелов В.В., Аполоніна А.В., Тіткова А.В. Вміст нейромедіаторів у печінці і головному мозку під впливом на організм простих поліефірів // Матеріали XII міжнародної науково-практичної конференції «Ефективные инструменты современных наук». – 22-30 апреля 2016 г. – Прага, «Education and Science», 2016. – Т. 12. – С. 25-26.
3. Багмут І.Ю., Жарова Н.В., Колесник І.Л., Попова Т.М., Погорелов В.В., Аполоніна А.В., Тіткова А.В. Вплив ксенобіотиків на систему циклічних нуклеотидів в експерименті // Матеріали XII міжнародної науково-практичної конференції «Европейская наука XXI века – 2016». – 07-15 мая 2016 г. Пржемысль, «Nauka i studia», Т. 12:20-21.
4. Малышев И.Ю., Манукина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота // Биохимия. – 1998. – Т. 63, Вып. 7. – С. 992-100.
5. Оцінка показників системи біогенних моноамінів і циклічних нуклеотидів під впливом під гострої дії простих поліефірів / І.Ю.Багмут, М.Є. Жернова, Н.В. Жарова, І.Л. Колесник, Т.М. Попова, В.В. Погорелов, А.В. Аполоніна, А.В. Тіткова// Матеріали XII міжнародної науково-практичної конференції «Ключевые вопросы в современной науке – 2016». – 15-22 апреля 2016 г. – София, «Бял ГРАД-БГ»ООД, 2016. – Т. 19. 36-38.
6. Попова Т.М., Жарова Н.В., Колесник И.Л., Аполонина А.В., Погорелов В.В., Титкова А.В., Багмут И.Ю., Жуков В.И. Типовые патохимические реакции повреждающего действия детергентов как источников образования радиотоксиканов // Проблемы экологии та медицины. – 2015. – Т. 19. – № 5-6. – С. 11-16.
7. Постнова М. В. Физиологические механизмы индивидуальной организации гомеостаза организма / М. В. Постнова. – Волгоград : Изд-во ВолГУ, 2011. – 356 с.
8. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании реакции автоокисления адреналина: возможность полярографического определения активности супероксидсмутазы и антиоксидантных свойств различных препаратов / Т.В. Сирота // Биомед. химия. – 2012. – Т. 58, Вып. 1. – С. 77-87.
9. Татаркин А.А. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия в системе межклеточной функциональной многоуровневой регуляции гомеостаза / А.А. Татаркин, Н.Д. Татаркина, Б.Г. Андрюков // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2010. – Т. 43, № 3. – С. 13-17.
10. Чигвинцев В.М. Современные подходы к анализу механизмов адаптации человека в условиях воздействия химических факторов (аналитический обзор) / В.М. Чигвинцев, Д.А. Кирьянов // Вестник Пермского университета. – 2012. – Вып. 2. – 65-70.
11. Attack C. A procedure for the isolation of noradrenaline (together with adrenaline), dopamine, 5-hydroxytryptamine and histamine from the same tissue sample using a single column of strongly acidic cation exchange resin / C. Attack, T. Magnusson // Acta pharmacol. et toxicol. – 1978. – Vol. 42. – P. 35-57.
12. Atmaca N. Effect of resveratrol on hematological and biochemical alterations in rats exposed to fluoride // BioMed. Res. Int. 2014.
13. Bagmut I., N. Klimenko, N. Zharova, I. Kolisnik, V. Pohoriellov, T. Popova, A. Apolonina, A. Titkova The influence of oligoethers on the immunological and biological reactivity of experimental animals // Materials of the XII international scientific and practical conference «Cutting-EDGE Science – 2016». – 30 апреля – 7 мая 2016 г. – Шефилд, Великобритания, «Science and education», 2016. – Т. 11. – С. 24-25.
14. Bagmut I.Yu., Kolisnyk I.L., Titkova A.V., Rezunenko Yu.K., Boiagina O.D. The status of free radical processes and lipid peroxidation in rats' liver during the subtoxic action of sodium fluoride // Educational Researcher, Dec. 2017. – Issue 9 (2). – Vol. 46. – P. 655-661.
15. Bagmut I.Yu., Kolisnyk I.L., Titkova A.V., Rezunenko Yu.K., Filipchenko S.N. The phospholipid composition of hepatocytes membranes during fluoride intoxication // International Health, Nov. 2017. – Issue 6 (2). – Vol. 9. – P. 1485-1489.
16. Jin L, Qin L, Xia D, Liu X, Fan Z, Zhang C, Gu L, He J, Ambudkar IS, Deng D, Wang S. Active secretion and protective effect of salivary nitrate against stress in human volunteers and rats // Free Radic Biol Med. – 2013 - Vol. 57. – P. 61-67.
17. Kolisnyk I.L., Bagmut I.Yu., Titkova A.V., Rezunenko Yu.K., Marakushyn D.I. The stage of glutathione system in rats' liver with sodium fluoride in subtoxic doses // BioScience, Dec. 2017. – Issue 12 (2). – Vol. 67. – P. 1532-1538.

18. Popova T.M., Bagmut I.Yu., Titkova A.V., Philipchenko S.M., Shepylieva N.V. The influence of sub-toxic dose xenobiotics on immune response of experimental animals // Journal of Education, Health and Sport. – 2016. - Vol. 6(11). – P. 629-639.
19. Stasiuk O.A., Kostenko V.O. Effect of peroxynitrite scavengers on oxidative processes in salivary gland tissues of white rats under sodium nitrate and fluoride combined excessive intake // Probl Ecol Med. – 2012. - Vol. 16(5-6). - P. 30-33.
20. Titkova A.V., Kolisnyk I.L., Bagmut I.Yu., Rezunenko Yu.K., Boiagina O.D. The enzymatic activity of microsomes in rats' hepatocytes by fluoride intoxication // The XVI Interna-

tional Academic Congress «Fundamental and Applied Studies in the Modern World», United Kingdom, Oxford, 23-25 October, 2017. - P. 58-64.

21. Titkova A.V., Kolisnyk I.L., Bagmut I.Yu., Rezunenko Yu.K., Boiagina O.D. The respiratory activity of hepatocytes' mitochondria in rats under the long-term of sodium fluoride // British Medical Bulletin, Dec. 2017. –Issue 1 (2).- Vol. 124. - P. 792-796.

22. Understanding catecholamine metabolism as a guide to the biochemical diagnosis of pheochromocytoma / G. Eisenhofer, T.T. Huynh, M. Hiroi et al. // Rev. Endocr. Metab. Disord. – 2001. – Vol. 2(3). – P. 297-311.

## SUMMARY

### CONTENT OF CATECHOLAMINES IN BLOOD SERUM OF RATS UNDER FLUORIDE INTOXICATION

Bagmut I., Kolisnyk I., Titkova A., Petrenko T., Filipchenko S.

*Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine*

The aim of the research was to determine in the experiment the content of catecholamines in serum of rats exposed to sodium fluoride.

The studies were conducted on adult Wistar rats, subjected to oral exposure by means of a probe with aqueous solutions of sodium fluoride (SF) once daily, for 60 days at doses of 1/10, 1/100 and 1/1000 DL50, which correspondingly amounts to 20 mg/kg, 2 mg/kg and 0.2 mg/kg of body weight. Toxication of rats at a dose of 1/100 DL50 for 60 days and at a dose of 1/10 DL50 for 50 days was accompanied by an increase in blood levels of norepinephrine and epinephrine, indicating the hyperactivation of the mediator and hormonal parts of the sympathoadre-

nal system, and tension of the protective and adaptive reactions of the organism. Prolonged hypercatecholema may become a pathogenic factor due to intensification of the quinidine route of oxidation of norepinephrine and epinephrine with the formation of reactive radicals and active forms of oxygen. Reduced serum content of catecholamines on the 60th day of oral administration at a dose of 1/10 DL50 reflects, on the one hand, a decrease in their tissue deposit, and, on the other, a decrease in the activity and reserve capacities of the sympathoadrenal system.

**Keywords:** catecholamines, neuroendocrine system, sympathoadrenal system, intoxication.

## РЕЗЮМЕ

### СОДЕРЖАНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ФТОРИДНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Багмут И.Ю., Колесник И.Л., Титкова А.В., Петренко Т.Е., Филиппенко С.Н.

*Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина*

Целью исследования явилось определение содержания катехоламинов в сыворотке крови крыс, подвергнутых воздействию фторида натрия.

Исследования проводились на половозрелых крысах Wistar, подвергшихся пероральному воздействию водного раствора фторида натрия (ФН) один раз в день в течение 60 дней при дозах 1/10, 1/100 и 1/1000 DL50, что соответственно составляет 20 мг/кг, 2 мг/кг и 0,2 мг/кг массы тела. Токсичность крыс при дозе ФН 1/100 DL50 в течение 60 дней и при дозе 1/10 DL50 в течение 50 дней сопровождалась увеличением уровня норадреналина и адреналина в крови,

что указывало на гиперактивацию медиаторов и гормональных частей симпатoadренальной системы и напряженности защитных и адаптивных реакций организма. Длительная гиперкатехолемиа может стать патогенным фактором за счет усиления хинидинового пути окисления норадреналина и адреналина с образованием реактивных радикалов и активных форм кислорода. Сниженное содержание в сыворотке катехоламинов на 60-й день после приема внутрь ФН в дозе 1/10 DL50 отражает, с одной стороны, снижение их тканевого накопления, а с другой - снижение активности и резервных возможностей симпатoadренальной системы.

## რეზიუმე

კატეჰოლამინების შემცველობა ვირთაგვების სისხლის შრატში ფტორიდული ინტოქსიკაციის დროს

ი.ბაგმუტი, ი. კოლესნიკი, ა. ტიტკოვა, ტ. პეტრენკო, ს. ფილიპენკო

ხარკოვის დიპლომის შემდგომი განათლების სამედიცინო აკადემია, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა კატეჰოლამინების შემცველობის განსაზღვრა ნატრიუმის ფტორიდის ზემოქმედების ქვეშ მყოფი ვირთაგვების სისხლის შრატში.

კვლევა ჩატარდა Wistar-ის ჯიშის ზრდასრულ ვირთაგვებზე, რომლებიც პერორალურად, ზონდის საშუა-

ალებით იღებდნენ ნატრიუმის ფტორიდის წყალხსნარს დღეში ერთხელ, 60 დღის განმავლობაში, დოზით 1/10, 1/100 და 1/1000 DL50, რაც, შესაბამისად, შეადგენს 20 მგ/კგ-, 2 მგ/კგ- და 0,2 მგ/კგ-ს სხეულის მასაზე. ნატრიუმის ფტორიდის 1/100 DL50 დოზის ტოქსიკურობას 60 დღის განმავლობაში და 1/10 DL50 დოზის

ტოქსიკურობას 50 დღის განმავლობაში თან ახლდა სისხლში ნორადრენალინის და ადრენალინის მანველებლის ზრდა, რაც მიუთითებს სიმპათოადრენალინური სისტემის მედიატორებისა და ჰორმონული ნაწილის პიპერაქტიურობაზე, ასევე, ორგანიზმის დამცველობითი და ადაპტაციური რეაქციების დაძაბვაზე. ხანგრძლივი პიპერაქტიულობის შემთხვევაში პათოგენური ფაქტორი გახდეს ნორადრენალინის და ადრენალი-

ნის ჟანგვის ქინიდიური გზის აქტივაციის ხარჯზე, ჟანგბადის აქტიური ფორმების და რეაქტიული რადიკალების წარმოქმნით. შრატში კატეჟოლამინების შემცველობის შემცირება ნატრიუმის ფტორიდის 1/10 DL50 დოზით მიღების მე-60 დღეს, ერთი მხრივ, ასახავს ქსოვილებში მათი დაგროვების შემცირებას, მეორე მხრივ კი – სიმპათოადრენალინური სისტემის აქტიურობისა და სარეზერვო შესაძლებლობების დაქვეითებას.

## МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ЗОНЕ КОНТАКТА РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ИМПЛАНТАТОВ И ТКАНИ ПОЧКИ КРЫС НА РАННИХ СРОКАХ ЭКСПЕРИМЕНТА

<sup>1</sup>Тусупбекова М.М., <sup>1</sup>Абатов Н.Т., <sup>2</sup>Абугалиев К.Р., <sup>1</sup>Абатова А.Н., <sup>3</sup>Альбертон И.Н., <sup>1</sup>Асамиданов Е.М., <sup>1</sup>Мусабеков И.К.

<sup>1</sup>Карагандинский государственный медицинский университет;

<sup>2</sup>Национальный научный центр онкологии и трансплантологии, Астана, Казахстан;

<sup>3</sup>Медицинский центр Шаарей Цедек, Иерусалим, Израиль

Патологически подвижная почка или нефроптоз следует рассматривать как одну из распространенных урологических патологий в забрюшинном пространстве. Современным методом лечения нефроптоза является нефропексия. Прогресс в развитии оперативной урологии за последние десятилетия подвергся значительным изменениям в силу использования ауто- и гетеропластических методов [5,6], а также различных синтетических материалов [3,4]. Однако используемые синтетические материалы вызывали выраженный воспалительный процесс и образование плотных рубцов вокруг почки, нарушение уродинамики и гемодинамики, которые ухудшали качество жизни пациента.

Многие авторы в экспериментальных исследованиях показали ценные пластические качества биологических имплантатов [7-11]. Наиболее перспективными являются биологические протезы, получаемые из донорского материала животного и человека с применением технологий тканевой инженерии, которые представляют собой внеклеточный матрикс (ВМК) – “extracellular matrix” (ЕСМ), представленный коллагеновыми волокнами, участвующими в поддержании структуры ткани [1,2,7,13].

Применение децеллюляризированной ксенобрюшины в качестве биологического материала при нефропексии имеет значительные преимущества, однако в изученной литературе за последние 10 лет подобные данные не выявлены.

Цель исследования - изучить и сравнить морфометрические значения различных видов имплантатов с тканью почки в ранние сроки экспозиции.

**Материал и методы.** Объектами сравнительного экспериментального исследования явились децеллюляризованная ксенобрюшина крупного рогатого скота и макропористая, частично рассасывающаяся, легкая сетка УльтраПро (УП).

Эксперимент проводился на 48 белых нелинейных короткошерстных половозрелых крысах обоего пола массой 180-220 гр. Животные были распределены в 2 группы по 8 особей в каждой. Каждая группа соответствовала применяемому имплантату, и с учетом срока наблюдения и выведения животного из эксперимента, делилась на 3 подгруппы. Животных выводили из эксперимента на 7, 21 и 30 суток.

Имплантация децеллюляризованной ксенобрюшины (ДеКБ) и макропористой, частично рассасывающейся, легкой сетки УП осуществлялась под эфирным наркозом (ин-

дукционная камера объемом 3 литра, 3 мл эфира, время экспозиции 5 мин.) путем фиксации почки и вшивания данных материалов на заднюю поверхность органа. На обнаженной задней поверхности почки размещался заранее приготовленный лоскут имплантата размером 0,5x0,5 см и фиксировался за фиброзной капсулой при помощи шелковой нити 4/0 на атравматичной игле узловым швом. Для профилактики послеоперационной инфекции в течение 5 дней после операции проводилась антибактериальная терапия энрофлоксацином («Энфлорекс») в дозе 0,1 мл – 10 мг.

Забор гистологического материала у экспериментальных животных проводился согласно дизайну исследования на 7, 14 и 30 сутки. Гистологическому исследованию подвергался фрагмент контакта ткани почки с имплантатом.

С целью изучения морфологической картины зоны имплантации, оценки структурных изменений, а также активности и степени созревания соединительной ткани, гистологические срезы окрашивались гематоксилином и эозином и стандартным методом.

Морфометрический анализ клеточного инфильтрата проводился посредством микроскопа Arcturus XT (США, Applied Biosystem совместно Nikon) с лазерным микродиссектором в 300 клетках при 400-кратном увеличении в репрезентативном участке между внеклеточным матриксом ксенобрюшины и тканью почки, вне шовного материала.

Статистическая обработка данных проводилась методом вариационной статистики с вычислением показателя средней величины (М), среднего отклонения (SD). Достоверность различий между исследуемыми группами определялась статистическим методом с использованием непараметрических критериев: однократного дисперсионного анализа (ANOVA), критерия Манна-Уитни для независимых выборок. Различия статистически достоверны при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** В микропрепаратах с использованием ДеКБ на 7 сутки в перинефральной зоне прослеживается умеренно выраженная лимфоцитарная инфильтрация, в зоне вокруг шовного материала - формирование мелких сосудов, в основном, капиллярного типа. Паранефральная клетчатка прорастает в децеллюляризованный матрикс ксенобрюшины в виде пластов. Рыхловолокнистая ткань, сформированная вокруг ячеек и заполняющая их просвет, выявляется малочисленной инфильтрацией фибробластов и гранулоцитов (рис. 1).

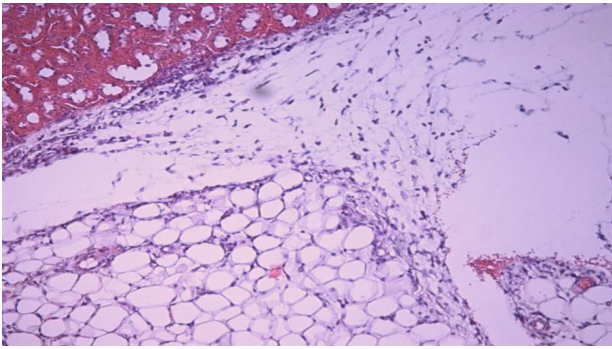


Рис. 1. Гистологическая картина ДеКБ на 7 сутки. Ув. X200

В микропрепаратах группы с ДеКБ на 14 сутки в перинефральной зоне фиксации наблюдаются уменьшение лимфоцитарной инфильтрации в сравнении с 7 сутками вдвое и постепенное снижение клеток, характеризующих хронический воспалительный процесс, таких как гранулоциты, плазматические клетки, макрофаги. В зоне вокруг шовного материала отмечается формирование мелких сосудов, в основном, капиллярного типа, а также лимфоидная и периваскулярная инфильтрация. Паранефральная клетчатка прорастает в децеллюляризованный матрикс ксенобрюшины в виде пластов. Отмечается рост стромальных клеток: фиброциты/фибробласты (рис. 2).

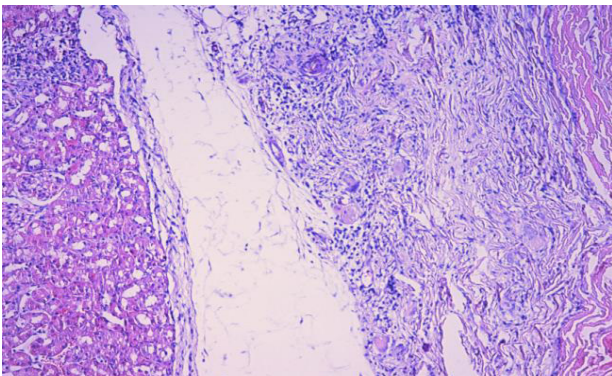


Рис. 2. Гистологическая картина ДеКБ на 14 сутки. Ув. X200

В микропрепаратах группы ДеКБ на 30 сутки в зоне фиксации отмечается васкуляризация паранефральной клетчатки. Наблюдается постепенное снижение лимфоцитарной инфильтрации в сравнении с 7 и 14 сутками, происходит постепенное снижение клеток, характеризующих хронический воспалительный процесс, таких как гранулоциты, плазматические клетки, за исключением, макрофагов. В зоне вокруг шовного материала отмечается формирование сосудов капиллярного типа (рис. 3).

Паранефральная клетчатка прорастает в децеллюляризованный матрикс ксенобрюшины в виде тяжей. На 14 день происходит снижение количества гранулоцитарных клеток и макрофагов, при этом наблюдается преобладание лимфоцитарных клеток, что характеризует местный реактивный процесс в ответ на имплантацию. В этот же срок наблюдаются формирование молодой соединительной ткани из фибробластов и единичные фиброциты, что происходит на ранней стадии формирования соединительной ткани и оценивается как стадия репаративного процесса в зоне имплантации.

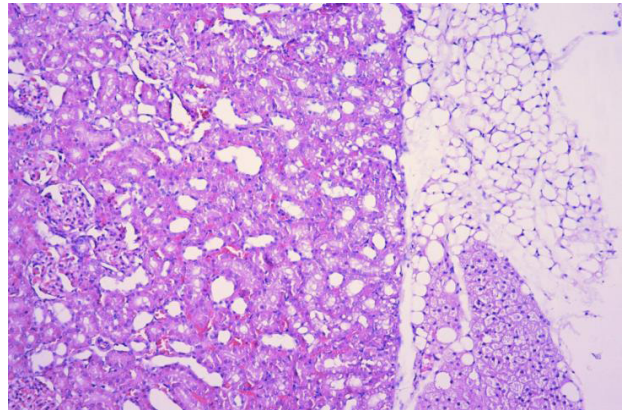


Рис. 3. Гистологическая картина ДеКБ на 30 сутки. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. X100

Микроскопическая картина ткани и имплантата ДеКБ к 30 дню эксперимента выявила умеренную лимфоидную инфильтрацию с примесью единичных эозинофилов, сменяющуюся полиморфноядерными лейкоцитами. Определяется формирование зрелой соединительной ткани, которая представлена упорядоченно расположенными волокнами соединительной ткани.

При морфологическом исследовании в зоне шовного материала и сетчатого имплантата УП (контрольная группа) на ранних сроках моделирования нефропексии отмечается лимфоидная инфильтрация, васкуляризация жировой клетчатки, паранефрия лабораторных животных с примесью единичных эозинофилов и полиморфноядерных лейкоцитов (рис. 4). В жировой ткани выявляется минимальная инфильтрация гранулоцитами, макрофагами, плазматическими клетками, характеризующая реактивный хронический воспалительный процесс. Паранефральная клетчатка васкуляризирована сосудами капиллярного типа, отмечается их полнокровие. К 14 суткам эксперимента начинается процесс формирования в межъячеистых структурах нежных коллагеновых волокон, к этому времени происходит снижение числа макрофагов и лимфоцитов в сравнении с 7 сутками эксперимента (рис. 5). При гистологическом исследовании на всех срезах фиброзная капсула почки представлена нежной волокнистой соединительной тканью. Следует отметить, что в местах фиксации частично рассасывающейся легкой сетки УП отмечается неравномерное уплотнение фиброзной капсулы почки, без выраженной клеточной реакции (рис. 4,5).

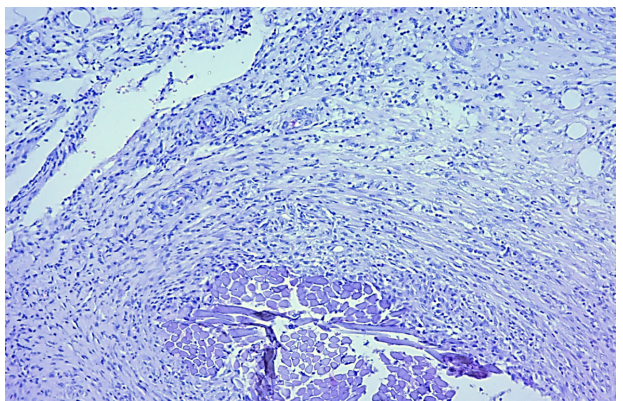


Рис. 4. Сетка УП, срок 7 дней: в зоне шовного материала и УП отмечается лимфоидная инфильтрация;. Ув. X100

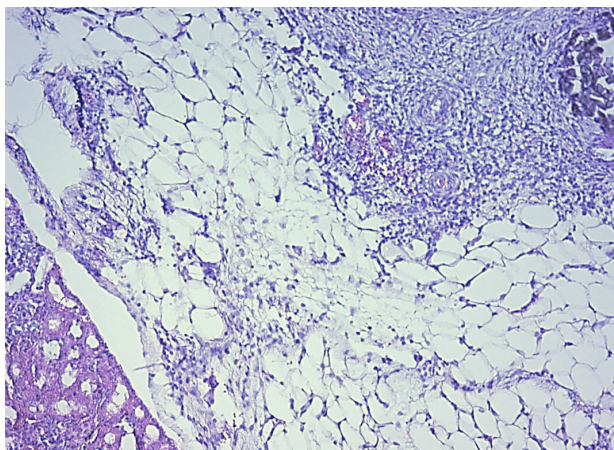


Рис. 5. Зона фиксации УП и шовного материала (верхний правый угол) на 14 сутки. Вокруг лимфоидно-макрофагальная реакция (обзор). Ув.Х100

При патоморфологическом исследовании почек с использованием сетки УП для нефропексии на 30 сутки в паранефральной клетчатке выявлена инфильтрация лимфоцитами с наличием гигантских клеток по типу клеток инородных тел (рис. 6).

Основную массу незрелой соединительной ткани составляют гранулоцитарные лейкоциты, лимфоциты, макрофаги, плазматические и стромальные клетки, новообразованные сосуды капиллярного типа. Результаты проведенного мор-

Таблица 1. Среднее и стандартное отклонение параметров морфометрии сетки УП

| Срок   | УП                  |                      |                   |                   |                        |                   |
|--------|---------------------|----------------------|-------------------|-------------------|------------------------|-------------------|
|        | гранулоциты         | лимфоциты            | плазм. клетки     | макрофаги         | фибробласты /фиброциты | ангиогенез        |
| 7 сут  | X=46,75<br>SD=24,30 | X=103,87<br>SD=43,27 | X=8,25<br>SD=3,15 | X=13<br>SD=6,5    | X=97,75<br>SD=14,10    | X=3,13<br>SD=1,6  |
| 14 сут | X=46,25<br>SD=49,9  | X=97,5<br>SD=53,49   | X=7,36<br>SD=4,24 | X=7,63<br>SD=1,06 | X=99,7<br>SD=30,86     | X=3,13<br>SD=0,83 |
| 30 сут | X=31,12<br>SD=16,17 | X=80,12<br>SD=30,88  | X=7<br>SD=3,89    | X=9,75<br>SD=2,03 | X=160,5<br>SD=22,84    | X=3,22<br>SD=1,05 |

Таблица 2. Среднее и стандартное отклонение параметров морфометрии ДеКБ

| Срок   | ДеКБ                |                     |                   |                    |                        |                   |
|--------|---------------------|---------------------|-------------------|--------------------|------------------------|-------------------|
|        | гранулоциты         | лимфоциты           | плазм.клетки      | макрофаги          | Фибробласты /фиброциты | ангиогенез        |
| 7 сут  | X=47,12<br>SD=14,70 | X=114<br>SD=15,87   | X=5,36<br>SD=2,5  | X=18<br>SD=5,66    | X=80,0<br>SD=18,47     | X=1,66<br>SD=1,4  |
| 14 сут | X=37,25<br>SD=12,22 | X=75,5<br>SD=16,99  | X=5,75<br>SD=1,16 | X=13,25<br>SD=5,18 | X=92,6<br>SD=24,41     | X=2,38<br>SD=0,74 |
| 30 сут | X=24,25<br>SD=8,76  | X=58,25<br>SD=21,15 | X=5,55<br>SD=1,6  | X=13,55<br>SD=5,8  | X=123,8<br>SD=40,2     | X=2,1<br>SD=0,8   |

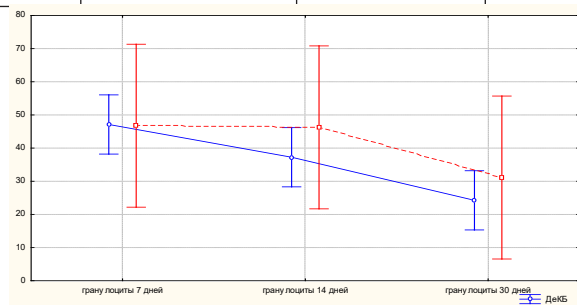


Диаграмма 1. Среднее значение гранулоцитов.  $p=0,02641$

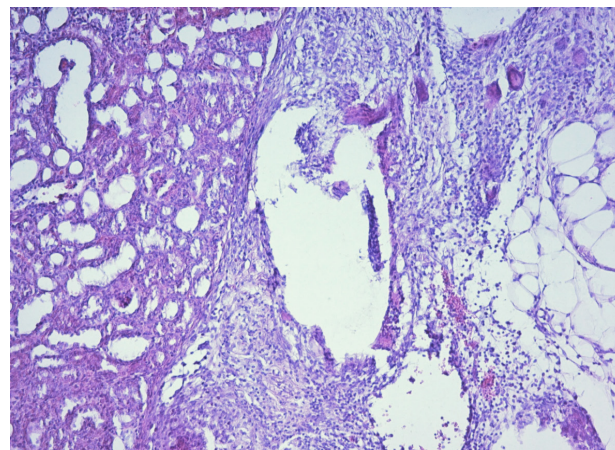


Рис. 6. Сетка УП на 30 сутки. В паранефральной клетчатке лимфоидная инфильтрация с наличием гигантских клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.Х200

фометрического анализа средних значений клеточного инфильтрата в репрезентативных участках контакта ткани почки с УП и ДеКБ представлены в таблицах 1 и 2.

Результаты, полученные при морфометрическом исследовании клеточного инфильтрата в месте контакта имплантата и ткани почки свидетельствуют, что на 7 сутки при использовании сетки УП наблюдается достоверное увеличение клеточных инфильтратов в сравнении с биологическим имплантатом ДеКБ.

Таблица 1. Среднее и стандартное отклонение параметров морфометрии сетки УП

| Срок   | УП                  |                      |                   |                   |                        |                   |
|--------|---------------------|----------------------|-------------------|-------------------|------------------------|-------------------|
|        | гранулоциты         | лимфоциты            | плазм. клетки     | макрофаги         | фибробласты /фиброциты | ангиогенез        |
| 7 сут  | X=46,75<br>SD=24,30 | X=103,87<br>SD=43,27 | X=8,25<br>SD=3,15 | X=13<br>SD=6,5    | X=97,75<br>SD=14,10    | X=3,13<br>SD=1,6  |
| 14 сут | X=46,25<br>SD=49,9  | X=97,5<br>SD=53,49   | X=7,36<br>SD=4,24 | X=7,63<br>SD=1,06 | X=99,7<br>SD=30,86     | X=3,13<br>SD=0,83 |
| 30 сут | X=31,12<br>SD=16,17 | X=80,12<br>SD=30,88  | X=7<br>SD=3,89    | X=9,75<br>SD=2,03 | X=160,5<br>SD=22,84    | X=3,22<br>SD=1,05 |

Таблица 2. Среднее и стандартное отклонение параметров морфометрии ДеКБ

| Срок   | ДеКБ                |                     |                   |                    |                        |                   |
|--------|---------------------|---------------------|-------------------|--------------------|------------------------|-------------------|
|        | гранулоциты         | лимфоциты           | плазм.клетки      | макрофаги          | Фибробласты /фиброциты | ангиогенез        |
| 7 сут  | X=47,12<br>SD=14,70 | X=114<br>SD=15,87   | X=5,36<br>SD=2,5  | X=18<br>SD=5,66    | X=80,0<br>SD=18,47     | X=1,66<br>SD=1,4  |
| 14 сут | X=37,25<br>SD=12,22 | X=75,5<br>SD=16,99  | X=5,75<br>SD=1,16 | X=13,25<br>SD=5,18 | X=92,6<br>SD=24,41     | X=2,38<br>SD=0,74 |
| 30 сут | X=24,25<br>SD=8,76  | X=58,25<br>SD=21,15 | X=5,55<br>SD=1,6  | X=13,55<br>SD=5,8  | X=123,8<br>SD=40,2     | X=2,1<br>SD=0,8   |

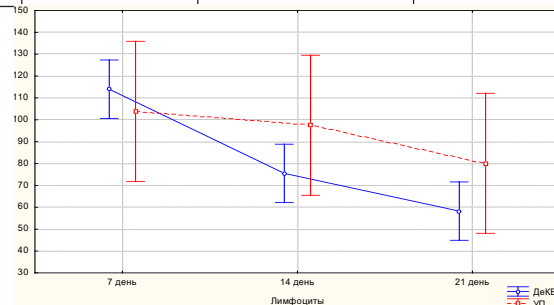


Диаграмма 2. Среднее значение лимфоцитов  $p=0,00014$

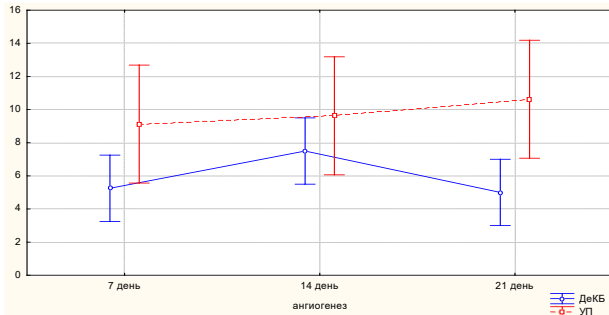


Диаграмма 3. Среднее значение ангиогенеза,  $p=0,39198$

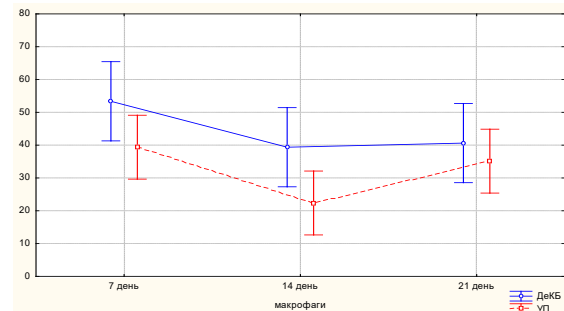


Диаграмма 4. Среднее значение макрофаги  $p=0,08114$

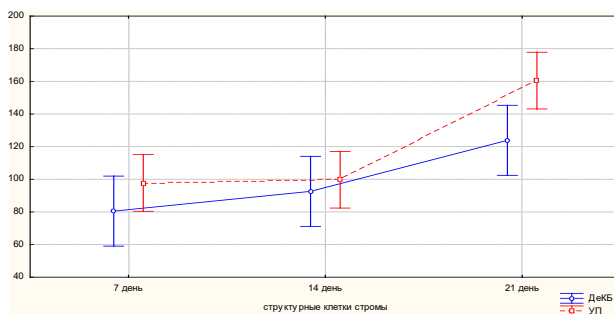


Диаграмма 5. Среднее значение стромальные клетки  $p=0,00019$

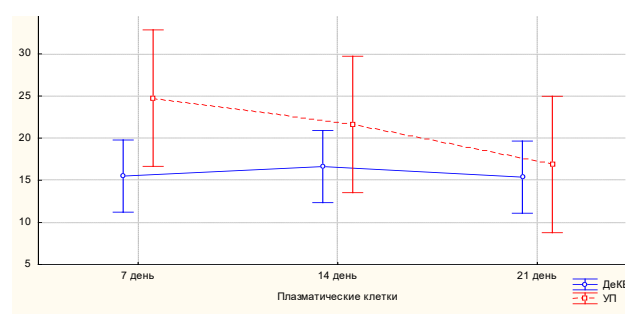


Диаграмма 6. Среднее значение плазматических клеток  $p=0,70959$

Морфометрическое исследование выявило, что на 14 суток экспозиции в группе с применением децеллюляризованной ксенобрюшины происходит перекрёстное уменьшение числа гранулоцитов (диаграмма 1), лимфоцитов (диаграмма 2), новообразованных сосудов капиллярного типа (диаграмма 3) с увеличением количества макрофагов (диаграмма 4), стромальных клеток (фибробластов и фиброцитов) (диаграмма 5), что свидетельствует о переходе к тканевым изменениям отмеченной экссудации (таблица 2). В отличие от основной группы с применением биологического имплантата обнаружено, что уже на 14 сутки экспозиции сетки УП количество макрофагов (диаграмма 4) и лимфоцитов (диаграмма 2) достоверно преобладает над другими клетками инфильтрата, что характеризует более выраженный процесс альтерации и экссудации (таблица 1).

На 30 сутки экспозиции в основной группе с применением ДекБ проявляется постепенное увеличение количества стромальных клеток, синтезирующих коллагеновые волокна, с уменьшением количества новообразованных сосудов, отмечается достоверное отличие количества стромальных клеток и временно-пространственная стадийно-специфическая смена этапов регенерации в сравнении с другим материалом, что свидетельствует о завершении созревания молодой соединительной ткани.

Следует обратить внимание, что группа с применением ДекБ характеризуется наиболее ранним и равномерным переходом, а также сменой тканевых реакций с достоверно наименьшим количеством клеток воспалительного инфильтрата уже к 14 суткам в отличие от УП, при применении которой аналогичные результаты отмечаются лишь к 30 дню. По сравнению с применением сетки УП снижение количества гранулоцитов происходит на 30 день экспозиции, что проявляется в избыточной грануляции, провоцируя длительную клеточную инфильтрацию (диаграмма 1).

Плазматические клетки или т.н. одноклеточные железы продуцируют гаммаглобулины, в том числе антитела, уча-

ствующие в иммуногенезе. В ходе эксперимента во всех исследуемых группах получены достоверные отличия среднего количества лимфоцитов (диаграмма 2) и плазматических клеток (диаграмма 6). Полученные результаты свидетельствует, что имплантаты являются биосовместимыми и не генерируют манифестные формы гиперергической иммунной реакции в ткани крыс, так как не вызывают персистенции и прогрессии экссудативной реакции (таблицы 1 и 2).

**Выводы.** Результаты морфологического исследования показали, что при имплантации децеллюляризованной ксенобрюшины к фиброзной капсуле почки происходит репаративный процесс путем формирования незрелой грануляционной ткани на ранних стадиях эксперимента с последующим созреванием нежной волокнистой ткани, в отличие от контрольной группы с использованием сетки УП. Кроме того, децеллюляризованная ксенобрюшина не вызывает воспалительных и деструктивных изменений в зоне имплантации в сравнении с сеткой УП. Полученные результаты свидетельствуют, что имплантаты являются биосовместимыми и не генерируют манифестные формы гиперергической иммунной реакции в ткани крыс, так как не вызывают персистенции и прогрессии экссудативной реакции.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абатов Н.Т., Тусупбекова М.М., Альбертон И.Н., Абатова А.Н., Асамиданов Е.М. Особенности патоморфологии окружающей ткани с применением биологических имплантатов в эксперименте // Medical Review.- 2016.- №3 (164) - с. 129.
2. Аbugалиев К.Р., Огай В.Б., Данлыбаева Г.А. Биологическое покрытие ран и ожогов Патент №30382 от 19.08.2015
3. Князев Ш.М., Таукенов М.Т. Результаты оперативного лечения нефроптоза // Вопр. теорит. и клинич. медицины. Патология органов мочеполовой системы. Нальчик, 1981.- 78-80.
4. Никольский А.В. Экспериментально-клиническое обоснование нефропексии ксеноперикардальным имплантатом: Автореферат дис. ... канд. мед. наук : 14.01.17/А. В.

- Никольский ; Мордовский гос. ун-т им. Н.П.Огарева. - Саранск, 2013. - 18 с. - Библиогр.: с. 11-17
5. Таукенов М.Т., Домбровская Е.А. К модификации нефропексии мышечным лоскутом при нефроптозе // Вестник хирургии им. Грекова. - 1981. - № 2. - С. 61-65.
6. Томусьяк Т.Д., Мамчур Ф.И., Зеляк Н.В. и др. Отдаленные результаты оперативного лечения больных с патологически подвижной почкой // Урол. и нефрол. - 1993. - № 3.11-13.
7. Тусупбекова М.М., Абатов Н.Т., Альбертон И.Н., Абатова А.Н., Асамиданов Е.М. Морфометрический анализ децеллюляризованной ксенобрюшины при нефропексии в ранних сроках эксперимента // Науки и молодежь: тенденции и новые горизонты. - 2017.- с.402,
8. Учитель Б.И. Нефропексия с применением консервированной гетерогенной брюшины: Автореферат дис. . канд. мед. наук / Б.И. Учитель.-Л., 1968.- 18 с.
9. Хохлов П.П. Применение гетерогенной брюшины в хирургии. М., «Медицина». 1964.-67с.
10. Шибаев Г.П. Нефропексия полоской из консервированной гетерогенной брюшины / Г.П. Шибаев, З.Я. Смирнова // Здравоохранение Казахстана. 1974. - №1. - С. 63-64
11. Шустер А.И. Хирургическое лечение больших и косых паховых грыж с применением консервированной гетерогенной брюшины //Клиническая хирургия. 1989. - № 3. 57-59.
12. Шустер А.И. Гетеропластика при паховых грыжах /А.И. Шустер, Т.А. Коломенская, Н.Т. Елисеева //Здравоохранение Казахстана. 1965. - № 4. -С. 30.
13. Watt F.M., Fujiwara H. Cell-extracellular matrix interactions in normal and diseased skin. Cold Spring Harb Perspect Biol 2011; 3 (4): a005124.

## SUMMARY

### MORPHOMETRIC ANALYSIS IN THE ZONE OF CONTACT OF VARIOUS TYPES OF IMPLANTS AND TISSUE OF KIDNEYS OF THE RATS EARLY TIME EXPERIMENT

<sup>1</sup>Tusupbekova M., <sup>1</sup>Abatov N., <sup>2</sup>Abugaliev K., <sup>3</sup>Alberton I., <sup>1</sup>Abatova A., <sup>1</sup>Asamidanov E., <sup>1</sup>Musabekov I.

<sup>1</sup>Karaganda State Medical University; <sup>2</sup>National Scientific Center of Oncology and Transplantology, Astana, Kazakhstan; <sup>3</sup>Medical Center Shaarei Tzedek, Jerusalem, Israel

To this day, limiting the amount of sampling of donor tissue and organs, tissue rejection issues and numerous possible complications remain unresolved problems and are an actual problem of practical urology. This provision indicates the existence of a need to find alternative methods for solving this problem.

The aim of the study was to study and compare the morphometric values of various types of implants with the tissue of the kidneys of rats in the early periods.

The object of a comparative experimental study was decellularized bovine - derived tissue and a macroporous partially absorbable light UltraPro mesh. The experimental subjects were 48 white non-linear short-haired sexually mature rats of both sexes weighing 180-220 g. The autopsy days of experiment on 7 day, x 21 day and 30 days. The micropreparations are colored with hematoxylin and eosin.

The decellularized bovine - derived tissue absence inflammatory and destructive changes in the implantation zone, compared by the mesh UltraPro. Consequently these results in the study groups indicate that the implants are biocompatible and do not generate the manifest forms of the heperergic immune response

© GMN

in the rat tissue, since they absence persistence and progression of the exudative reaction.

**Keywords:** decellularized bovine - derived tissue, morphometry, implant, macroporous partially absorbable light grid UltraPro, nephropexy.

## РЕЗЮМЕ

### МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ЗОНЕ КОНТАКТА РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ИМПЛАНТАТОВ И ТКАНИ ПОЧКИ КРЫС НА РАННИХ СРОКАХ ЭКСПЕРИМЕНТА

<sup>1</sup>Тусупбекова М.М., <sup>1</sup>Абатов Н.Т., <sup>2</sup>Абугалиев К.Р., <sup>1</sup>Абатова А.Н., <sup>3</sup>Альбертон И.Н., <sup>1</sup>Асамиданов Е.М., <sup>1</sup>Мусабеков И.К.

<sup>1</sup>Карагандинский государственный медицинский университет; <sup>2</sup>Национальный научный центр онкологии и трансплантологии, Астана, Казахстан; <sup>3</sup>Медицинский центр Шаарей Цедек, Иерусалим, Израиль

Цель исследования - изучить и сравнить морфометрические значения различных видов имплантатов с тканью почки в ранние сроки экспозиции не выявлены.

Объектом сравнительного экспериментального исследования явились децеллюляризованная ксенобрюшина крупного рогатого скота, а в качестве сравнения применяли макропористую, частично рассасывающуюся, легкую сетку УльтраПро. Эксперимент проводился на 48 белых нелинейных короткошерстных половозрелых крысах, обоего пола, массой 180-220 гр. Время экспозиции выведения животных из эксперимента - 7, 21 и 30 сутки. Микропрепараты окрашивались гематоксилином и эозином.

Обнаружено, что децеллюляризованная ксенобрюшина не вызывает воспалительных и деструктивных изменений в зоне имплантации в сравнении с сеткой УльтраПро. Результаты, полученные в исследуемых группах свидетельствуют, что имплантаты являются биосовместимыми и не генерируют манифестные формы гиперергической иммунной реакции в ткани крыс, так как не вызывают персистенции и прогрессии эксудативной реакции.

## რეზიუმე

სხვადასხვა სახის იმპლანტის და თირკმლის ქსოვილის კონტაქტის ზონის მორფომეტრული ანალიზი ექსპერიმენტის ადრეულ ვადაზე ვირთავებში

<sup>1</sup>მ.ტუსუპბეკოვა,<sup>1</sup>ნ. აბატოვი,<sup>2</sup>კ. აბუგალიევი,<sup>1</sup>ა. აბატოვა,<sup>3</sup>ი. ალბერტონი, <sup>1</sup>ე. ასამიდანოვი,<sup>1</sup>ი. მუსაბეკოვი

<sup>1</sup>ყარაგანდის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>ონკოლოგიისა და ტრანსპლანტოლოგიის ეროვნული სამეცნიერო ცენტრი, ასტანა, ყაზახეთი; <sup>3</sup>შაარეი ცედეკის სამედიცინო ცენტრი, იერუსალიმი, ისრაელი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სხვადასხვა სახის იმპლანტის მორფომეტრული მაჩვენებლების შეფასება და შედარება თირკმლის ქსოვილთან ექსპერიმენტის ადრეულ ვადაზე ვირთავებში.

შედარებითი ექსპერიმენტული კვლევის რეზულტატები წარმოადგენდა მსხვილფეხა რქოსანი ცხოველის დეცელულიზებული ქსენობერიტონეუმი, ხოლო შედარე-

ბის ჯგუფის სახით გამოყენებულია მაკროფორვანი ნაწილობრივ გაწოვადი მსუბუქი ბადე ულტრაპრო (УльтраПро). ექსპერიმენტი ჩატარდა 48 თეთრ არახაზოვან ზრდასრულ, ორივე სქესის, 180-220 გრ მასის ვირთაგვანზე. ცხოველების ექსპერიმენტიდან ექსპოზიციის დრო შეადგენდა 7, 21 და 30 დღეს. მიკროპრეპარატები შეღებულია ჰემატოქსილინით და ეოზინით. დადგენილია, რომ დეცელულიზებული ქსენოპერი-

ტონეუმი არ იწვევს ანთებით და დესტრუქციულ ცვლილებებს იმპლანტაციის ზონაში, ულტრაპროს ბადესთან შედარებით. მიღებული შედეგები ადასტურებს, რომ იმპლანტანტი ბიოთავსებადია და არ ასდენს პიპერერგული იმუნური რეაქციების მანიფესტური ფორმების გენერაციას ვირთაგვების ქსოვილებში, რადგანაც არ იწვევს ექსუდაციური რეაქციის პერსისტენციას და პროგრესიას.

## THE ROLE OF TRANSIENT RECEPTOR POTENTIAL (trpa1) CHANNEL IN PRURITUS

Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.

*Laboratory of Pain and Analgesia, Beritashvili Center for Experimental Biomedicine, Tbilisi, Georgia*

Chronic itch is common and costly problem and the treatment of chronic itch has been largely unmet. Chronic itch is a frequent symptom in the general population and in many skin and systemic diseases, such as atopic dermatitis, psoriasis, primary biliary cirrhosis, chronic renal failure, and urticaria as well as several neurological, infectious, neoplastic, haematological, autoimmune, genetic and drug-induced conditions. Its frequency demonstrates high burden and impaired quality of life [1-4,20,21]. There is a need to better understand mechanism of itch in order to develop novel evidence-based treatments for this chronic condition [5-7,11-14, 23].

There is very little previous evidence that itch mediators elicit hyperalgesia and almost there are no recent studies using modern controlled thermal stimulation methods to confirm if histamine or any other itch mediator elicits heat hyperalgesia, and to our knowledge there are no studies investigating if histamine or non-histaminergic itch mediators elicit thermal or mechanical allodynia/hyperalgesia.

The possibility that itch mediators also influence pain is supported by recent findings that most non-histaminergic itch mediators (e.g., chloroquine, BAM8-22) require the transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) channel [11,19,20,30]. This ion channels have previously been implicated in pain [5,8-10,15,18,22-26]. This, it is conceivable that non-histaminergic itch mediators can activate not only itch receptors (pruriceptors) but also pain receptors (nociceptors) expressing the TRPA1 channel that signals pain. While the behavioral manifestation is predominantly scratching and alloknosis (itchy skin), in this study we determined that itch behavior is also accompanied by pain, heat and mechanical hyperalgesia in mice.

**Material and methods.** *Animals.* The experiments were performed on male mice < 50 grams in body weight, bred at the Beritashvili Experimental Biomedicine Center. The animals were kept under standard housing conditions (22±2 °C, 65% humidity, lights from 6:00 a.m. to 8:00 p.m.), and fed by standard dry diet; water freely available. Guidelines of International Association for the study of Pain regarding investigations of experimental pain in conscious animal were followed throughout [31].

*Chemical injections:* All chemical irritants chloroquine (0.25, 0.5, and 1M/1μL), BAM (5μg/1μL; 10μg/1μL; 25μg/1μL), and TRPA1 antagonist HC030031 (50μg/30μL; 100μg/30μL) were purchased from Sigma-Aldrich Chemicals, Co., (St. Louis, MO, USA). Various doses of these chemicals were injected intradermal through a 30 g needle connected by PE 50 tubing to a Hamilton micro-syringe. The same volumes of vehicle (isotonic

saline) were microinjected in the same manner separately as a control. Different animal groups were used for the experiments and they were tested with one concentration of irritant chemicals, antagonists or vehicle and not repeatedly used. Six mice were used for each group.

*Thermal paw withdrawal (Hargreaves) test.* Mice first were habituated to stand on a glass surface heated to 30°C within a Plexiglas's enclosure, over three separate daily sessions. For formal testing, baseline latencies for paw withdrawals evoked by radiant thermal stimulation of each hind paw were measured a minimum three times/ paw, with at least 5 min elapsing between tests on a given paw. A light beam (Plantar Test 390, IITC, Woodland Hills, CA, USA) was focus onto the plantar surface of one hind paw through the glass plate from below, and the latency from onset of the light to brisk withdrawal of the stimulated paw was measured. The other hind paw was similarly tested 30-60 sec later. The mouse was then held gently and one hind paw received an intra-plantar injection of chemicals or vehicle. The mice then was placed back onto the glass plate and withdrawal latencies of both paws were measured at 5, 15, 30, 45, 60 and 120 min post-injection.

*Mechanical paw withdrawal threshold (von Frey) test.* Mice were first habituated to standing on the mesh stand surface. For formal testing, baseline withdrawals were assessed using an Electronic von Frey Anesthesiometer (2390, IITC, CA, USA) filament that was pressed against the ventral paw from below. This device samples and holds force (g) at the moment that the hind paw was withdrawn away from the filament. Each paw was tested for baseline mechanical withdrawals at least three times, with at least 5 min elapsing between successive measurements of a given paw. The mouse then received a unilateral intra-plantar injection (see above) and was placed back onto the mesh stand surface. Mechanical paw withdrawals were measured at the same post-injection times as above for thermal paw withdrawals. The same groups of mice were used for thermal and mechanical withdrawal tests, with a minimum of 7 days in between successive tests to avoid possible carryover effects of stimuli.

All data from behavioral tests were subjected to repeated measures of analysis of variance (ANOVA) and then were compared between chemicals and vehicle treatment groups by paired *t*-test. The data are expressed as Mean±S.E.M. The Kolmogorov-Smirnov test was applied to verify normality and equal variance. Thereafter Kruskal-Wallis ANOVA and subsequent Tukey post-hoc test was used to assess differences between treatments. Statistical significance is acknowledged if  $P < 0.05$ . The statisti-

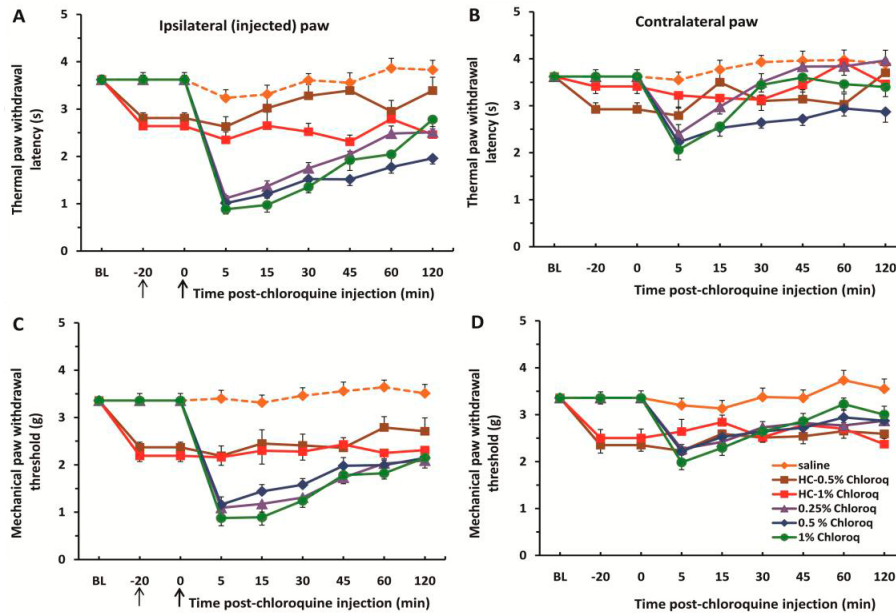


Fig. 1. Intraplantar injection of chloroquine result in significant decrease of the thermal paw latency (A) and mechanical paw threshold (C), i.e., develops hyperalgesia. However, pretreatment with TRPA1 antagonist HC030031 attenuates these thermal and mechanical hyperalgesia, respectively. There is not observed similar effects for the contralateral paw (B, D). The thin black arrow indicates the time of injection of HC030031 and the bold arrow indicates the time of injection of chloroquine. BL - pre-injection baseline

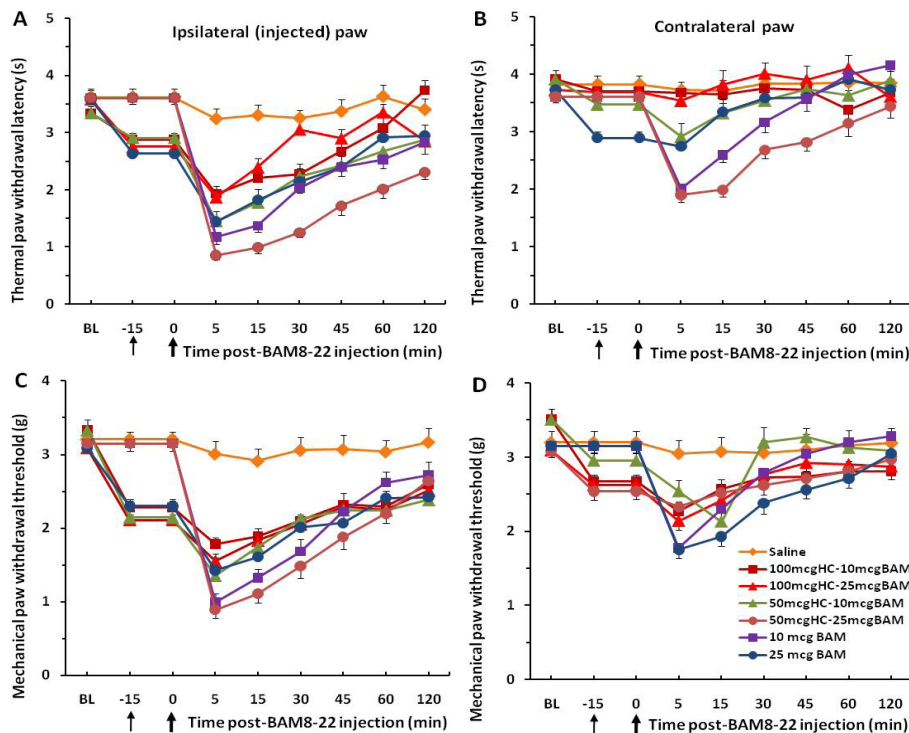


Fig. 2. Intraplantar injection of BAM8-22 result in significant decrease of the thermal paw latency (A) and mechanical paw threshold (C), i.e., develops hyperalgesia. However, pretreatment with TRPA1 antagonist HC030031 reduces these thermal and mechanical hyperalgesia, respectively. There is not observed similar effects for the contralateral paw (B, D). The thin black arrow indicates the time of injection of HC030031 and the bold arrow indicates the time of injection of chloroquine. BL - pre-injection baseline

cal software utilized was Prism 4.03 (GraphPad Software, Inc, San Diego, CA, USA).

**Results and their discussion.** *Chloroquine induced hyperalgesia.* In the first set of experiments, we tested if pre-treatment with the TRPA1 channel antagonist HC030031 attenuated hyperalgesia produced by chloroquine. Each of the 6 groups of mice received intraplantar injection of saline in one hindpaw to establish baseline

responses. Three days later, 3 groups of mice were injected with chloroquine in the same hindpaw showing strong thermal and mechanical hyperalgesia ( $P < 0.001$ ) (Fig. 1). These hyperalgesic effects are very similar to those reported previously when we intraplantarly injected the TRPV1 channel agonist capsaicin, and the TRPA1 channel agonists cinnamaldehyde and allyl isothiocyanate (a natural compound of mustard oil) into the rat's hind paw [8,15,16,26-28].

Two other groups of mice prior to injection of chloroquine pretreated with the TRPA1 channel antagonist HC030031. The obtained data showed a significant attenuation of thermal and mechanical hyperalgesia for the first 30–45 min. These findings indicate that pretreatment with HC030031 did significantly reduce the magnitude of hyperalgesia, as well as significantly shortened the time-course of hyperalgesia induced by chloroquine. We did not observed similar changes for the contralateral paw (Fig. 1).

**BAM8-22 induced hyperalgesia.** In the second set of experiments, we tested if pre-treatment with the TRPA1 channel antagonist HC030031 attenuated hyperalgesia produced by BAM8-22. The latter like as chloroquine produces itch-related scratching through receptors MrgprC11 and MrgprA3, respectively in mice and human subjects [1,2].

Intraplantar injection of BAM8-22 resulted in similar effects that we observed with chloroquine. Here pretreatment with HC010031 in the same manner but lesser reduced thermal and mechanical hyperalgesia for ipsilateral, chemicals injected paw, but not contralateral paw (Fig. 2).

It is interesting that we have recently shown that commonly used non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) such as diclofenac, ketorolac and xefocam also reduced agonist-evoked activation of the TRPA1 and TRPV1 channels [17,29].

In conclusion, the obtained data showed a significant attenuation of thermal and mechanical hyperalgesia induced by chloroquine and BAM8-22 for the first 30–45 min. These findings indicate that pretreatment with TRPA1 channel antagonist HC030031 did significantly reduce the magnitude of hyperalgesia, as well as significantly shortened the time-course of hyperalgesia induced by chloroquine and BAM8-22. Thus, we revealed that non-histaminergic pruritogens elicit thermal and mechanical hyperalgesia via the activation of TRPA1 channel. This hyperalgesia was attenuated by the TRPA1 channel antagonist HC030031. Therefore, it is very important to get more evidence for the potential role of TRPA1 channel inhibitors as modulators of preclinical and/or clinical itch and pain conditions.

**Acknowledgement.** The work was supported by the grant from Shota Rustaveli National Science Foundation of Georgia (# 217076).

## REFERENCES

1. Akiyama T., Carstens E. Neural processing of itch // *Neurosci.* 2013; 250: 697–714.
2. Akiyama T., Carstens E. Spinal coding of itch and pain. In: *Itch: Mechanisms and Treatment.* Carstens E., Akiyama T. (Eds.), CRC Press 2014; 319–338.
3. Andersen H.H., Elberling J., Arendt-Nielsen L. Human surrogate models of histaminergic and non-histaminergic itch // *Acta Dermat. Venereol.* 2015; 95: 771–777.
4. Andersen H.H., van Laarhoven A.I.M., Elberling J., Arendt-Nielsen L. Modulation of itch by conditioning itch and pain stimulation in healthy humans // *J. Pain* 2017; 18: 1437–1450.
5. Basbaum A.I., Bautista D.M., Scherrer G., Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain // *Cell* 2009; 139: 267–284.
6. Bautista D.M., Wilson S.R., Hoon M.A. Why we scratch an itch: the molecules, cells and circuits of itch // *Nature Neurosci.* 2014; 17: 175–182.
7. Braz J., Solorzano C., Wang X., Basbaum A.I. Transmitting pain and itch messages: a contemporary view of the spinal cord circuits that generate gate control // *Neuron* 2014; 82: 522–536.
8. Carstens E., Klein A., Tsagareli M.G. et al. Effects of thermo-sensitive transient receptor potential (TRP) channel agonists on the neural coding of touch, temperature and pain sensation. In: *Proc. 9th "Gagra Talks"*, Intern. Confer. Fund. Prob. Neurosci. Tbilisi 2010; 267–280.
9. Chung M.-K., Jung S.J., Oh S.B. Role of TRP channels in pain sensation // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2011; 704: 615–636.
10. Flockerzi V., Nilius B. TRPs: Truly remarkable proteins. In: *Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels.* Nilius B., Flockerzi V. (Eds.) Berlin, Springer 2014; vol. 1: 1–12.
11. Geppetti P., Veldhuis N.A., Lieu T.M., Bunnett N.W. G protein-coupled receptors: Dynamic machines for signaling pain and itch // *Neuron* 2015; 88: 635–649.
12. Ikoma A., Steinhoff M., Stander S. et al. The neurobiology of itch // *Nature Rev. Neurosci.* 2006; 7: 535–547.
13. Lee S.J. Molecular mechanisms of itch and pain: An overview // *Itch & Pain* 2015; 2: e554.
14. Liu T., Ji R.-R. New insights into the mechanisms of itch: are pain and itch controlled by distinct mechanisms? // *Pflugers Arch* // *Eur. J. Physiol.* 2013; 465: 1671–1685.
15. Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Abzianidze E., Tsagareli M.G. TRP channels in thermal pain sensation. In: *Systemic, Cellular and Molecular Mechanisms of Physiological Functions and Their Disorders.* Chap. 22. New York, Nova Biomedical 2016; 271–287.
16. Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. Behavioral study of TRPA1 and TRPV1 channels relationship in rats // *Bull. Georgian NAS, New Series* 2014; 8: 122–127.
17. Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. NSAIDs attenuate hyperalgesia induced by TRP channel activation. *Data Brief* 2016; 6: 668–673.
18. Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.G. Role of thermo TRPA1 and TRPV1 channels in heat, cold and mechanical nociception of rats // *Behav. Pharmacol.* 2016; 27: 29–36.
19. Patel K.N., Dong X. Itch: cells, molecules, and circuits // *ACS Chem. Neurosci.* 2011; 2: 17–25.
20. Ross S.E. Pain and itch: insights into the neural circuits of aversive somatosensation in health and disease // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2011; 21: 880–887.
21. Schmelz M., Handwerker H. Itch. In: *Wall and Melzack's Textbook of Pain.* 6th ed. McMahon S.B. et al. (Eds.) Elsevier 2013; 211–219.
22. Szallasi A. Role of TRP channels in pain: an overview. In: *Vannilloid Receptor TRPV1 in Drug Discovery.* Gomstyan A., Faltynek G.R. (Eds.) New York, Wiley 2010; 68–100.
23. Tóth B.I., Szallasi A., Biro T. Transient receptor potential channels and itch: How deep should we scratch? In: *Pharmacology of Itch.* Cowan A., Yosipovitch G. (Eds.) Berlin, Springer 2015; 89–133.
24. Tsagareli M.G. Transient receptor potential ion channels as promising therapeutic targets: An overview. In: *Frontiers in CNS Drug Discovery*, vol. 2, chap. 5. New York, Bentham 2013; 118–145.
25. Tsagareli M.G. Thermo-TRP channels in pain sensation // *British J. Pharm. Sci.* 2015; 6: 376–384.
26. Tsagareli M.G. Behavioral testing of the effects of thermo-sensitive TRP channel agonists on touch, temperature and pain sensations // *Neurophysiol. (Springer)* 2011; 43: 309–320.
27. Tsagareli M.G., Klein A.H., Tsiklauri N., et al. Behavioral testing of thermo-sensitive transient receptor potential (TRP) channel agonists cinnamaldehyde and menthol on touch, temperature and pain sensations // *Bull. Georgian NAS, New Series* 2010; 4: 107–118.
28. Tsagareli M.G., Tsiklauri N., Zanutto K.L., et al. Behavioral evidence of heat hyperalgesia and mechanical allodynia induced by intra-dermal cinnamaldehyde in rats // *Neurosci. Letters* 2010; 473: 233–236.
29. Tsagareli M.G., Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G. Non-steroidal anti-inflammatory drugs attenuate agonist-evoked activation of transient receptor potential channels // *Biomed. Pharmacother.* 2018; 97: 745–751.
30. Wilson S.R., Gerhold K.A., Bifulco-Fisher A. et al. TRPA1 is required for histamine-independent, Mas-related G protein-coupled receptor-mediated itch // *Nature Neurosci.* 2011; 14: 595–602.

31. Zimmermann M. Ethical guidelines for investigation of experimental pain in conscious animals // Pain 1983; 16: 109-110.

## SUMMARY

### THE ROLE OF TRANSIENT RECEPTOR POTENTIAL (trpa1) CHANNEL IN PRURITUS

Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Tsagareli M.

Laboratory of Pain and Analgesia, Beritashvili Center for Experimental Biomedicine, Tbilisi, Georgia

Pruritus or itch is defined as the sensation that causes the desire to scratch, and it can be induced by mechanical, thermal and chemical stimuli. Persistent itch accompanying diseases of the skin and other organs can significantly impair the quality of life. There is a growing body of evidence implicating abnormal transient receptor potential (TRP) channel function, as a product of excessive or deficient channel activity, in pathological skin conditions such as pruritus and dermatitis. These data supports the notion that non-histaminergic itch mediators require the activation of TRPA1 channel that has previously been implicated in pain and thermal sensation. In the present paper, we investigated whether chemical inducers of itch, including non-histaminergic mediators, elicit signs of thermal and mechanical hyperalgesia (increased pain to a noxious stimulus). We measured nociceptive thermal paw withdrawal latencies and mechanical thresholds bilaterally in mice at various time points following intraplantar injection of non-histaminergic mediators like as chloroquine and the bovine adrenal medulla peptide 8–22 (BAM8-22) producing hyperalgesia. We showed that chloroquine and BAM8-22 induced statistically significant dose-dependence hyperalgesia compare to vehicle control in both test. When pretreated with the TRPA1 antagonist (HC-030031) we found a significant attenuation of thermal and mechanical hyperalgesia.

We showed, thus, for the first time that non-histaminergic pruritogens elicit thermal and mechanical hyperalgesia through the activation of TRPA1 channel.

**Keywords:** antinociception, hyperalgesia, Hargreaves' test, von Frey's test, itch.

## РЕЗЮМЕ

### РОЛЬ КАНАЛА ТРАНЗИТОРНОГО РЕЦЕПТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА (TRPA1) ПРИ ЗУДЕ

Нозадзе И.Р., Циклаური Н.Дж., Гуртская Г.П., Цагарели М.Г.

Лаборатория боли и анальгезии, Центр экспериментальной биомедицины им. И.С. Бериташвили, Тбилиси, Грузия

Зуд определяется как ощущение, которое вызывает желание чесания и может быть вызвано механическими, тепловыми и химическими раздражителями. Постоянный зуд, сопровождающий болезни кожи и других органов, может перейти в хроническую форму. Множество исследований указывают на участие каналов транзиторных рецепторных потенциалов (TRP) в таких патологических состояниях кожи, как зуд и дерматит. Эти данные подтверждают представление о том, что негистаминергические медиаторы вызывают активацию канала TRPA1, который вовлечен в развитие боли и тепловое ощущение. В настоящем исследовании

изучен вопрос, вызывают ли химические индукторы зуда, в том числе негистаминергические медиаторы, тепловую и механическую гипералгезию. Измеряли латентность отдергивания лапы на тепловой болевой стимул и пороги на механический стимул у мышей в различные моменты времени после внутримышечной инъекции негистаминергических медиаторов, таких как хлорохин и пептид бычьего надпочечника 8-22 (BAM8-22), вызывающие гипералгезию. Показано, что хлорохин и BAM8-22 индуцируют статистически значимую гипералгезию зависимости от дозы, в сравнении с контролем в обеих тестах. При предварительной обработке антагонистом TRPA1 канала (HC-030031) обнаружено значительное ослабление тепловой и механической гипералгезии. Таким образом, показано, что негистаминогенные прuritогены вызывают тепловую и механическую гипералгезию посредством активации канала TRPA1.

## რეზიუმე

ტრანზიტორული რეცეპტორულ პოტენციალის არხის (TRPA1) როლი ქავილის შეგრძნებაში

ი. ნოზაძე, ნ. წიკლაური, გ. ღურჭიაია, მ. ცაგარელი

ივ. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრი, ტკივილისა და ანალგეზიის ლაბორატორია, თბილისი, საქართველო

ქავილი და ტკივილი წარმოადგენს მსგავს შეგრძნებებს იმ თვალსაზრისით, რომ ისინი ატყობინებენ ორგანიზმს დამაზიანებელი სტიმულის არსებობის შესახებ. ორივეს შეიძლება გააჩნდეს მსგავსი მექანიზმები, თუმცა საკმაოდ განსხვავდებიან კოდირებული უკანასკნელმა გამოკვლევებმა ცხადყო, რომ პისტამინით გამოწვეული ქავილი საჭიროებს ტრანზიტორული რეცეპტორულ პოტენციალის ვანილოიდური (TRPV1) არხის მონაწილეობას, მაშინ როცა უმრავლესი არა-პისტამინერგული ქავილის გამოსაწვევად საჭიროა ანკირინული (TRPA1) არხის ჩართულობა. უფრო ადრე აღმოჩენილ იქნა, რომ ორივე არხი მონაწილეობს ტკივილის შეგრძნებაში. წარმოდგენილ ნაშრომში ჩვენ შევისწავლეთ საკითხი, იწვევს თუ არა ქავილის არა-პისტამინერგული პრuritოგენები ქლოროკინი და BAM8-22 თერმულ და მექანიკურ ჰიპერალგეზიას.

ქცევითი ტესტების გამოყენებით გაანალიზებულია ლაბორატორიული თავგების თათის მოცილების ნოციციპტორული რეფლექსის ფარული პერიოდისა და თათის მოცილების მექანიკური ზღურბლის ცვლილებები არაპისტამინერგული ქავილის გამომწვევი ნივთიერებებით, (ქლოროკინი, BAM8-22) განპირობებული ჰიპერალგეზიის დროს.

ცდების პირველ სერიაში თავგების უკანა თათში TRPA1 არხის ანტაგონისტის (HC030031) ინიექცია იწვევდა ქლოროკინით განპირობებულ თერმულ და მექანიკურ ჰიპერალგეზიის სარწმუნო დათრგუნვას. ცდების მეორე სერიაში თავგების უკანა თათში იგივე ანტაგონისტის ინიექცია იწვევდა BAM8-22-ით განპირობებულ თერმულ და მექანიკურ ჰიპერალგეზიის სარწმუნო შემცირებას.

ამრიგად ნაჩვენებია, რომ არაპისტამინერგული პრuritოგენებით გამოწვეულ ქავილს ახლავს ტკივილის გაძლიერებული შეგრძნება, ჰიპერალგეზია, რომლის განვითარებაშიც ჩართულია TRPA1 არხი.

## THE ROLE OF POLYMORPHISM ASP299GLY OF THE GENE TLR 4 IN PATIENTS CO-INFECTED WITH HIV/HCV

Yurko K., Kozko V., Solomennik A., Bondar O., Sokhan A., Gavrylov A.

*Kharkiv National Medical University, Department of Infectious Diseases, Ukraine*

Human immunodeficiency virus (HIV) and hepatitis C virus (HCV) cause common viral infections that cause significant morbidity and mortality, which have an impact on the demographic situation in Ukraine [4,5]. Chronic hepatitis C (CHC) is diagnosed in 60-90% of HIV-infected patients, due to the common virus transmission routes. Co-infection with HIV/HCV is an important public health problem, since viruses, acting synergistic, accelerate the progression of liver disease [7].

Recent research suggests that adipose tissue is not merely a place to store triglycerides (TG) and lipids, but also an endocrine organ that synthesizes about 30 types of proteins that are regulators of various body functions, including the immune response. As part of the cell membranes of adipose tissue were identified receptors of innate immunity - Toll-like receptors (of TLRs) and was installed their significant role, particularly TLR4 in the development of immune reactions, type 2 diabetes, atherosclerosis [9]. Polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene contributes to disruption of the insulin action in hepatocytes, leads to the immune reactions, obesity, increased secretion of cytokines and, consequently, to disruption of lipid and carbohydrate metabolism [1,6]. The presence of genotype Asp/Gly TLR4 is a factor of the progression of HIV infection [8]. The relationship was established between the polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene and high HIV viral load, susceptibility to HIV-associated infections. However, data about the importance of TLR4 gene polymorphism Asp299Gly in the development of metabolic disorders in patients co-infected HIV/HCV need to be clarified [2,3].

Thus, so far the concepts of development of metabolic disorders in patients co-infected HIV/HCV have a contradictory character, their clinical and laboratory diagnostic criteria aren't finally formed, which substantiates the relevance of this scientific work.

**Material and methods.** Studies have been conducted on a clinical basis of the Department of Infectious Diseases of KhNMU - Kharkiv Regional Clinical Infectious Hospital and the regional center for prevention and control of AIDS in Kharkiv for 2010-2017. During the study were guaranteed the rights and freedoms of patients that are prescribed by the Helsinki Declaration, International Conference on Harmonisation (ICH), and complied with the standards of Good Clinical Practice (GCP).

Original researches (values of cytokine profile, mineral, lipid, carbohydrate, purine metabolism and acute phase proteins) were conducted twice - before treatment and after 6 months from its beginning, and common researches - every 1-3 weeks.

The diagnosis of chronic hepatitis C has been set according to the classification of chronic hepatitis, which was proposed at the International Congress of Gastroenterology (Los Angeles, 1994). Verification of the diagnosis was based on clinical and biochemical data, detecting anti-HCV: anti-HCV IgG, anti-HCV core IgG, anti-HCV NS-3, -4, -5 IgG, IgM anti-HCV by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (CJSC «Vector-Best»), the HCV RNA in the blood serum with the genotyping using qualitative and quantitative methods of polymerase chain reaction (PCR) («SPE DNA Technology»). Diagnosis of HIV infection in all patients was made according to the clinical classification of HIV infection in adults and adolescents (WHO, 2010) after examinations on the presence of specific antibodies to HIV by ELISA and the subsequent confirmation of their specificity by immunoblotting. HIV-1 RNA level were determined by quantitative PCR.

The program of a general clinical examination of patients included: evaluation of complaints and medical history information with a detailed analysis of medical records; physical examination; peripheral blood test with using hematology analyzer ABX PENTRA 60C Plus (HORIBA ABX Diagnostics Inc., France); the number of CD4+, CD3+ and CD45+ was determined by flow cytometry with using the immunophenotyping method on the cytofluorometer EPICSTM XLTM (Beckman Coulter, USA) in the clinical diagnostic laboratory of the regional center for prevention and control of AIDS in Kharkiv. Serological and molecular genetic studies for the presence of markers of viral hepatitis C (HCV RNA, anti-HCV), B (HBsAg, anti-HBcAg IgG, IgM) and A (anti-HAV Ig M) also were carried out to the patients.

To determine the polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene in patients co-infected HIV/HCV was performed the taking of the buccal epithelium. Studies were conducted in two stages: on the first stage was separated DNA from the samples using a set of «Separating of DNA from epithelial swabs and scrapings on magnetic particles» (Silex-M, Moscow, Russia), on the second - genotyping was performed. Analysis of TLR4 gene Asp299Gly polymorphism was performed by determining restriction fragment length polymorphism. DNA amplification was performed using a set of the «DNA amplification» (Silex-M, Moscow, Russia) on a thermocycler BIS.

We observed 47 patients co-infected with HIV/HCV. Among the examinees were 21 women (44,7 %), men – 26 (55,3 %). The median age was 36,2±2,4 years with a range of 21 to 52 years. The group of the population control for genetic studies included 32 healthy individuals (men – 17, women – 15) between the ages of 19 to 60 years (mean age – 31,6±1,3), which are indigenous to Kharkiv and are Ukrainians by nationality.

General requirements for the including of patients in the study: the free informed consent for participating, the time of observation at least 3 months, a moderate degree of HCV activity; antiretroviral therapy with zidovudine, lamivudine and efavirenz. General criteria for the excluding of patients from the study: cancer and autoimmune pathology, tuberculosis, pregnancy, using the injection drugs at the time of the study, HCV antiviral therapy. According to age, gender, the presence of co-morbidities, the HCV genotype, clinical stage of HIV-infection groups were comparable.

The research results are processed by the method of variation and correlation statistics with the using of computer programs. The authenticity of differences was determined using Student's t test (t). To predict the development of metabolic disorders was used the ratio odds (OR) with the evaluation of 95 % of the confidence interval (CI). Correlation analysis was performed by the method of Spearman (Kendall). In statistical data processing was used a personal computer with a application package «Microsoft Excel 2010» (Microsoft Corporation) and an additional set of statistical analysis software (Statistica 10.0 for Windows). Differences were considered statistically significant at  $p < 0,05$  [10].

**Results and their discussions.** Overall 47 patients co-infected with HIV/HCV were examined. Among the examinees were 21 women (44,7 %), men – 26 (55,3 %). The median age was 36,2±2,4 years with a range of 21 to 52 years. The group of the population control for genetic studies included 32 healthy individuals (men – 17, women – 15) between the ages of 19 to 60 years (mean age – 31,6±1,3), which are indigenous to Kharkiv and are Ukrainians by nationality.

Detected disorders of cellular and cytokine components of immunity, mineral, lipid and carbohydrate metabolism in patients with co-infection HIV/HCV necessitates the definition of pathogenetic mechanisms of their development. HCV and HIV can activate the innate immune receptors in the liver.

To determine the influence of innate immunity in the development of metabolic disorders was investigated polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene in patients co-infected with HIV/HCV. It was found that in patients co-infected HIV/HCV polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene is more common than in healthy donors ( $p < 0,05$ ). Numerous correlations of the polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene with indicators of different types of metabolism confirms its leading role in the development of metabolic disorders in patients co-infected with HIV/HCV. In particular was determined a strong direct relationship between the polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene in patients co-infected HIV/HCV and content of insulin ( $r = 0,66$ ;  $p < 0,001$ ), immune reactions ( $r = 0,66$ ;  $p < 0,001$ ), the absolute number of CD45+ of T-lymphocytes ( $r = 0,45$ ;  $p < 0,001$ ), moderate direct relationship with the content of TNF- $\alpha$  ( $r = 0,32$ ;  $p < 0,05$ ), CRP ( $r = 0,34$ ;  $p < 0,05$ ), the absolute number of CD3+ of T-lymphocytes ( $r = 0,34$ ;  $p < 0,05$ ), triglyceride levels ( $r = 0,39$ ;  $p < 0,02$ ). In addition, there is an inverse relationship between the polymorphism Asp299Gly of the gene TLR-4 and the content of Zn ( $r = -0,34$ ;  $p < 0,05$ ), the relative number of CD4+, % ( $r = -0,32$ ;  $p < 0,05$ ).

During the statistical analysis by Pearson's criterion  $\chi^2$ , it was found that in patients co-infected HIV/HCV with the polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene: content of TNF- $\alpha \geq 9,7$  pg/ml ( $\chi^2 = 6,81$ ;  $p < 0,001$ ), Zn  $\leq 12,6$  mcmmol/l ( $\chi^2 = 5,9$ ;  $p < 0,01$ ), triglycerides  $\geq 2,92$  mmol/l ( $\chi^2 = 4,78$ ;  $p < 0,01$ ), insulin  $\geq 14,5$  mU/ml ( $\chi^2 = 8$ ;  $p < 0,001$ ), the absolute number of CD3+ and CD45+ of T-lymphocytes  $\geq 2460$  ( $\chi^2 = 12,03$ ;  $p < 0,01$ ) and the index of immune reactions  $\geq 4,5$  ( $\chi^2 = 16,25$ ;  $p < 0,001$ ), which allows to recommend them as additional diagnostic criteria for metabolic disorders.

The prediction of metabolic disorders in patients co-infected HIV/HCV is important because it helps to carry out an in-depth comprehensive diagnosis in individuals with increased risk of metabolic disturbances and timely start correction of disorders in these patients. In the light of conducted intra- and intersystem analysis of correlations, it was developed a system of metabolic disorders monitoring in patients co-infected with HIV/HCV. If the homozygous Asp/Asp genotype of TLR4 is found in patient, the risk of metabolic disorders is defined as the minimum. If the polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene is detected, the high risk of developing of the metabolic disorders is determined ( $OR = 23,3$ ;  $p < 0,05$ ), which requires an in-depth examination for the diagnosis of metabolic disorders and their correction in patients co-infected with HIV/HCV. The following indicators are particularly informative: index of immune reactions, the contents of insulin, C-reactive protein (CRP), TNF- $\alpha$ , Zn and triglyceride by which the diagnosis and follow-up control of metabolic disorders in patients co-infected HIV/HCV were made with an interval of 6 months.

The results of the researches allowed to propose a scheme of development of metabolic disorders in patients co-infected HIV/HCV with polymorphism Asp299Gly of the gene TLR4.

According to the diagram, in patients co-infected HIV/HCV with polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene under the action of HIV and HCV the activation of nuclear transcription factor (NF-kB) happens, which enhances production of proinflammatory cytokines, namely, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6. The deficiency of antioxidants, in particular, Zn, Mg, ceruloplasmin also promotes activation of NF-kB. As a result, against the background of the deficiency of Mg (insulin receptor molecule is a Mg-dependent protein) in conditions of immunodeficiency occurs interrupting

of the intracellular signaling pathway of insulin (signal transfer from receptor to insulin), resulting in the development of insulin resistance, which are characterized by disorders in carbohydrate and lipid metabolism, gain of the lipolysis of adipose tissue, increased synthesis and release triglyceride from cells, free fatty acids (FFA) and their increased delivery to the liver, leading to the appearance and progression of hepatic steatosis in patients co-infected with HIV / HCV.

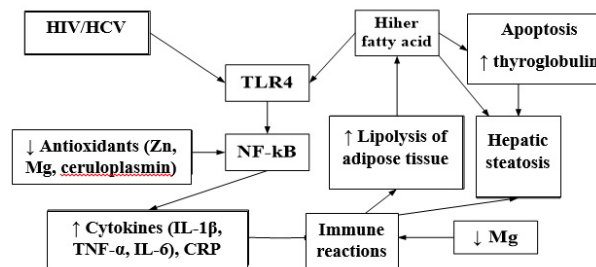


Fig. Diagram of metabolic disorders in patients co-infected HIV/HCV with polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene

Thus, the results of research found that despite the diversity of the pathogenesis of metabolic disorders in patients co-infected HIV/HCV, the central place occupy disorders of the cytokine immunity (overproduction of proinflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6)), mineral (deficit Zn i Mg), carbohydrate (insulin resistance) and lipid (hypertriglyceridemia) metabolism, and the main pathogenetic mechanism of their development is a polymorphism Asp299Gly of the gene TLR4.

**Conclusions.** 1. In patients co-infected HIV/HCV appears significantly more frequent the polymorphism Asp299Gly of the gene TLR4 ( $\chi^2 = 4,5$ ;  $p < 0,05$ ) when compared with healthy donors, which plays a significant role in the development of metabolic disorders, such correlation is confirmed by those relationships: a strong direct relationship between the polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene and the content of insulin ( $r = 0,66$ ;  $p < 0,001$ ), insulin resistance ( $r = 0,66$ ;  $p < 0,001$ ), the absolute number of CD45+ of T-lymphocytes ( $r = 0,45$ ;  $p < 0,001$ ); a moderate direct relationship with the content of TNF- $\alpha$  ( $r = 0,32$ ;  $p < 0,05$ ), CRP ( $r = 0,34$ ;  $p < 0,05$ ), the absolute number of CD3+ of T-lymphocytes ( $r = 0,34$ ;  $p < 0,05$ ), the content of triglyceride ( $r = 0,39$ ;  $p < 0,02$ ), moderate inverse relationship with the zinc content ( $r = -0,34$ ;  $p < 0,05$ ), the relative number of CD4+, % ( $r = -0,32$ ;  $p < 0,05$ ).

2. The system of monitoring of metabolic disorders in patients co-infected HIV / HCV has been developed based on the determination of polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene, the presence of which indicates a high risk of developing metabolic disorders ( $OR = 23,3$ ;  $p < 0,05$ ) and requires further examination as follows: the follow-up control of immune reactions index, the content of insulin, TNF- $\alpha$ , CRP, zinc and triglyceride with an interval of 6 months, which will allow for the timely diagnosis and monitoring of metabolic disorders.

3. The concept of development of metabolic disorders in patients co-infected HIV/HCV with polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene has been developed, which is based on long-term persistence of the virus with inhibition of cell-mediated immunity (decreased levels of CD4+ and CD45+ lymphocytes in the blood), depletion of antioxidant protection (reduction of zinc, magnesium, ceruloplasmin), against the background of the activation of NF-kB, which promotes overproduction of proinflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6), CRP, under the conditions of magnesium deficiency leads to the development of metabolic disorders, immune reactions and progression of hepatic steatosis.

## REFERENCES

1. Bassendine M. F., Sheridan D. A., Bridge S.H. et al. Lipids and HCV // *Semin. Immunopathol.* 2012. 31: 1755–1762.
2. Dubinskaya G., Sizova L., Koval T. Kovalyova E., Kaydashv I. Clinical and genetic predictors and prognostic model of rapidly progressive hepatic fibrosis in chronic hepatitis // *Georgian Medical News.* 2016. 7-8 (256-257): 37-45.
3. Khattab M. Association between metabolic abnormalities and hepatitis C-related hepatocellular carcinoma // *Ann Hepatol.* 2012; 11(4): 487–494.
4. Kozko V., Iurko K., Krasnov M., Davydova T. Characteristics of the HIV epidemic in Ukraine // *Provizor* 2010; 23: 7-12.
5. Longo D., Fauci A. Harrison's Gastroenterology and Hepatology. McGraw-Hill Professional. 2010; 738.
6. Marra F., Tacke F. Roles for chemokines in liver disease. *Gastroenterology.* – 2014; 114: 577–594.
7. Mascolini M. DAAs for HCV/HIV coinfection: lots more to learn // *Research Initiative.* 2014; 19: 5–19.
8. Megan C. HIV Infection and TLR Signalling in the Liver / C. Megan, K. Visvanathan, R. Lewin // *Gastroenterology Research and Practice.* 2012. 12: 91–98.
9. Rehmann B. Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cells and NK cells // *Nat. Med.* 2013; 19 (7): 859–868.
10. Zosimov A. System analysis in medicine. Kharkov: Tornado, 2000; 82.

## SUMMARY

### THE ROLE OF POLYMORPHISM ASP299GLY OF THE GENE TLR 4 IN PATIENTS CO-INFECTED WITH HIV/HCV

**Yurko K., Kozko V., Solomennik A., Bondar O., Sokhan A., Gavrylov A.**

*Kharkiv National Medical University, Department of Infectious Diseases, Ukraine*

For the first time it was conducted complex research of metabolic disorders in patients co-infected with HIV/HCV and was shown that they are characterized by disturbances of mineral, lipid and carbohydrate metabolism types. It was established significantly higher values of indicators of mineral, lipid and carbohydrate metabolism types in patients co-infected with HIV/HCV compared with patients with chronic hepatitis C and HIV-infected persons.

In patients co-infected HIV/HCV appears significantly more frequent the polymorphism Asp299Gly of the gene TLR4 ( $\chi^2 = 4,5$ ;  $p < 0,05$ ) when compared with healthy donors, which plays a significant role in the development of metabolic disorders, such correlation is confirmed by those relationships: a strong direct relationship between the polymorphism Asp299Gly of TLR4 gene and the content of insulin ( $r = 0,66$ ;  $p < 0,001$ ), insulin resistance ( $r = 0,66$ ;  $p < 0,001$ ), the absolute number of CD45+ of T-lymphocytes ( $r = 0,45$ ;  $p < 0,001$ ); a moderate direct relationship with the content of TNF- $\alpha$  ( $r = 0,32$ ;  $p < 0,05$ ), CRP ( $r = 0,34$ ;  $p < 0,05$ ), the absolute number of CD3+ of T-lymphocytes ( $r = 0,34$ ;  $p < 0,05$ ), the content of triglyceride ( $r = 0,39$ ;  $p < 0,02$ ), moderate inverse relationship with the zinc content ( $r = -0,34$ ;  $p < 0,05$ ), the relative number of CD4 +, % ( $r = -0,32$ ;  $p < 0,05$ ).

The system of monitoring of metabolic disorders in patients co-infected with HIV/HCV based on the definition of polymorphism Asp299Gly gene TLR4, the presence of which indicates a high risk of metabolic disturbances ( $OR = 23,3$ ;  $p < 0,05$ ) and requires further

investigation, namely the definition of an index of insulin resistance, insulin levels, TNF- $\alpha$ , C-reactive protein, zinc and triglyceride levels in dynamics at intervals of 6 months that allow for timely diagnosis and correction of metabolic disorders.

**Keywords:** 1 chronic hepatitis C, HIV infection, HIV/HCV coinfection, cytokines, trace elements, lipid and carbohydrate metabolism.

## РЕЗЮМЕ

### РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ASP299GLY ГЕНА TLR 4 У ПАЦИЕНТОВ С КО-ИНФЕКЦИЕЙ ВИЧ/НСВ

**Юрко Е.В., Козько В.Н., Соломенник А.О., Бондарь А.Е., Сохань А.В., Гаврилов А.В.**

*Харьковский национальный медицинский университет, кафедра инфекционных болезней, Украина*

Проведено комплексное исследование метаболических нарушений у пациентов, ко-инфицированных ВИЧ/НСВ. Установлено значительно более высокое значение показателей минерального, липидного и углеводного обменов у пациентов, ко-инфицированных ВИЧ/НСВ в сравнении с пациентами с хроническим гепатитом С и ВИЧ-инфицированными.

У пациентов, инфицированных ВИЧ/НСВ, более часто возникает полиморфизм Asp299Gly гена TLR4 ( $\chi^2 = 4,5$ ,  $p < 0,05$ ) в сравнении со здоровыми донорами, что играет значительную роль в развитии метаболических расстройств и подтверждается следующими корреляциями: сильная прямая связь между полиморфизмом Asp299Gly гена TLR4 и содержанием инсулина ( $r = 0,66$ ,  $p < 0,001$ ), иммунными реакциями ( $r = 0,66$ ,  $p < 0,001$ ), абсолютным числом CD45+ Т-лимфоцитов ( $r = 0,45$ ,  $p < 0,001$ ); умеренная прямая связь с содержанием TNF- $\alpha$  ( $r = 0,32$ ,  $p < 0,05$ ), С-реактивного белка ( $r = 0,34$ ,  $p < 0,05$ ), абсолютным количеством CD3+ Т-лимфоцитов ( $r = 0,34$ ,  $p < 0,05$ ), содержанием триглицерида ( $r = 0,39$ ,  $p < 0,02$ ); умеренная обратная связь с содержанием цинка ( $r = -0,34$ ;  $p < 0,05$ ), относительным числом CD4 +, % ( $r = -0,32$ ;  $p < 0,05$ ).

Система мониторинга метаболических нарушений у ВИЧ/НСВ ко-инфицированных пациентов на основе определения полиморфизма Asp299Gly гена TLR4, наличие которого указывает на высокий риск метаболических нарушений ( $OR = 23,3$ ,  $p < 0,05$ ), требует дальнейшего изучения, в частности, определения индекса инсулинорезистентности, показателей уровня инсулина, TNF- $\alpha$ , С-реактивного белка, цинка и триглицеридов в динамике с интервалом в 6 месяцев, что позволит своевременно диагностировать и корректировать нарушения обмена веществ.

## რეზიუმე

TLR 4 გენის ASP299GLY პოლიმორფიზმის როლი პაციენტებში აივ/ HCV კოინფექციით

კ. იურკო, ვ. კოზკო, ა. სოლომენიკი, ო. ბონდარი, ა. სოხანი, ა. გავრილოვი

ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, ინფექციურ დაავადებათა კათედრა, უკრაინა

ჩატარებულია მეტაბოლური დარღვევების კომპლექსური კვლევა აივ/ HCV კოინფიცირებულ პაციენტებში. დადგენილია მინერალური, ლიპიდური და ნახშირ-

წვლადანი ცვლის ბევრად მაღალი მაჩვენებლები აივ/ HCV კონფირმირებულ პაციენტებში ქრონიკული C ჰეპატიტით და აივ-ინფიცირებულ პაციენტებთან შედარებით.

აივ/HCV ინფიცირებულ პაციენტებში ჯანმრთელ დონორებთან შედარებით ბევრად უფრო ხშირად ვითარდება TLR 4 გენის ASP299GLY პოლიმორფიზმი ( $\chi^2=4,5$ ,  $p<0,05$ ), რაც მნიშვნელოვან როლს ასრულებს მეტაბოლური დარღვევების განვითარებაში. ამას ადასტურებს შემდეგი კორელაციები: ძლიერი პირდაპირი კავშირი TLR 4 გენის ASP299GLY პოლიმორფიზმსა და ინსულინის შემცველობას ( $r=0,66$ ,  $p<0,001$ ), იმუნურ რეაქციებს ( $r=0,66$ ,  $p<0,001$ ), CD45+ T-ლიმფოციტების აბსოლუტურ რაოდენობას ( $r=0,45$ ,  $p<0,001$ ) შორის; ზომიერი პირდაპირი კავშირი TNF- $\alpha$ -ს შემცველობას ( $r=0,32$ ,  $p<0,05$ ), C-რეაქტიულ ცილას ( $r=0,34$ ,

$p<0,05$ ), CD3+T-ლიმფოციტების აბსოლუტურ რაოდენობას ( $r=0,34$ ,  $p<0,05$ ) და ტრიგლიცერიდების შემცველობას შორის ( $r=0,39$ ,  $p<0,02$ ); ზომიერი უკუკავშირი თუთიის შემცველობას ( $r=-0,34$ ;  $p<0,05$ ) და CD4+,% შეფარდებით რაოდენობას შორის ( $r=-0,32$ ;  $p<0,05$ ).

აივ/HCV კონფირმირებული პაციენტების მეტაბოლური დარღვევების მონიტორინგის სისტემა TLR 4 გენის ASP299GLY პოლიმორფიზმის განსაზღვრის საფუძველზე, რისი არსებობაც მეტაბოლური დარღვევების მაღალ რისკზე ( $OR=23,3$ ,  $p<0,05$ ) მიუთითებს, მოითხოვს კვლევის გაგრძელებას ამ მიმართულებით, კერძოდ, ინსულინრეზისტენტობის, ინსულინის, TNF- $\alpha$ -ს, C-რეაქტიული ცილის, თუთიისა და ტრიგლიცერიდების დონის განსაზღვრას დინამიკაში ნ-თვანი ინტერვალით, რაც უზრუნველყოფს ნივთიერებათა ცვლის დარღვევის დროულ დიაგნოსტიკასა და მის კორექციას.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА HLA-АЛЛЕЛЕЙ ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН И МИРОВОЙ БАЗЫ ДАННЫХ "ALLELE FREQUENCIES IN WORLD POPULATIONS"

<sup>1</sup>Буркитбаев Ж.К., <sup>1</sup>Абдрахманова С.А., <sup>1</sup>Имашпаев Д.М., <sup>2</sup>Утеулиев Е.С., <sup>2</sup>Мырзагулова А.О., <sup>2</sup>Сактапов А.К.

<sup>1</sup>Научно-производственный центр трансфузиологии, Астана; <sup>2</sup>Казахстанский медицинский университет, «Высшая школа общественного здравоохранения», Алматы, Казахстан

Для генов HLA-системы характерен высокий полиморфизм, который определяется существованием множества аллелей. По состоянию на декабрь 2017 г. известно о 12631 аллелях HLA класса I и 4 700 HLA аллелях класса II [5].

В Казахстане 153 аллеля HLA класса I и 78 HLA аллелей класса II [2].

Количество выявляемых специфичностей аллелей продолжает расти в разных вариантах и сочетаниях. Вместе с тем, у конкретного индивида может быть два аллеля каждого из HLA-локусов или один в случае гомозиготности (по одному на каждый из парных хромосом) [3,6,7].

Полиморфизм генов иммунного ответа, движимый микро- и макроэволюционными факторами, в конкретных условиях приводит к формированию генофонда популяции, хранящего память о войнах, миграциях и эпидемиях, пережитых народами. Комбинации аллелей, закрепившиеся в силу биологической целесообразности среди представителей тех или иных этнических групп, определяют адаптационный потенциал человека и наилучшим образом обеспечивают его биобезопасность. Сохранение разнообразия иммуногенома, необходимого для выживания человека, происходит на популяционном уровне. Установление меж- и внутривнутрипопуляционного полиморфизма генов иммунного ответа важно для биомедицинской науки, особенно многонациональных государств [5].

Согласно данным «Агентства Республики Казахстан по статистике» и итогам Национальной переписи населения 2009 г., на территории Казахстана постоянно проживают представители 125 наций и народностей. Среди них наиболее многочисленными являются 7 этносов: казахи, русские, узбеки, украинцы, уйгуры, татары и немцы [4].

Результаты HLA-исследования играют значимую роль в популяционной генетике, способствуя установлению

ареалов распространения различных HLA-антигенов в казахской популяции, а также в развитии трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в Республике Казахстан (РК) [2].

Целью исследования явилась сравнительная оценка HLA-аллелей жителей Республики Казахстан и мировой базы данных Allele frequencies in world populations.

**Материал и методы.** Обследованы 2283 потенциальных доноров ГСК Казахстана, у которых выявлено наличие 4566 антигенов по пяти локусам HLA- A, B, C, DRB1, DQB1. Типирование проводили молекулярно-генетическим методом секвенирования-Sequence Based Typing (далее - SBT) на высоком уровне разрешения. Исследования проводились на капиллярном генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500 XL. Данные о HLA-аллелях на планете получены из базы данных Allele frequencies in Worldwide populations (AFWP) [4].

Данные обработаны с использованием дескриптивных статистик (критерий  $\chi^2$ ) при уровне значимости 0,05. Критерий соответствия ( $\chi^2$ ) для оценки достоверности различия сравниваемых групп рассчитывался по формуле:

$$\chi^2 = \sum \frac{(\phi - \phi_1)^2}{\phi_1}$$

где  $\phi$  - фактические (эмпирические) данные,

$\phi_1$  - «ожидаемые» (теоретические) данные, вычисленные на основании нулевой гипотезы.

Критерий  $\chi^2$  применяется в случаях, когда требуется оценить достоверность различия не только двух, но и большего числа групп. Определяя с помощью  $\chi^2$  соответствие эмпирического распределения теоретическому, оценивают достоверность различия между выборочными совокупностями. Оценка основана на расчете разницы между фактическими и «ожидаемыми» данными. Чем

больше разность, тем больше вероятность существования различий в распределении сравниваемых выборочных совокупностей и, наоборот, чем незначительнее разность, тем меньше шансов, что сравниваемые выборочные совокупности различны между собой.

Статистическая обработка данных проводилась с исполь-

зованием пакета прикладных программ SPSS версия 19.0 на персональном компьютере Asus Intel Core i5 2,8 ГГц.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты обследования HLA аллелей 2283 потенциальных доноров ГСК и их сравнение с мировой базой данной представлены в 5 таблицах в соответствии локусам HLA- A, B,C, DRB1, DQB1.

Таблица 1. Сравнение частоты встречаемости аллелей локуса A в РК и базе данных allelefrequencies.net

| №  | Аллели локуса A | Встречаемость в РК |       | Встречаемость в базе данных allelefrequencies.net |       | $\chi^2$ | p     |
|----|-----------------|--------------------|-------|---------------------------------------------------|-------|----------|-------|
|    |                 | абс.               | %     | абс.                                              | %     |          |       |
| 1  | 01:01           | 491                | 10,75 | 3 182                                             | 7,20  | 74,61    | =0,10 |
| 2  | 29:02           | 9                  | 0,20  | 808                                               | 1,83  | 67,81    | <0,10 |
| 3  | 02:01           | 953                | 20,87 | 7 248                                             | 16,40 | 58,95    | <0,10 |
| 4  | 30:02           | 5                  | 0,11  | 591                                               | 1,34  | 52,67    | <0,10 |
| 5  | 24:07           | 2                  | 0,04  | 488                                               | 1,10  | 47,84    | <0,10 |
| 6  | 68:02           | 11                 | 0,24  | 527                                               | 1,19  | 35,20    | <0,10 |
| 7  | 02:02           | 4                  | 0,09  | 386                                               | 0,87  | 33,20    | <0,10 |
| 8  | 03:01           | 450                | 9,86  | 3 297                                             | 7,46  | 33,19    | <0,10 |
| 9  | 32:01           | 102                | 2,23  | 1 728                                             | 3,91  | 32,62    | <0,10 |
| 10 | 24:01           | 4                  | 0,09  | 0                                                 | 0,00  | 28,78    | <0,10 |
| 11 | 74:01           | 1                  | 0,02  | 268                                               | 0,61  | 26,84    | <0,10 |
| 12 | 33:03           | 162                | 3,55  | 1 086                                             | 2,46  | 19,33    | <0,10 |
| 13 | 26:02           | 1                  | 0,02  | 168                                               | 0,38  | 16,43    | <0,10 |
| 14 | 02:03           | 9                  | 0,20  | 304                                               | 0,69  | 16,40    | <0,10 |
| 15 | 11:01           | 334                | 7,31  | 3 999                                             | 9,05  | 15,54    | <0,10 |
| 16 | 34:02           | 3                  | 0,07  | 178                                               | 0,40  | 13,64    | <0,10 |
| 17 | 02:07           | 68                 | 1,49  | 413                                               | 0,93  | 12,49    | <0,10 |
| 18 | 11:02           | 4                  | 0,09  | 182                                               | 0,41  | 12,31    | <0,10 |
| 19 | 29:01           | 11                 | 0,24  | 287                                               | 0,65  | 12,04    | <0,10 |
| 20 | 68:24           | 4                  | 0,09  | 4                                                 | 0,01  | 11,15    | <0,10 |
| 21 | 24:03           | 8                  | 0,18  | 227                                               | 0,51  | 10,60    | <0,10 |
| 22 | 30:01           | 124                | 2,72  | 883                                               | 2,00  | 10,21    | <0,10 |
| 23 | 31:03           | 2                  | 0,04  | 0                                                 | 0,00  | 10,16    | <0,10 |
| 24 | 68:01           | 141                | 3,09  | 1 756                                             | 3,97  | 8,89     | <0,10 |
| 25 | 24:17           | 6                  | 0,13  | 13                                                | 0,03  | 8,59     | <0,10 |
| 26 | 25:01           | 101                | 2,21  | 728                                               | 1,65  | 7,58     | <0,10 |
| 27 | 02:17           | 4                  | 0,09  | 120                                               | 0,27  | 6,26     | <0,10 |
| 28 | 80:01           | 1                  | 0,02  | 68                                                | 0,15  | 6,07     | <0,10 |
| 29 | 24:20           | 4                  | 0,09  | 110                                               | 0,25  | 5,33     | <0,10 |
| 30 | 26:08           | 1                  | 0,02  | 59                                                | 0,13  | 5,15     | <0,10 |
| 31 | 26:01           | 209                | 4,58  | 2 362                                             | 5,34  | 5,02     | <0,10 |
| 32 | 69:01           | 6                  | 0,13  | 135                                               | 0,31  | 4,97     | <0,10 |
| 33 | 66:01           | 22                 | 0,48  | 331                                               | 0,75  | 4,48     | <0,10 |
| 34 | 02:06           | 153                | 3,35  | 1 245                                             | 2,82  | 4,06     | <0,10 |
| 35 | 23:01           | 102                | 2,23  | 1 200                                             | 2,71  | 3,87     | <0,10 |

|    |                                                   |       |       |        |        |      |       |
|----|---------------------------------------------------|-------|-------|--------|--------|------|-------|
| 36 | 24:02                                             | 661   | 14,48 | 5 933  | 13,42  | 3,85 | <0,10 |
| 37 | 03:02                                             | 26    | 0,57  | 352    | 0,80   | 3,07 | <0,10 |
| 38 | 02:10                                             | 2     | 0,04  | 52     | 0,12   | 2,76 | <0,10 |
| 39 | 32:02                                             | 2     | 0,04  | 3      | 0,01   | 2,51 | <0,10 |
| 40 | 02:05                                             | 69    | 1,51  | 549    | 1,24   | 2,19 | <0,10 |
| 41 | 02:37                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 1,95 | <0,10 |
| 42 | 02:47                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 1,95 | <0,10 |
| 43 | 02:81                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 1,95 | <0,10 |
| 44 | 03:18                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 1,95 | <0,10 |
| 45 | 03:89                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 1,95 | <0,10 |
| 46 | 11:38                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 1,95 | <0,10 |
| 47 | 24:34                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 1,95 | <0,10 |
| 48 | 24:49                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 1,95 | <0,10 |
| 49 | 28:08                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 1,95 | <0,10 |
| 50 | 68:11                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 1,95 | <0,10 |
| 51 | 02:11                                             | 9     | 0,20  | 130    | 0,29   | 1,73 | <0,10 |
| 52 | 74:03                                             | 1     | 0,02  | 21     | 0,05   | 1,30 | <0,10 |
| 53 | 30:04                                             | 13    | 0,28  | 163    | 0,37   | 1,06 | <0,10 |
| 54 | 33:01                                             | 56    | 1,23  | 607    | 1,37   | 0,78 | <0,10 |
| 55 | 11:39                                             | 1     | 0,02  | 1      | 0,00   | 0,58 | <0,10 |
| 56 | 32:13                                             | 1     | 0,02  | 1      | 0,00   | 0,58 | <0,10 |
| 57 | 02:12                                             | 2     | 0,04  | 8      | 0,02   | 0,37 | <0,10 |
| 58 | 24:26                                             | 1     | 0,02  | 10     | 0,02   | 0,30 | <0,10 |
| 59 | 31:01                                             | 193   | 4,23  | 1 940  | 4,39   | 0,30 | <0,10 |
| 60 | 31:02                                             | 1     | 0,02  | 9      | 0,02   | 0,22 | <0,10 |
| 61 | 01:03                                             | 3     | 0,07  | 27     | 0,06   | 0,04 | <0,10 |
| 62 | 02:35                                             | 2     | 0,04  | 15     | 0,03   | 0,01 | <0,10 |
| 63 | 26:20                                             | 1     | 0,02  | 4      | 0,01   | 0,00 | <0,10 |
|    | Всего                                             | 4 566 | 1     | 44 206 | 85,24  |      |       |
|    | Всего аллелей в базе данных allelefrequencies.net |       |       |        | 51 862 |      |       |

Локус А. В 36 HLA-аллелях локуса А обнаружены различия. В других HLA-аллелях локуса А существенных различий не обнаружено, что дает основание предполагать наличие идентичных аллельных вариантов (n=27) в популяции

Казахстана и мировом генофонде. В тоже время присутствуют 9 аллельных вариантов, не обнаруженных в мировом генофонде - А\*02:47, 02:81, 03:18, 03:89, 11:38, 24:34, 24:49, 28:08, 68:11 (таблица 1).

Таблица 2. Сравнение частоты встречаемости аллелей локуса В в РК и базе данных allelefrequencies.net

| № | Аллели локуса В | Встречаемость в РК |      | Встречаемость в базе данных allelefrequencies.net |      | $\chi^2$ | p      |
|---|-----------------|--------------------|------|---------------------------------------------------|------|----------|--------|
|   |                 | абс.               | %    | абс.                                              | %    |          |        |
| 1 | 13:02           | 307                | 6,72 | 776                                               | 1,74 | 475,53   | >0,001 |
| 2 | 07:02           | 327                | 7,16 | 1 965                                             | 4,40 | 70,26    | <0,10  |
| 3 | 53:01           | 7                  | 0,15 | 628                                               | 1,41 | 52,12    | <0,10  |
| 4 | 40:01           | 110                | 2,41 | 2 035                                             | 4,56 | 46,51    | <0,10  |
| 5 | 50:01           | 123                | 2,69 | 624                                               | 1,40 | 45,59    | <0,10  |
| 6 | 08:01           | 195                | 4,27 | 1 152                                             | 2,58 | 43,71    | <0,10  |
| 7 | 45:01           | 5                  | 0,11 | 481                                               | 1,08 | 40,71    | <0,10  |

|    |       |     |      |       |      |       |       |
|----|-------|-----|------|-------|------|-------|-------|
| 8  | 15:03 | 2   | 0,04 | 375   | 0,84 | 35,62 | <0,10 |
| 9  | 15:68 | 4   | 0,09 | 0     | 0,00 | 29,06 | <0,10 |
| 10 | 58:01 | 161 | 3,53 | 1 054 | 2,36 | 22,80 | <0,10 |
| 11 | 15:02 | 17  | 0,37 | 474   | 1,06 | 20,66 | <0,10 |
| 12 | 38:05 | 3   | 0,07 | 0     | 0,00 | 19,53 | <0,10 |
| 13 | 48:01 | 107 | 2,34 | 670   | 1,50 | 18,34 | <0,10 |
| 14 | 14:01 | 8   | 0,18 | 308   | 0,69 | 18,03 | <0,10 |
| 15 | 07:05 | 16  | 0,35 | 408   | 0,91 | 16,09 | <0,10 |
| 16 | 39:06 | 6   | 0,13 | 250   | 0,56 | 15,56 | <0,10 |
| 17 | 51:01 | 330 | 7,23 | 3 988 | 8,94 | 15,36 | <0,10 |
| 18 | 38:01 | 129 | 2,83 | 872   | 1,95 | 15,32 | <0,10 |
| 19 | 55:02 | 20  | 0,44 | 453   | 1,02 | 15,11 | <0,10 |
| 20 | 55:01 | 44  | 0,96 | 763   | 1,71 | 14,77 | <0,10 |
| 21 | 37:01 | 92  | 2,01 | 585   | 1,31 | 14,60 | <0,10 |
| 22 | 39:01 | 71  | 1,55 | 1 080 | 2,42 | 13,96 | <0,10 |
| 23 | 51:02 | 5   | 0,11 | 217   | 0,49 | 13,94 | <0,10 |
| 24 | 44:03 | 121 | 2,65 | 1 655 | 3,71 | 13,66 | <0,10 |
| 25 | 15:25 | 3   | 0,07 | 173   | 0,39 | 12,97 | <0,10 |
| 26 | 56:01 | 29  | 0,64 | 537   | 1,20 | 12,27 | <0,10 |
| 27 | 57:01 | 117 | 2,56 | 810   | 1,82 | 12,10 | <0,10 |
| 28 | 47:01 | 3   | 0,07 | 155   | 0,35 | 11,16 | <0,10 |
| 29 | 40:02 | 195 | 4,27 | 1 488 | 3,34 | 10,69 | <0,10 |
| 30 | 46:12 | 2   | 0,04 | 0     | 0,00 | 10,26 | <0,10 |
| 31 | 38:02 | 15  | 0,33 | 323   | 0,72 | 10,08 | <0,10 |
| 32 | 13:01 | 30  | 0,66 | 492   | 1,10 | 8,27  | <0,10 |
| 33 | 52:01 | 135 | 2,96 | 1 017 | 2,28 | 8,01  | <0,10 |
| 34 | 51:08 | 4   | 0,09 | 131   | 0,29 | 7,20  | <0,10 |
| 35 | 15:08 | 11  | 0,24 | 42    | 0,09 | 6,98  | <0,10 |
| 36 | 27:01 | 2   | 0,04 | 1     | 0,00 | 5,91  | <0,10 |
| 37 | 18:03 | 2   | 0,04 | 78    | 0,17 | 5,22  | <0,10 |
| 38 | 18:01 | 176 | 3,85 | 2 027 | 4,54 | 4,75  | <0,10 |
| 39 | 15:17 | 20  | 0,44 | 314   | 0,70 | 4,74  | <0,10 |
| 40 | 15:01 | 197 | 4,31 | 2 244 | 5,03 | 4,64  | <0,10 |
| 41 | 15:27 | 1   | 0,02 | 52    | 0,12 | 4,38  | <0,10 |
| 42 | 67:01 | 5   | 0,11 | 113   | 0,25 | 4,20  | <0,10 |
| 43 | 15:35 | 1   | 0,02 | 48    | 0,11 | 3,98  | <0,10 |
| 44 | 40:06 | 46  | 1,01 | 600   | 1,34 | 3,90  | <0,10 |
| 45 | 41:02 | 38  | 0,83 | 262   | 0,59 | 3,71  | <0,10 |
| 46 | 35:08 | 40  | 0,88 | 527   | 1,18 | 3,66  | <0,10 |
| 47 | 15:18 | 52  | 1,14 | 380   | 0,85 | 3,60  | <0,10 |
| 48 | 51:07 | 4   | 0,09 | 79    | 0,18 | 2,53  | <0,10 |
| 49 | 35:17 | 1   | 0,02 | 33    | 0,07 | 2,47  | <0,10 |

|    |       |     |      |       |      |      |       |
|----|-------|-----|------|-------|------|------|-------|
| 50 | 35:01 | 240 | 5,26 | 2 588 | 5,80 | 2,37 | <0,10 |
| 51 | 27:14 | 3   | 0,07 | 8     | 0,02 | 2,36 | <0,10 |
| 52 | 27:03 | 2   | 0,04 | 47    | 0,11 | 2,26 | <0,10 |
| 53 | 39:24 | 2   | 0,04 | 44    | 0,10 | 1,98 | <0,10 |
| 54 | 15:09 | 1   | 0,02 | 28    | 0,06 | 1,97 | <0,10 |
| 55 | 16:01 | 1   | 0,02 | 0     | 0,00 | 1,97 | <0,10 |
| 56 | 41:15 | 1   | 0,02 | 0     | 0,00 | 1,97 | <0,10 |
| 57 | 44:12 | 1   | 0,02 | 0     | 0,00 | 1,97 | <0,10 |
| 58 | 44:27 | 1   | 0,02 | 0     | 0,00 | 1,97 | <0,10 |
| 59 | 44:46 | 1   | 0,02 | 0     | 0,00 | 1,97 | <0,10 |
| 60 | 52:02 | 1   | 0,02 | 0     | 0,00 | 1,97 | <0,10 |
| 61 | 52:10 | 1   | 0,02 | 0     | 0,00 | 1,97 | <0,10 |
| 62 | 55:07 | 1   | 0,02 | 0     | 0,00 | 1,97 | <0,10 |
| 63 | 55:21 | 1   | 0,02 | 0     | 0,00 | 1,97 | <0,10 |
| 64 | 58:08 | 1   | 0,02 | 0     | 0,00 | 1,97 | <0,10 |
| 65 | 58:22 | 1   | 0,02 | 0     | 0,00 | 1,97 | <0,10 |
| 66 | 58:34 | 1   | 0,02 | 0     | 0,00 | 1,97 | <0,10 |
| 67 | 27:02 | 26  | 0,57 | 329   | 0,74 | 1,87 | <0,10 |
| 68 | 15:07 | 7   | 0,15 | 106   | 0,24 | 1,68 | <0,10 |
| 69 | 35:12 | 5   | 0,11 | 80    | 0,18 | 1,61 | <0,10 |
| 70 | 35:03 | 142 | 3,11 | 1 238 | 2,77 | 1,59 | <0,10 |
| 71 | 15:39 | 1   | 0,02 | 24    | 0,05 | 1,58 | <0,10 |
| 72 | 51:06 | 1   | 0,02 | 23    | 0,05 | 1,48 | <0,10 |
| 73 | 15:29 | 3   | 0,07 | 11    | 0,02 | 1,22 | <0,10 |
| 74 | 51:29 | 1   | 0,02 | 16    | 0,04 | 0,81 | <0,10 |
| 75 | 54:01 | 47  | 1,03 | 395   | 0,89 | 0,81 | <0,10 |
| 76 | 46:01 | 69  | 1,51 | 597   | 1,34 | 0,80 | <0,10 |
| 77 | 35:15 | 1   | 0,02 | 1     | 0,00 | 0,59 | <0,10 |
| 78 | 15:11 | 11  | 0,24 | 129   | 0,29 | 0,53 | <0,10 |
| 79 | 27:04 | 18  | 0,39 | 143   | 0,32 | 0,48 | <0,10 |
| 80 | 35:04 | 1   | 0,02 | 11    | 0,02 | 0,37 | <0,10 |
| 81 | 48:04 | 1   | 0,02 | 11    | 0,02 | 0,37 | <0,10 |
| 82 | 73:01 | 7   | 0,15 | 49    | 0,11 | 0,36 | <0,10 |
| 83 | 27:07 | 9   | 0,20 | 68    | 0,15 | 0,28 | <0,10 |
| 84 | 51:05 | 5   | 0,11 | 34    | 0,08 | 0,24 | <0,10 |
| 85 | 44:05 | 30  | 0,66 | 263   | 0,59 | 0,22 | <0,10 |
| 86 | 07:03 | 1   | 0,02 | 2     | 0,00 | 0,19 | <0,10 |
| 87 | 15:58 | 1   | 0,02 | 2     | 0,00 | 0,19 | <0,10 |
| 88 | 58:19 | 1   | 0,02 | 2     | 0,00 | 0,19 | <0,10 |
| 89 | 07:10 | 2   | 0,04 | 10    | 0,02 | 0,15 | <0,10 |
| 90 | 35:02 | 47  | 1,03 | 480   | 1,08 | 0,13 | <0,10 |
| 91 | 14:02 | 82  | 1,80 | 828   | 1,86 | 0,12 | <0,10 |

|    |                                                   |       |      |        |        |      |       |
|----|---------------------------------------------------|-------|------|--------|--------|------|-------|
| 92 | 27:05                                             | 120   | 2,63 | 1 205  | 2,70   | 0,11 | <0,10 |
| 93 | 40:03                                             | 7     | 0,15 | 55     | 0,12   | 0,11 | <0,10 |
| 94 | 49:01                                             | 95    | 2,08 | 893    | 2,00   | 0,09 | <0,10 |
| 95 | 44:02                                             | 182   | 3,99 | 1 733  | 3,88   | 0,09 | <0,10 |
| 96 | 41:01                                             | 41    | 0,90 | 401    | 0,90   | 0,01 | <0,10 |
| 97 | 07:04                                             | 3     | 0,07 | 23     | 0,05   | 0,00 | <0,10 |
|    | Всего                                             | 4 566 | 100  | 44 616 | 82,08  |      |       |
|    | Всего аллелей в базе данных allelefrequencies.net |       |      |        | 54 357 |      |       |

Локус В. В 47 HLA-аллелях локуса В обнаружены существенные различия ( $\chi^2=3,6-475,53$ ), что подтверждается отсутствием идентичности. В других HLA-аллелях локуса В существенных различий не обнаружено, что дает основание предполагать присутствие наиболее идентичных аллельных

вариантов (n=50) в популяции Казахстана и мировом генофонде. В тоже самое время присутствуют 15 аллельных вариантов, не обнаруженных в мировом генофонде - В\*15:68, 38:05, 46:12, 16:01, 41:15, 44:12, 44:27, 44:46, 52:02, 52:10, 55:07, 55:21, 58:08, 58:22, 58:34 (таблица 2).

Таблица 3. Сравнение частоты встречаемости аллелей локуса С в РК и базе данных allelefrequencies.net

| №  | Аллели локуса С | Встречаемость в РК |       | Встречаемость в базе данных allelefrequencies.net |       | $\chi^2$ | p      |
|----|-----------------|--------------------|-------|---------------------------------------------------|-------|----------|--------|
|    |                 | абс.               | %     | абс.                                              | %     |          |        |
| 1  | 06:02           | 642                | 14,06 | 3053                                              | 7,11  | 277,34   | >0,001 |
| 2  | 03:02           | 158                | 3,46  | 596                                               | 1,39  | 112,26   | >0,001 |
| 3  | 16:01           | 16                 | 0,35  | 834                                               | <0,10 | 60,39    | <0,10  |
| 4  | 14:02           | 71                 | 1,55  | 1326                                              | <0,10 | 34,48    | <0,10  |
| 5  | 03:01           | 4                  | 0,09  | 0                                                 | <0,10 | 27,95    | <0,10  |
| 6  | 02:02           | 161                | 3,53  | 2256                                              | <0,10 | 25,82    | <0,10  |
| 7  | 04:03           | 6                  | 0,13  | 319                                               | <0,10 | 23,61    | <0,10  |
| 8  | 04:01           | 459                | 10,05 | 5348                                              | <0,10 | 22,33    | <0,10  |
| 9  | 03:03           | 217                | 4,75  | 2769                                              | <0,10 | 20,39    | <0,10  |
| 10 | 12:02           | 143                | 3,13  | 918                                               | <0,10 | 18,26    | <0,10  |
| 11 | 02:01           | 2                  | 0,04  | 0                                                 | <0,10 | 9,85     | <0,10  |
| 12 | 06:01           | 2                  | 0,04  | 0                                                 | <0,10 | 9,85     | <0,10  |
| 13 | 06:76           | 2                  | 0,04  | 0                                                 | <0,10 | 9,85     | <0,10  |
| 14 | 15:01           | 2                  | 0,04  | 0                                                 | <0,10 | 9,85     | <0,10  |
| 15 | 01:02           | 288                | 6,31  | 3163                                              | <0,10 | 6,99     | <0,10  |
| 16 | 15:05           | 23                 | 0,50  | 370                                               | <0,10 | 6,88     | <0,10  |
| 17 | 08:03           | 41                 | 0,90  | 246                                               | <0,10 | 6,74     | <0,10  |
| 18 | 07:02           | 468                | 10,25 | 3912                                              | <0,10 | 6,31     | <0,10  |
| 19 | 01:03           | 13                 | 0,28  | 55                                                | <0,10 | 6,04     | <0,10  |
| 20 | 05:01           | 133                | 2,91  | 1536                                              | <0,10 | 5,55     | <0,10  |
| 21 | 14:03           | 12                 | 0,26  | 213                                               | <0,10 | 5,26     | <0,10  |
| 22 | 12:03           | 323                | 7,07  | 2704                                              | <0,10 | 4,08     | <0,10  |
| 23 | 07:01           | 357                | 7,82  | 3678                                              | <0,10 | 3,03     | <0,10  |
| 24 | 07:05           | 1                  | 0,02  | 33                                                | <0,10 | 2,59     | <0,10  |
| 25 | 15:07           | 2                  | 0,04  | 3                                                 | <0,10 | 2,39     | <0,10  |
| 26 | 03:90           | 1                  | 0,02  | 0                                                 | <0,10 | 1,88     | <0,10  |
| 27 | 06:42           | 1                  | 0,02  | 0                                                 | <0,10 | 1,88     | <0,10  |

|    |                                                   |       |      |        |        |      |       |
|----|---------------------------------------------------|-------|------|--------|--------|------|-------|
| 28 | 07:76                                             | 1     | 0,02 | 0      | <0,10  | 1,88 | <0,10 |
| 29 | 11:01                                             | 1     | 0,02 | 0      | <0,10  | 1,88 | <0,10 |
| 30 | 15:13                                             | 1     | 0,02 | 0      | <0,10  | 1,88 | <0,10 |
| 31 | 15:58                                             | 1     | 0,02 | 0      | <0,10  | 1,88 | <0,10 |
| 32 | 15:65                                             | 1     | 0,02 | 0      | <0,10  | 1,88 | <0,10 |
| 33 | 17:17                                             | 1     | 0,02 | 0      | <0,10  | 1,88 | <0,10 |
| 34 | 30:04                                             | 1     | 0,02 | 0      | <0,10  | 1,88 | <0,10 |
| 35 | 16:02                                             | 41    | 0,90 | 474    | <0,10  | 1,82 | <0,10 |
| 36 | 17:01                                             | 65    | 1,42 | 713    | <0,10  | 1,58 | <0,10 |
| 37 | 01:06                                             | 3     | 0,07 | 10     | <0,10  | 1,39 | <0,10 |
| 38 | 08:02                                             | 92    | 2,01 | 975    | <0,10  | 1,34 | <0,10 |
| 39 | 02:16                                             | 1     | 0,02 | 1      | <0,10  | 0,55 | <0,10 |
| 40 | 15:11                                             | 2     | 0,04 | 7      | <0,10  | 0,52 | <0,10 |
| 41 | 16:04                                             | 19    | 0,42 | 152    | <0,10  | 0,29 | <0,10 |
| 42 | 07:04                                             | 106   | 2,32 | 944    | <0,10  | 0,24 | <0,10 |
| 43 | 08:01                                             | 141   | 3,09 | 1374   | <0,10  | 0,20 | <0,10 |
| 44 | 15:04                                             | 9     | 0,20 | 93     | <0,10  | 0,19 | <0,10 |
| 45 | 01:05                                             | 1     | 0,02 | 2      | <0,10  | 0,17 | <0,10 |
| 46 | 01:10                                             | 1     | 0,02 | 2      | <0,10  | 0,17 | <0,10 |
| 47 | 06:11                                             | 1     | 0,02 | 2      | <0,10  | 0,17 | <0,10 |
| 48 | 03:04                                             | 333   | 7,29 | 3060   | <0,10  | 0,15 | <0,10 |
| 49 | 15:02                                             | 194   | 4,25 | 1803   | <0,10  | 0,02 | <0,10 |
| 50 | 07:27                                             | 2     | 0,04 | 14     | <0,10  | 0,00 | <0,10 |
|    | Всего                                             | 4 566 | 1    | 42 958 | 96,92  |      |       |
|    | Всего аллелей в базе данных allelefrequencies.net |       |      |        | 44 325 |      |       |

Локус C. В 22 HLA-аллелях локуса C обнаружены существенные различия ( $\chi^2=4,08-277,34$ ), что подтверждается отсутствием идентичности. В других HLA-аллелях локуса В существенных различий не обнаружено, что дает основание предполагать присутствие наиболее идентичных аллельных

вариантов (n=28) в популяции Казахстана и мировом генофонде. В то же самое время присутствуют 14 аллельных вариантов, не обнаруженных в мировом генофонде - C\*03:01, 02:01, 06:01, 06:76, 15:01, 03:90, 06:42, 07:76, 11:01, 15:13, 15:58, 15:65, 17:17, 30:04 (таблица 3).

Таблица 4. Сравнение частоты встречаемости аллелей локуса DRB1 в РК и базе данных allelefrequencies.net

| №  | Аллели локуса DRB1 | Встречаемость в РК |       | Встречаемость в базе данных allelefrequencies.net |      | $\chi^2$ | p      |
|----|--------------------|--------------------|-------|---------------------------------------------------|------|----------|--------|
|    |                    | абс.               | %     | абс.                                              | %    |          |        |
| 1  | 07:01              | 611                | 13,38 | 3578                                              | 7,85 | 165,54   | >0,001 |
| 2  | 03:01              | 435                | 9,53  | 2290                                              | 5,02 | 163,19   | >0,001 |
| 3  | 04:01              | 262                | 5,74  | 1466                                              | 3,21 | 78,74    | <0,10  |
| 4  | 16:02              | 9                  | 0,20  | 723                                               | 1,59 | 56,60    | <0,10  |
| 5  | 03:05              | 11                 | 0,24  | 8                                                 | 0,02 | 48,96    | <0,10  |
| 6  | 14:03              | 49                 | 1,07  | 165                                               | 0,36 | 47,79    | <0,10  |
| 7  | 01:01              | 329                | 7,21  | 2267                                              | 4,97 | 41,80    | <0,10  |
| 8  | 04:05              | 69                 | 1,51  | 1465                                              | 3,21 | 41,09    | <0,10  |
| 9  | 14:12              | 16                 | 0,35  | 25                                                | 0,05 | 40,87    | <0,10  |
| 10 | 12:08              | 4                  | 0,09  | 0                                                 | 0,00 | 29,72    | <0,10  |

|    |       |     |      |      |      |       |       |
|----|-------|-----|------|------|------|-------|-------|
| 11 | 04:07 | 17  | 0,37 | 570  | 1,25 | 28,40 | <0,10 |
| 12 | 11:02 | 2   | 0,04 | 283  | 0,62 | 25,47 | <0,10 |
| 13 | 12:01 | 108 | 2,37 | 1706 | 3,74 | 22,92 | <0,10 |
| 14 | 04:06 | 9   | 0,20 | 373  | 0,82 | 22,00 | <0,10 |
| 15 | 01:03 | 1   | 0,02 | 206  | 0,45 | 19,72 |       |
| 16 | 09:01 | 131 | 2,87 | 1920 | 4,21 | 19,37 | <0,10 |
| 17 | 08:04 | 7   | 0,15 | 311  | 0,68 | 19,26 | <0,10 |
| 18 | 04:03 | 82  | 1,80 | 1319 | 2,89 | 18,78 | <0,10 |
| 19 | 03:02 | 2   | 0,04 | 204  | 0,45 | 17,53 | <0,10 |
| 20 | 12:02 | 62  | 1,36 | 1018 | 2,23 | 15,48 | <0,10 |
| 21 | 15:01 | 409 | 8,96 | 3356 | 7,36 | 15,06 | <0,10 |
| 22 | 14:02 | 5   | 0,11 | 232  | 0,51 | 14,93 | <0,10 |
| 23 | 13:01 | 292 | 6,40 | 2343 | 5,14 | 12,95 | <0,10 |
| 24 | 16:01 | 89  | 1,95 | 1295 | 2,84 | 12,60 | <0,10 |
| 25 | 13:02 | 147 | 3,22 | 1942 | 4,26 | 11,48 | <0,10 |
| 26 | 11:01 | 273 | 5,98 | 3337 | 7,32 | 11,32 | <0,10 |
| 27 | 06:01 | 2   | 0,04 | 0    | 0,00 | 10,50 | <0,10 |
| 28 | 11:03 | 28  | 0,61 | 485  | 1,06 | 8,76  | <0,10 |
| 29 | 04:10 | 9   | 0,20 | 227  | 0,50 | 8,67  | <0,10 |
| 30 | 13:05 | 4   | 0,09 | 140  | 0,31 | 7,77  | <0,10 |
| 31 | 13:04 | 1   | 0,02 | 69   | 0,15 | 5,96  | <0,10 |
| 32 | 15:02 | 112 | 2,45 | 1396 | 3,06 | 5,47  | <0,10 |
| 33 | 13:12 | 2   | 0,04 | 77   | 0,17 | 4,96  | <0,10 |
| 34 | 14:07 | 13  | 0,28 | 66   | 0,14 | 4,32  | <0,10 |
| 35 | 14:01 | 131 | 2,87 | 1567 | 3,44 | 4,25  | <0,10 |
| 36 | 14:05 | 21  | 0,46 | 319  | 0,70 | 3,90  | <0,10 |
| 37 | 08:03 | 74  | 1,62 | 926  | 2,03 | 3,78  | <0,10 |
| 38 | 04:04 | 91  | 1,99 | 1099 | 2,41 | 3,29  | <0,10 |
| 39 | 01:02 | 52  | 1,14 | 658  | 1,44 | 2,97  | <0,10 |
| 40 | 11:16 | 2   | 0,04 | 3    | 0,01 | 2,64  | <0,10 |
| 41 | 04:22 | 1   | 0,02 | 0    | 0,00 | 2,02  | <0,10 |
| 42 | 05:01 | 1   | 0,02 | 0    | 0,00 | 2,02  | <0,10 |
| 43 | 06:02 | 1   | 0,02 | 0    | 0,00 | 2,02  | <0,10 |
| 44 | 09:02 | 1   | 0,02 | 0    | 0,00 | 2,02  | <0,10 |
| 45 | 13:87 | 1   | 0,02 | 0    | 0,00 | 2,02  | <0,10 |
| 46 | 14:44 | 1   | 0,02 | 0    | 0,00 | 2,02  | <0,10 |
| 47 | 08:02 | 57  | 1,25 | 670  | 1,47 | 1,57  | <0,10 |
| 48 | 11:11 | 3   | 0,07 | 54   | 0,12 | 1,53  | <0,10 |
| 49 | 11:06 | 6   | 0,13 | 33   | 0,07 | 1,18  | <0,10 |
| 50 | 08:01 | 85  | 1,86 | 938  | 2,06 | 0,89  | <0,10 |
| 51 | 13:15 | 1   | 0,02 | 17   | 0,04 | 0,87  | <0,10 |
| 52 | 11:04 | 154 | 3,37 | 1649 | 3,62 | 0,78  | <0,10 |

|    |                                                   |       |      |        |        |      |       |
|----|---------------------------------------------------|-------|------|--------|--------|------|-------|
| 53 | 01:24                                             | 1     | 0,02 | 1      | 0,00   | 0,61 | <0,10 |
| 54 | 11:20                                             | 1     | 0,02 | 1      | 0,00   | 0,61 | <0,10 |
| 55 | 13:03                                             | 65    | 1,42 | 702    | 1,54   | 0,45 | <0,10 |
| 56 | 15:06                                             | 2     | 0,04 | 24     | 0,05   | 0,35 | <0,10 |
| 57 | 04:08                                             | 19    | 0,42 | 211    | 0,46   | 0,31 | <0,10 |
| 58 | 11:18                                             | 1     | 0,02 | 2      | 0,00   | 0,21 | <0,10 |
| 59 | 11:58                                             | 1     | 0,02 | 2      | 0,00   | 0,21 | <0,10 |
| 60 | 11:84                                             | 1     | 0,02 | 2      | 0,00   | 0,21 | <0,10 |
| 61 | 14:15                                             | 1     | 0,02 | 2      | 0,00   | 0,21 | <0,10 |
| 62 | 08:10                                             | 1     | 0,02 | 9      | 0,02   | 0,20 | <0,10 |
| 63 | 14:04                                             | 28    | 0,61 | 299    | 0,66   | 0,19 | <0,10 |
| 64 | 03:82                                             | 1     | 0,02 | 8      | 0,02   | 0,14 | <0,10 |
| 65 | 09:06                                             | 1     | 0,02 | 3      | 0,01   | 0,06 | <0,10 |
| 66 | 13:50                                             | 1     | 0,02 | 3      | 0,01   | 0,06 | <0,10 |
| 67 | 16:05                                             | 2     | 0,04 | 12     | 0,03   | 0,04 | <0,10 |
| 68 | 04:02                                             | 65    | 1,42 | 653    | 1,43   | 0,01 | <0,10 |
| 69 | 10:01                                             | 89    | 1,95 | 874    | 1,92   | 0,01 | <0,10 |
| 70 | 13:07                                             | 1     | 0,02 | 5      | 0,01   | 0,00 | <0,10 |
|    | Всего                                             | 4 566 | 100  | 45 608 | 88,3   |      |       |
|    | Всего аллелей в базе данных allelefrequencies.net |       |      |        | 51 669 |      |       |

Локус *DRB1*. В 37 HLA-аллелях локуса *DRB1* обнаружены существенные различия ( $\chi^2=3,78-165,54$ ), что подтверждается отсутствием идентичности. В других HLA-аллелях локуса В существенных различий не обнаружено, что позволяет предполагать присутствие наибо-

лее идентичных аллельных вариантов ( $n=33$ ) в популяции Казахстана и мировом генофонде. Присутствуют 8 аллельных вариантов, не обнаруженных в мировом генофонде - *DRB1\*12:08*, *06:01*, *04:22*, *05:01*, *06:02*, *09:02*, *13:87*, *14:44* (таблица 4).

Таблица 5. Сравнение частоты встречаемости аллелей локуса *DQB1* в РК и базе данных allelefrequencies.net

| №  | Аллели локуса <i>DQB1</i> | Встречаемость в РК |       | Встречаемость в базе данных allelefrequencies.net |       | $\chi^2$ | p      |
|----|---------------------------|--------------------|-------|---------------------------------------------------|-------|----------|--------|
|    |                           | абс.               | %     | абс.                                              | %     |          |        |
| 1  | 02:02                     | 258                | 5,65  | 342                                               | 1,60  | 269,96   | >0,001 |
| 2  | 02:01                     | 689                | 15,09 | 2217                                              | 10,40 | 82,38    | >0,001 |
| 3  | 05:02                     | 183                | 4,01  | 1487                                              | 6,98  | 55,43    | >0,01  |
| 4  | 04:02                     | 119                | 2,61  | 1079                                              | 5,06  | 51,97    | >0,01  |
| 5  | 06:03                     | 276                | 6,04  | 793                                               | 3,72  | 50,68    | >0,01  |
| 6  | 05:04                     | 20                 | 0,44  | 13                                                | 0,06  | 39,06    | <0,10  |
| 7  | 03:82                     | 8                  | 0,18  | 0                                                 | 0,00  | 31,90    | <0,10  |
| 8  | 05:03                     | 130                | 2,85  | 991                                               | 4,65  | 29,93    | <0,10  |
| 9  | 03:02                     | 373                | 8,17  | 2242                                              | 10,52 | 23,14    | <0,10  |
| 10 | 05:05                     | 4                  | 0,09  | 0                                                 | 0,00  | 13,43    | <0,10  |
| 11 | 06:02                     | 375                | 8,21  | 1437                                              | 6,74  | 12,25    |        |
| 12 | 04:01                     | 63                 | 1,38  | 442                                               | 2,07  | 9,84     | <0,10  |
| 13 | 06:01                     | 188                | 4,12  | 1103                                              | 5,18  | 9,11     | <0,10  |
| 14 | 03:03                     | 225                | 4,93  | 1257                                              | 5,90  | 6,74     | <0,10  |

|    |                                                   |       |       |        |        |      |       |
|----|---------------------------------------------------|-------|-------|--------|--------|------|-------|
| 15 | 06:04                                             | 83    | 1,82  | 503    | 2,36   | 5,25 | <0,10 |
| 16 | 03:05                                             | 10    | 0,22  | 94     | 0,44   | 5,20 | <0,10 |
| 17 | 03:13                                             | 2     | 0,04  | 0      | 0,00   | 4,53 | <0,10 |
| 18 | 06:06                                             | 2     | 0,04  | 0      | 0,00   | 4,53 | <0,10 |
| 19 | 07:01                                             | 2     | 0,04  | 0      | 0,00   | 4,53 | <0,10 |
| 20 | 15:01                                             | 2     | 0,04  | 0      | 0,00   | 4,53 | <0,10 |
| 21 | 02:03                                             | 1     | 0,02  | 20     | 0,09   | 3,37 | <0,10 |
| 22 | 06:05                                             | 6     | 0,13  | 49     | 0,23   | 2,22 | <0,10 |
| 23 | 06:11                                             | 2     | 0,04  | 17     | 0,08   | 1,24 | <0,10 |
| 24 | 03:01                                             | 991   | 21,70 | 4748   | 22,28  | 0,76 | <0,10 |
| 25 | 02:10                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 0,72 | <0,10 |
| 26 | 06:13                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 0,72 | <0,10 |
| 27 | 06:14                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 0,72 | <0,10 |
| 28 | 08:01                                             | 1     | 0,02  | 0      | 0,00   | 0,72 | <0,10 |
| 29 | 03:04                                             | 14    | 0,31  | 49     | 0,23   | 0,62 | <0,10 |
| 30 | 05:01                                             | 478   | 10,47 | 2176   | 10,21  | 0,24 | <0,10 |
| 31 | 06:07                                             | 1     | 0,02  | 1      | 0,00   | 0,07 | <0,10 |
| 32 | 06:09                                             | 56    | 1,23  | 249    | 1,17   | 0,06 | <0,10 |
| 33 | 04:03                                             | 1     | 0,02  | 2      | 0,01   | 0,00 | <0,10 |
|    | Всего                                             | 4 566 | 100   | 21 311 | 97,6   |      |       |
|    | Всего аллелей в базе данных allelefrequencies.net |       |       |        | 21 842 |      |       |

Локус *DQB1*. В 20 HLA-аллелях локуса *DQB1* обнаружены существенные различия ( $\chi^2=4,53-269,96$ ), что подтверждается отсутствием идентичности. В других HLA-аллелях локуса В существенных различий не обнаружено, что позволяет предполагать присутствие наиболее идентичных аллельных вариантов ( $n=13$ ) в популяции Казахстана и мировом генофонде. В то же самое время присутствуют 10 аллельных вариантов, не обнаруженных в мировом генофонде - *DQB1\*03:82, 05:06, 03:13, 06:06, 07:01, 15:01, 02:10, 06:13, 06:14, 08:01* (таблица 5).

**Выводы.** В работе представлены оригинальные данные, впервые полученные казахстанскими исследователями, свидетельствующие об идентичности и различиях в иммунотипе казахстанской популяции и данных базы данных allelefrequencies.net.

Охарактеризован HLA-генетический профиль казахстанской популяции.

Представлен фактический материал о частотах распределения генов HLA -A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, который может быть использован для изучения генетического родства популяции, а также в качестве контроля в исследованиях по проблеме «HLA и болезни».

Рост темпа онкологической заболеваемости с впервые установленным диагнозом среди детей РК (в 2000 г. - 67,5, в 2010 г. - 158,2 на 100 тыс. детского населения) и вероятность развития лейкозов у 40-45% среди всех злокачественных образований детского возраста, что диктует необходимость развития собственного регистра доноров ГСК.

Для успешного нахождения совместимого донора гемопоэтических стволовых клеток для пациентов с часто встречающимися генами в РК необходимо расширять регистр доноров ГСК для увеличения числа потенциальных доноров.

Для подбора совместимого донора для пациентов с редкими HLA-генами необходимо сотрудничать в этом плане с регистрами зарубежных стран, в которых частота встречаемости данных редких генов более высокая, чем в РК.

Результаты HLA-исследования выполняют значимую роль в популяционной генетике, способствуя установлению ареалов распространения различных HLA-антигенов в казахской популяции и развитию трансплантации ГСК в Казахстане.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Буркитбаев Ж.К., Раисов С.Д., Развитие регистра доноров гемопоэтических стволовых клеток в республике Казахстан с позиций онкологической заболеваемости детей и подростков. Врач-аспирант, 2012, №1(56) С. 4-82.
2. Буркитбаев Ж.К., Раисов С.Д., Турганбекова А.А., Рамилева И.Р., Якияева Д.У., Баймукашева Д.К., Абдрахманова С.А., Жибурт Е.Б., Сравнение HLA-аллелей в Республике Казахстан и в мировом генофонде. / Гематология и трансфузиология 2015год, 3 номер С.- 52-56.
3. Зарецкая Ю.М., Леднев Ю.А. HLA 50 лет: 1958--2008. Тверь: Триада; 2008: 37-8.
4. «На территории Республики Казахстан проживает 125 наций и народностей» [www.zakon.kz/4551581-na-territorii-kazakhstan-postojanno.html](http://www.zakon.kz/4551581-na-territorii-kazakhstan-postojanno.html)
5. Хаитов Р.М., Алексеев Л.П., Кофиади И.А. «Роль иммуногенетики в решении фундаментальных и прикладных задач персонализированной медицины» Журнал Медицина экстремальных ситуаций, рубрика: медицинские науки №3 2016 г., С. 9 - 24.
6. Human leukocyte antigens Nomenclature

7. Sveigaard A., Jersild C., Nielsen L., Bodmer W.F. HLA-antigens and disease. Statistical and genetical consideration. Tissue Antigens. 1974; 4: 95-105.

8. Sveigaard A., Platz P., Ryder L., Nielsen L.S., Thomsen M. HLA and disease association - a survey. Transplant. Rev. 1975; 22: 3-43.

## SUMMARY

### HLA ALLELES IN KAZAKHSTAN AND IN THE GLOBAL GENOFUND

<sup>1</sup>Burkitbaev Zh., <sup>1</sup>Abdrakhmanova S., <sup>1</sup>Imashpayev D., <sup>2</sup>Uteuliyev Y., <sup>2</sup>Myrzagulova A., <sup>2</sup>Saktapov A.

<sup>1</sup>Scientific and production center for transfusiology, Astana;

<sup>2</sup>Kazakhstan's medical university «KSPH», Almaty, Kazakhstan

The HLA alleles in the Kazakhstan genofund and in the global genofund were compared. The study was carried out on 2283 Kazakhstan donors, 4 566 antigens by five locuses A, B, C, DRB1, DQB1. Comparison with the global HLA alleles was carried out using <http://www.allele-frequencies.net> open internet resource created by the Royal Liverpool University Hospital. The database included information on 8 locuses (A, B, C, DRB1, DPA1, DPB1, DQA1, DQB1), collected in different programs for HLA genofund studies (anthropological research, blood and bone marrow donorship, HLA-associated diseases, etc.). The results demonstrated the need in further development of the hemopoietic stem cell (HSC) donor register in the Republic for more effective search for compatible donors.

**Keywords:** emopoietic stem cells; HLA study.

## РЕЗЮМЕ

### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА HLA-АЛЛЕЛЕЙ ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН И ДАННЫХ МИРОВОЙ БАЗЫ "ALLELE FREQUENCIES IN WORLD POPULATIONS"

<sup>1</sup>Буркитбаев Ж.К., <sup>1</sup>Абдрахманова С.А., <sup>1</sup>Имашпаев Д.М., <sup>2</sup>Утеулиев Е.С., <sup>2</sup>Мырзагулова А.О., <sup>2</sup>Сактапов А.К.

<sup>1</sup>Научно-производственный центр трансфузиологии, Астана;

<sup>2</sup>Казахстанский медицинский университет, «Высшая школа общественного здравоохранения», Алматы, Казахстан

Цель исследования - сравнить HLA-аллели генофонда Казахстана с HLA-аллелями в мировом генофонде. Изучены данные 2 283 доноров Казахстана, у которых выявлено наличие 4 566 антигенов по пяти локусам A, B, C, DRB1,

DQB1. Для сравнения с HLA-аллелями в мировом генофонде авторы воспользовались базой данных интернет-ресурса <http://www.allele-frequencies.net>. Данный сайт разработан Royal Liverpool University Hospital для возможности изучения HLA-локусов для всех желающих. В базе содержится информация по 8 локусам (A, B, C, DRB1, DPA1, DPB1, DQA1, DQB1), собранных в различных программах по изучению HLA-генофонда (антропологические исследования, донорство крови и костного мозга, заболевания, ассоциированные с HLA). Установлено, что с целью большей вероятности нахождения совместимого донора для пациентов с часто встречающимися генами в нашей стране необходимо дальнейшее расширение регистра доноров гемопоэтических стволовых клеток, увеличивая число потенциальных доноров.

## რეზიუმე

ყაზახეთის რესპუბლიკის და მსოფლიო მონაცემთა ბაზის "ALLELE FREQUENCIES IN WORLD POPULATIONS" HLA-ალელების შედარებითი ანალიზი

<sup>1</sup>ე. ბურკიტბაევი, <sup>1</sup>ს. აბდურახმანოვა, <sup>1</sup>დ. იმашპაევი,

<sup>2</sup>ე. უტეულიევი, <sup>2</sup>ა. მირზაგულოვა, <sup>2</sup>ა. საკტაპოვი

<sup>1</sup>ტრანსფუზიოლოგიის სამეცნიერო-საწარმოო ცენტრი, ასტანა, ყაზახეთი; <sup>2</sup>ყაზახეთის სამედიცინო უნივერსიტეტი "საზოგადოებრივი ჯანდაცვის უმაღლესი სკოლა", ალმატი, ყაზახეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ყაზახეთის გენოფონდის HLA-ალელების შედარება მსოფლიოს გენოფონდთან. შესწავლილია 2283 დონორის მონაცემები ყაზახეთში, რომელთაც 4566 ანტიგენის არსებობა გამოუვლინდა ხუთ ლოკუსში - A, B, C, DRB1, DQB1. მსოფლიოს გენოფონდის HLA-ალელებთან შედარებისათვის გამოყენებულია ინტერნეტ-რესურსის <http://www.allele-frequencies.net> მონაცემთა ბაზა. აღნიშნული საიტი შემუშავებულია Royal Liverpool University Hospital-ში ყველა მსურველის მიერ HLA-ლოკუსების შესწავლისათვის. ბაზაში მოიპოვება ინფორმაცია 8 ლოკუსის (A, B, C, DRB1, DPA1, DPB1, DQA1, DQB1) შესახებ, რომელიც შეგროვილია HLA-გენოფონდის შესწავლის სხვადასხვა პროგრამით (ანთროპოლოგიური კვლევა, სისხლის და ძვლის ტვინის დონორობა, HLA-სთან ასოცირებული დაავადებები). დადგენილია, რომ ქვეყანაში ფართოდ გავრცელებული გენების მქონე პაციენტებისათვის თავსებადი დონორის მოძებნის მეტი ალბათობისათვის აუცილებელია ჰემოპოეზური ღეროვანი უჯრედების დონორთა რეგისტრის შემდგომი გაფართოება და პოტენციურ დონორთა რაოდენობის გაზრდა.

## NICORANDIL EFFICACY IN THE TREATMENT OF ISCHEMIC HEART DISEASE (REVIEW)

Gvishiani M., Gabunia L., Makharadze T., Gongadze N.

*Tbilisi State Medical University, Department of Medical Pharmacology and Department of Therapy, Georgia*

Diseases of the cardiovascular system are one of the most important problem in the leading countries of the world, as well as in Georgia, being the most common cause of lethal outcome and the mortality caused by other illness [4,28]. Today, almost 5 000 000 of Americans have a coronary artery disease (CAD) with 50% of cases of infarction and about 45% of incidences occur in population up to the age of 65 and 5% up to the age of 40 respectively [4, 5]. Angina pectoris is the most common among cardiovascular diseases, the frequency of which is almost identical between men and women. It is more frequently developed in middle-aged women than in men, probably, more likely to be associated with higher incidence of functional disorders during the coronary artery disease, such as microvascular angina pectoris, whereas in old patients it is more prevalent in men than in women. The treatment strategy of patients with ischemic heart disease has two directions: 1) elimination of the cause of the disease and 2) immediate elimination of symptoms of angina pectoris. This kind of disease management reduces the need for use of medications and possibility of the development of myocardial infarction. In order to alleviate complications and to improve prognosis, the following substances are used: beta adrenoceptors blocking drugs,  $Ca^{++}$ -antagonists, nitrates, antiplatelets (aspirin), hypolipidemic drugs (statins), angiotensin-converting enzyme inhibitors or angiotensin receptor blockers. However, the use of this drugs is often limited because of troublesome adverse effects including cough, bronchospasm, oedema, flushing, headache etc. Different recommendations mentioned Nicorandil as an alternative drug for monotherapy of ischemic heart disease, when beta blockers proved inefficient [1,3]. A number of evidence suggest the relationship between ATP-sensitive  $K^+$  channels and cardiac preconditioning, a phenomenon of transient ischemia that facilitates the heart to become more resistant to future ischemic damages [6,7]. In experimental studies Nicorandil have revealed cardioprotective properties through preconditioning associated with selectively activated mitochondrial ATP-sensitive  $K^+$  channels [9]. As it was shown by using models of ischemic injury, Nicorandil retains contractile function and may reduce infarct size, respectively [14,16]. The underlying mechanisms related to beneficial effect of activation of ATP sensitive  $K^+$  channels provide by Nicorandil based on its ability to preserve of mitochondrial integrity, energy charge and function, and preventing myocardial cells from apoptosis [13-15]. In recent investigations it was also shown that preconditioning may contribute to cardiac angiogenesis [31], initiating molecular events that result in increased vascular endothelial growth factor [VEGF], a proangiogenic factor and B-cell lymphoma (Bcl)-2, being an anti-apoptotic factors [19,31]. However, the relationship between ATP-sensitive  $K^+$  channels activators and increased VEGF expression has not been established [20]. At the same time a group of authors [18] have showed that well-established proangiogenic factors such as basic fibroblast growth factor (BFGF) and VEGF could be up-regulated and associated with Nicorandil mediated vascular growth and vascularization [16, 30]. These findings regarding angiogenesis suggest about nonsurgical possibilities of increase collateral coronary blood flow in persons with high risk of development of CAD [16]. Aside from these results it was demonstrated that Nicorandil in subantihypertensive doses prevents pathological alterations related to remodeling of the heart in hypertensive salt-sensitive rats, suggesting its cardioprotective action and potential benefit in patients with heart failure resulting from increasing vascular growth [8,10,18].

The general principles of treatment of patients with ischemic heart disease have substantially changed since the IONA (impact of nicorandil in angina) STUDY GROUP. In this investigation [2] related to the reliability of Nicorandil's effect in cases of hospitalization due to cardiovascular issues, non-fatal myocardial infarction and angina pectoris has been assessed. In IONA's studies, there was a substantial decrease in the frequency of cardiovascular complications among patients with stable angina who have been treated with Nicorandil in addition to standard therapy. These results have been achieved at the expense of decreasing the frequency of hospitalization, whereas decrease in cases of non-fatal myocardial infarction and mortality risk was inconsistent [2]. Clinical and experimental studies established the reduction of mortality rate in acute myocardial infarction as a result of oral administration of Nicorandil, which is an activator of ATP-sensitive potassium  $K^+$ -ATP channels [15,17,28]. Nicorandil nicotinamide, whose molecules has a nitrate terminal. Its main characteristic feature is vitamin PP fragment that is responsible for the opening and activation of ATP-  $K^+$  channels [20,21,30], which represent the energy system of cardiomyocytes. By protecting this system, Nicorandil facilitates cardiomyocytes storage by causing short repetitive attacks, increasing the resistance to long-term attacks, which in turn leads to metabolic adaptation of myocardium preparing the heart for ischemia. Additionally Nicorandil by its nitrate moiety increases intracellular concentration of cyclic guanosine monophosphate (cGMP), causing coronary arteries and peripheral veins dilation [11,12,28,31]. The ability of Nicorandil to cause arteries and veins dilation leads to its beneficial effects resulting in reduction of preload and afterload on the hearts [8,31]. According to IONA's research [2], the advantage of Nicorandil compared to nitrates is the following:

- Improves prognosis/prediction of non-fatal myocardial infarction and reduces the number of unscheduled hospitalizations caused by heart attacks;
- Does not cause development of tolerance;
- Is characterized by cardioprotective action (prepares the heart for long-term ischemia);
- Enhances patients viability;
- Increases tolerance for physical activity, with lasting results obtained;
- Improves the brain's blood supply.

At the same time a several developed countries positively assessed the use of Nicorandil for the treatment of acute heart failure, including acute decompensation of chronic heart failure. In one of the studies effect of Nicorandil assessed in patients with stable angina pectoris during elective angioplasty. For research purposes, triple-blind, multicenter, randomized clinical trial was performed in patients with stable angina pectoris [1]. This study was performed on 90 patients (55 males and 35 females) with a mean age of  $58,6 \pm 10,8$  years, on two groups of 45 patients. They were matched for age, body mass index, cardiovascular risk factors and baseline testing". It was concluded that Nicorandil leads to the relaxation of vascular smooth muscle and causes vasodilation of major epicardial vessels. Furthermore, the study clearly states that Nicorandil has antiarrhythmic and cardioprotective effects, which is caused by improvement of reperfusion, ultimately leading to a reduction in microvascular damage caused

by percutaneous coronary intervention (PCI). It is noteworthy that earlier studies, such as the IONA Study Group regarding the impact of Nicorandil in angina during randomized trial showed similar effects of drug in patients with stable angina.

The other study [3] involved 5126 patients, who were randomly assigned 20 mg Nicorandil twice a day (n=2565) or identical placebo (n=2561). In addition to standard antianginal therapy the primary research endpoint was death induced by coronary heart disease, non-fatal myocardial infarction, or unplanned hospital admission for cardiac chest pain. The secondary endpoint was associated to combined outcome of coronary heart disease death or nonfatal myocardial infarction. It has been showed a significant improvement in the outcome as a result of the reduction in major coronary events by antianginal therapy with Nicorandil in patients with stable angina [2,3]. Among Nicorandil beneficial effects, its positive properties on the left ventricular ejection fraction and the ultimate index of diastolic volume in patients with acute myocardial infarction after coronary reperfusion are noteworthy. The conclusion was made as a result of randomized surveys for 905 patients. Out of this group, 463 participants were in the Nicorandil group and 442 patients in the control group. Based on the results of the study, it was concluded that the functional recovery of the left ventricle was 37% [2, 3]. Another recent study indicates positive effects of Nicorandil during transcatheter coronary intervention. In this investigation clinical effect of Nicorandil on perioperative myocardial protection in patients undergoing elective PCI was analysed. This meta-analysis was a complication of all the previous major research findings, which in its own light, attempts to standardize those findings and classify the data (6). As a result 1616 patients were listed into this meta-analysis. Among them 804 patients in the Nicorandil group and 812 patients in the control group. Although they were guided by different methods during these surveys, the authors made the standardization and reconciliation of the results and methods. Meta-analysis showed that:

1. Nicorandil can significantly reduce the level of creatine kinase in patients after PCI;
2. Nicorandil can significantly reduce the level of troponine in patients after PCI;
3. Nicorandil may reduce the frequency of side effects of PCI [6].

Another research evaluated the efficacy of Nicorandil on the quality of life of patients with stable ischemic disease. The study employed double-blind placebo-controlled, parallel group of patients and additionally evaluated the quality of life via questionnaires. Patients with verified ischemic heart disease (IHD) (stable angina; n=120) were included. All patients in the study received metoprolol tartrate (100 mg daily), however, Nicorandil was added (10 mg BID), and then after 2 weeks 20 mg (BID) to the treatment of the patients of the main group. The study duration was 6 weeks and the quality of life was assessed by the Seattle questionnaire (SAQ) and visual analogue scale (VAS), both at baseline and at the end of the study [3, 25]. The obtained results showed that the researchers found a significant decrease in the number of angina attacks in the Nicorandil group as compared to baseline and to the placebo group. The positive dynamics of quality of life and functionality of patients with IHD was observed in the Nicorandil group at the end of the study. Compared to baseline, there was significant improvement in all SAQ scales. Positive dynamics in the control group was found only in three scales (limitation of physical activity, frequency of angina attacks and patient attitude to the disease). Additionally, at the end of the study, VAS data revealed a significant increase in the integral index in patients of the main group that was significantly higher than this in control group.

The dose-response vascular relaxation producing with Nicorandil differs from other vasodilators. In clinical trials conducted in patients with CAD Nicorandil enhanced coronary blood flow and oxygen delivery to the ischemic myocardium, decreasing myocardial oxygen consumption associated with reduced preload and afterload. Such effects producing by Nicorandil is not accompanied with marked decreases in blood pressure [8,30]. Comparative studies in patients with stable angina pectoris have showed that Nicorandil has revealed the equipotent effect to beta-blockers, nitrates and some  $Ca^{2+}$  channels antagonists [22,25-27] reducing anginal symptoms. In other multicenter randomized investigations patients aged 18-80 years with the symptoms of stable angina pectoris have been involved to compare antiischemic effects of Nicorandil with  $Ca^{2+}$  channels inhibitor drug – amlodipine with the quality of life assessment. It was established that need in nitroglycerin usage was decreased in both group of patients receiving Nicorandil and amlodipine respectively, associated with improved in quality of life [24,29]. Amlodipine and Nicorandil have showed an equal therapeutic efficacy. Amlodipine in this trial produces adverse effects including hemodynamic changes and oedema, while Nicorandil more frequently caused headache which dissipated with long-term treatment [29]. Additionally it was postulated the better tolerability of Nicorandil to exercise especially in long-duration therapy based on its ability to produce less alterations in hemodynamic indices [24].

Based on abovementioned it may be suggested that:

1. Nicorandil is an antiischemic agent as ATP-sensitive potassium channel opener playing an important role in the dilation of arteries, veins and coronary artery.
2. Nicorandil has antiarrhythmic and cardioprotective effects by improving reperfusion, ultimately leading to a reduction in microvascular damage caused by PCI.
3. Furthermore, Nicorandil addition to the standard therapy of patients with IHD (stable angina) demonstrated improvement in the quality of life.

Therefore, on the basis of statistical data and significant modern research results, it is concluded that Nicorandil is effective antiischemic agent that can be used as one of the basic and efficient drug in mono and combined therapy of ischemic heart disease.

## REFERENCES

1. Falsuleimani H. et al. Effect of nicorandil on QT dispersion in patients with stable angina pectoris undergoing elective angioplasty: A triple-blind, randomized, placebo-controlled study // *Electron Physician*. 2017, 9(8): 4934-4941.
2. Effect of nicorandil on coronary events in patients with stable angina: the Impact Of Nicorandil in Angin (IONA) randomized trial. IONA Study Group // *Lancet* 2002; 359(9314):1269–1275.
3. Martsevich S.Y., Kutishenko N.P., Deev A.D. The Assessment of Nicorandil effect on the quality of life in patients with stable angina in the “Kvazar Study” // *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*, 2016, 12(6):654-660.
4. Montalescot G. et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease // *European Heart Journal*. 2013, dok 10. 1093/296.
5. Sakata Y. et al. Oral Treatment with Nicorandil at Discharge is Associated with Reduced Mortality after Acute Myocardial Infarction // *Journal of Cardiology*. 2012, 59(1): pp. 14-21.
6. Ye Z. et al. The clinical effect of nicorandil on perioperative myocardial protection in patients undergoing elective PCI: A systematic Review and Meta-Analysis // *Scientific Reports*, 2017, Volume 7, 45117.
7. Matsuo H, Watanabe S, Segawa T. et al. Evidence of pharmacological preconditioning during PTCA by intravenous pre-

treatment with ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel opener nicorandil // Eur. Heart J. 2003; 24:1296-1303.

8. Izawa H, Iwase M, Takeichi Y. et al. Effect of nicorandil on left ventricular end-diastolic pressure during exercise in patients with hypertrophic cardiomyopathy // Eur Heart J. 2003; 24: 1340-1348.

9. Matsuba T, Matsuo H. Three minutes, but not one minutes ischemia and nicorandil have a preconditioning effect in patients with coronary artery disease // J Am Coll. Cardiol. 2000; 35: 345-351.

10. Takeichi Y, Yokota M, Iwase M. et al. Biphasic changes in left ventricular end-diastolic pressure during dynamic exercise in patients with nonobstructive hypertrophic cardiomyopathy // J. Am Coll. Cardiol. 2001; 38: 335-343.

11. De Bruyne B, Hersbach F, Pijls N. et al. Abnormal epicardial coronary resistance in patients with diffuse atherosclerosis but "normal" coronary angiography. Circulation 2001; 104: 2401-2406.

12. Murry CE, Richard V.J., Jennings RB. Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. Circ. Res. 1990; 66: 913-931.

13. Sato T, Sasaki N, O'Rourke B, Marban E. Adenosine primes the opening of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels: a key step in ischemic preconditioning? Circulation. 2000; 102: 800-705.

14. Gross GJ, Auchampach JA, Maruyama M, Warlters DC, Pieper GM. Cardioprotective effects of nicorandil. J. Cardiovasc. Pharmacol. 1992; 20 (suppl 3):S22-S28.

15. Garlid KD, Dos Santos P, Xie ZJ, Costa AD, Paucek P. Mitochondrial potassium transport: the role of the mitochondrial ATP-sensitive K(+) channels in cardiac function and cardioprotection. Biochem. Biophys. Acta. 2003; 1606:1-21.

16. Fukuda S, Kaga S, Sasaki H, Zhan L, Zhu L, Otani H, Kalfin R, Das DK, Maulik N. Angiogenic signal triggered by ischemic stress induces myocardial repair in rat during chronic infarction. J. Mol Cell Cardiol. 2004; 36: 547-559.

17. Tang X. L., Zuan YT, Xhu Y, Shirk G, Bolli R. Nicorandil induces late preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits. Am. J. physiol Heart Circ. Physiol. 2004; 286: 1273-1280.

18. Xu J, Nagata K, Obata K, Izawa H, Noda A, Nagasaki T, Iwase M, Noe T, Murohara T, Yokota M. Nicorandil promotes myocardial capillary and arteriolar growth in the heart of Dahl salt-sensitive hypertensive rats. Hypertension. 2005; 46: 719-724.

19. Baffor R, Berman J, Garb JL, Rhee SW, Kaufman J, Friedmann P. Enhanced angiogenesis and growth of collaterals by in vivo administration of recombinant basic fibroblast growth factor in a rabbit model of acute lower limb ischemia: dose-response effect of basic fibroblast growth factor. J. Vasc. Med. 1992; 16: 181-191.

20. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. Nature. 1997; 386:671-674.

21. Sakai K, Nakano H, Nagano H, Uchida Y. Nicorandil. New Drug Annual: Cardiovascular Drugs. New York 1983:223-42.

22. Ulvestam G, Diderholm E, Frithz G, Guidbrandsson T, Hedback B, Huglund C, Moelstad P, Perk J, Sverrisson JT. Anti-anginal and anti-ischemic efficacy of nicorandil compared to nifedipine in patients with angina pectoris and coronary heart disease: a double-blind randomized multicenter study. J. Cardiovasc. Pharmacol. 1992; 20(Suppl 3): S67-S73.

23. Doring G. Antianginal and antiischemic efficacy of nicorandil in comparison with isosorbide-5-mononitrate and isosorbide dinitrate: results from two multicentric double-blind randomized studies with stable coronary heart disease patients. J. Cardiovasc. Pharmacol. 1992; 20 (Supp): S74-S81.

24. Guermontprez JL, Blin P, Peterlongo F. A double-blind comparison of the long-term efficacy of a potassium channel opener and a calcium antagonists in stable angina pectoris. Eur Heart J. 1993; 14(Suppl B): 30-4.

25. Di Somma S, Liquori V, Verdecchia P, Parcellati P, Bertocchi F, Bokor D, DeVitiis O. A double-blind comparison of nicorandil and metoprolol in patients with effort stable angina [abstract] Eur Heart J; 1990; 11 (Suppl); 80.

26. Hughes LO, Rose EL, Lahiri A. Rafiery EB. Comparison of nicorandil and atenolol in stable angina pectoris. Am J. Cardiol. 1990; 66:679-82.

27. Meeter K, Kelder IC, Tijssen JGP, Bux JJJ, Henneman JA, Kerker JP, Hugenoltz PG. Efficacy of nicorandil versus propranolol in mild stable angina pectoris of effort. A long-term double-blind randomized study. J. Cardiovasc. Pharmacol. 1992; 20: 59-66.

28. Krumenacker M. Roland E. Nicorandil clinical profile. An overview of its haemodynamic properties and therapeutic efficacy. J. Cardiovasc. Pharmacol. 1992; 20 (Suppl 3); S93-S102.

29. Haria M, Wapstaff AJ, Amlodipine: a reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic use in cardiovascular disease. Drugs 1995; 50: 560-86.

30. Witchitz S, Nicorandil safety in the long-term treatment of coronary heart disease. Cardiovasc. Drugs. Ther 1995; 9: 237-44.

31. Frampton J., Buckley m.M., Fitton A. Nicorandil. A review of its pharmacology and therapeutic efficacy in angina pectoris Drugs. 1992; 44(4): 625-55.

## SUMMARY

### NICORANDIL EFFICACY IN THE TREATMENT OF ISCHEMIC HEART DISEASE (REVIEW)

Gvishiani M., Gabunia L., Makharadze T., Gongadze N.

*Tbilisi State Medical University, Department of Medical Pharmacology, Department of Therapy, Georgia*

Nicorandil is an antianginal agent with a dual mechanism of action. It belongs to ATP-sensitive potassium channel openers which has the beneficial effect in angina pectoris, playing a significant role in the dilation of arteries, veins and coronary artery. It leads to the relaxation of vascular smooth muscle and causes vasodilatation of major epicardial vessels. This effect is crucial for reducing risks of further damage in cases when percutaneous coronary intervention (PCI) is necessary.

Relevant new studies concluded that Nicorandil has antiarrhythmic and cardioprotective effects by improving reperfusion, ultimately leading to a reduction in microvascular damage caused by PCI. Furthermore, Nicorandil addition to the standard therapy of patients with ischemic heart disease has demonstrated improved quality of life.

**Keywords:** Nicorandil, ischemic disease, angina pectoris, myocardial infarction, ATP-sensitive potassium channels, creatine kinase, troponine.

## РЕЗЮМЕ

### ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НИКОРАНДИЛА В ЛЕЧЕНИИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА (ОБЗОР)

Гвишиани М.Г., Габуния Л.И., Махарадзе Т.Г., Гонгадзе Н.В.

*Тбилисский государственный медицинский университет, департамент медицинской фармакологии и терапии, Грузия*

Никорандил - антиишемическое средство с двойным механизмом действия, относится к активаторам АТФ-чувствительных калиевых каналов, расширяет артерии,

вены и коронарные артерии и обладает положительным действием при ишемической болезни сердца, приводит к расслаблению гладких мышц сосудов и вызывает расширение крупных эпикардиальных сосудов. Этот эффект имеет решающее значение для снижения риска дальнейшего повреждения в случаях, когда требуется чрезкожное коронарное вмешательство (ЧКВ). Современные исследования выя-

вили, что никорандил проявляет антиаритмический эффект, не вызывая развития толерантности и обладает кардиопротективным действием, улучшая реперфузию, что, в конечном итоге, приводит к уменьшению микрососудистого повреждения, вызванного ЧКВ. Кроме того, добавление никорандила к стандартной терапии пациентов с ишемической болезнью сердца обеспечивает улучшение качества их жизни.

რეზიუმე

ნიკორანდილის ეფექტურობა გულის იშემიური დაავადების მკურნალობაში (მიმოხილვა)

მ. გვიშინი, ლ. გაბუნია, თ. მახარაძე, ნ. გონგაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, სამედიცინო ფარმაკოლოგიის  
და თერაპიის დეპარტამენტები, საქართველო

ნიკორანდილი წარმოადგენს ანტიიშემიურ საშუალებას ორმაგი მოქმედების მექანიზმით. იგი კალიუმის არხის აქტივატორია, რომელსაც არტერიების, ვენების და კორონარული სისხლძარღვების გაფართოების გზით ახსიათებს დადებითი მოქმედება სტენოკარდიის დროს. ამასთან ერთად, იგი სისხლძარღვების გლუვი კუნთების მოდუნებით იწვევს მსხვილი ეპიკარდიული სისხლძარღვების გაფართოებას. როგორც ბოლო კვლევებმა აჩვენა, ნიკორანდილს

გააჩნია ანტიარითმიული ეფექტი მის მიმართ ტოლერანტობის განვითარების გარეშე და, ამასთანავე გააჩნია კარდიოპროტექტული მოქმედება. იგი აუმჯობესებს რეპერფუზიას, რომელიც ამცირებს წვრილი სისხლძარღვების დაზიანების რისკს. ასევე დადგენილია, რომ სტაბილური იშემიური დაავადების მქონე პაციენტებში სტანდარტული (საბაზისო) მკურნალობის ფონზე ნიკორანდილის დამატება უზრუნველყოფს მათი სიცოცხლის ხარისხის გაუმჯობესებას.

## IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS OF THE INDUCIBLE AND ENDOTHELIAL FRACTIONS OF NO-SYNTASE IN THE INTENSTINAL MUCOSA OF COLO-COLONIC ANASTOMOSIS UNDER INFLUENCE OF CHRONIC STRESS AND THIOTRIAZOLINE APPLICATION

<sup>1</sup>Dusyk A., <sup>1</sup>Vernygorodskiy S., <sup>1</sup>Golubovsky I., <sup>1</sup>Hryhorenko A., <sup>2</sup>Slobodian O.

<sup>1</sup>National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya; <sup>2</sup>Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

The long-term exposure to stress causes the depletion of the functional reserves of an organism, which is a reason for occurrence of secondary pathologies, which adversely affect the structure and function of internal organs. At this, the L-arginine / NO – synthase / nitrogen oxide (NO) system plays a pivotal role a in the development of metabolic disorders, which are closely related [1,2]. Under physiological conditions, the constitutive NO-synthase isoforms (sNOS) – neuronal (nNOS) and endothelial (eNOS) are expressed in the large bowel; they produce a small amount of nitrogen oxide, participating in the maintenance of the appropriate blood flow level, the processes of transportation of water and electrolytes, the bactericidal effect in relation to microorganisms (in case of their penetration into the mucous membrane), the processes of intercellular communication and the processes of neurotransmission in enteral neurons, the regulation of motility [3]. At the same time, the expression of inducible NO - synthase (iNOS) is insignificant [4]. Also, NO is one of the most important biological mediators that participates in many physiological and pathophysiological processes, regulates vascular hemostasis, maintains active vasodilation and controls the blood pressure [5,6]. The dependence of indicators of NO metabolism on the activity of the inflammatory process, the degree of damage to the mucous membrane, points to its important role in the pathogenesis of digestive system diseases [7,8]. The rapid increase of iNOS expression has been noted under the influence of stress factors, consequently leading to an increase of NO production [9]. Comparing early changes in the activity of various proinflammatory enzymes (iNOS, myeloperoxidase, COX-2), it has been shown that the

growth of iNOS activity and expression can serve as the most sensitive marker, which reflects the initiation of biochemical changes, leading to the development of destructive lesions [10]. It has been established that the positive effect is observed under stress conditions, when thiol-containing antioxidants–thiotriazoline are used. Thiol antioxidants can increase the bioavailability of nitrogen oxide by binding its cytotoxic derivatives and normalize the index of the thiol-disulfide system related to NO. This allows thiol antioxidants to be a promising means of secondary gastroprotection [11]. The objective of the paper is to study immunohistochemical changes in the large bowel after its resection, exposure to stress and correction by thiapriazoline.

**Material and methods.** The experiment was performed on 86 white laboratory sexually mature nonlinear male rats with the weight of 200-250 g at the premises of the scientific and experimental clinic National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya. The animals were divided into 6 groups. In the first group of animals, the large bowel was resected in a standard way, in the second group of animals chronic stress was modeled after resection. In the third group, the animals underwent the large bowel resection according to the standard method and a 2.5% solution of thiotriazoline (Arterium, Ukraine) was injected intraoperatively subserously into the zone of anastomosis at a dose of 100 mg/kg of the animal's weight. In the fourth group, the large bowel resection was performed, and a 2.5% solution of thiotriazoline was injected intraperitoneally at a dose of 100 mg/kg of animal weight during 14 days. As to the the fifth group, the large bowel resection was performed according to the

standard method, after the resection the chronic stress was modelled and a 2.5% solution of thiotriazoline was injected intraoperatively subserously into the zone of anastomosis at a dose of 100 mg/kg of the animal's weight. In the sixth group of animals, the large bowel resection was performed according to the standard method, the chronic stress was modelled, and a 2.5% solution of thiotriazoline (Arterium, Ukraine) was injected intraperitoneally at a dose of 100 mg/kg of animal weight during the period of 14 days. Chronic stress in rats was reproduced by way of their everyday five-hour immobilization. For this purpose, the animals were kept in plastic pen cases 5 hours a day during 30 days. The animals were withdrawn from the experiment on the 3, 14, 30 day of the experiment. The euthanasia was performed under the thiopental anesthesia (40 mg/kg) by way of dislocation of the cervical vertebrae. The animal keeping and experiments were conducted in accordance with the provisions of the «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes» (Strasbourg, 1985). The immunohistochemical study was performed by the indirect immunoperoxidase reaction with monoclonal antibodies (MCA) to the endothelial and inducible NO-synthase fractions (eNOs and iNOs, respectively) of Thermo scientific company. The reaction was visualized using UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen (Thermo scientific). In assessing the immu-

nohistochemical (IHC) coloring, a semi-quantitative method was used, according to which 4 categories were distinguished: 0 (-) – negative reaction (<5% of cells are coloured), 1 (+) – weak coloring (10-30% cells are positively colored), 2 (++) – moderately expressed coloring (most of the positively colored cells - 30-60%) and 3 (+++) – intense coloring (> 60% cells or almost all cells of the epithelium are positively colored) [12,13].

**Results and their discussion.** During the immunohistochemical analysis of the inducible fraction of NO-synthase (iNOs) in the mucous membrane (MM) of the large bowel of a group of rats, which underwent resection only in the anastomotic zone, the increase in the intensity of the cytoplasmic color of smooth muscle and epithelial cells of the MM of the large bowel, varying from a moderate - in 30% to a high degree - in 60% of the experimental animals, was registered already after the third day of the examination, at this, the endothelial fraction of NO-synthase remained low (< 30%). Rats with the large bowel resection, exposed to stress without the correction by thiotriazoloni, demonstrated more intense iNOs expression (Fig. 1) on the third day of the experiment in smooth muscle cells, endothelium and the mucosal epithelium with a reduction in the intensity of eNOs labeling in the endothelium (Fig. 2) in comparison with a control group and the group of animals (Table 1).

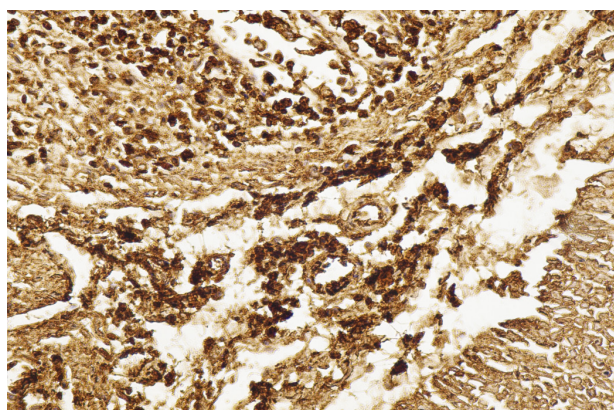


Fig. 1. The wall of the rat's large intestine. A group of animals with resection and chronic stress. Third day of experiment. Strong expression of the inducible fraction of NO-synthase (iNOs) in the cells of the mucous membrane of the colon in the anastomosis zone. Immunohistochemical marking of iNOs, ocular 10, objective 40

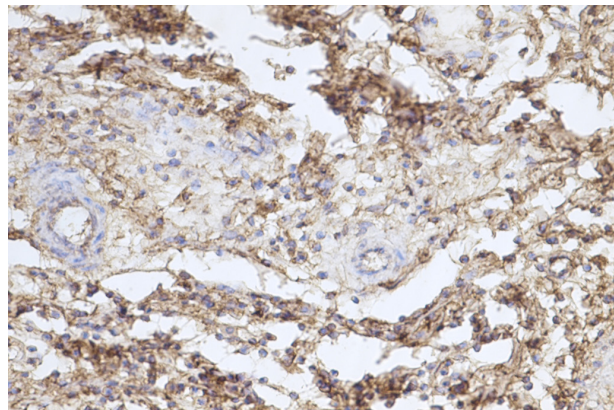


Fig. 2. The wall of the rat's large intestine. A group of animals with resection and chronic stress. Third day of experiment. Weak expression of the endothelial fraction of NO-synthase (eNOs) in the endothelium of the submucosal vessels of the colon in the anastomosis zone. Immunohistochemical marking of eNOs, ocular 10, objective 40

Table 1. Intensity of expression of endothelial (eNOs) and inducible fractions of NO-synthase (iNOs) in mucosal cells in the anastomosis zone for the third day of the experiment

| Experimental groups                                                                    | eNOs       |     |             | iNOs       |     |             |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------------|-----|-------------|------------|-----|-------------|
|                                                                                        | Epithelial | SMC | Endothelium | Epithelium | SMC | Endothelium |
| Control (the large bowel resection)                                                    | -          | -   | ++          | ++         | ++  | -           |
| The large bowel resection and stress                                                   | -          | -   | +           | +++        | +++ | +           |
| The large bowel resection and thiotriazoline was injected subserously                  | -          | -   | +++         | ++         | +   | +           |
| The large bowel resection and thiotriazoline was injected intraperitoneally            | -          | -   | ++          | ++         | ++  | +           |
| The large bowel resection and thiotriazoline was injected subserously and stress       | -          | -   | +++         | ++         | ++  | +           |
| The large bowel resection and thiotriazoline was injected intraperitoneally and stress | -          | -   | ++          | ++         | +   | +           |

notes: SMC - smooth muscle cells; (-) - negative, + - weak expression (10-30%), ++ - moderate (30-60%), +++ - strong expression (> 60% of positively colored cells)

Table 2. Intensity of expression of endothelial (eNOs) and inducible fractions of NO-synthase (iNOs) in the mucosa of the colon in the anastomosis zone at day 14 of the experiment

| Experimental groups                                                                    | eNOs       |     |             | iNOs       |     |             |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------------|-----|-------------|------------|-----|-------------|
|                                                                                        | Epithelium | SMC | Endothelium | Epithelium | SMC | Endothelium |
| Control (the large bowel resection)                                                    | -          | -   | ++          | ++         | ++  | -           |
| The large bowel resection and stress                                                   | -          | -   | +           | +++        | +++ | +           |
| The large bowel resection and thiotriazoline was injected subserously                  | -          | -   | +           | ++         | +   | -           |
| The large bowel resection and thiotriazoline was injected intraperitoneally            | -          | -   | +++         | ++         | +   | -           |
| The large bowel resection and thiotriazoline was injected subserously and stress       | -          | -   | ++          | +          | ++  | -           |
| The large bowel resection and thiotriazoline was injected intraperitoneally and stress | -          | -   | ++          | ++         | +   | -           |

Table 3. Intensity of expression of endothelial (eNOs) and inducible fractions of NO-synthase (iNOs) in mucosal cavity cells in the anastomosis zone at 30 days of the experiment

| Experimental groups                                                                    | eNOs       |     |             | iNOs       |     |             |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------------|-----|-------------|------------|-----|-------------|
|                                                                                        | Epithelium | SMC | Endothelium | Epithelium | SMC | Endothelium |
| Control (the large bowel resection)                                                    | -          | -   | ++          | ++         | ++  | -           |
| The large bowel resection and stress                                                   | -          | -   | +           | +++        | +++ | +           |
| The large bowel resection and thiotriazoline was injected subserously                  | -          | -   | +           | ++         | +   | -           |
| The large bowel resection and thiotriazoline was injected intraperitoneally            | -          | -   | +++         | ++         | +   | -           |
| The large bowel resection and thiotriazoline was injected subserously and stress       | -          | -   | +           | +          | ++  | -           |
| The large bowel resection and thiotriazoline was injected intraperitoneally and stress | -          | -   | +++         | +          | +   | -           |

On the third day of the experiment, the increased eNOs expression was established in the experimental animals, which underwent the resection only, were not exposed to stress and received the injection of thiotriazoline subserously and intraperitoneally, for more than 60% - in a group of animals with injection of thiotriazoline at a moderate (30-60% of coloured endotheliocytes) and weak eNOs expression (<30%) - in a group of animals with subserous injection and in the animals with performed resection and exposed to stress, accordingly ( $p<0,05$ ). The similar data were received in the rats, which underwent resection and were exposed to stress in combination with subserous and intraperitoneal injection of thiotriazoline (Table 1).

The reduced intensity of the cytoplasmic staining of iNOs, when using thiotriazoline (Fig. 3), in comparison with resection + stress, was found in the animals with subserous and intraperitoneal injection of thiotriazoline and a group of animals, which underwent resection, as well as the ones which underwent resection and were exposed to stress.

The eNOs labeling remained low on the 14th day of the examination in the groups, exposed to stress but not injected the thiotriazoline, despite the increased eNOs expression in the endotheliocytes of the large bowel of the rats, who were injected thiotriazoline (Table 2).

The level of the inducible fraction of NO-synthase was moderate (30-60%), though significantly lower in comparison with a resection + stress group without medicamentous correction (60% and  $>$ ,  $p<0,05$ ). The tendency to increase in eNOs expression and to reduction in iNOs expression has been observed also on the 30th

day of the experiment. However, it should be noted that the most intense eNOs expression and the reduction in iNOs expression were registered in the group with intraperitoneal injection of thiotriazoline as well as in the groups which underwent resection and which underwent resection and were exposed to stress in comparison with subserous injection of the medication and the groups without medicamentous correction (Table 3).

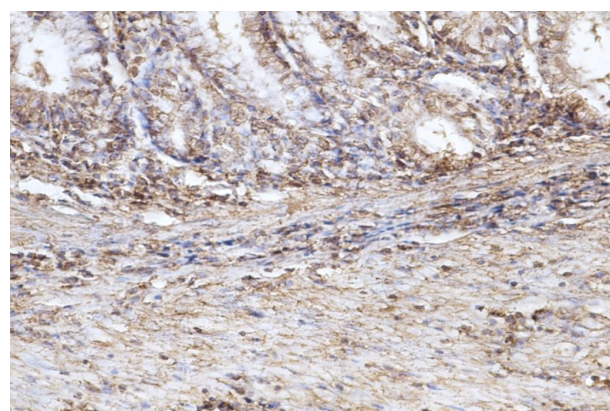


Fig. 3. The wall of the large intestine of the rat. A group of animals with resection and chronic stress and subserous injected of thiotriazoline. Third day of experiment. Moderate expression of the inducible fraction of NO - synthase (iNOs) in the cells of the mucous membrane of the colon in the anastomosis zone. Immunohistochemical marking of iNOs, ocular 10, objective 40

Thus, the obtained data on the reduction of the endothelial isoform and the increase of the inducible fraction of nitrogen oxide in the zone of anastomosis of the large bowel under the conditions of exposure to stress are indicative of the intensive formation of toxic substances of NO metabolism. According to the literature data [14, 15], both the excess and the lack of nitrogen oxide may have a toxic effect on the cells related to the direct effect on the iron bearing enzymes, and with the formation of a strong oxidant, a highly reactive and toxic free radical combination of peroxynitrites. The long-term disbalance in NO-ergic system leads to the disorders of the adaptive-compensatory mechanisms, manifesting themselves by the changes in the NO-synthase activity, disorders of the functional state and the loss of the integrity of the morphological structure of the intestinal mucosa. Endogenous NO formation, as a vasodilator, is very important for maintaining microcirculation in the mesenteric vessels and the integrity of the intestinal mucosa. NOS inhibition leads to a significant reduction of the mesenteric blood flow and colon ischemia. The mechanism of increasing the level of endothelial isoform of NO-synthase in the endothelium of blood vessels on the background of the use of thiotriazoline may be associated with the reduction of its inactivation by free radicals that is confirmed by antioxidant and anti-ischemic properties of thiotriazoline [16]. Taking into account the leading position of nitrogen oxide in the pathogenesis of various pathological conditions, including the intestinal diseases, the further study of endothelial (eNOs) and inducible (iNOs) fractions of NO-synthase in the cells of the mucous membrane of the large bowel during surgical interventions opens the prospects for changing existing concepts and the development of new medicines for correction and optimization of treatment policy of the patients.

**Conclusions.** 1. After considering the results of our examination, a long-term exposure to stress of the experimental animals leads to a significant increase of the inducible expression of NO-synthase fractions (iNOs) in the cells of the mucous membrane of the large bowel in the zone of anastomosis.

2. Under the conditions of chronic immobilization stress, the use of thiotriazoline enhances the expression of the constitutive endothelial isoform of NO-synthase in the endothelium of blood vessels in comparison with the animals, which were exposed to stress and underwent resection without drug correction.

3. The intraperitoneal injection of thiotriazoline better regulates stress-mediated changes in the expression of inducible and endothelial isoforms of NO-synthase and normalizes the content of nitrogen oxide in the large bowel of the rats during the final stages, while subserous injection is more effective in the early stages of examination, that reflects the compensation of the endothelial dysfunction and the reduction of the effect of nitrogen oxide.

## REFERENCES

1. Журомський НБ, Панасюк ІС, Фоменко ТІ, Бондарчук ОЯ. Вплив вітаміну С на механізми цитопротекції та активність NO – синтаз у слизовій оболонці шлунка та товстої кишки у щурів за умови адреналініндукованого стресу // Тавричеський медико-біологічний вестник. 2012. 15;131-4.
2. N.I. Kochar NI, Chandewal AV, Bakal RL, Nitin I. Nitric oxide and the gastrointestinal tract // International Journal of Pharmacology. 2011. 7;1:31-9.
3. Vento P, Kiviluoto T, Jarvinen HJ, Soinila S. Changes in distribution of three isoforms of nitric oxide synthase in ulcerative colitis // Scand. J. Gastroenterol. 2001. 36;2:180-9.
4. Dong WG, Mei Q, Yu JP, Xu JM, Xiang L, Xu J. Effects of melatonin on the expression of iNOS and COX-2 in rat models of colitis // World J. Gastroenterol. Jun 2003. 9;6:1307-11.
5. Фадєєнко ГД, Гріднев ОС, Несен АО. Коморбідність

і високий кардіоваскулярний ризик - ключові питання сучасної медицини // Укр. тер. журн. 2013. 1:102-7.

6. Манухина ЕБ, Дауни ГФ, Маллет РТ, Малышев ИЮ, Ванин АФ. Депо оксида азота (NO) и его адаптивная роль в сердечно-сосудистой системе // Патогенез. 2012. 10;2:19 - 27.
7. Степанов ЮМ, Бреславец ЮС. Вивчення вмісту eNOS та iNOS у слизовій оболонці гастродуоденальної зони у хворих на НПЗП гастропатії до та після лікування // Сучасна гастроентерологія. 2010. 56;6:32-8.
8. Lundberg JO, Weitzberg E. Biology of nitrogen oxides in the gastrointestinal tract // Apr Gut. 2013. 62;4: 616-626.
9. Sklyarov AY, Panasyuk NB, Fomenko IS. Role of nitric oxide-synthase and cyclooxygenase/lipoxygenase systems in development of experimental ulcerative colitis // J Physiol Pharmacol. 2011. 62;1:65-73.
10. Jorge E, Vergata P, Martin MT. Ileal inducible nitric oxide synthase mRNA expression in response to stress modified in Sprague-Dawley rats exposed to a previous intestinal inflammation // Stress. 2012. 15;1: 62-73.
11. Беленичев ИФ, Павлов СВ, Колесник ЮМ, Мазур ИА, Кучеренко ЛИ, Абрамов АВ. NO – модулирующая активность тиоцетама: возможный механизм нейропротективного действия // Запорожский медицинский журнал. 2010. 12;5:119-121.
12. Sade, Schwartz IF, Etkin S, Schwartzberg S, Levo Y, Kivity S. Expression of Inducible Nitric Oxide Synthase in a Mouse Model of Anaphylaxis // J Investig Allergol Clin Immunol. 2007. 17;6:379-385.
13. Kai H, Ito M, Kitadai Y, Tanaka S, Haruma K, Chayama K. Chronic gastritis with expression of inducible nitric oxide synthase is associated with high expression of interleukin-6 and hypergastrinaemia // Alimentary Pharmacology and Therapeutics. 2004. 19;12:1309-14.
14. Галинский АА, Ошмянская НЮ, Макачук ВА, Северенковская ЕВ, Руденко АИ. Морфологические изменения слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки у крыс при дисбалансе оксида азота // Світ медицини та біології. 2014. 46;4:84-91.
15. Звягинцева ТД, Гріднева СВ. Сосудистый эндотелий в норме и при заболеваниях пищевого канала // Сучасна гастроентерологія. 2005. 22;2:51-5.
16. Савустьяненко АВ. Визитная карточка украинской фармакологии: тиотриазолин (физиологические и клинические аспекты применения) // Новости медицины и фармации. 2008. 252;15:19-21.

## SUMMARY

### IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS OF THE INDUCIBLE AND ENDOTHELIAL FRACTIONS OF NO-SYNTHASE IN THE INTENSTINAL MUCOSA OF COLO-COLONIC ANASTOMOSIS UNDER INFLUENCE OF CHRONIC STRESS AND THIOTRIAZOLINE APPLICATION

<sup>1</sup>Dusyk A., <sup>1</sup>Vernygorodskyi S., <sup>1</sup>Golubovsky I.,  
<sup>1</sup>Hryhorenko A., <sup>2</sup>Slobodian O.

<sup>1</sup>National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya;  
<sup>2</sup>Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

Under stress in the development of metabolic disorders, nitric oxide (NO) occupies a significant place. Dependence of the metabolism of NO indicates its important role in the pathogen-

esis of diseases of the gastrointestinal tract. The aim of the study is to study immunohistochemical changes in the colon after the large bowel resection and the effect of stress and correction of thiatriazoline. The experiment was performed on 86 male rats. After considering the results of our examination, a long-term exposure to stress of the experimental animals leads to a significant increase of the inducible expression of NO - synthase fractions (iNOs) in the cells of the mucous membrane of the large bowel in the zone of anastomosis. Under the conditions of chronic immobilization stress, the use of tiotriazolini enhances the expression of the constitutive endothelial isoform of NO - synthase in the endothelium of blood vessels in comparison with the animals, which were exposed to stress and underwent resection without drug correction. The intraperitoneal injection of tiotriazolini better regulates stress-mediated changes in the expression of inducible and endothelial isoforms of NO - synthase and normalizes the content of nitrogen oxide in the large bowel of the rats during the final stages, while subserous injection is more effective in the early stages of examination, that reflects the compensation of the endothelial dysfunction and the reduction of the effect of nitrogen oxide.

**Keywords:** stress, large intestine, inducible and endothelial fraction of NO synthase.

## РЕЗЮМЕ

### ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ NO-СИНТАЗЫ В ЗОНЕ ТОЛСТО-ТОЛСТОКИШЕЧНОГО АНАСТОМОЗА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА И ПРИМЕНЕНИИ ТИОТРИАЗОЛИНА

<sup>1</sup>Дусик А.В., <sup>1</sup>Вернигородский С.В., <sup>1</sup>Голубовский И.А., <sup>1</sup>Григоренко А.Н., <sup>2</sup>Слободян А.Н.

<sup>1</sup>Винницкий национальный медицинский университет им.Н.И. Пирогова; <sup>2</sup>Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина

При стрессе в развитии метаболических нарушений значительное место занимает оксид азота (NO). Зависимость показателей метаболизма NO указывает на его значимую роль в патогенезе заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Целью исследования явилось изучение иммуногистохимических изменений в толстой кишке после ее резекции и влияния стресса и коррекции тиотриазолина.

Эксперимент выполнен на 86 крысах-самцах. В результате исследования установлено, что длительное стрессовое воздействие приводит к значительному повышению экспрессии индуцибельной фракции NO-синтазы в клетках слизистой оболочки толстой кишки в зоне анастомоза. В условиях хронического иммобилизационного стресса применение тиотриазолина усиливает экспрессию конститутивной эндотелиальной изоформы NO-синтазы в эндотелий кровеносных сосудов в сравнении с животными, находящимися под стрессовым воздействием, которым выполнена резекция без медикаментозной коррекции, в частности

внутрибрюшинное применение тиотриазолина лучше корректирует стресс-опосредованные изменения экспрессии индуцибельных и эндотелиальной изоформ NO - синтазы и нормализует содержание оксида азота в толстой кишке крыс на поздних сроках эксперимента, в то время как субсерозное введение более эффективно на ранних сроках наблюдения, отражает компенсацию эндотелиальной дисфункции и снижение токсического эффекта оксида азота.

## რეზიუმე

NO-სინთაზის ინდუცებელური და ენდოთელური ფრაქციების იმუნოჰისტოქიმიური ანალიზი მსხვილ-ნაწლავოვან ანოსტომოზის ზონაში ქრონიკული სტრესის ზემოქმედებისა და ტრიოტრიაზოლინის გამოყენების პირობებში

<sup>1</sup>ა. დუსიკი, <sup>1</sup>ს. ვერნიგოროდსკი, <sup>1</sup>ი. გოლუბოვსკი, <sup>1</sup>ა. გრიგორენკო, <sup>2</sup>ა. სლობოდიანი

<sup>1</sup>ვინიცის ნ. პიროგოვის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>ბუკოვინის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ჩერნოვცი, უკრაინა

სტრესის პირობებში მეტაბოლური დარღვევების განვითარებაში მნიშვნელოვანი ადგილი უჭირავს აზოტის ოქსიდს (NO). NO-ს მეტაბოლიზმის მაჩვენებლების დამოკიდებულება მიუთითებს მის მნიშვნელოვან როლზე კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის დაავადებათა პათოგენეზში.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა NO-სინთაზის ინდუცებელური და ენდოთელური ფრაქციების იმუნოჰისტოქიმიური ცვლილებების ანალიზი მსხვილ-ნაწლავოვან ანოსტომოზის ზონაში ქრონიკული სტრესის ზემოქმედებისა და ტრიოტრიაზოლინის გამოყენების პირობებში.

ექსპერიმენტი ჩატარდა 86 მამრ ვირთაგვზე. კვლევის შედეგად დადგენილია, რომ ხანგრძლივი სტრესული ზემოქმედება იწვევს NO-სინთაზის ინდუცებელური ფრაქციის ექსპრესიის მნიშვნელოვან მატებას მსხვილი ნაწლავის ლორწოვან გარსის უჯრედებში, ანოსტომოზის ზონაში. ქრონიკული იმობილიზაციური სტრესის პირობებში ტრიოტრიაზოლინის გამოყენება აძლიერებს NO-სინთაზის კონსტიტუტივ ენდოთელური იზოფორმის ექსპრესიას სისხლძარღვთა ენდოთელიუმში შედარებით იმ ცხოველებთან, რომლებიც იმყოფებოდნენ სტრესის ზემოქმედების ქვეშ მედიკამენტური კორექციის გარეშე, რაც მიუთითებს, რომ ტრიოტრიაზოლინის მუცლისშიდა გამოყენება უკეთესად უწევს კორექციას სტრესით გამოწვეულ NO-სინთაზის ინდუცებელურ და ენდოთელურ ფორმებით გამოცვეულ ცვლილებებს და ნორმაში მოყავს NO-ს შემცველობა ვირთაგვების მსხვილ ნაწლავში ექსპერიმენტის გვიან ვადებზე, მაშინ, როდესაც სუბსეროზული შეყვანა უფრო ეფექტურია დაკვირვების აღრეულ ვადებზე და გამოხატავს ენდოთელური დისფუნქციის კომპენსაციას და NO-ს ტოქსიკური ეფექტის დაქვეითებას.

## HISTOLOGICAL CHANGES IN SPLEEN UNDER CONDITIONS OF TOXIC CARCINOGENESIS

<sup>1</sup>Lisnychuk N., <sup>2</sup>Soroka Yu., <sup>1</sup>Andrijchuk I., <sup>3</sup>Nebesna Z., <sup>3</sup>Volkov K.

*I. Horbachevsky Ternopil State Medical University, <sup>1</sup>Central Scientific Research Laboratory; <sup>2</sup>Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine; <sup>3</sup>Department of Histology and Embryology, Ukraine*

According to the WHO, every year about 10 million patients worldwide are diagnosed with cancer, the oncogenesis of the organs of the gastrointestinal tract occupy the 3rd place in this ranking. These diseases are one of the main causes of the death of 8 million patients annually.

According to statistics, the number of malignant diseases increases each year. The reasons for the increase in the morbidity are quite diverse: unfavorable ecological situation, harmful habits, hereditary and chronic inflammatory diseases, aging of the population, etc. In addition, cancer is getting «younger» every year: more often patients of 30-40 years of age can be found. And this is the most intelligent and laboring part of the population [1-3]. Usually, in the early stages, malignant tumors run asymptotically. As a rule, the patient turns to the doctor when the disease has passed to the late stage. Therefore, before the oncologists around the world, there is still a task - to find ways to diagnose cancer when the disease is still in the early stage [4,5].

One of them can be the evaluation of changes in the state of the spleen, as an important organ of immunogenesis.

However, today there is no unity of scientific judgments about the role of the spleen in carcinogenesis. T. Toge et al. [8] established that the T lymphocytes, which are capable to suppress the anti-tumor activity of the immune system, enter the bloodstream directly from the spleen. K. Noma et al. [7] based on results of conducted research also make a conclusion about the immunosuppressive role of the spleen in cancer of the stomach, which promotes the activation of the oncology process in the stomach. L. Mellemkjaer et al. [9] in a large-scale scientific study, the risk of development of oncopathology in patients with splenectomy due to its traumatic injury (1103 persons) and splenectomy caused by other causes (5212 persons) was assessed. The fact of the development of oncology process was followed by data from the Danish Cancer-Register. The authors of the study concluded that there was no increase in the number of cancer lesions in patients with post-traumatic splenectomy. In their opinion, an increase in the incidence of oncopathology in a group of patients with splenectomy for non-traumatic causes may be due to the progression of the underlying disease or the side effects of its treatment. Literary data interprets the effect of the culture of the spleen cells on the activity of the development of experimental oncopathology in two ways - either the progression of tumor growth, or inhibition. The same situation with the estimation of spatial changes in the spleen - either reducing the size and compaction of the organ tissue, or splenomegaly [10].

Thus, the analysis of the results of scientific research did not make it possible to unambiguously answer the question of the severity of the morphological changes of the spleen and its impact on the development of cancer processes, which became the goal of this scientific study.

**Material and methods.** The study was conducted on 168 sexually mature outbred white rats, males with body weight  $175.0 \pm 4.2$  g, which were kept under standard vivarium conditions. All manipulations with experimental animals were carried out in compliance with the rules of the «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Research and Other Scientific Purposes», as well as «Scientific and Practical Recommendations for the Maintenance and Operation of Laboratories» [11,12].

Experimental animals were divided into the following groups: the control group of animals - 84 heads; experimental group of animals with a simulated adenocarcinoma of the large intestine - 84 heads. After every 30 days of the experiment 12 animals were excreted from the control and experimental group.

Carcinogenesis was modeled by the input of 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride (DMH) (Sigma-Aldrich Chemie, Japan) pre-diluted with isotonic sodium chloride solution. Carcinogen was subcutaneously injected in the inter-patch area at a dose of 7.2 mg / kg once a week for 30 weeks, clearly based on the weight of the animal at a rate of 0.1 ml DMH solution for 10 g of body weight [13]. Control for a group of animals with DMH input were rats, which were subcutaneously injected into a similar body site weekly in a dose of 0.1 ml per 10 g of body weight.

Experimental modeling and collection of spleen tissue and blood for research was carried out at the same time (10.00-12.00 h) in a special accommodation at an air temperature of 18-20°C.

For histological examination, pieces of tissue of the spleen were taken, fixed in a 10% neutral solution of formalin, dehydrated in spirits of increasing concentration, filled in paraffin blocks. The slices made are 5-6 micron stained with hematoxylin-eosin, silver-impregnated by the Gordon-Sweets method, and stained for studying the state of connective tissue using the MSB (Martius-Scarlett-Blue) method. Histological preparations were studied using the Seoscan light microscope and photo documented with a Vision CCD Camera [14].

**Results and their discussion.** Histological studies established that 1 month after the beginning of the experiment in the spleen of the experimental animals, morphological changes of the organ appear in the form of full blood vessels of the vascular channel and red pulp: there is an enlargement of the lumens and the full blood of the trabecular vessels and the aggregation of red blood cells in them. In individual vessels, microtubes are detected.

The lymph nodes of the white pulp have a different area, but there are enlarged nodules with pronounced zoning. There is low quantity of stroma reticular fibers in the white pulp, they are mainly eccentrically arranged around the central artery, and in the germinal center they form a small looped net, in which there are lymphocytes and plasma cells (Fig. 1, 2, 3).

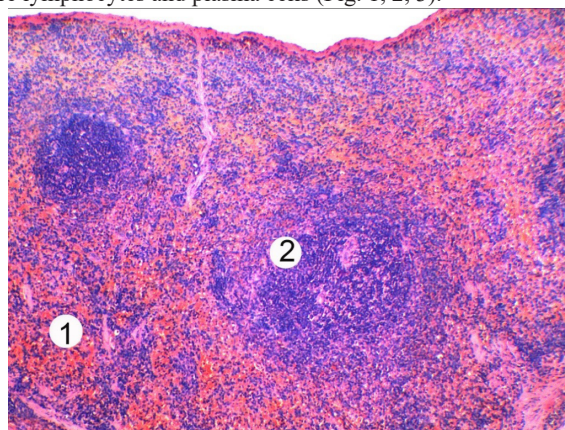


Fig. 1. Histological changes of the spleen of animals after 1 month in the condition of chronic DMH effect. Red pulp (1), large lymph node (2). Coloring with hematoxylin and eosin. x 80

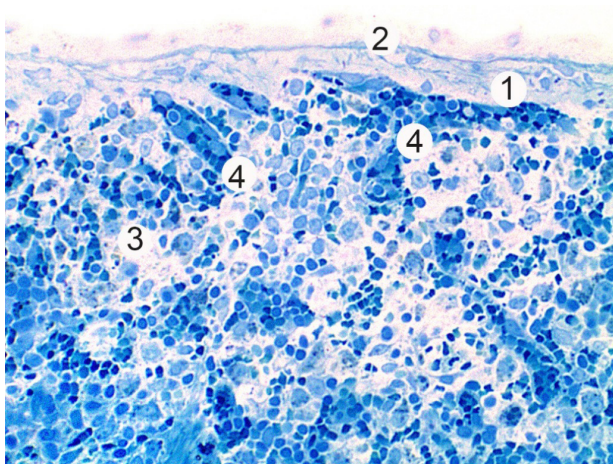


Fig. 2. Histological changes in the spleen of animals in 1 month in the conditions of chronic DMH effect. The capsule (1) is covered with serous sheath (2), red pulp (3), sinusoid hemocapillaries (4). Coloring with methylene blue. x 200

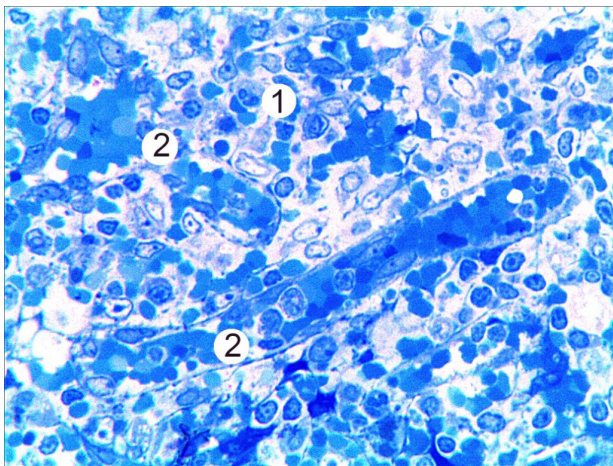


Fig. 3. Microscopic organization of the spleen of animals in 1 month in the conditions of chronic DMH. Red pulp (1), sinusoidal capillary (2). Coloring with methylene blue. x 400

Microscopic studies of the spleen of animals after 3 and 4 mths from the beginning of DMH input have shown that it is hyperplastic due to changes in stroma and parenchyma. Edema of the amorphous component of the intercellular substance and thickening of the reticular and collagen fibers of the capsule and trabeculae has been established, as well as significant changes in the spleen vessels. In the wide lumen of many blood vessels, fibrin, erythrocytic and mixed blood clots; erythrocyte, leukocyte and thrombocyte aggregation occur because of violation of hemocoagulation in the form of disseminated intravascular coagulation (DIC syndrome). In the microcirculatory channel there are stasis in sinusoidal hemocapillars, which reflects the slowing of the blood flow.

Red pulp in these terms of the trial remains blood-filled due to increased level of deposited thrombocytes and erythrocytes, available areas of their hemolysis (Fig. 4, 5).

In the lumen of sinuses and hemocapillaries there are lymphocytes and macrophages with accumulation of hemosiderin grains, which are formed because of the physiological decomposition of erythrocytes and hemoglobin (Fig. 6).

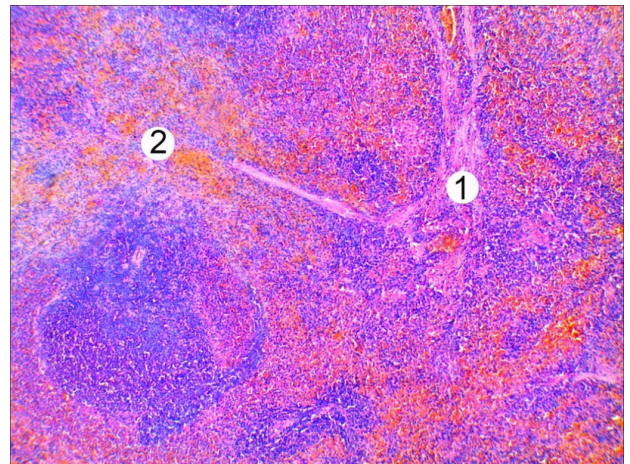


Fig. 4. Microscopic state of the spleen of the animal 3 months after the chronic effect of DMH. Thickened trabeculae (1), hemolysed red blood cells in red pulp (2). Coloring with hematoxylin and eosin. x 80

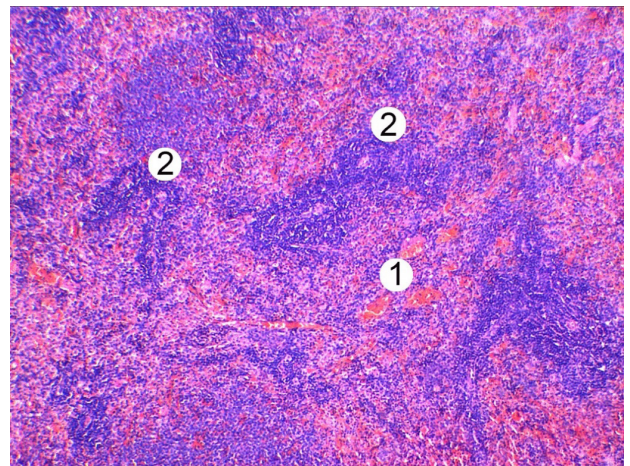


Fig. 5. Histological changes in the spleen of animals 4 months after the chronic effect of DMH. Blood-filled vessel (1), high density of lymphocytes in nodes and in lymphoid sheaths (2). Coloring with hematoxylin and eosin. X80

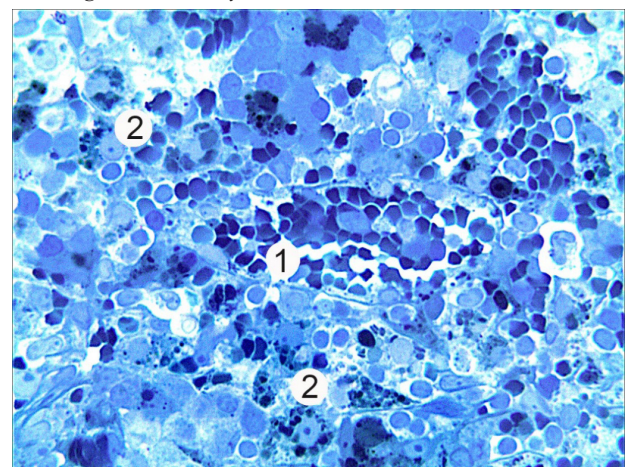


Fig. 6. Histologic changes in the spleen of animals after 4 months after the chronic DMH effect. Extended blood-filled sinusoid capillary of red pulp (1), macrophages with hemosiderin grains (2). Coloring with methylene blue. x 400

Formation of chronic neoplastic intoxication under the conditions of DMH leads to the reorganization of white pulp: it is enlarged by the area, is clearly separated from the red pulp because of an increase in the density of lymphocytes in the boundary zone of the nodes. The growth of the density of small, middle lymphocytes, plasmacytes and macrophages was observed on the periphery of the organ and in the white pulp.

Histological studies in 5 and 6 months after the introduction of DMH found significant destructive changes in the white and red pulp of the spleen. In the white pulp, enlightenment of the germinal centers is observed due to a decrease in cell density. In marginal zones, the density of small and medium lymphocytes and plasmacytes is significantly reduced. Violation of the clarity of the zonal location of structural components in nodes is established.

Also, significant discirculatory changes in the experimental organ are established. There are extended and full-blooded vessels with the development of a Sludge-phenomenon. Microscopically in red pulp there is an excessive deposit of blood in the form of an accumulation of red blood cells, hemorrhages (Fig. 7).

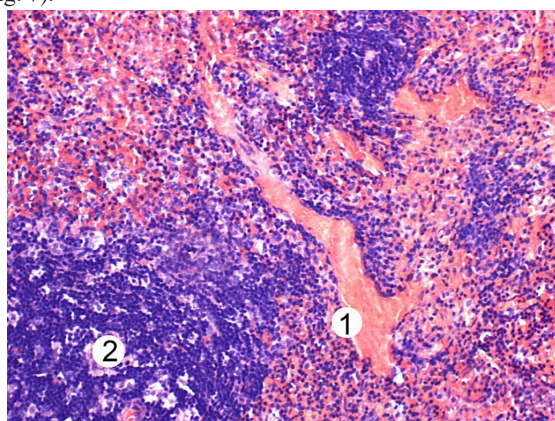


Fig. 7. Microscopic changes in the spleen of animals 6 months after the chronic effect of DMH. Blood-filled vessels of red pulp (1), disorganization of white pulp (2). Coloring with hematoxylin and eosin. x 200

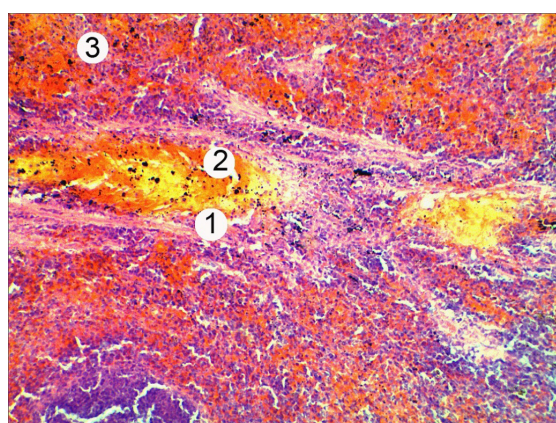


Fig. 8. Histological changes of the spleen of the animal 7 months after the chronic effect of DMH. Blood-filled trabecular vessel (1), hemolysis of the erythrocytes in its lumen (2) and in red pulp (3). x100

The capsule is thinning, trabeculae thicken, their stroma components are fragmented, located by the laced beams pattern.

The histological studies of the spleen of animals after 7

months after DMH lesions have established profound destructive and degenerative changes in all components of the organ. The pronounced swelling and excrescence of the fibers of connective tissue component of the organ is manifested by the thickening of the trabeculae.

The uneven blood flow of red and white pulp is established. Vessels in some areas of the spleen are anechoic, in others - excessively overfilled with blood, which reflects stagnant phenomena. Extensive hemorrhages and thrombus vessels of the microcirculation channel are also present. Intra- and perivascular hemolysis of erythrocytes is observed in the lumen of the vessels and red pulp (Fig. 8).

In the red pulp, there are focal or local zones of destruction, intravascular and perivascular hemolysis of red blood cells with accumulation of hemosiderin grains in macrophages (Fig. 9).

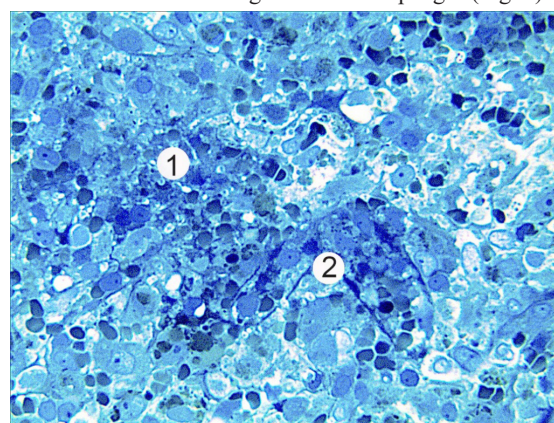


Fig. 9. Histologic changes in the spleen of animals after 7 months in chronic DMH effects. The zone of destruction and enhanced hemolysis of erythrocytes in red pulp (1), hemocapillaries of red pulp (2). Coloring with methylene blue. x400

In this term of the experiment, red and white pulp is characterized by enhanced activation of fibroblasts, which leads to thickening of the stroma connective tissue and fibrosis (Fig. 10).

In the white pulp, degeneration and destruction of the lymphoid tissue is detected, which is characterized by a decrease in its volume and width of the marginal zone. In the part of the lymphoid nodes, the germinal centers disappear; in the periphery there is a disorganization of periaarterial lymphoid zones (Fig. 11).

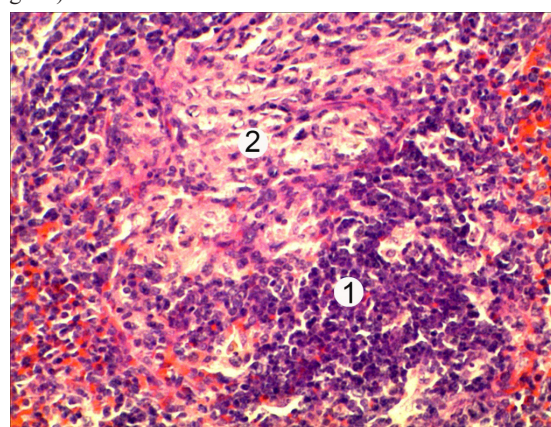


Fig. 10. Microscopic changes in the spleen of the animal 7 months after the chronic effect of DMH. Hyperplasia of the lymphatic follicle (1), cluster of fibroblasts (2). Coloring with hematoxylin and eosin. x 300

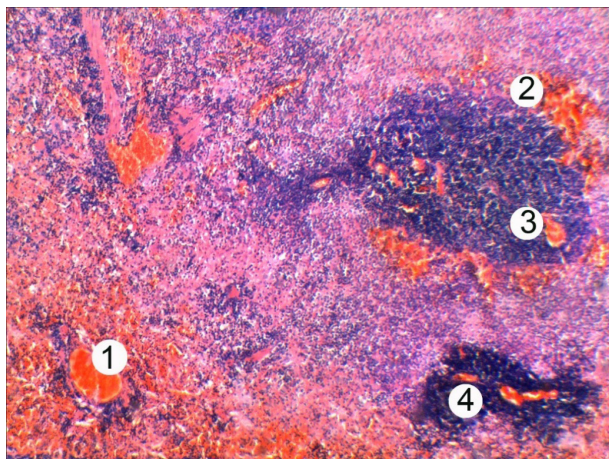


Fig. 11. Microscopic changes in the spleen of the animal 7 months after the chronic effect of DMH. Extended, blood-filled vessels with blood clots (1), hemorrhages along the periphery (2) and in the lymphoid nodule (3) of the white pulp, disorganization of the lymph node (4). Coloring with hematoxylin and eosin. x 80

**Conclusion.** The development of experimental carcinogenesis is accompanied by severe violations of the morphological state of all structural components of the spleen, manifested by destructively degenerative changes of stroma, red and white pulp, and essential vascular disorders. The severity of the pathomorphological changes in the spleen increases directly proportionally to the increase in the duration of the oncogenic factor.

## REFERENCES

1. Ouakrim D.A., Pizot C., Boniol M., Malvezzi M., Boniol M., Negri E. Trends in colorectal cancer mortality in Europe: retrospective analysis of the WHO mortality database // *BMJ*. 2015;351: h 4970. doi:10.1136/bmj. h 4970.
2. Zaval M., Suchaner S., Zavada F., Duser L., Muzir J., Seifert B. Colorectal cancer screening in Europe // *World J. Gastroenterol*. 2009, 15 (47), 5907-5915. doi: 10.3748/wjg.15.5907.
3. American Cancer Society. Colorectal Cancer Facts and Figures 2014-2016. Atlanta: American Cancer Society. 2014.
4. Канцер-реєстр України. Режим доступу: [www.health.gov.ua](http://www.health.gov.ua)
5. Белицкий Г. А. Химический канцерогенез / Г. А. Белицкий // Современные проблемы токсикологии. – 2010. – № 2. – С. 5–21.
6. Bendardaf R. Prognostic and predictive molecular markers in colorectal carcinoma / R. Bendardaf, H. Lamlum, S. Pyrhonen // *Anticancer Res*. – 2004. – № 4, Vol. 24. – P. 2519–2530.
7. Noma K. The spleen plays an immunosuppressive role in patients with gastric cancer: involvement of CD62L+ cells and TGF-beta / K. Noma, Y. Yamaguchi, R. Okita, K. Matsuura, T. Toge // *Anticancer Res*. – 2005. – № 25, (1B). – P. 643–649.
8. Toge T. Role of the spleen in immunosuppression of gastric cancer: predominance of suppressor precursor and suppressor inducer T cells in the recirculating spleen cells / T. Toge, K. Kuroi, H. Kunino-bu // *ClinExpImmunol*. – 1988. – № 74 (3). – P. 409–412.
9. Mellekjaer L. Cancer risk after splenectomy / Mellekjaer L., Olsen J. H., Linet M. S. // *Ugeskr Laeger*. – 1995. – № 157(37). – P. 5097-5100.
10. M. J. Kim. Splenomegaly and Its Associations with Genetic Polymorphisms and Treatment Outcome in Colorectal Cancer Patients Treated with Adjuvant FOLFOX / Kim M.J., Han S.W., Lee D.W. // *Cancer Res Treat*. – 2016. – № 48 (3). P. 990–997.
11. European convention for the protection of vertebrate animals

used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 56 p.

12. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко [та ін.] – Київ: Авіцена, 2002. – 156 с.
13. Экспериментальное изучение действия Lentinus Edodes (Шиитакэ) на рост опухоли у мышей на моделях трансплантационного и химического канцерогенеза / В. П. Дерягина, Н. И. Рыжова, А. Н. Разин // *Российский онкологический журнал*. – 2009. – № 1. – С. 33–38.
14. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перова – М.: Медицина, 1996. – 362 с.

## SUMMARY

### HISTOLOGICAL CHANGES IN SPLEEN UNDER CONDITIONS OF TOXIC CARCINOGENESIS

<sup>1</sup>Lisnychuk N., <sup>2</sup>Soroka Yu., <sup>1</sup>Andrijchuk I., <sup>3</sup>Nebesna Z., <sup>3</sup>Volkov K.

<sup>1</sup>I. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Central Scientific Research Laboratory; <sup>2</sup>I. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine; <sup>3</sup>I. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Department of Histology and Embryology, Ukraine

Under development of dimethylhydrazine-induced adenocarcinomatosis of the large intestine in white outbred male rats morphological changes of the structural components of the spleen were studied.

It was found, that the progression of experimental carcinogenesis is accompanied by severe violations of the morphological state of all structural components of the spleen, manifested by destructively degenerative changes of the stroma, red and white pulp and significant vascular disorders. The severity of the pathomorphological changes in the spleen increases directly proportionally to the increase of the duration of the oncogenic factor impact.

**Keywords:** toxic carcinogenesis, spleen, microscopic changes.

## РЕЗЮМЕ

### ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕЛЕЗЕНКИ В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА

<sup>1</sup>Лисничук Н.Е., <sup>2</sup>Сорока Ю.В., <sup>1</sup>Андрійчук І.Я., <sup>3</sup>Небесная З.М., <sup>3</sup>Волков К.С.

Тернопільський державний медичний університет ім. І. Горбачевського, <sup>1</sup>Центральна науково-дослідницька лабораторія, <sup>2</sup>кафедра анестезіології та інтенсивної терапії, <sup>3</sup>кафедра гістології та ембріології, Україна

В динаміці розвитку диметилгідразин-індуцированого аденокарциноматоза товстої кишки у білих аутбредних крыс-самців изучены морфологічні зміни структурних компонентів селезінки.

Установлено, що експериментальний канцерогенез супроводжується розвитком виражених змін структурних компонентів досліджуваного органу, що проявляється деструктивно-дегенеративними змінами стромы, червоної

и белой пульпы, а также существенными васкулярными нарушениями. Выраженность патоморфологических изменений

селезенки возрастает прямо пропорционально длительности влияния провоцирующего фактора.

#### რეზიუმე

ჰისტოლოგიური ცვლილებები ელენთაში ტოქსიკური კანცეროგენების პირობებში

<sup>1</sup>ნ. ლისინიუკი, <sup>2</sup>იუ. სოროკა, <sup>1</sup>ი. ანდრიიშუკი, <sup>3</sup>ზ. ნებესნაია, <sup>3</sup>კ. ვოლკოვი

ტერნოპოლის ი. გორბანეცკის სახ. სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი,

<sup>1</sup>ცენტრალური სამეცნიერო-კვლევითი ლაბორატორია; <sup>2</sup>ანესთეზიოლოგიისა და ინტენსიური თერაპიის კათედრა, <sup>3</sup>ჰისტოლოგიის და ემბრიონოლოგიის კათედრა, უკრაინა

თეთრ აუტრედის მამრ ვირთავებში შესწავლილია ელენთის სტრუქტურული კომპონენტების მორფოლოგიური ცვლილებები მსხვილი ნაწლავის დიმეტილგიდრაზინ-ინდუცირებული ადენოკარცინომატოზის განვითარების დინამიკაში.

დადგენილია, რომ ექსპერიმენტულ კანცეროგენებს თანახლავს საკვლევი ორგანოს კომპონენტების გამოხატ-

ული სტრუქტურული ცვლილებები, რაც ვლინდება სტრომის წითელი და თეთრი პულპის დესტრუქციულ-დეგენერაციულ ცვლილებებში და, ასევე, მნიშვნელოვან ვასკულარულ დარღვევებში. ელენთის პათომორფოლოგიური ცვლილებების გამოხატულება მატულობს პროვოცირებადი ფაქტორების გავლენის ხანგრძლივობის პირდაპირპროპორციულად.

## EPIDEMIOLOGY OF CARBAPENEM-RESISTANT *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* IN INTENSIVE CARE UNITS OF MULTIPROFILE HOSPITALS IN TBILISI, GEORGIA

<sup>1,2</sup>Tsereteli M., <sup>2</sup>Sidamonidze K., <sup>2</sup>Tsereteli D., <sup>2</sup>Malania L., <sup>1</sup>Vashakidze E.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, Department of Infectious Diseases;

<sup>2</sup>National Center for Disease Control and Public Health, Tbilisi, Georgia

Carbapenems are broad-spectrum antibiotics reserved for resistant infections. When carbapenem resistance is due to presence of carbapenemases, in addition with other signs of resistance to aminoglycosides and fluoroquinolones often leads to carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* extensively drug-resistant or pandrug-resistant [12,13].

*Klebsiella pneumoniae* is one of the most frequent cause of health care associated infections [7,16,19], especially urinary tract infections, respiratory tract infections, and bloodstream infections [4,21]. Increasing prevalence of extended spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) among *K. pneumoniae* in the 1980s and 1990s contributed to the increased consumption of carbapenems. In the next years, frequent use of carbapenem has accelerated the growth of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* strains which caused outbreaks in worldwide [3,6,8,17,20,22,23,25]. Dissemination of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* infections significantly trend toward patient morbidity, length of stay and mortality [9,14,24]. According to study by Xu et al., mortality rate among patients infected with carbapenem resistance *K. pneumoniae* was 33.24% in North America, 46.71% in South America, 50.06% in Europe, and 44.82% in Asia [26].

Few antibiotics are left to be active against carbapenem-resistant *K. pneumoniae* infections, so combinations involving colistin have become an important alternative for patients with these infections. Clinical data on the most appropriate antibiotic combination are scarce and infrequent, and most of the evidence comes from the observational studies [10]. Resistance to carbapenems involves multiple mechanisms. Carbapenem-resistance in *K. pneumoniae* predominantly determined by carbapenemase class A (KPC), class B (IMP, VIM, NDM), and class D (OXA-48) [18]. Prevalence of various types of carbapenemase

enzymes differ in the various countries [8]. These enzymes are transported either on chromosome or obtained via plasmids [21].

Aim - to study prevalence and risk-factors of CR *K. pneumoniae* in Georgia.

**Material and methods.** To identify risk factors for hospital-acquired carbapenem-resistant (CR) *K. pneumoniae*, from January 1, 2017 through February 28, 2018, an observational case-control study was performed in the ICUs of two tertiary-care hospitals in Tbilisi (High Medical Technology Centre and Ghudushauri National Medical Centre). Data was collected from medical records and microbiology laboratory databases. Data included patient's age and sex, underlying disease, co-morbidities, admission date, dates of prior hospitalization, surgery, invasive procedure, antibiotics exposure, and site of infection, the date of infection, and specimen date of *K. pneumoniae* causing infection.

The association of independent variables was expressed as odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (CI). Statistical analyses were performed using a SPSS 21.0 software package.

All isolated *K. pneumoniae* cultures were tested on antibiotic susceptibility tests (AST). AST was performed by disk diffusion methods and E-test for MIC detection. Results interpretation is in accordance with European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) standards [15]. The diffusion method on Mueller-Hinton agar used to test susceptibility to ampicillin, amoxicillin-clavulanate, cefepime, cefotaxime, cefoxitin, ceftazidime, ceftriaxone, meropenem, imipenem, ertapenem, doripenem, aztreonam, ciprofloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, amikacin, gentamicin and tobramycin. Carbapenem MICs for meropenem, ertapenem, (Liofilchem, Italy), imipenem, doripenem, tigecycline and colistin (bioMérieux; Marcy

Table 1. Age of patients with hospital-acquired *K. pneumoniae* infection

| Age            | Case (CR <i>K. pneumoniae</i> ) | Control (CS <i>K. pneumoniae</i> ) |
|----------------|---------------------------------|------------------------------------|
| Mean           | 52.3                            | 54.46                              |
| Std. Deviation | 19.153                          | 18.591                             |
| Median         | 60                              | 55                                 |
| Min            | 17                              | 24                                 |
| Max            | 78                              | 92                                 |

CR - carbapenem-resistant, CS carbapenem-susceptible

Table 2. Hospital-acquired carbapenem-resistant and carbapenem-susceptible *K. pneumoniae* infection

| Hospital-acquired infection                 | Case, N (%) | Control, N (%) |
|---------------------------------------------|-------------|----------------|
| Catheter associated bloodstream infection   | 3 (15.0%)   | 3 (11.5%)      |
| Catheter associated urinary tract infection | 0           | 8 (30.8%)      |
| Ventilator associated pneumonia             | 15 (75.0%)  | 11 (42.3%)     |
| Surgical site infection                     | 2 (10.0%)   | 4 (30.4%)      |
| Total                                       | 20          | 26             |

CR Kp - carbapenem-resistant *K. pneumoniae*, CS Kp carbapenem-susceptible *K. pneumoniae*

Table 3. Characteristics of the patients with carbapenem-resistant and carbapenem-susceptible *K. pneumoniae* infection

| Characteristic                           | CR Kp, N (%) | CS Kp, N (%) | OR (95% CI)           | p      |
|------------------------------------------|--------------|--------------|-----------------------|--------|
| Male                                     | 18 (90%)     | 16 (61.5%)   | 5.625 (1.068-29.609)  | 0.043  |
| Antibiotic use                           | 19 (95.0%)   | 17 (65.4%)   | 10.059 (1.152-87.849) | 0.028  |
| Carbapenems                              | 11 (55.0%)   | 6 (23.1%)    | 4.074 (1.146-14.482)  | 0.035  |
| 3 <sup>rd</sup> generation cephalosporin | 13 (65.0%)   | 8 (30.8%)    | 4.179 (1.209-14.441)  | 0.036  |
| <b>Invasive procedure</b>                |              |              |                       |        |
| Mechanical ventilation                   | 19 (95.0%)   | 10 (38.5%)   | 30.4 (3.504-263.752)  | 0.0003 |
| Nasogastric tube                         | 18 (90.0%)   | 9 (34.6%)    | 17.0 (3.202-90.257)   | 0.0002 |
| Central venous catheter                  | 19 (95.0%)   | 17 (65.4%)   | 10.06 (1.152-87.849)  | 0.028  |
| Urinary catheter                         | 17 (85.0%)   | 22 (84.6%)   | 1.03 (0.203-5.234)    | 1      |
| Surgery                                  | 15 (75.0%)   | 14 (53.8%)   | 2.57 (0.720-9.178)    | 0.218  |
| Dialysis                                 | 3 (15.0%)    | 2 (7.7%)     | 2.12 (0.319-14.074)   | 0.639  |

l'Etoile, France) were determined with the Etest.

For the first time CR *K. pneumoniae* isolates were screened for the presence of KPC (class A), VIM, IMP, NDM (class B) and OXA (class D) carbapenemase in a multiplexed polymerase chain reaction (PCR).

#### Definitions

Case – patients (>16 years old) with hospital-acquired CR *K. pneumoniae* infection is defined as identification that occurs 48 hours or more after hospital admission;

Control – patients (>16 years old) with hospital-acquired carbapenem-susceptible (CS) *K. pneumoniae* infection is defined as identification that occurs 48 hours or more after hospital admission.

**Results and their discussion.** Totally, 46 cultures of *K. pneumoniae* were isolated. Among them 20 (43.5%) were resistant to carbapenems, 26 (56.5%) were sensitive. In patients with CR *K. pneumoniae* infection mean and median ages were 52.3±19.153 and 60, in patients with CS *K. pneumoniae* infection - accordingly, 54.46±18.591 and 55 (Table 1). Majority of patients as with CR *K. pneumoniae*, so with CS *K. pneumoniae* were male (90% and 61.5%).

Most frequently CR *K. pneumoniae* cultures were isolated in patients with ventilator associated pneumonia (75%). There was no CR *K. pneumoniae* culture isolated in cases of catheter as-

sociated urinary tract infections (Table 2).

Antibiotics were used in 95% vs. 65.4% in the case and in of control groups (OR 10.059, 95% CI 1.152-87.849, p=0.028); carbapenem – 55% vs. 23.1% (OR 4.074, 95% CI 1.146-14.482, p=0.028), 3<sup>rd</sup> generation cephalosporin 65% vs. 30.8% (OR 4.179, 95% CI 1.209-14.441, p=0.036).

Main risk factors of carbapenem-resistance from invasive procedures were: mechanical ventilation 95% vs. 38.5% in the case and control groups (OR 30.4, 95% CI 3.504-263.752, p=0.0003), nasogastric tube – 90% vs. 34.6% (OR 17.0, 95% CI 3.202-90.257, p=0.0002) and central venous catheter - 95% vs. 65.4% (OR 10.06, 95% CI 1.152-87.849, p=0.028). Urinary catheter was used in 85% vs. 84.6% in the case and control groups (OR 1.03, 95% CI 1.03-5.234, p=1). Association between urinary catheter and nosocomial CR *K. pneumoniae* was not determined, that fact can explain no cases of catheter associated urinary tract infection.

Our study like previous studies [1, 5, 27] showed, that main risk factors of nosocomial CR *K. pneumoniae* from invasive procedures were mechanical ventilation nasogastric, nasogastric tube and central venous catheter. With the mentioned risk-factors can be explained frequent cause of ventilator associated pneumonia and catheter associated bloodstream infections by CR *K. pneumoniae*.

In our study, risk factor for CR *K. pneumoniae* was previous use of antibiotics, especially carbapenem and 3<sup>rd</sup> generation cephalosporin.

According to our study data predominant is OXA-producing *K. pneumoniae* (65%), though KPC-producing *K. pneumoniae* is also frequent (25%), NDM-producing *K. pneumoniae* is relatively rare (5%). KPC- and OXA-48-producing *K. pneumoniae* are widespread in Europe. In 2015 seven European countries reported of regional or inter-regional spread NDM-producing *Enterobacteriaceae* [2]. In Georgia's neighbor Turkey carbapenemase-producing *K. pneumoniae* are endemic and predominantly produce OXA-48 [11].

**Conclusion.** Understanding the molecular evolution of CR *K. pneumoniae* will lead to improved surveillance and control of the spread of carbapenems resistance. To prevent dissemination of CR *K. pneumoniae* national plan for the preparedness to CR *K. pneumoniae* should be developed and implemented, infection prevention and control should be toughened in medical facilities, and active screening for early detection of patients with CRE should be done.

**Acknowledgment.** The research study described in this article was conducted in the frame of the International Science and Technology Center (ISTC) project #G-2229.

## REFERENCES

1. Akgul F, Bozkurt I, Sunbul M, Esen S, Leblebicioglu H. Risk factors and mortality in the carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection: case control study // *Pathog Global Health*. 2016;110:321–5.
2. Albiger B, Glasner C, Struelens MJ, Grundmann H, Monnet DL. Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Euro Surveill*. 2015; 20(45).
3. Bratu S, Landman D et al. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium // *Arch Intern Med*, 2005; 165:1430–5.
4. Broberg CA, Palacios M, Miller VL. *Klebsiella*: a long way to go towards understanding this enigmatic jet-setter. *F1000Prime Rep* 2014; 6:64.
5. Candevir Ulu A, Kurtaran B, Inal AS, Komur S, Kibar F, et al. Risk factors of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection: a serious threat in ICUs // *Med Sci Monit*. 2015;21:219–24.
6. Cuzon G, Ouanich J, Gondret R, Naas T, Nordmann P. Outbreak of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in France // *Antimicrob Agents Chemother*. 2011; 55(5):2420–3.
7. Daikos GL, Markogiannakis A, Souli M, Tzouvelekis LS. Bloodstream infections caused by carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: a clinical perspective // *Expert Rev Anti Infect Ther* 2012; 10:1393–1404.
8. Girmenia C., Serrao A., Canichella M. Epidemiology of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* infections in mediterranean countries // *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 2016; 8(1): 1-9.
9. Hoxha A, Karki T, Giambi C, Montano C, Sisto A, et al. Attributable mortality of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections in a prospective matched cohort study in Italy, 2012–2013 // *J Hosp Infect*. 2015;92(1):61–6.
10. Jacobs DM, Safr MC, Huang D, Minhaj F, Parker A, Rao GG. Triple combination antibiotic therapy for carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: a systematic review // *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 2017; 16:76.
11. Labarca J, Poirel L, Ozdamar M, Turkoglu S, Hakko E, Nordmann P. KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*, finally targeting Turkey. *New Microbes New Infect*. 2014; 2(2):50–1.
12. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance // *Clin Microbiol Infect*, 2012; 18:268–281.
13. Magiorakos AP, Suetens C, Monnet DL, et al.: The rise of carbapenem resistance in Europe: just the tip of the iceberg? *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 2013; 2:6.
14. Marchaim D, Chopra T, Perez, F, et al. Outcomes and genetic relatedness of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* at Detroit medical center // *Infect. Control Hosp. Epidemiol*. 2011; 32, 861–871.
15. Matuschek E, Brown DFJ, Kahlmeter G. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories // *Clin Microbiol Infect*, 2014; 20: O255–O266.
16. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases // *Lancet Infect Dis*. 2013; 13:785–96.
17. Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria // *Lancet Infect Dis*. 2009;9:228–236.
18. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm! // *Trends Mol Med*. 2012;18(5):263–72.
19. Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers in *Enterobacteriaceae* worldwide // *Clin Microbiol Infect* 2014; 20:821–30.
20. Pereira GH, Garcia DO, Mostardeiro M, Fanti KSVN, Levin AS. Outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: two-year epidemiologic follow-up in a tertiary hospital // *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 2013; 108 (1): 113–115.
21. Pitout JDD, Nordmann P, Poirel L. Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*, a Key Pathogen Set for Global Nosocomial Dominance // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2015; 59 (10): 5873–5884.
22. Schwaber MJ, Lev B, Israeli A, et al. Containment of a Country-wide Outbreak of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in Israeli Hospitals via a Nationally Implemented Intervention // *Clinical Infectious Diseases*, 2011; 52(7):848–855.
23. Tsakris A, Kristo I, Poulou A, Markou F, Ikonomidis A, Pournaras S. First occurrence of KPC-2-possessing *Klebsiella pneumoniae* in a Greek hospital and recommendation for detection with boronic acid disc tests // *J Antimicrob Chemother*, 2008; 62; 1257–60.
24. Vardakas KZ, Matthaiou DK, Falagas ME, Antypa E, Koteli A, Antoniadou E. Characteristics, risk factors and outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infections in the intensive care unit // *J Infect*. 2015;70(6):592–9.
25. Woodford N, Zhang J, Warner M, et al. Arrival of *Klebsiella pneumoniae* producing KPC carbapenemase in the United Kingdom // *J Antimicrob Chemother*. 2008; 62: 1261–4.
26. Xu L, Sun X, Ma X. Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* // *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2017;16:18.
27. Zheng X, Wang J, Xu W, Xu J, Hu J. Clinical and molecular characteristics, risk factors and outcomes of Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in the intensive care unit // *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 2017; 6:102.

## SUMMARY

### EPIDEMIOLOGY OF CARBAPENEM-RESISTANT *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* IN INTENSIVE CARE UNITS OF MULTIPROFILE HOSPITALS IN TBILISI, GEORGIA

<sup>1,2</sup>Tsereteli M., <sup>2</sup>Sidamonidze., <sup>2</sup>Tsereteli D., <sup>2</sup>Malania L.,  
<sup>1</sup>Vashakidze E.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, Department of Infectious Diseases; <sup>2</sup>National Center for Disease Control and Public Health, Tbilisi, Georgia

*Klebsiella pneumoniae* is one of the most frequent cause of health care associated infections. Dissemination of carbapenem-resistant (CR) *K. pneumoniae* infections significantly trend toward patient morbidity, length of stay and mortality.

The aim of this research was to study prevalence and risk-factors of CR *K. pneumoniae* in Georgia.

To identify risk factors for hospital-acquired carbapenem-resistant (CR) *K. pneumoniae*, from January 1, 2017 through February 28, 2018, an observational case-control study was performed in the ICUs of two tertiary-care hospitals in Tbilisi (High Medical Technology Centre and Ghudushauri National Medical Centre). All isolated *K. pneumoniae* cultures were tested on antibiotic susceptibility tests (AST). AST was performed by disk diffusion methods and E-test for MIC detection. For the first time CR *K. pneumoniae* isolates were screened for the presence of KPC, VIM, IMP, NDM and OXA carbapenemase in a PCR.

Totally, 46 cultures of *K. pneumoniae* were isolated. Among them 20 (43.5%) were resistant to carbapenems. Most frequently CR *K. pneumoniae* cultures were isolated in patients with ventilator associated pneumonia (75%). Main risk factors of carbapenem-resistant from invasive procedures were: mechanical ventilation (OR 30.4, 95% CI 3.504-263.752,  $p=0.0003$ ), nasogastric tube (OR 17.0, 95% CI 3.202-90.257,  $p=0.0002$ ), central venous catheter (OR 10.06, 95% CI 1.152-87.849,  $p=0.028$ ) and previous use of antibiotics (OR 10.059, 95% CI 1.152-87.849,  $p=0.028$ ), especially carbapenem and 3rd generation cephalosporin. Predominant is OXA-producing *K. pneumoniae*, NDM-producing *K. pneumoniae* is relatively rare. To control dissemination of CR *K. pneumoniae* infection prevention and control should be toughened in medical facilities, and screening for early detection of patients with CR *K. pneumoniae* should be done.

**Keywords:** *Klebsiella pneumoniae*, Resistance, Carbapenems, Multiplex Polymerase Chain Reaction.

## РЕЗЮМЕ

### ЭПИДЕМИОЛОГИЯ КАРБАПЕНЕМ-РЕЗИСТЕНТНЫХ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* В ОТДЕЛЕНИЯХ РЕАНИМАЦИИ МУЛЬТИПРОФИЛЬНЫХ БОЛЬНИЦ, ТБИЛИСИ, ГРУЗИЯ

<sup>1,2</sup>Церетели М.Д., <sup>2</sup>Сидамонидзе К.М., <sup>2</sup>Церетели Д.Г.,  
<sup>2</sup>Маланья Л.О., <sup>1</sup>Вашакидзе Э.Т.

<sup>1</sup>Тбилисский государственный медицинский университет, департамент инфекционных заболеваний; <sup>2</sup>Национальный центр по контролю заболеваний и общественного здравоохранения, Тбилиси, Грузия

*K. pneumoniae* является одной из наиболее частых причин инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

© GMN

Распространение инфекций, вызванных устойчивым к карбапенемам *K. pneumoniae*, оказывает значительное влияние на заболеваемость пациентов, продолжительность пребывания в стационаре и смертность.

Целью исследования явилось изучение распространения и факторов риска карбапенем-резистентных *K. pneumoniae* в Грузии.

Для выявления риск-факторов карбапенем-резистентных (КР) *K. pneumoniae* с 1 января 2017 года по 28 февраля 2018 года в отделениях реанимации двух мультипрофильных больниц г. Тбилиси - Центр высоких медицинских технологий и Национальный медицинский центр им. Гудушаури, проведено исследование методом случай-контроль. Все изолированные штаммы *K. pneumoniae* протестированы на чувствительность к антибиотикам диско-диффузионным методом и Е-тестом. Впервые в Грузии изоляты КР *K. pneumoniae* подвергались скринингу на присутствие карбапенемаз: KPC, VIM, IMP, NDM и OXA.

Выделено 46 изолятов *K. pneumoniae*. Среди них 20 (43.5%) были резистентны к карбапенемам. Чаще всего штаммы КР *K. pneumoniae* выделялись у пациентов с вентилятор-ассоциированной пневмонией (75%). Основными факторами риска КР *K. pneumoniae* были: искусственная вентиляция легких (OR 30.4, 95% CI 3.504-263.752,  $p=0.0003$ ), назогастральный зонд (OR 17.0, 95% CI 3.202-90.257,  $p=0.0002$ ), центральный венозный катетер (OR 10.06, 95% CI 1.152-87.849,  $p=0.028$ ) и применение антибиотиков (OR 10.059, 95% CI 1.152-87.849,  $p=0.028$ ), особенно карбапенем и цефалоспорины III поколения. Среди изолятов КР *K. pneumoniae* преобладают OXA-продуцирующие; NDM-продуцирующий - встречается относительно редко.

Для предотвращения распространения КР *K. pneumoniae* необходимо усилить инфекционный контроль в медицинских учреждениях и проводить скрининг с целью раннего выявления пациентов с КР *K. pneumoniae*.

## რეზიუმე

კარბაპენემ-რეზისტენტული *Klebsiella pneumoniae*-ს ეპიდემიოლოგია მულტიპროფილური საავადმყოფოების რეანიმაციულ განყოფილებებში, თბილისი, საქართველო

<sup>1,2</sup>წერეთელი, <sup>2</sup>კ. სიდამონიძე, <sup>2</sup>დ. წერეთელი,  
<sup>2</sup>ლ. მალანია, <sup>1</sup>ე. ვაშაკიძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ინფექციური სნეულებების დეპარტამენტი; <sup>2</sup>დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრი, თბილისი, საქართველო

*K. pneumoniae* სამედიცინო მომსახურებასთან ასოცირებული ინფექციების ერთ-ერთი ყველაზე ხშირი გამომწვევაა. კარბაპენემ-რეზისტენტული (CR) *K. pneumoniae*-ს მიერ გამოწვეული ინფექციების გავრცელება მნიშვნელოვან გავლენას ახდენს პაციენტთა ავადობაზე, სტაციონარში დაყოვნებაზე და სიკვდილობაზე.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა საქართველოში CR *K. pneumoniae*-ს გავრცელებისა და რისკ-ფაქტორების შესწავლა.

CR *K. pneumoniae*-ს რისკ-ფაქტორების გამოსავლენად, 2017 წლის 1 იანვრიდან 2018 წლის 28 თებერვლის ჩათვლით, თბილისის ორი მულტიპროფილური კლინიკის (მაღალი სამედიცინო ტექნოლოგიების ცენტრი და ღუდუშაურის სახ. ეროვნული სამედიცინო

ცენტრი) რეანიმაციულ განყოფილებებში ჩატარდა კვლევა შემთხვევა-კონტროლის მეთოდით. შესწავლილია *K. pneumoniae*-ს გამოყოფილი კულტურების ანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობელობა დისკ-დიფუზიის მეთოდისა და E-ტესტის საშუალებით. პირველად საქართველოში გამოკვლეულია CR *K. pneumoniae*-ს კულტურები პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით KPC, VIM, IMP, NDM და OXA კარბაპენემ-რეზისტენტობაზე.

იზოლირებული იყო *K. pneumoniae*-ს 46 შტამი, მათ შორის 20 (43.5%) იყო კარბაპენემ-რეზისტენტული. ყველაზე ხშირად CR *K. pneumoniae*-ს შტამები გამოიყოფოდა ვენტილატორულ-ასოცირებული პნევმონიით დაავადებული პაციენტებისაგან. CR *K. pneumoniae*-ს ძირითად რისკ-ფაქტორებს წარმოადგენენ ფილტ-

ვების ხელოვნური ვენტილაცია (OR 30.4, 95% CI 3.504-263.752,  $p=0.0003$ ), ნაზოგასტრალური ზონდი (OR 17.0, 95% CI 3.202-90.257,  $p=0.0002$ ), ცენტრალური ვენური კათეტერი (OR 10.06, 95% CI 1.152-87.849,  $p=0.028$ ) და ანტიბიოტიკების მიღება (OR 10.059, 95% CI 1.152-87.849,  $p=0.028$ ), განსაკუთრებით კარბაპენემის და მესამე თაობის ცეფალოსპორინის. CR *K. pneumoniae*-ს იზოლატებს შორის ყველაზე გავრცელებულია OXA-მარპროდუცირებელი, შედარებით იშვიათია NDM-მარპროდუცირებელი.

CR *K. pneumoniae*-ს გავრცელების კონტროლისთვის აუცილებელია სამედიცინო დაწესებულებებში ინფექციების კონტროლის გაძლიერება და პაციენტების სკრინინგი CR *K. pneumoniae*-ს ადრეულ გამოსავლენად.

## INTERACTIONS OF RANKL, OSTEOPROTEGERIN AND ADIPOKINES IN REGULATION OF BONE REMODELING IN EXPERIMENTAL CHRONIC KIDNEY FUNCTION DISORDER

<sup>1</sup>Goncharova A., <sup>2</sup>Pavlov S., <sup>3</sup>Kumetchko M., <sup>3</sup>Berezniakova M., <sup>3</sup>Yeriyomenko R.

<sup>1</sup>Kharkov National Medical University; <sup>2</sup>Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education;

<sup>3</sup>National University of Pharmacy, Ukraine

Bone and kidneys have close physiological relations. So, if initial pathological changes are in one of them, other is being involved in the pathogenesis. Kidney impairment causes bone remodeling disorders and osteoporosis development.

RANK-RANKL-osteoprotegerin (OPG) axis is considered as a key direction in the cytokine network of regulatory signaling pathways of bone remodeling. Receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand (RANKL) enhances osteoclast resorptive activity in bone. It is expressed in osteoblasts, stromal cells, T-lymphocytes and other cells. OPG is RANKL receptor trap and its function in bone remodeling is to inhibit RANKL activity by blocking its binding with RANK thus preventing osteoclast differentiation [26]. RANKL increase usually occurs in bone loss [33].

RANKL and OPG are the regulators not only of bone turnover, but also of bone-renal and bone-immune cross talks [31, 32], vascular calcification and even development of metastases in cancer [14, 15, 24, 34]. There is growing evidence that these molecular markers are suggested to be the triggers in cytokine networks, which perform interrelations between bone, kidneys and vasculature [23, 37]. It is possible that in certain circumstances they are able to switch the systems mentioned above into the mode which can result in the development of pathology.

Increased RANKL level in blood and its expression in cells have been revealed in kidney disorders [36]. These three systems – bone, kidney and vasculature – interact with each other via the regulatory triade RANK-RANKL-OPG axis and the character of RANKL participation is inflammatory. RANKL is the TNF family member and its activity has the same direction as TNF $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  and other proinflammatory cytokines [4, 7]. The role of inflammation in the bone-vascular axis was shown in chronic kidney disease (CKD) [30]. It is one of the risk factors of bone disorders and osteoporosis development and is closely connected with acute kidney injury and renal insufficiency in its pathogenesis. These are two interconnected syndromes, which mechanisms of transition are under consideration [9, 11, 22]. Experimental acute kidney injury initiates CKD in rats [1].

Studying of the role of RANKL and OPG and their relationship in regulation of different parameters of homeostasis is of great importance for understanding of their biological role and for new possibilities of correction of many pathological states, especially such as CKD and acute kidney injury.

Besides this, RANKL is a link of a signaling pathway, which is connected with adipokines. Adipokines are also involved in the bone remodeling regulation. Now their role is studied in connection with metabolic syndrome, obesity and diabetes mellitus, which also are etiologic factors of osteoporosis development. Adiponectin is the adipokine, which provides insulin sensitivity. The data on the nature of its influence on bone remodeling are controversial, insulin and insulin growth-factor receptors are implicated in the activation of Akt and extracellular-signal-regulated kinases which may be the mechanism of RANKL function [35]. Visfatin has insulin-mimetic properties, correlating with markers of systemic inflammation and is connected with vascular damage [25].

The major goal of this study was to investigate the role of RANKL, OPG and adipokines adiponectin and visfatin and their relationships in experimental chronic kidney function disorder.

**Material and methods.** Two groups of 9-month-old female rats (control (20 animals) and experimental (20 animals)) weighing  $210 \pm 30$  g were used in this study. The maintenance, use, and treatment of all animals in this study were in accordance with the principles of the European Convention on the Protection of Vertebrate Animals (Strasbourg, 1986). The animals were given standard laboratory feed and water and kept in a room with the temperature of  $22 \pm 4$  °C and the light on from 7:00 to 19:00.

It was created an acute kidney injury with a single intramuscular 50% glycerol injection in dose of 1.0 ml/100 g weight of the animal as described [1]. In this experimental model chronic impairment of renal excretory function develops in 8 weeks after glycerol injection.

The control group consisted of intact animals. Blood samples were collected through heart puncture of the narcotized with

chloroform rats before being sacrificed with excess amounts of anesthetic after 12 weeks on glycerol injection.

Chronic kidney function disorder was verified morphologically by hematoxylin–eosin and Van Hizon staining. The impairment of bone remodeling was controlled by direct measurements of the bone density which was calculated as a ratio between the bone mass (g) and the bone volume (cm<sup>3</sup>). The bone volume was measured by the liquid replaced [2].

Serum RANKL was measured using an ampli-sRANKL ELISA (Biomedica (Austria)). Serum osteoprotegerin was measured using an osteoprotegerin ELISA (eBioscience (Austria)). Serum adiponectin was measured using an adiponectin ELISA (BioVendor (Brno, Czech Republic)), and serum visfatin was measured using a visfatin ELISA (RayBio set (the USA)).

All the experimental data are presented as the mean±SEM. The statistical analyses were performed by Statistica 6.0 programs. The significance was considered at  $p < 0.05$ .

**Results and their discussion.** Though CKD is a result of many underlying risk factors its common features include renal interstitial fibrosis, tubular epithelial cell loss through apoptosis, glomerular damage, and renal inflammation [21]. The basis of acute kidney injury are dystrophic and necrotic processes in the proximal and distal tubules epithelium, and the transition to the stage of chronic kidney disease is characterized by the formation of interstitial nephritis and nephrosclerosis [1]. CKD is characterized by reduction in glomerular filtration rate (GFR), albuminuria, and structural or functional abnormalities of the kidney [17]. In glycerol injection kidney injury model such structural and functional abnormalities of the kidney (reduction in GFR, blood and urine creatinin increase) were described [1]. Administration of glycerol results at first in dystrophic changes in tubules and glomerular hypertrophy and reduction of the glomerular sizes, tubulointerstitial fibrosis and glomerulosclerosis at a stage of chronic kidney disease which develops in 8 weeks after glycerol injection as it was said before.

Lesion of bone remodeling was demonstrated in rats with chronic kidney disorder. We observed decreasing of hip bone density ( $1.43 \pm 0.07$  g / cm<sup>3</sup> in rats at 12 weeks after 50 % glycerol injection, comparing with rats of control group with  $1.62 \pm 0.04$  g / cm<sup>3</sup> ( $p < 0.05$ )).

Kidney impairment results in changes of cytokines profile in experimental animals which are expressed both in cytokines levels increase and the changes of the correlations between them and the directions of their effects.

Chronic kidney function disorder in rats increased RANKL, OPG and adipokines levels comparing with control group: RANKL level was increased on 38,1 %, OPG – 31 %, adiponectin – on 15 % and visfatin in 1.98 times (Table).

Studying of dependence of these cytokines revealed existence of the weak positive correlation of RANKL with adiponectin levels ( $r = 0.30$ ), weak positive correlation of RANKL with vis-

fatin levels ( $r = 0.36$ ) in the intact animals of the control group. This fact demonstrates that the effects of these cytokines are unidirectional. It was no correlation of OPG with RANKL and both adipokines in the intact animals.

Medium strength correlation of RANKL level with adiponectin one and change of its direction ( $r = -0.63$ ), slight increase of correlation strength ( $r = 0.48$ ) in RANKL with visfatin level was found in rats with chronic kidney function disorder. Also, it was revealed appearance of medium strength positive correlation of RANKL with OPG level ( $r = 0.59$ ) and medium strength negative correlation ( $r = -0.79$ ) of adiponectin with visfatin level in rats with chronic kidney function disorder model.

These changes can reflect engagement of certain links of adaptation mechanisms in the functional system of maintaining balance of bone remodeling.

Mechanism balancing bone formation and resorption has both sides regulating levers. RANKL is a stimulator of the latter one and the opposite side is presented not by a certain cytokine but the totality of them. Their net effect on the bone formation should be expressed in changes of osteoblast activity. RANKL regulates the process that underlies the control loop and can be enhanced or reduced by the work of other regulatory links probably connected by feedback mechanisms with each other. They are OPG and adipokines. OPG represents an independent direction unlike the system of adipokines.

Under physiological conditions OPG contribute compensatory effects into bone turnover, opposite to RANKL effects. It also affects the normal state of the vascular wall by inhibiting vascular calcification and modulating inflammation. In situation of pathology especially CKD it takes part in functional adaptations leading to the progression of disease. Circulating OPG in humans is associated with the presence of CKD. It was increased in such patients and has the potential of inducing kidney damage. Here the inflammation may be the underlying mechanism in OPG increase in CKD as OPG production is under the regulation by proinflammatory cytokines [6, 18].

These facts are consistent with our results showing increase of OPG in CKD rats. It may be interpreted as compensatory OPG effect to damaging of vessels by inflammation if latter is primary process in the sequence of regulatory events (this issue is not yet clear) and to vascular calcification.

Also, in chronic kidney disorder increase of OPG level may be interpreted as compensatory effect of RANKL increase because OPG is a decoy receptor for RANKL and prevents bone resorption strengthening. In control group resorption processes are balanced with bone formation, so this mechanism of homeostasis restoring is not necessary.

Thus, the modeling of chronic kidney disorder causes inflammatory processes in the kidneys, which in turn can activate intracellular integrating mechanisms which are the triggers of the majority of the signaling pathways regulating many metabolic

Table. Levels of cytokines in RANKL-RANK-osteoprotegerin signaling pathway and adipokines in rats with the chronic kidney function disorder model

| Cytokines              | Group        |                                  |
|------------------------|--------------|----------------------------------|
|                        | Control      | Chronic kidney function disorder |
| RANKL, pmol/L          | 0.131±0.033  | 0.184±0.071*                     |
| Osteoprotegerin, pg/mL | 21.588±0.763 | 28.338±1.223*                    |
| Adiponectin, mkg/mL    | 0.663±0.008  | 0.767±0.013*                     |
| Visfatin, ng/mL        | 141.606±8.69 | 279.935±10.153*                  |

\* - statistically different ( $p < 0.05$ ) compared to control group

processes. In particular, we can talk about the NF- $\kappa$ B signaling pathway activated by RANKL, which is involved in the processes of inflammation and bone resorption. Fact of revealed appearance of positive correlation of RANKL with OPG level can reflect turning on of certain may be additional or indirect regulating pathways where these cytokines are in the central controlling positions.

Complex interrelations of bone and vascular system don't allow to define what is the cause and what is the consequence: whether RANKL and OPG are independent of vascular calcification processes or they are the reason of these processes and what is the role of inflammation. RANKL can directly stimulate vascular calcification and OPG inhibits it [20]. RANK- RANKL – OPG axis can regulate bone turnover, inflammatory processes and vascular calcification in CKD by activation of simultaneous work of certain signaling pathways and this mechanism is staying unclear yet.

The nature of the established relationship between the RANKL and adipokines in chronic kidney disorder model depends, probably, on various reasons. In this case, inflammatory reactions initiated by renal insufficiency became the cause of the activation of bone resorptive processes. The signaling NF- $\kappa$ B pathway is the integrating mechanism connecting inflammatory and bone resorptive processes. Inflammatory reactions possibly deepen the background physiological signaling activity of the NF- $\kappa$ B. Thus, inflammatory osteolysis is induced [3]. In their turn, osteoblasts increase the RANKL production under the positive feedback principle. That is proved by the results obtained. Apparently, the increased level of visfatin is connected with inflammatory reactions. As described above, the inflammatory agents increase the visfatin production by the macrophages [8].

Direct physiological correlation between adiponectin and RANKL levels discovered in the intact rats changes its direction under the conditions of inflammation.

There are the cross-links between adiponectin and RANKL / RANK signaling pathways in the osteoclasts. It is well known that adiponectin inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis and suppresses enhanced by RANKL expression of osteoclast regulators including NFAT2, TRAF6, cathepsin K and tartrate resistant acid phosphatase, and increases osteoclasts differentiation and activity. Adiponectin inhibitory effect on osteoclasts is induced by APPL1- mediated suppression of RANKL-dependent Akt 1 activity. APPL1 is the key adapter protein that interacts with adiponectin receptors and mediates in adiponectin signaling and coordination of various signaling pathways. Akt 1 is a protein kinase. Its increased activity supports osteoclast survival and differentiation. A decrease in Akt 1 activity is the main cause of adiponectin mediated inhibition of osteoclast formation [28].

According to [19], adiponectin may normally provide a regenerating effect on the bone. It has a positive modulatory effect on osteoblasts, inhibits differentiation of macrophage precursors of osteoclasts and suppresses the resorptive activity of osteoclasts.

Thus, adiponectin normally has the multidirectional effects on the bone metabolism. At the same time the realization of these effects takes place at the different levels: from the cellular to the system-level. Adiponectin is able to regulate the same function in two opposite ways depending on the site of its action. It has partially opposite to leptin effect on the sympathetic nervous system, that is adiponectin antagonizes leptin regulation of the sympathetic tone. Adiponectin decreases the sympathetic tone, thereby increasing bone mass and decreasing the energy expenditure. It takes part in signaling in neurons of the locus coeruleus

through FoxO1. Locally adiponectin signals to the osteoblasts, thereby preventing their proliferation and promotes their apoptosis, thus reducing bone mass and circulating osteocalcin level. Adiponectin performs this function regardless of known receptors and signaling pathways due to decreasing of FoxO1 activity in the PI3 kinase - FoxO1 way [13].

Most likely, RANKL may realize its effect partially regardless of adiponectin and to some extent they act cooperatively, as RANKL is produced by osteoblasts, and adiponectin may down-regulate RANKL because its place is above the RANKL in the signaling cascade.

In the intact animals the relationship between adiponectin and RANKL were unidirectional, that is adiponectin probably stimulated the expression of RANKL in osteoblasts, but the process was balanced with the stimulation of osteoblast proliferation and differentiation. In the chronic kidney function disorder model opposite effects of these cytokines may indicate the predominance of another adiponectin effect on osteoblasts, when it decreases FoxO1 activity in PI3 kinase - FoxO1 signaling pathway. Thus, osteoblast proliferation is inhibited and apoptosis is activated.

The impairments caused by kidney disease can change the fate of specific signaling pathways that are involved in the regulation of the bone cells activity. We can suggest that the mode of the RANKL-adiponectin bone regulation mechanisms functioning is changed in chronic kidney function disorder model. Adiponectin can have both direct and indirect effects on bone remodeling regulation in this pathology. But possibly adiponectin has rather opposite to RANKL effect here.

In chronic kidney function disorder model the appearance of a negative correlation between the levels of adiponectin and visfatin and change of correlation direction between RANKL level and adiponectin one can evidence visfatin effect has the same direction as RANKL. Visfatin is involved in regulatory processes of tissue remodeling through the development of inflammatory response likely via the mechanisms of regulation of central transcription factor – NF- $\kappa$ B [16]. It can directly impair vascular reactivity and is connected with endothelial dysfunction [27, 29]. Increased visfatin level is associated with GFR decline rate and future progression of kidney disease in nondiabetic hypertensive patients with preserved renal function [10]. Thus, it is possible to suggest that visfatin in conditions of chronic kidney disorder may have rather damaging effect as on bone remodeling so on the endothelium. Although some data state that it inhibits the early stages of osteoclastogenesis by downregulating RANKL-dependent early signaling pathways JNK, Akt and its downstream target GSK3 $\beta$ , Btk and PLC $\gamma$ 2 [5]. But the data are not connected with visfatin role in CKD.

So, inflammatory responses in the chronic kidney disorder model induce the increase in resorptive activity which is stimulated by an increased RANKL level. Also, the increase in adiponectin and visfatin takes place. The character of the relationship between adiponectin level and osteoclasts activity changes. Osteoprotegerin and RANKL levels, as well as adiponectin and visfatin levels become bounded together in this disorder.

Thus, chronic kidney disorder model causes some changes in regulatory cytokines interrelationships. RANKL and visfatin acts unidirectional, more likely as damaging factors because of their inflammatory character. OPG has the same direction of action and may also impair vascular wall state but compensate the RANKL effect of bone resorption. Adiponectin in chronic kidney disorder model has complex role opposite to the above-mentioned cytokines, that is in accordance with literature [12].

**Conclusion.** Chronic kidney disorder model results in the in-

crease in RANKL / RANK / osteoprotegerin signaling pathway cytokines and adipokines and in certain changes of their relationships and effects direction. Regulatory mechanisms of bone remodeling and vascular wall state are disturbed by proinflammatory directed effects of RANKL and visfatin, controversial effects of osteoprotegerin and adiponectin bone preserving effects.

## REFERENCES

1. Кондаков І.І., Топчій І.І., Кірієнко О.М. (2013) Вплив гліцеролу на функціонально-морфологічні показники нирок при моделюванні гострої та хронічної ниркової недостатності у щурів // Український журнал нефрології та діалізу. № 3 (39). 14–20.
2. Подковкин В.Г., Иванов Д.Г., Иванов Г.А. (2008) Влияние постоянного магнитного поля на состояние костной ткани крыс с повышенным уровнем резорбции // Успехи современного естествознания. № 7. 13–16.
3. Abu-Amer Y (2013). NF-kappaB signaling and bone resorption // *Osteoporos Int* 24 (9) 2377–2386.
4. Amarasekara DS, Yun H, Kim S, Lee N, Kim H, Rho J. (2018) Regulation of Osteoclast Differentiation by Cytokine Networks // *Immune Netw.* 7;18 (1):e8.
5. Baek J. M., Ahn S.-J., Cheon Y.-H., Lee M. S., Oh J., Kim J.-Y. (2017). Nicotinamide phosphoribosyltransferase inhibits receptor activator of nuclear factor-κB ligand-induced osteoclast differentiation in vitro // *Molecular Medicine Reports*, 15(2), 784–792.
6. Bernardi S., Toffoli B., Bossi F., Candido R., Stenner E., Carretta R., Barbone F., Fabris B. (2017). Circulating osteoprotegerin is associated with chronic kidney disease in hypertensive patients // *BMC Nephrology*, 18, 219.
7. Cafiero C, Gigante M, Brunetti G, Simone S, Chaoul N, Oranger A, Ranieri E, Colucci S, Pertosa GB, Grano M, Gesualdo L. (2018) Inflammation induces osteoclast differentiation from peripheral mononuclear cells in chronic kidney disease patients: crosstalk between the immune and bone systems // *Nephrol Dial Transplant.* 1; 33 (1), 65-75.
8. Dahl TB, Yndestad A, Skjelland M, Øie E, Dahl A, Michelsen A, Damås JK, Tunheim SH, Ueland T, Smith C, et al. (2007). Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization // *Circulation* 115 (8):972-80.
9. Fiorentino M, Grandaliano G, Gesualdo L, Castellano G. (2018) Acute Kidney Injury to Chronic Kidney Disease Transition. *Contrib Nephrol.* 193:45-54.
10. Hsu C.-Y., Huang P.-H., Chen T.-H., Chiang C.-H., Leu H.-B., Huang C.-C., Chen J.-W., Lin S.-J. (2016). Increased Circulating Visfatin Is Associated With Progression of Kidney Disease in Non-Diabetic Hypertensive Patients // *American Journal of Hypertension*, 29(4), 528–536.
11. Hsu RK, Hsu CY. (2016) The Role of Acute Kidney Injury in Chronic Kidney Disease // *Semin Nephrol.* 36(4): 283-92.
12. Jia T, Carrero JJ, Lindholm B, Stenvinkel P. (2012) The complex role of adiponectin in chronic kidney disease // *Biochimie.* 94(10):2150-6.
13. Kajimura D, Lee HW, Arteaga-Solis E, Ferron M, Zhou B, Clarke CJ, Hannun YA, DePinho RA, Guo XE, et al. (2013). Adiponectin regulates bone mass via opposite central and peripheral mechanisms through FoxO1 // *Cell Metab* 17 (6): 901-15.
14. Kawakami R, Nakagami H, Noma T, Ohmori K, Kohno M, Morishita R. (2016) RANKL system in vascular and valve calcification with aging // *Inflamm Regen.* 1;36:10.
15. Kurabayashi M. (2016) Interaction between bone and artery // *Clin Calcium.* Aug;26(8):1119-26. [Article in Japanese].
16. Laiguillon MC, Houard X, Bougault C, Gosset M, Nourissat G, Sautet A, Jacques C, Berenbaum F, Sellam J. (2014) Expression and function of visfatin (Namp1), an adipokine-enzyme involved in inflammatory pathways of osteoarthritis // *Arthritis Res Ther.* 31;16 (1):R38.
17. Levey AS, Eckardt K-U, Tsukamoto Y et al (2005). Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from kidney disease: improving global outcomes (KDIGO). *Kidney International* 67 (6): 2089-2100.
18. Lewis JR, Lim WH, Zhu K, Wong G, Dhaliwal SS, Lim EM, Ueland T, Bollerslev J, Prince RL. Elevated osteoprotegerin predicts declining renal function in elderly women: a 10-year prospective cohort study // *Am J Nephrol.* 2014;39(1):66-74.
19. Liu Y, Song CY, Wu SS, Liang QH, Yuan LQ, Liao EY (2013). Novel adipokines and bone metabolism // *Int J Endocrinol* 2013: 895045.
20. Lu, K.-C., Wu, C.-C., Yen, J.-F., & Liu, W.-C. (2014). Vascular Calcification and Renal Bone Disorders // *The Scientific World Journal*, 2014, 637065.
21. Mohammed-Ali Z, Cruz GL, Lu Ch, et al (2015). Development of a model of chronic kidney disease in the C57BL/6 mouse with properties of progressive human CKD // *BioMed Research International* vol 2015, Article ID 172302, 10 pages, doi:10.1155/2015/172302.
22. Nangaku M, Hirakawa Y, Mimura I, Inagi R, Tanaka T. (2017) Epigenetic Changes in the Acute Kidney Injury-to-Chronic Kidney Disease Transition // *Nephron.* 137 (4):256-259.
23. Peres LA, Pércio PP. (2014) Mineral and bone disorder and vascular calcification in patients with chronic kidney disease // *J Bras Nefrol.* Apr-Jun; 36(2):201-7.
24. Renema, N., Navet, B., Heymann, M.-F., Lezot, F., & Heymann, D. (2016). RANK–RANKL signalling in cancer // *Bioscience Reports*, 36(4), e00366.
25. Romacho T, Sánchez-Ferrer CF, Peiró C. (2013) Visfatin/ Namp1: an adipokine with cardiovascular impact // *Mediators Inflamm.*; 2013:946427. doi: 10.1155/2013/946427.
26. Sagalovsky S, Schonert M (2011). RANKL-RANK-OPG system and bone remodeling: a new approach on the treatment of osteoporosis // *Clin Exptl Pathol* 10 (2): 146–153.
27. Sun, L., Chen, S., Gao, H., Ren, L., & Song, G. (2017). Visfatin induces the apoptosis of endothelial progenitor cells via the induction of pro-inflammatory mediators through the NF-κB pathway // *International Journal of Molecular Medicine*, 40(3), 637–646.
28. Tu Q, Zhang J, Dong LQ, Saunders E, Luo E, Tang J, Chen J (2011). Adiponectin inhibits osteoclastogenesis and bone resorption via APPL1-mediated suppression of Akt1// *J Biol Chem*; 286 (14): 12542–12553.
29. Vallejo, S., Romacho, T., Angulo, J., Villalobos, L. A., Cercas, E., Leivas, A., Bermejo, E., Carraro, R., Sánchez-Ferrer C. F., Peiró, C. (2011). Visfatin Impairs Endothelium-Dependent Relaxation in Rat and Human Mesenteric Microvessels through Nicotinamide Phosphoribosyltransferase Activity // *PLoS ONE*, 6(11), e27299.
30. Viaene L, Behets GJ, Heye S, Claes K, Monbaliu D, Pirenne J, D'Haese PC, Evenepoel P. (2016) Inflammation and the bone-vascular axis in end-stage renal disease // *Osteoporos Int.* 27(2):489-97.
31. Walsh M. C., Choi Y. (2014). Biology of the RANKL–RANK–OPG System in Immunity, Bone, and Beyond // *Frontiers in Immunology*, 5, p. 511.
32. Weitzmann M. N., Ofotokun I. (2016). Physiological and pathophysiological bone turnover — role of the immune system. *Nature Reviews. Endocrinology*, 12(9), 518–532.
33. Xiong J., Piemontese M., Thostenson J. D., Weinstein R. S., Manolagas S. C., O'Brien C. A. (2014). Osteocyte-derived RANKL is a critical mediator of the increased bone resorption caused by dietary calcium deficiency // *Bone*, 66, 146–154.

34. Yamamoto M. (2015) Vascular Calcification - Pathological Mechanism and Clinical Application - . Vascular calcification as a clinical manifestation of bone-vascular axis //Clin Calcium. May;25(5):655-60. [Article in Japanese]  
35. Yuan LQ, Zhu JH, Wang HW, Liang QH, Xie H, Wu XP, Zhou H, Cui RR, Sheng ZF, Zhou HD, Zhu X, Liu GY, Liu YS, Liao EY. (2011) RANKL is a downstream mediator for insulin-induced osteoblastic differentiation of vascular smooth muscle cells // PLoS One. 6 (12):e29037.

36. Zhou YX, Shi LX, Yang H, Long YG, Meng LU, Lv LS, Zhang Y, Yao H, Li L, Yu YN. (2016) Effects of a GSK-3 $\beta$  inhibitor on the renal expression levels of RANK, RANKL and NF- $\kappa$ B in a rat model of diabetic nephropathy // Exp Ther Med. 11 (6):2495-2502.  
37. Znorko B, Oksztulska-Kolanek E, Michałowska M, Kamiński T, Pawła K (2017) Does the OPG/RANKL system contribute to the bone-vascular axis in chronic kidney disease? // Adv. Med. Sci. 62 (1), 52-64.

## SUMMARY

### INTERACTIONS OF RANKL, OSTEOPROTEGERIN AND ADIPOKINES IN REGULATION OF BONE REMODELING IN EXPERIMENTAL CHRONIC KIDNEY FUNCTION DISORDER

<sup>1</sup>Goncharova A., <sup>2</sup>Pavlov S., <sup>2</sup>Kumetchko M., <sup>3</sup>Bereznikova M., <sup>3</sup>Yerimenko R.

<sup>1</sup>Kharkov National Medical University; <sup>2</sup>Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education;

<sup>3</sup>National University of Pharmacy, Ukraine

RANKL and osteoprotegerin are the key cytokines of the axis regulating not only bone remodeling but also bone-kidney interrelations. They are connected with adipokines in the regulatory actions. The aim of the article was to investigate the role of the main parts of RANK-RANKL-osteoprotegerin axis and cytokines of additional link of regulatory network – adiponectin and visfatin and the interrelationship of these cytokines in chronic kidney disorder model in rats. Chronic kidney disorder model was created in the rats 12 weeks after intramuscular 50 % glycerol injection-induced acute kidney injury. RANKL, osteo-

protegerin, adiponectin and visfatin levels was measured using ELISA. Increase of all cytokines and changes of their interrelations has been revealed in rats with chronic kidney disorder model. Conclusion was made that effects of the cytokine axis where RANKL is a trigger in the regulation network of interconnections «bone – kidney» has inflammatory character, so as visfatin effect, and adiponectin has opposite preserving bone effect.

**Keywords:** bone remodeling, chronic kidney function disorder, cytokines, adipokines.

## РЕЗЮМЕ

### ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ RANKL, ОСТЕОПРОТЕГЕРИНА И АДИПОКИНОВ В РЕГУЛЯЦИИ КОСТНОГО РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ХРОНИЧЕСКОМ НАРУШЕНИИ ФУНКЦИИ ПОЧЕК

<sup>1</sup>Гончарова А.В., <sup>2</sup>Павлов С.Б., <sup>2</sup>Кумечко М.В., <sup>3</sup>Березнякова М.Е., <sup>3</sup>Еременко Р.Ф.

<sup>1</sup>Харьковский национальный медицинский университет; <sup>2</sup>Харьковская медицинская академия последипломного образования; <sup>3</sup>Национальный фармацевтический университет, Украина

RANKL и остеопротегерин являются ключевыми цитокинами оси, регулирующей не только ремоделирование костной ткани, но также и взаимосвязи костной ткани с почками. В своих регуляторных действиях они связаны с адипокинами.

Целью данного исследования явилось определить роль основных участников оси RANK-RANKL-остеопротегерин и цитокинов дополнительного звена регуляторной сети - адипонектина и висфатина и взаимосвязь этих цитокинов на модели хронического нарушения функции почек у крыс. Модель хронического нарушения функции почек у крыс создана спустя 12

недель после острой почечной недостаточности, вызванной внутримышечной инъекцией 50% глицерина. Уровни RANKL, остеопротегерина, адипонектина и висфатина измеряли методом ИФА. Увеличение количества цитокинов и изменения в их взаимосвязи выявлены у крыс с моделью хронического нарушения функции почек. Сделан вывод о том, что эффекты оси цитокинов, где RANKL является триггером, в сети регуляции межклеточных связей «костная ткань - почки», имеют воспалительный характер, так же, как и влияние висфатина, а адипонектин оказывает противоположный сохраняющий костную ткань эффект.

## რეზიუმე

RANKL, ოსტეოპროტეგერინისა და ადიპოკინის ურთიერთქმედება ძვლის რემოდელირების რეგულაციაში თირკმლის ფუნქციის ქრონიკული უკმარისობის დროს ექსპერიმენტში.

ა. გონჩაროვა, ს. პავლოვი, მ. კუმეჩკო, მ. ბერეზნიაკოვა, რ. ერემენკო

ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, ხარკოვის დიპლომისშემდგომო განათლების სამედიცინო აკადემია, ეროვნული ფარმაცევტული უნივერსიტეტი, უკრაინა.

ოსტეოპროტეგერინი და RANKL წარმოადგენენ საკვანძო ციტოკინებს იმ ღერძისა, რომელიც არეგუ-

ლირებს ძვლოვანი ქსოვილის არამხოლოდ რემოდელირებას, არამედ მის ურთიერთქმედებას თირკ-

მღებთან. ამ აქტივობაში ისინი უკავშირდებიან ადიპოკინებს.

ნაშრომის მიზანია განისაზღვროს RANKL-RANKL-ის ოსტეოპროტეგერინის ღერძის ძირითადი რგოლებისა, და ციტოკინების დამატებითი სარეგულაციო ქსელის კომპონენტების - ადიპონექტინისა და ვისფატინის როლი და ამ ციტოკინების ურთიერთქმედება ვირთავის თირკმლის ფუნქციის ქრონოკული უკმარისობის მოდელზე. მოდელი განხორციელდა მწვავე უკმარისობიდან მე-12 კვირას, რაც გამოწვეული

იყო გლიცერინის 50% ხსნარის ინექციით კუნთებში. ოსტეოპროტეგერინის, RANKL, ადიპონექტინისა და ვისფატინის დონე განისაზღვრა იმუნოფერმენტული ანალიზით.

დადგენილია, რომ ციტოკინების ღერძის ეფექტი, რომელშიც RANKL ტრიგერს წარმოადგენს, „ძელოვანი ქსოვილი - თირკმელი“ ურთიერთგულაციაში ვლინდება ანთებითი პროცესით, ისევე როგორც ვისფატინისა, ხოლო ადიპონექტინი ძელოვან ქსოვილზე ავლენს საპირისპირო დამცველობით ზემოქმედებას.

## SYNTHESIS OF THE NEW 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl) ACETIC ACID DERIVATIVES AND ANALYSIS OF THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY IN NITROSATIVE STRESS MODELS

<sup>1</sup>Belenichev I., <sup>3</sup>Gorchakova N., <sup>4</sup>Puzyrenko A., <sup>2</sup>Kovalenko S., <sup>1</sup>Bukhtiyarova N.

Zaporozhye State Medical University, <sup>1</sup>Department of the Pharmacology; <sup>2</sup>Department of the Organic and Bioorganic Chemistry,

<sup>3</sup>Bogomolets National Medical University, Department of the Pharmacology, Kiev, Ukraine;

<sup>4</sup>All Saints University School of Medicine Department of the Pharmacology, Dominika

Neuroprotection and antioxidant treatment today are a perspective and proved direction because neurodestruction due to activation free radical oxidation can provoke the permanent loss of motor or mental function. Nitric oxide (NO<sup>•</sup>) can play the role of a modulator as active free radical in the central nervous system. In CNS pathology nitric oxide can be a pathogenic factor of changes inside the cells during cerebral ischemia [1,2]. In the acute phase of ischemia NO<sup>•</sup> plays a neuroprotective role but then especially in reperfusion (recirculation) period NO<sup>•</sup> effect becomes neurotoxic [3,4]. Especially at that moment in the nerve cells oxidative-nitrosative stress develops where reactive nitrogen species act together with reactive oxygen species. It results in nitration of the metal groups in enzymes and causes their dysfunction. It also causes nucleic acid fragmentation, decreasing NAD<sup>+</sup> and ATP level in the cells, inhibition of mitochondrial enzymes activities [5].

Major aggressive factor during this oxidative-nitrosative stress is peroxynitrite (ONOO<sup>•</sup>) due to extra production NO<sup>•</sup>. As a strong oxidant peroxynitrite damages different biologically active molecules and cell organelles. Also ONOO<sup>•</sup> reacts with superoxide dismutase's active center and produces toxic nitrosonium (NO<sup>+</sup>) which nitrosizes phenol groups of amino acids (including tyrosine). These impulses in the cells can start their apoptosis [6,7]. So investigation of the antioxidants which will be able to decrease NO<sup>•</sup> and ONOO<sup>•</sup> toxicity (especially towards superoxide dismutase) seems to be very of current interest.

[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazoline represents a scanty explored group of biologically active substances. It was established that derivatives of 3,4,6,7-tetrahydro- and 3,4-dihydro-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolines could potentiate barbiturate action and also showed antidepressant, anti-inflammatory and analgesic activity.

So we conducted investigation antioxidant activity of the nine new original derivatives of 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid in vitro and in vivo by using two nitrosative stress models. We studied protective effects of these acid derivatives on superoxide dismutase (SOD) activity under conditions of excessive NO<sup>•</sup> and ONOO<sup>•</sup> production.

### Materials and methods. In vitro study

In the first experimental model, the antioxidant activity of compounds was estimated in vitro with NO<sup>•</sup> induction [8]. NO<sup>•</sup> induction was performed under the action of light on sodium nitroprusside sample (the light source was 300W, wavelength > 425nm). The light ray was focused on the sample with the help of a lens. To remove the thermal effect, the ray was directed through the water filter. We used a water solution of sodium nitroprusside Na<sub>2</sub>[Fe(NO)(CN)<sub>5</sub>]·2H<sub>2</sub>O (1.0 mM) which was radiated in quartz flask lasting 30min. The efficiency of NO<sup>•</sup> generation (control) and antioxidant activity of the investigated substances were measured by oxidation rate of ascorbic acid (40 mM, wavelength = 265 nm). The investigated substances were added to the samples before radiation at a concentration 10<sup>-6</sup>M. Antioxidant activity was expressed in percent of inhibition of ascorbic acid oxidation.

*In vivo study.* In second experimental model, investigation was carried out in the brain supernatant obtained from the white Wistar rats (male, 200-250g, 4.5 months old). The rats were supplied by the Institute of Pharmacology and Toxicology of the Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv. All procedures were conducted accordingly with the Directive 2010/63EU of European Parliament and Council regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes (Zaporozhye State Medical University Ethics Committee permit No. 62 from 05.IV.2017). The rats were assigned to individual housing in stainless steel, wire-bottomed cages. The quarantine period for all animals was fourteen days. The animals were examined every day regarding the general state, health and death rate. Cages with animals were placed in separate rooms. Lighting was maintained at the 12h light and 12h dark cycles. The temperature was within 19-25°C, humidity – 50-70%. The ventilation was set at 15 air volumes per hour and provided a concentration of CO<sub>2</sub> no more than 0.15%, ammonia – no more than 0.001 mg/l. Water (processed by reverse osmosis) and food were available ad libitum from individual bottles and feeders.

In the day of the experiment after reaching the deep anesthesia with sodium pentobarbital (40.0 mg/kg) rat's cranium was

quickly opened, and brain was extracted. The brain tissue was cooled in isotonic solution of sodium chloride then homogenized in 5 volumes of 50mM Tris-HCl buffer (pH=7.4; t=5°C) containing 0.5mM of EDTA and 1mM of dithiothreitol. The obtained homogenate was centrifuged at 11000g for 30min, t=4°C. For the nitrosative stress modeling dinitrozoic complex of Fe<sup>2+</sup> and cysteine were utilized. This is a stable NO<sup>•</sup> complex which may be considered as a transport form of this radical [9]. NO-cysteine complex was added to the supernatant (content of protein 5 mg/ml) at a concentration 100mM and was incubated for 10min at 4°C. The investigated substances were introduced before incubation at a concentration 10<sup>-6</sup>M.

The concentration of nitrotyrosine in brain homogenate was quantitatively estimated by immunoenzymatical analysis. Samples and standards were incubated in microtiter with antibodies recognizing nitrotyrosine. During this incubation, nitrotyrosine was captured by the antibodies. Unbound material present in the sample was removed by washing. Later biotinylated second antibodies (tracer) to nitrotyrosine were added to the wells. If nitrotyrosine was present in the sample, the tracer antibodies would bind to the captured nitrotyrosine. Excess tracer was removed by washing. Then streptavidin-peroxidase conjugate was applied to the wells and reacted specifically with the biotinylated tracer antibody which was bounded onto the captured nitrotyrosine. The excess streptavidin-peroxidase conjugate was removed by washing. Tetramethylbenzidine was added to the wells. The color developed proportionally to the amount of nitrotyrosine presence in the sample and was measured with a spectrophotometer at 450nm. A standard curve was obtained by plotting the absorbance versus the corresponding concentrations of defined standard (Nitrotyrosine. Elisa Test Kit, HyCult Biotechnology b.v., HK 501).

Protein sedimentation with 20% solution of trichloroacetic acid was performed in the supernatant aliquot. 1.0ml of 0.1M 2,4-dinitrophenylhydrazine solution in 2M HCl was added to denature protein and sample was incubated at 37°C for 60min. Then the sample was centrifuged at 3000g for 20min. Sediment was washed with ethanol:ethylacetate mixture (1:1) 3 times. The obtained sediment was dried in thermostatic apparatus at 40°C and then it was dissolved in 3.0ml of 8M urea. For better solubility 0.01ml of 2M HCl was added. The optic density of dinitrophenylhydrazones was registered at wavelength 274nm (aldehydes) and 363nm (carboxyles). The rate of protein oxidative modification was expressed in units of optical density per 1g of protein [8].

This method of SOD activity estimation was based on adrenaline's autooxidation in basic medium leading to superoxide radical formation. At SOD presence this reaction slows down [10]. 4.4 ml of 0.5mM carbonate buffer (pH=10.2) was put into spectrophotometer flask with the optical path of 1cm. 0.1ml of supernatant and 0.5ml of adrenaline solution in citric acid (100ml of distillate contains 192mg of citric acid and 333mg of adrenaline) was added to buffer solution. The kinetics of reaction was registered at 480nm. SOD activity was expressed in units per 1mg of protein per min.

Statistical parameters were calculated using «Statistics» for Windows. For the estimation of significant differences between the groups the Mann-Whitney criteria were used.

**Synthesis of original compounds.** All materials were purchased from Merck. The elemental analyses (C, H, N) were performed using the Perkin-Elmer 2400 CHN analyzer and were within ±0.3 of the theoretical values. Melting points (mp) were determined in open capillary tubes of a Thiele's apparatus. UV spectra (200-400nm) were recorded on a «Specord-200». IR spectra (4000-600cm<sup>-1</sup>) were recorded on a Bruker ALPHA FT-IR spectrometer using a module for measuring attenuated total reflection (ATR). <sup>1</sup>H-NMR spectra were recorded on a Mercury 400 (400MHz) spectrometer

with tetramethylsilane (TMS) as internal standard in dimethylsulphoxide (DMSO-d<sub>6</sub>) solution. Chemical shifts (δ) are given in ppm units. *J* values are reported in Hz. Electron impact mass spectra (EI-MS) were determined on a Varian 1200L instrument at 70eV. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) results were recorded using a chromatography/mass spectrometric system which consists of high-performance liquid chromatograph «Agilent 1100 Series» equipped with diode-matrix and mass-selective detector «Agilent LC/MSD SL». The structures of new compounds were investigated by combustion elemental analysis and spectroscopic measurements.

**2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid (2)** was synthesized by treatment of 4-hydrazinoquinazoline (1) (12.85g, 80mmol) in glacial acetic acid or dimethylformamide (DMF) (100mL) with maleic anhydride (9.41g, 96mmol) [11,12]. The resulting mixture was refluxed with stirring for 2-3h. After cooling, a crystalline precipitate was filtered off and washed with EtOH (Fig.).

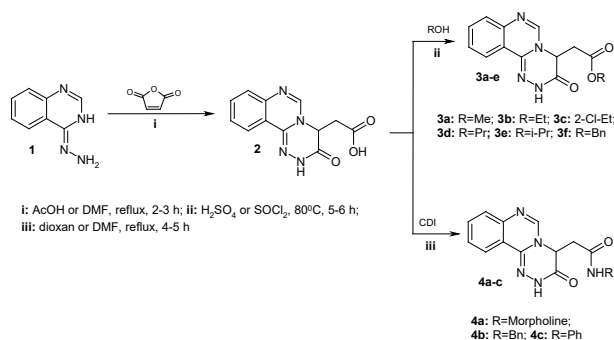


Fig. Synthesis of 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl) acetic acids (2), esters (3a-f) and amides (4a-c).

AcOH – acetic acid; DMF – dimethylformamide; Me – Methyl; Et – Ethyl; Pr – Propyl; Bn – Benzyl; Ph – Phenyl

**2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid (2).** Yield 77.2%; mp 266-268°C; <sup>1</sup>H-NMR δ: 2.93 (d, 2H, J=4.8Hz, CH<sub>2</sub>), 5.06 (t, 1H, J=4.8Hz, H-4), 7.4 (m, 2H, H-8,10), 7.56 (t, 1H, J=7.6Hz, H-9), 7.81 (s, 1H, H-6), 7.90 (d, 1H, J=7.6Hz, H-11), 10.96 (s, 1H, NH); LC-MS *m/z*: 259 (MH<sup>+</sup>), 213 ([MH-COOH]<sup>+</sup>); EI-MS *m/z*: 258 (M<sup>+</sup>, 17.0), 213 (31.9), 212 (100.0), 211 (4.1), 200 (4.0), 199 (43.9), 171 (3.8), 156 (18.2), 154 (4.3), 130 (4.4), 129 (51.6), 128 (17.3), 127 (4.5), 116 (3.1), 115 (7.3), 101 (4.1). Anal. Calcd for C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: C, 55.81; H, 3.90; N, 21.70. Found: C, 55.85; H, 3.96; N, 21.64.

The IR spectrum of acid (2) was characterized by stretching vibrations of associated vibrations ν<sub>NH</sub> and ν<sub>OH</sub> at 3444-3011cm<sup>-1</sup>, by the intensive characteristic band at 2784-2469cm<sup>-1</sup>, by vibrations ν<sub>C=O</sub> at 1738-1706cm<sup>-1</sup> and γ<sub>(OH...O)</sub> at 992-917cm<sup>-1</sup>. Moreover intensive aliphatic CH<sub>2</sub> group band of symmetric and asymmetric stretching vibrations at 2978-2855cm<sup>-1</sup>, stretching vibrations of the carbonyl group of lactam bond at 1712-1662cm<sup>-1</sup>, ν<sub>C=C</sub> at 1643-1468cm<sup>-1</sup> and intensive out-of-plane deformation of CH of the aromatic rings at 846-771cm<sup>-1</sup> were shown for substance (2).

The <sup>1</sup>H-NMR spectrum of acid (2) was presented as: the two protons of the exocyclic methylene group appeared as a doublet at 2.93ppm and the H(4) was found as a triplet at 5.06ppm with coupling constant 4.8Hz. Other signals related to the quinazoline protons in the aromatic region and NH-proton at 10.96ppm. In the LC-MS analysis of compound (2) was found the intense peak of quasimolecular ion [MH]<sup>+</sup> (*m/z*=259) and [MH-COOH]<sup>+</sup> (*m/z*=213). The EI-MS spectrum of compound (2) showed its mo-

molecular ion peak at  $m/z=258$  which fragmentation corresponds to initial loss of the COOH, HCOOH and  $\text{CH}_2\text{COOH}$  groups. Further destruction related to the C(11b)–N(1) and N(5)–C(4) bonds and formation of quinazolinium ion ( $m/z=129$ ). Another fragmentation pattern concerned with N(1)–N(2) and C(4)–C(3) bonds breaking followed by elimination of HNCO.

**2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid esters (3a–f).**

Method A. A mixture of acid (2) (1.29g, 5mmol) with alcohol (10mL) and  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (0.5–1.0mL) was heated at 80°C for 5–6h. The mixture was cooled to room temperature and quenched with  $\text{NaHCO}_3$ . The formed precipitate was filtered off and washed with  $\text{H}_2\text{O}$ .

Method B.  $\text{SOCl}_2$  (0.54mL, 7.5mmol) was added dropwise to a suspension of acid (2) (1.29g, 5mmol) in an alcohol (10mL) and DMF (1 drop). The mixture was heated at 80°C for 5–6h. After cooling till room temperature the solution was quenched with  $\text{NaHCO}_3$ . The formed precipitate was filtered off and washed with  $\text{H}_2\text{O}$ .

**2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid methyl ester (3a).** Yield 82.6% (method B); mp 218–224°C (methanol);  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 3.03 (d, 2H,  $J=4.8\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2$ ), 3.52 (s, 1H,  $\text{CH}_3$ ), 5.11 (t, 1H,  $J=4.8\text{Hz}$ , H-4), 7.40 (m, 2H, H-8,10), 7.57 (t, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ , H-9), 7.81 (s, 1H, H-6), 7.91 (d, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ , H-11), 11.00 (s, 1H, NH); LC-MS  $m/z$ : 272 ( $\text{M}^+$ ), 213 ( $\text{M}-\text{COOCH}_3$ ); EI-MS  $m/z$ : 273 (7.0), 272 (34.1), 254 (12.5), 241 (8.3), 240 (21.2), 239 (5.7), 238 (5.6), 214 (6.0), 213 (51.4), 212 (100), 210 (34.7), 200 (10.8), 199 (53.0), 171 (17.2), 130 (22.0), 129 (50.1), 117 (12.0), 116 (6.0), 115 (8.4), 103 (26.3), 102 (40.9), 90 (19.6), 90 (19.6), 89 (8.8), 88 (6.7), 76 (17.6), 75 (13.2), 63 (6.5), 55 (23.6). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3$ : C, 57.35; H, 4.44; N, 20.58. Found: C, 57.30; H, 4.39; N, 20.64.

**2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid ethyl ester (3b).** Yield 60.0% (method A); mp 184–186°C (methanol);  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 1.03 (t, 3H,  $J=7.1\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_3$ ), 3.01 (d, 2H,  $J=4.8\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{COOH}$ ), 3.96 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 5.12 (t, 1H,  $J=4.8\text{Hz}$ , H-4), 7.40 (m, 2H, H-8,10), 7.57 (t, 1H,  $J=7.7\text{Hz}$ , H-9), 7.82 (s, 1H, H-6), 7.91 (d, 1H,  $J=7.7\text{Hz}$ , H-11), 11.00 (s, 1H, NH); LC-MS  $m/z$ : 287 ( $\text{MH}^+$ ). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_3$ : C, 58.74; H, 4.93; N, 19.57. Found: C, 58.69; H, 4.98; N, 19.61.

**2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid 2-chloroethyl ester (3c).** Yield 75.0% (method B); mp 220–224°C (dioxane); LC-MS  $m/z$ : 321, 323 ( $\text{MH}^+$ ). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_3$ : C, 52.4; H, 4.09; Cl, 11.05; N, 17.47. Found: C, 52.53; H, 4.12; Cl, 11.12; N, 17.51.

**2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid propyl ester (3d).** Yield 91.9% (method B); mp 189–192°C (propanol-2);  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 0.81 (t, 3H,  $J=7.1\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_3$ ), 1.51 (sxt, 2H,  $J=7.1\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2.91 (d, 2H,  $J=5.0\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{COOH}$ ), 3.93 (t, 2H,  $J=6.6\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_2\text{H}_5$ ), 5.03 (t, 1H,  $J=5.0\text{Hz}$ , H-4), 7.29 (t, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ , H-10), 7.35 (d, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ , H-8), 7.46 (t, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ , H-9), 7.69 (s, 1H, H-6), 7.94 (d, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ , H-11), 10.87 (s, 1H, NH); LC-MS  $m/z$ : 301 ( $\text{MH}^+$ ). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_3$ : C, 59.99; H, 5.37; N, 18.66. Found: C, 60.04; H, 5.32; N, 18.62.

**2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid isopropyl ester (3e).** Yield 20.8% (method A), 91.3% (method B); mp 220–224°C (ethanol);  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 1.02 (m, 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 2.98 (d, 2H,  $J=4.8\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2$ ), 4.78 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 5.11 (t, 1H,  $J=4.8$ , H-4), 7.40 (m, 2H, H-8,10), 7.56 (t, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ , H-9), 7.83 (s, 1H, H-6), 7.90 (d, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ , H-11), 11.00 (s, 1H, NH); LC-MS  $m/z$ : 301 ( $\text{MH}^+$ ). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_3$ : C, 59.99; H, 5.37; N, 18.66. Found: C, 60.03; H, 5.40; N, 18.71.

**2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid benzyl ester (3f).** Yield 80.5% (method B); mp

200–202°C (dioxane- $\text{H}_2\text{O}$ );  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 3.00 (d, 2H,  $J=5.0\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2+\text{H}_2\text{O}$ ), 5.02 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 5.07 (t, 1H,  $J=5.0\text{Hz}$ ,  $J=7.6\text{Hz}$ , H-4), 7.21 (m, 5H,  $\text{H}_{\text{Ph}}$ ), 7.30 (t, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ , H-10), 7.36 (d, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ , H-8), 7.47 (t, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ , H-9), 7.71 (s, 1H, H-6), 7.93 (d, 1H,  $J=7.6\text{Hz}$ , H-11), 10.89 (s, 1H, NH); LC-MS  $m/z$ : 349 ( $\text{MH}^+$ ). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_3$ : C, 65.51; H, 4.63; N, 16.08. found: C, 65.47; H, 4.69; N, 16.02.

Shifting of stretching vibrations in the high-frequency area of the spectrum ( $1748\text{--}1729\text{cm}^{-1}$ ), appearance the band of stretching vibrations  $\nu_{\text{C=O}}$  at  $1360\text{--}1300\text{cm}^{-1}$  which had a similar intensity of  $\nu_{\text{C=O}}$ , and appearance the band of more intensive and wide symmetric and asymmetric aliphatic group stretching vibrations at  $2978\text{--}2797\text{cm}^{-1}$  revealed for esters (3a–f).

From acid (2) we obtained esters (3a–f) by method A and method B (more manageable and provided better yields). In the spectra of esters (3a–f) characteristic triplet of H(4) at 5.12–5.00ppm and two proton doublet of  $\text{CH}_2$  group at 3.03–2.91ppm were revealed. In addition the signals of alkoxy groups appeared in high-field region.

**2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid amides (4a–c).**

5mmol (1.0g) carbonildiimidazole (CDI) was added to a solution of 5mmol (1.29g) acid (2) in 10ml waterless dioxan or DMF. The mixture was refluxed at 60–80°C temperature for 1–1.5h. Then 5mmol of an appropriate amine was added to the solution and mixture was heated for 6h. After cooling till room temperature  $\text{H}_2\text{O}$  was added. The resulting solution was adjusted to pH 6–7 by adding acetic acid. The obtained precipitate was filtered off and dried in air.

**2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid morpholide (4a).** Yield 61.9%; mp 220–224°C (propanol-2);  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.96 (d, 2H,  $J=5.0\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2+\text{H}_2\text{O}$ ), 3.50–3.38 (m, 8H, morpholine), 5.02 (g, 1H,  $J=3.3\text{Hz}$ , H-4), 7.28 (t, 1H,  $J=7.8\text{Hz}$ , H-10), 7.35 (d, 1H,  $J=7.8\text{Hz}$ , H-8), 7.45 (t, 1H,  $J=7.2\text{Hz}$ , H-9), 7.72 (s, 1H, H-6), 7.93 (d, 1H,  $J=7.0\text{Hz}$ , H-11), 10.80 (s, 1H, NH); LC-MS  $m/z$ : 328 ( $\text{MH}^+$ ); EI-MS  $m/z$ : 328 (3.7), 327 (22.0), 240 (39.9), 213 (38.9), 212 (100.0), 199 (5.9), 144 (7.4), 130 (13.7), 129 (24.2), 103 (7.1), 102 (9.1), 88 (11.0), 70 (9.6), 56 (7.3), 43 (5.7). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_3$ : C, 58.71; H, 5.23; N, 21.39. Found: C, 58.83; H, 5.36; N, 21.42.

**2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid benzylamide (4b).** Yield 51.4%; mp 238–239°C (ethanol- $\text{H}_2\text{O}$ );  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.78 (m, 2H,  $\text{CH}_2+\text{H}_2\text{O}$ ), 4.18 (d, 2H,  $J=2.5\text{Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ), 5.07 (t, 1H,  $J=6.6\text{Hz}$ , H-4), 7.11 (m, 3H, H-3, H-4, H-5 Ph), 7.03 (d, 2H,  $J=6.1\text{Hz}$ , H-2, H-6 Ph), 7.40 (t, 1H,  $J=7.4\text{Hz}$ , H-10), 7.43 (d, 1H,  $J=7.5\text{Hz}$ , H-8), 7.59 (t, 1H,  $J=7.4\text{Hz}$ , H-9), 7.69 (s, 1H, H-6), 7.90 (d, 1H,  $J=8.2\text{Hz}$ , H-11), 8.52 (d, 1H,  $J=4.7\text{Hz}$ , NH), 10.97 (s, 1H, NH); LC-MS  $m/z$ : 348 ( $\text{MH}^+$ ); EI-MS  $m/z$ : 348 (3.8), 347 (25.2), 241 (6.2), 240 (68.3), 239 (23.5), 214 (6.7), 213 (61.3), 212 (100.0), 171 (6.7), 144 (10.3), 130 (12.6), 129 (37.0), 117 (8.1), 105 (6.2), 104 (8.6), 103 (11.7), 102 (14.2), 92 (9.3), 91 (36.3), 89 (5.9), 77 (8.0), 65 (6.9), 55 (6.5), 51 (5.6). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_2$ : C, 65.70; H, 4.93; N, 20.16. Found: C, 65.79; H, 4.99; N, 20.22.

**2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid phenylamide (4c).** Yield 84.6%; mp 272–276°C (propanol-2- $\text{H}_2\text{O}$ );  $^1\text{H-NMR}$   $\delta$ : 2.98 (1H, - $\text{CH}_2$ ,  $J=4.9\text{Hz}$ ); 3.09 (1H, - $\text{CH}_2$ ,  $J=4.9\text{Hz}$ ), 5.18 (1H, H-4,  $J=4.7\text{Hz}$ ), 7.0 (1H, H-4 Ph,  $J=7.4\text{Hz}$ ), 7.26 (2H, H-3, 5 Ph), 7.38 (2H, H-8, 10), 7.42 (3H, H-2, 5 Ph), 7.52 (1H, H-9,  $J=7.6\text{Hz}$ ), 7.72 (1H, H-6), 7.91 (1H, H-11,  $J=7.4\text{Hz}$ ), 10.1 (1H, -C(O)NH), 10.97 (1H, 2-NH); LC-MS  $m/z$ : 334 ( $\text{MH}^+$ ); EI-MS  $m/z$ : 334 (3.0), 333 (12.9), 240 (37.5), 213 (20.3), 212 (100.0), 171 (7.6), 130 (15.0), 129 (25.4), 117 (7.5), 103 (6.6), 102 (7.7), 93 (10.3), 77 (6.5). *Anal.* Calcd for  $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_2$ : C, 64.86; H, 4.54; N, 21.01. Found: C, 64.92; H, 4.51; N, 21.09.

In the IR spectra of amides (4a–c) the intensive band of ab-

Table 1: Antioxidant activity of the investigated compounds in sodium nitroprusside photoinduced reaction (in vitro)

| Cipher of compound | D of optical density at $\lambda=265\text{nm}$ | Antioxidant activity, % |
|--------------------|------------------------------------------------|-------------------------|
| (2)                | $0.6\pm 0.01$                                  | 0                       |
| (3a)               | $0.32\pm 0.005^*$                              | 46.7                    |
| (3b)               | $0.35\pm 0.01^*$                               | 41.2                    |
| (3c)               | $0.33\pm 0.01$                                 | 45.0                    |
| (3d)               | $0.35\pm 0.01^*$                               | 41.7                    |
| (3f)               | $0.3\pm 0.005^*$                               | 50.0                    |
| (4a)               | $0.35\pm 0.01$                                 | 41.7                    |
| (4b)               | $0.34\pm 0.005^*$                              | 48.7                    |
| (4c)               | $0.38\pm 0.01$                                 | 36.7                    |
| Control            | $0.6\pm 0.01$                                  | -                       |

notes: \* – the probability compare to control group ( $p\leq 0.05$ )

Table 2. Effect of (3f) on SOD activity and content of the products after protein oxidative modification in the supernatant of rats' brain in the nitrosative stress model (in vivo)

| The investigated samples                                                          | SOD, units/mg protein/min | Products of POM, units/mg protein |                  | Nitrotyrosine in brain homogenate, nM |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|------------------|---------------------------------------|
|                                                                                   |                           | 270nm                             | 363nm            |                                       |
| Intact                                                                            | $260.7\pm 7.6$            | $14.0\pm 0.11$                    | $22.3\pm 0.17$   | $3.7\pm 0.8$                          |
| Control (adding of stable NO and cysteine complex, $100\mu\text{M}$ )             | $120.2\pm 5.0$            | $26.2\pm 0.21$                    | $36.7\pm 0.10$   | $11.0\pm 0.7$                         |
| Experimental (adding of stable NO and cysteine complex + (3f), $100\mu\text{M}$ ) | $200.6\pm 4.2^*$          | $17.8\pm 0.10^*$                  | $27.6\pm 0.11^*$ | $4.8\pm 0.4$                          |

notes: \* – the probability compare to the intact group ( $p\leq 0.05$ )

sorptions appeared at  $3199\text{-}3024\text{cm}^{-1}$  and  $3387\text{-}3149\text{cm}^{-1}$ , and stretching vibrations were shown at  $1659\text{-}1628\text{cm}^{-1}$  (amide I) and out-of-plane deformation at  $1613\text{-}1550\text{cm}^{-1}$  (amide II).

The acid (2) was also turned in amides 4a-c after the activation of the carboxylic group by carbonyldiimidazole in a waterless solvent (dioxane or DMF). The spectra of amides (4a-c) displayed characteristic two singlets of 2-NH at  $10.97\text{-}10.80\text{ppm}$  and amide group proton at  $8.52\text{ppm}$ , a triplet of H(4) at  $5.07\text{-}5.02\text{ppm}$ , two proton doublet of  $\text{CH}_2$  group at  $2.96\text{-}2.78\text{ppm}$ . The signals of alkyl and aryl groups appeared in the high-field region.

#### Analysis of antioxidant activity

Antioxidant activity estimation of the investigated compounds in sodium nitroprusside photoinduction model revealed that the synthesized esters (3a-3f) and amides (4a-4c) of 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acids play a significant role in the inhibition of NO formation. In this model acid (2) wasn't active while benzyl ester (3f) of acid (2) residue showed the maximal activity in the inhibition of NO formation (Table 1). We are prone to think that the activity of these compounds is due to substitution inside radical.

The model of nitrosative stress in the supernatant of rats' brain was characterized by the inhibition of antioxidant enzyme (superoxide dismutase) activity due to increasing a formation of products after protein oxidative modification (aldehyde-phenylhydrazones and ketone-phenylhydrazones). These reaction products showed the maximum of absorption at 270 and 363nm (Table 2).

The obtained data does not contradict the data obtained by

other investigators which showed that the nitration of thiol groups of protein molecules (receptors, ionic channels) and phenols occurred in nitrosative stress [13]. The activity of antioxidant enzymes is inhibited by formation of nitrocomplexes with metal ions of enzyme's active center. Reduction of SOD activity and thiol level results in significant increase of the free radical oxidation [1-4,6,13-15].

2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid benzyl ester (3f) ( $10^{-6}\text{M}$ ) adding into incubating mixture before nitrosative stress modeling resulted in protective activity towards superoxide dismutase which was the most significant compared to other derivatives of acid (2) (Table 2). Also (3f) most effectively reduced the formation of the products after protein oxidative modification and nitrotyrosine. One of the most important mechanisms (3f)'s antioxidant activity is the ability to stabilize NO molecule and to decrease hyperproduction NO radicals. This can protect SOD from deactivation.

**Conclusion.** In the present paper, the series of new 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acids derivatives which were tested for antioxidant activity in the nitrosative stress model were described. Synthesized new compounds displayed high antioxidant activity. 2-(3,4-Dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid benzyl ester (3f) is the most active compound. This activity revealed in defending SOD from damage in nitrosative stress.

**Acknowledgements.** The authors thank Svetlana Gorbachova for her assistance in preparing this manuscript.

## REFERENCES

1. Banuls C, Rocha M, Rovira-Llopis S, Falcon R, Castello R, Herance JR, et al. The pivotal role of nitric oxide: effects on the nervous and immune systems. *Current pharmaceutical design*. 2014; 20: 4679-89.
2. Bryan NS, Loscalzo J. Nitrite and nitrate in human health and disease. Springer International Publishing AG; 2017.
3. Malek M, Nematbakhsh M. Renal ischemia/reperfusion injury; from pathophysiology to treatment. *Journal of renal injury prevention*. 2015; 4: 20-7.
4. Muntean DM, Sturza A, Danila MD, Borza C, Duicu OM, Mornos C. The role of mitochondrial reactive oxygen species in cardiovascular injury and protective strategies. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016; 20: 1-19.
5. Chan SHH, Chan JYH. Mitochondria and reactive oxygen species contribute to neurogenic hypertension. *Physiology*. 2017; 32: 308-21.
6. Quan YY, Liu YH, Lin CM, Wang XP, Chen TS. Peroxynitrite dominates sodium nitroprusside-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells. *Oncotarget*. 2017; 8: 29833-45.
7. Ramdial K, Franco MC, Estevez AG. Cellular mechanisms of peroxynitrite-induced neuronal death. *Brain Res Bull*. 2017; 133: 4-11.
8. Kovalenko S, Belenichev I, Galitsa V. Synthesis of 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid derivatives as potential antioxidants in nitrosative stress model. *Pharmacia*. 2010; 58: 145-57.
9. Sierra M, Bragg-Gonzalo L, Grasa J, Munoz MJ, Gonzalez D, Miana-Mena FJ. Oxidative stress prediction: a preliminary approach using a response surface based technique. *Toxicology in Vitro*. 2018; 46: 273-83.
10. Chiste RC, Freitas M, Mercadante AZ, Fernandes E. Superoxide anion radical: generation and detection in cellular and non-cellular systems. *Current Medicinal Chemistry*. 2015; 22: 4234-56.
11. Antypenko OM, Kovalenko SI, Karpenko OV. Synthesis and hydrolytic cleavage of tetrazolo[1,5-c]quinazolines. *Synthetic Communications*. 2016; 46: 551-5.
12. Dinari M, Gharahi F, Asadi P. Synthesis, spectroscopic characterization, antimicrobial evaluation and molecular docking study of novel triazine-quinazolinone based hybrids. *Journal of Molecular Structure*. 2018; 1156: 43-50.
13. Moncada S, Nistico G, Bagetta G, Higgs EA. Nitric oxide and the cell: proliferation, differentiation, and death. Princeton Legacy Library; 2017.
14. Bresgen N, Eckl PM. Oxidative stress and the homeodynamics of iron metabolism. *Biomolecules*. 2015; 5: 808-47.
15. Espinosa-Diez C, Miguel V, Mennerich D, Kietzmann T, Sanchez-Perez P, Cadenas S. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox biology*. 2015; 6: 183-97.

## SUMMARY

### SYNTHESIS OF THE NEW 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl) ACETIC ACID DERIVATIVES AND ANALYSIS OF THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY IN NITROSATIVE STRESS MODELS

<sup>1</sup>Belenichev I., <sup>3</sup>Gorchakova N., <sup>4</sup>Puzyrenko A., <sup>2</sup>Kovalenko S., <sup>1</sup>Bukhtiyarova N.

Zaporozhye State Medical University, <sup>1</sup>Department of the Pharmacology; <sup>2</sup>Department of the Organic and Bioorganic Chemistry, <sup>3</sup>Bogomolets National Medical University, Department of the Pharmacology, Kyiv, Ukraine; <sup>4</sup>All Saints University School of Medicine Department of the Pharmacology, Roseau, Dominica

Today we know that NO<sup>•</sup> and ONOO<sup>-</sup> are clue pathophysiological factors for progression some ischemic diseases of the central nervous system. So investigation of the antioxidants which will be able to decrease NO<sup>•</sup> and ONOO<sup>-</sup> toxicity seems to be very of current interest.

The six esters and three amides of 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid were synthesized for this study, and we showed evidence of antioxidant activity of these new original derivatives.

We studied the effect of 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid derivatives on superoxide dismutase activity under the condition of excessive NO<sup>•</sup> and ONOO<sup>-</sup> production. NO<sup>•</sup> induction was performed

by the action of light on sodium nitroprusside Na<sub>2</sub>[Fe(NO)(CN)<sub>5</sub>]×2H<sub>2</sub>O in vitro. Also, the investigation of the substances was carried out in the brain supernatant obtained from the white Wistar rats in vivo. For nitrosative stress modeling dinitrozoic complex of Fe<sup>2+</sup> and cysteine were utilized.

Our data showed that 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid is not active compound while its esters and amides have antioxidant activity. Compound benzyl ester of this acid revealed the most effective antioxidant activity.

**Keywords:** quinazoline derivative, antioxidant, nitrosative stress, neuroprotection.

## РЕЗЮМЕ

### СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2-(3,4-ДИГИДРО-3-ОХО-2H-[1,2,4]ТРИАЗИНО[4,3-С]КВИНАЗОЛИН-4-ИЛ) АСЕТИЧЕСКОЙ КИСЛОТЫ И АНАЛИЗ ИХ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ

<sup>1</sup>Беленичев И.Ф., <sup>3</sup>Горчакова Н.А., <sup>4</sup>Пузыренко А. Н., <sup>2</sup>Коваленко С.И., <sup>1</sup>Бухтиярова Н.В.

Запорожский государственный медицинский университет, <sup>1</sup>кафедра фармакологии; <sup>2</sup>кафедра органической и биоорганической химии; <sup>3</sup>Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, кафедра фармакологии, Киев, Украина; <sup>4</sup>Университет всех святых, кафедра фармакологии, Розо, Доминика

Известно, что NO<sup>•</sup> и ONOO<sup>-</sup> являются ключевыми патофизиологическими факторами прогрессирования некоторых ишемических заболеваний центральной нервной системы,

исходя из этого, исследование антиоксидантов, способных снижать токсичность NO<sup>•</sup> и ONOO<sup>-</sup>, представляется весьма актуальным.

В исследовании синтезированы шесть сложных эфиров и три амида 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid, выявлено наличие антиоксидантной активности этих новых исходных производных.

Изучено влияние производных 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid на активность супероксиддисмутазы при избыточной продукции NO<sup>•</sup> and ONOO<sup>•</sup>. Индукция NO<sup>•</sup> проводилась путем воздействия света на нитропруссид натрия Na<sub>2</sub>[Fe(NO)(CN)<sub>5</sub>]·2H<sub>2</sub>O in vitro. Исследование веществ осуществ-

ляли на супернатанте головного мозга, полученном от белых крыс Wistar rats in vivo. Для моделирования нитрозативного стресса использовали динитрозольный комплекс Fe<sup>2+</sup> и цистеин.

Полученные данные выявили, что 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl)acetic acid не является активным соединением, тогда как ее сложные эфиры и амиды обладают антиоксидантной активностью. Соединение бензильного эфира этой кислоты характеризуется выраженной антиоксидантной активностью.

რეზიუმე

ახალი 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl) ძმარმჟავას წარმოებულების სინთეზი და მათი ანტიოქსიდაციური აქტივობის ანალიზი

<sup>1</sup>ო. ბელენიჩეკ, <sup>3</sup>ნ. გონჩაკოვა, <sup>4</sup>ა. პუზირენკო, <sup>2</sup>ს. კოვალენკო, <sup>1</sup>ნ. ბუხტიაროვა

ზაპოროჟიეს სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ფარმაცოლოგიის კათედრა;

<sup>2</sup>ორგანული და ბიორგანული ქიმიის კათედრა; <sup>3</sup>ა. ბოგომელეცის სახ. ნაციონალური სამედიცინო უნივერსიტეტი, კიევი, უკრაინა <sup>4</sup>ყოფილად წმინდა უნივერსიტეტი, ფარმაცოლოგიის კათედრა, როზო, დომინიკა

სადღესოდ ცნობილია, რომ NO და ONOO წარმოადგენენ წამყვან პათოფიზიოლოგიური ფაქტორებს ცენტრალური ნერვული სისტემის იშემიური დაავადებების პროგრესირებაში. აქედან გამომდინარე, მეტად აქტუალურია ანტიოქსიდანტების გამოკვლევა, რომლებიც შეამცირებს NO და ONOO ტოქსიურობას.

აღნიშნული კვლევისთვის სინთეზირდა 6 რთული ეთერი და 3 ამიდი 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl) ძმარმჟავა და ჩვენს მიერ დადასტურდა ამ ახალი წარმოებულების ანტიოქსიდაციური აქტივობა. ჩატარებული კვლევის შედეგად შესწავლილია 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl) ძმარმჟავას ნივთიერებების ეფექტი სუპეროქსიდის-მუტაზის აქტივობაზე NO და ONOO-ს ჭარბი პროდუქციის (წამოების) პირობებში.

NO-ს ინდუქცია განხორციელდა ნატრიუმის ნიტროპრუსიდზე Na<sub>2</sub>[Fe(NO)(CN)<sub>5</sub>]·2H<sub>2</sub>O შუქის ზემოქმედების ქვეშ in vitro. პარალელურად განხორციელდა ნივთიერების კვლევა თეთრი ვირთხების (Wistar) თავის ტვინზე in vivo. ნიტროზული სტრესის მოდელირებისთვის გამოყენებული იყო Fe<sup>2+</sup> დინიტროზული კომპლექსი და ცისტეინი.

მიღებულმა მონაცემებმა აჩვენა, რომ 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2H-[1,2,4]triazino[4,3-c]quinazolin-4-yl) ძმარმჟავა არ წარმოადგენს აქტიურ ნაერთს, მაშინ როდესაც მისი რთული ეთერები და ამიდები ფლობენ ანტიოქსიდაციურ აქტივობას. აღნიშნული მუშავის ბენზილის ეთერთან ნაერთმა გამოავლინა უფრო მკვეთრად გამოხატული ანტიოქსიდაციური აქტივობა.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ РЫНКЕ УКРАИНЫ, РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, РЕСПУБЛИК БЕЛАРУСЬ И КАЗАХСТАН

Толочко В.М., Адонкина В.Ю., Вакуленко Д.В., Музыка Т.Ф.

Национальный фармацевтический университет; Институт повышения квалификации специалистов фармацевции, кафедра управления и экономики фармацевции, Харьков, Украина

Современные достижения фармакотерапии приводят не только к положительным результатам в борьбе с самыми распространенными заболеваниями, но и к появлению побочных реакций на лекарственные средства (ЛС), возникновение лекарственных болезней, аллергии на ЛС, антибиотикоустойчивых штаммов микроорганизмов. В такой ситуации поиск безопасных терапевтических методов являются жизненной необходимостью для лиц, страдающих лекарственной непереносимостью. В связи с чем наблюдается рост интереса к нетрадиционным методам лечения, в частности к гомеопатии, которая является одним из перспективных направлений развития медицины XX в. [2,4,7,8].

На сегодняшний день гомеопатия является самостоятельным, оригинальным направлением в определении со-

стояния здоровья и болезней, имеет свою методологию и технологию коррекции здоровья, что подтверждено терапевтическими методами, многолетними клиническими наблюдениями и токсикологической практикой [5,6,9].

Согласно информации Всемирной организации здравоохранения, в Австралии, Европе и Северной Америке параллельно с аллопатической медициной все шире используют дополнительную и альтернативную медицину, одной из которых является гомеопатия. Гомеопатические лекарственные средства (ГолС) используются в Индии (50% врачей), 40% - в Великобритании, 32% - во Франции, 25% - в Германии, 22% - в Австрии [1,3,8]. По данным зарубежной литературы, ГолС составляют более 20% в рецептуре аптек. Таким образом, ГолС становятся экономической категорией аптечного ассортимента [1-3].

Целью исследования явился анализ ассортимента гомеопатических лекарственных средств на фармацевтическом рынке Украины в сравнении с рынками Российской Федерации, Республик Беларусь и Казахстана для дальнейшего предоставления рекомендаций по возможным научным и практическим направлениям расширения номенклатуры ГолС на украинском фармацевтическом рынке.

**Материал и методы.** Объектами исследований являются Государственные реестры лекарственных средств Украины, Российской Федерации, Республик Беларусь и Казахстан на 01.01.2018 года. В процессе исследований использовались научные методы анализа, систематизации и обобщения.

**Результаты и их обсуждение.** В настоящее время в Украине зарегистрировано 228 ГолС, в РФ – 465, в РБ – 68, в РК – 84 в различных лекарственных формах (ЛФ) и дозировках. Однако удельный вес ГолС в ассортименте ЛС аптек в целом незначителен. Причиной этого является отсутствие методического подхода к формированию ассортимента, недостаточная оценка терапевтической и особенно экономической значимости ГолС.

Анализ данных Государственного реестра ЛС Украины за период 2010–2017 гг. установил, что в 2010 году зарегистрировано 201 ГолС; в 2011г. – 214; в 2012 г. – 210; в 2013г. – 207; в 2014 г. – 215; в 2017 г. – 228 ГолС (рис.1) [1,2,7].

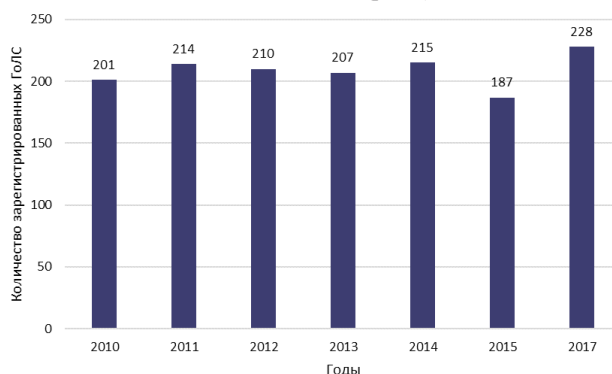


Рис. 1. Показатели зарегистрированных ГолС в 2010–2017 гг. в Украине

Прослеживается тенденция к увеличению числа зарегистрированных (перерегистрированных) ГолС в Украине в разных ЛФ и дозировках. На сегодняшний день их доля от общего числа зарегистрированных ЛС составляет 1,8%. Фармацевтический рынок ГолС Украины представлен комплексными (87%) и монокомпонентными (13%) ЛС.

Для характеристики ассортиментной политики ГолС Украины использовался показатель – индекс ассортиментной зависимости от импорта: соотношение количества зарегистрированных зарубежных ЛС от общего количества ЛС на конкретную дату. Индекс ассортиментной зависимости от импорта ЛС, состоянием на 01.01.2018 г., составляет 0,69, а для ГолС – 0,86. На фармацевтическом рынке ГолС Украины показатель зависимости от импорта выше, т.е. импортозависимость в ассортименте ГолС выше, чем в ассортименте зарегистрированных ЛС в Украине. Поэтому актуальной задачей современной медицины и фармации является увеличение ассортимента ГолС отечественного производства.

Согласно данным Государственного реестра ЛС Украины в фармакотерапевтическую группу «Гомеопатические средства» входят 228 наименований ЛС, они представлены четырнадцатью ЛФ: таблетки (31,6%), капли оральные (32,0%), растворы для инъекций (14,9%), гранулы (12,7%), мази, гели (2,7%), цветы, сборы (2,2%), сиропы, спрей назальный, суппозитории, капсулы, таблетки шипучие, капли

глазные, в целом 3,9% (рис. 2). Наибольшая часть ГолС зарегистрирована в виде таблеток и оральных капель.

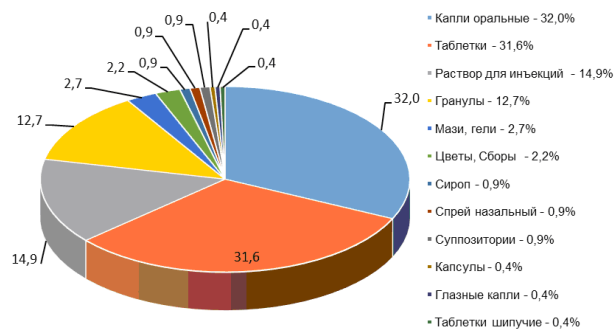


Рис. 2. Распределение ГолС по ЛФ (Украина)

Сегментирование фармацевтического рынка ГолС Украины по фирмам-производителям показало, что доля зарубежных фирм составляет 86,0%, а отечественных – 14,0%. Ассортимент ГолС отечественного производства представлен ЛС семи фирм: ЗАО «Национальный Гомеопатический Союз», г. Киев (50,0%), ПАО «Биолик», г. Ладыжин, Винницкая обл. (13,2%), ЧАО «Национальный Гомеопатический Союз», г. Лубны (10,0%), ЗАО «Лектравы», ООО «Арника», ООО «Гомеопатическая аптека», ООО «Фабрика растительных лекарственных средств «Природные лекарства» (по 6,7%). Среди зарубежных производителей на фармацевтическом рынке Украины лидирующую позицию занимают предприятия Германии – 63,1%, Австрии – 17,7% и Российской Федерации – 8,1% (таблица 1)

Изучение Государственного реестра РФ показало, что насыщенность фармацевтического рынка ГолС России достаточно большая: зарегистрировано 465 ГолС в различных ЛФ: гранулы (29,0%), капли оральные (24,3%), таблетки (22,8%), мази, гели, крема, масла, оподельдоки (12,0%), растворы для инъекций (5,2%), суппозитории (3,0%), капли глазные, карамели, растворы для приема внутрь, сиропы, спреи – в сумме 3,7% (рис. 3). Ассортимент ГолС, отличающихся формой выпуска весьма разнообразен, большая часть ЛС выпускается в виде гранул и капель оральных.

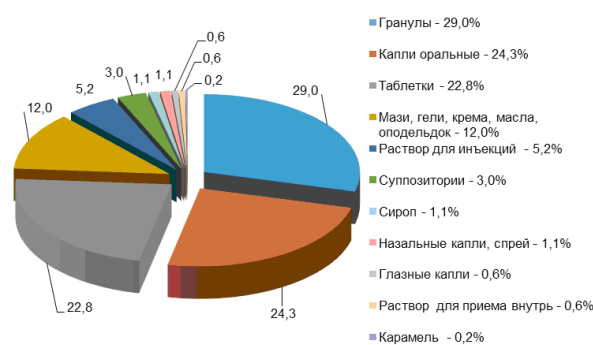


Рис. 3. Распределение ГолС по ЛФ (Российская Федерация)

В ходе сегментационного анализа фармацевтического рынка РФ по производственному признаку установлено преобладание доли ГолС отечественного производства – 66,2%, остальные 33,8% – зарубежного производства (таблица 2). Выявлено, что ГолС предлагают 16 российских фармацевтических фирм-производителей. Среди них лидируют 5 компаний: ООО «Доктор Н» (24,0%), ООО «Эдас Холдинг» (15,5%), ООО «Алкой»

Таблица 1. Показатель регистрации ГоЛС в исследуемых странах

| Страны-производители | Количество зарегистрированных ГоЛС |                      |                     |                      |
|----------------------|------------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
|                      | Украина                            | Российская Федерация | Республика Беларусь | Республика Казахстан |
| Австрия              | 35                                 | 22                   | 8                   | 16                   |
| Республика Беларусь  | -                                  | -                    | 4                   | -                    |
| Германия             | 125                                | 102                  | 32                  | 48                   |
| Республика Казахстан | -                                  | -                    | -                   | 3                    |
| Италия               | 3                                  | -                    | -                   | -                    |
| Канада               | -                                  | 1                    | 1                   | -                    |
| Литовская Республика | -                                  | 1                    | -                   | -                    |
| Мальта               | -                                  | 5                    | -                   | -                    |
| Польша               | 1                                  | -                    | -                   | -                    |
| РФ                   | 16                                 | 308                  | 17                  | 14                   |
| США                  | 3                                  | 11                   | 1                   | 2                    |
| Украина              | 32                                 | -                    | -                   | -                    |
| Хорватия             | 1                                  | -                    | -                   | -                    |
| Чешская Республика   | 5                                  | -                    | -                   | -                    |
| Франция              | 5                                  | 14                   | 5                   | 1                    |
| Швейцария            | 2                                  | 1                    | -                   | -                    |
| Всего                | <b>228</b>                         | <b>465</b>           | <b>68</b>           | <b>84</b>            |

(14,3%), ООО НПФ Материя Медика Холдинг (11,0%), ООО «Гомеофарм» (9,0 %). Среди зарубежных производителей первое место в рейтинге принадлежит Германии (65%), второе – Австрии (14,0%), а третье место Франции (8,9%).

В Государственный реестр ЛС РБ состоянием на 01.01.2018 года включено 68 ГоЛС, которые выпускаются в виде восьми ЛФ: таблетки (50,0%), капли оральные (27,9%), растворы для инъекций (8,8%), гранулы (7,4%), мази (1,5%), спрей назальный, сироп и раствор для приема внутрь (по 1,5%) (рис. 4). Большая часть ассортимента ГоЛС представлена таблетками и оральными каплями.

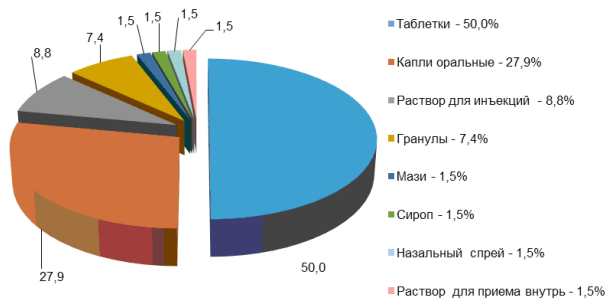


Рис. 4. Распределение ГоЛС по ЛФ (Республика Беларусь)

Сегментационный анализ фармацевтического рынка Республики Беларусь (РБ) показал, что преобладает доля ГоЛС зарубежного производства – 94,0%, остальные 6,0% – ЛС отечественного производства СООО АкониФарма. Среди зарубежных стран-производителей лидируют: Германия (51,0%), Российская Федерация (27,0%) и Австрия (12,7%).

В Государственном реестре ЛС Республики Казахстан

(РК) зарегистрировано 84 ГоЛС, которые представлены на фармацевтическом рынке в виде: таблеток (53,6%), оральных капель (25,0%), мазей и масел (7,1%), растворов для инъекций (6,0%), гранул (3,6%), суппозиторий, спреев назальных, сиропов и чаев (по 1,2%) (рис. 5).

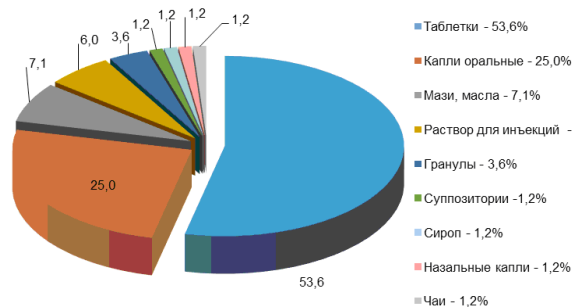


Рис. 5. Распределение ГоЛС по ЛФ (Республика Казахстан)

Анализ рынка РК по его сегментам показал, что на рынке преобладают ГоЛС зарубежного производства – 96,4%. Лидерами среди них являются: Германия (59,3%), Австрия (19,8%), РФ (17,3%) соответственно. На долю отечественных производителей приходится всего 3,6% – ПК «Фирма Кызылмай», ТОО ФитоОлеум.

Сегментирование ассортимента ГоЛС по виду ЛФ показало, что наибольшую нишу на фармацевтических рынках РФ, РБ и РК занимают твердые ЛФ. А на украинском фармацевтическом рынке лидируют твердые и жидкие ГоЛС в одинаковом соотношении (таблица 2).

Сравнительный анализ лидирующих фирм-производителей по количеству зарегистрированных ГоЛС на рынках Украины, РФ, РБ и РК представлен на рис. 6.

Таблица 2. Сегментирование ассортимента гомеопатических ЛС по виду ЛФ

| Вид ЛФ       | Страны  |                      |                     |                      |
|--------------|---------|----------------------|---------------------|----------------------|
|              | Украина | Российская Федерация | Республика Беларусь | Республика Казахстан |
| Твердые      | 48,2%   | 52,0%                | 57,4%               | 58,3%                |
| Жидкие       | 48,2%   | 34,2%                | 41,2%               | 35,7%                |
| Мягкие       | 2,7%    | 12,9%                | -                   | 6,0%                 |
| Газообразные | 0,9%    | 0,9%                 | 1,4%                | -                    |

Таблица 3. Распределение ГоЛС по фармакотерапевтическим группам

| АТС-группа | Количество ГоЛС по исследуемым странам |                      |                     |                      |
|------------|----------------------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
|            | Украина                                | Российская Федерация | Республика Беларусь | Республика Казахстан |
| A          | 44                                     | 60                   | 6                   | 10                   |
| B          | -                                      | 3                    | -                   | -                    |
| C          | 26                                     | 46                   | 3                   | 3                    |
| D          | 7                                      | 43                   | 1                   | 5                    |
| G          | 33                                     | 76                   | 12                  | 10                   |
| H          | -                                      | 1                    | -                   | -                    |
| J          | 4                                      | 5                    | 4                   | 1                    |
| L          | 7                                      | 9                    | 4                   | 1                    |
| M          | 21                                     | 33                   | 5                   | 7                    |
| N          | 27                                     | 63                   | 15                  | 10                   |
| P          | -                                      | 1                    | -                   | -                    |
| R          | 51                                     | 112                  | 18                  | 36                   |
| S          | 1                                      | 6                    | -                   | -                    |
| V          | 7                                      | 7                    | -                   | 1                    |
| Итого      | <b>228</b>                             | <b>465</b>           | <b>68</b>           | <b>84</b>            |

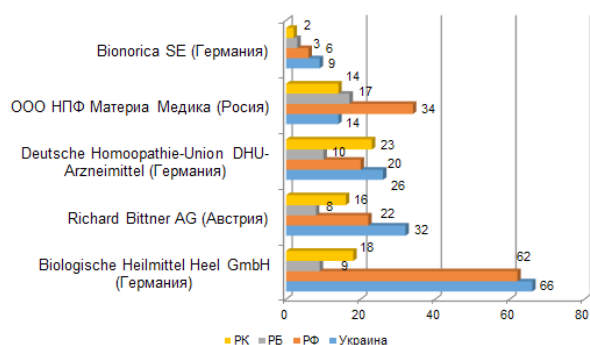


Рис. 6. Результаты анализа ГоЛС по фирмам-производителям

В результате исследования ассортимента фирм-производителей ГоЛС установлено, что на рынках Украины, РФ, РБ и РК наибольший сегмент занимают 5 основных компаний: ООО НПФ Материа Медика Холдинг (Российская Федерация); Richard Bittner AG (Австрия); Deutsche Homöopathie - Union DHU - Arzneimittel GmbH & Co. KG. (Германия); Biologische Heilmittel Heel GmbH (Германия); Bionorica SE (Германия).

Согласно АТС-классификации ГоЛС представлены на фармацевтическом рынке Украины 11 анатомическими группами первого уровня, 3/4 ГоЛС применяются в гастро-

энтерологии, отоларингологии, неврологии, гинекологии, дерматологии, это такие группы как: «Средства, действующие на респираторную систему», «Дерматологические средства», «Средства, действующие на нервную систему», «Средства, влияющие на опорно-двигательный аппарат» и «Средства, влияющие на пищеварительную систему и метаболизм» (таблица 3).

Анализ ГоЛС по фармакотерапевтическим группам показал, что на рынке Российской Федерации присутствуют ЛС из всех 14 групп, а на рынках РБ и РК только 9 групп из 14. Наиболее широко представлены: «Средства, действующие на респираторную систему», «Дерматологические средства», «Средства, действующие на нервную систему» и «Средства, влияющие на пищеварительную систему и метаболизм».

#### Выводы:

1. Сравнительный анализ Государственных реестров ЛС Украины, РФ, РБ и РК показал, что наибольшее количество ГоЛС (465) представлено на рынке России, что является предпосылкой для расширения ассортимента ГоЛС и на фармацевтическом рынке Украины.

2. На анализируемых рынках основной сегмент ГоЛС занимают твердые лекарственные формы. А на украинском рынке – твердые и жидкие лекарственные формы представлены поровну, а именно таблетки, гранулы, капли оральные и растворы для инъекций.

3. Основными производителями ГоЛС являются Германия, Австрия, РФ. Установлено, что на фармацевти-

ческих рынках Украины, РБ и РК лидерами по производству ГолС являются зарубежные предприятия, доля которых составляет соответственно, 86,0%, 94,6% и 96,4%, а отечественных – 14,0%, 6% и 3,6% соответственно. Для РФ основными производителями ГолС являются отечественные предприятия (66,2%), доля зарубежных составляет 33,8%.

4. Анализ по фармакотерапевтическим группам показал, что только на рынке РФ ГолС представлены всеми 14 группами. На рынке РБ и РК доступны препараты из 9 групп. На фармацевтическом рынке Украины ГолС представлены 11 анатомическими группами из 14 существующих. Отсутствуют ЛС следующих групп: «Средства, влияющие на систему крови и гемопоэз», «Препараты гормонов для системного применения (кроме половых гормонов и инсулинов)» и группы «Противопаразитарные средства, инсектициды и репелленты».

5. На сегодняшний день для рынков Украины, РБ и РК актуальным является расширение ассортимента ГолС, повышение доли ЛС отечественного производства, что приведет к повышению как физической, так и экономической доступности ГолС для населения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Білошицька І. О. Вишневецька Л. І. Гомеопатичні лікарські засоби на ринку України // Фармацевт Практик. – 2015. – № 1. – С. 8. – Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/farmpr\\_2015\\_1\\_5](http://nbuv.gov.ua/UJRN/farmpr_2015_1_5).
2. Глущенко А. Н., Полова Ж. Н., Хоменко С. Л. Сравнительный анализ ассортимента гомеопатических лекарственных средств на фармацевтическом рынке Украины, Российской Федерации и Республики Беларусь // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия медицина. Фармация. – 2014. – № 24 (195). – С. 151-156.
3. Демченко В. О., Ткаченко Н. О., Майборода О. О. Дослідження вітчизняного фармацевтичного ринку гомеопатичних лікарських засобів // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2010. – Вип. XXIII. №. 4. – С. 20–22.
4. Дослідження напрямків покращення забезпечення населення гомеопатичними лікарськими засобами / В. М. Толочко, Д. В. Вакуленко, Р. Г. Литовченко // Актуальні проблеми розвитку галузевої економіки та логістики : матер. IV міжнар. наук.-практ. конф. 2-3 квітня 2015 р. – Х.: Вид-во НФаУ, 2015. – С. 276-277.
5. Попович В. П., Глущенко О. М., Костюк І. А. Сучасний стан фармацевтичного ринку гомеопатичних лікарських засобів України // Фармацевтичний часопис. – 2014. – №. 1. – С. 114–118.
6. Толочко В. М., Вакуленко Д. В. Исследование присутствия гомеопатических препаратов на фармацевтическом рынке Украины // Современный научный вестник. – 2013. – С. 96 – 104.
7. Tolochko V.M., Adonkina V. Iu., Semchenko K. V., Vakulenko D. V. Homeopathic medicines in UKraine: research of legislative support, range and economic availability // The Pharma Innovation Journal. – 2018. – № 7 (4) – P. 762-766.
8. Tolochko V.M., Vakulenko D.V., Shyshkina I. V. The study of extemporaneous compounding of homeopathic medicinal products // Вісник фармації. – 2015. – № 1. – С. 60–63.
9. Tolochko V. M., Vakulenko D. V. Study of problematic aspects of homeopathic medicinal products compounding in the pharmacies // Рецепт. – 2016 – Т.19, № 3. – С. 309–316.

## SUMMARY

### COMPARATIVE ANALYSIS OF THE ASSORTMENT OF HOMEOPATHIC MEDICINES IN THE PHARMACEUTICAL MARKET OF UKRAINE, THE RUSSIAN FEDERATION, THE REPUBLIC OF BELARUS AND KAZAKHSTAN

Tolochko V., Adonkina V., Vakulenko D., Muzyka T.

National Pharmaceutical University; Institute of Pharmacy Specialists' Professional Development, Kharkov, Ukraine

The aim of the study: analysis of the assortment of homeopathic medicinal (HoM) in the pharmaceutical market of Ukraine in comparison with the market of the Russian Federation, the Republic of Belarus and Kazakhstan for further provision of recommendations on possible scientific and practical directions, expansion of the HoM nomenclature in the Ukrainian pharmaceutical market.

The objects of research were State registers of medicines of Ukraine, the Russian Federation, the Republic of Belarus and Kazakhstan as of 01.01.2018. In the process of research, scientific methods of analysis, systematization and generalization, scientific literature were used.

The comparative analysis of the State Drug Registries of Ukraine, the Russian Federation, the Republic of Belarus and Kazakhstan showed that Russia is the leader in the number of registered drugs. In the analyzed markets, the main segment of HoM is occupied by solid dosage forms. Only in the Ukrainian market - solid and liquid in the same ratio.

It is determined that the main producers of HoM are Germany, Austria, the Russian Federation. Analysis by pharmacotherapeutic groups showed that only in the Russian Federation market HoM are represented by all 14 pharmacotherapeutic groups according to ATC-classification. In the Republics of Belarus and Kazakhstan, drugs from 9 groups are available on the market. On the pharmaceutical market of Ukraine HoM are represented by 11 pharmacotherapeutic groups of 14 existing ones.

It was revealed that for today the markets for Ukraine, Belarus and Kazakhstan are relevant is the expansion of the range of HoM, the increase in the share of drugs of domestic production, which will lead to an increase in both physical and economic accessibility of HoM for the population.

**Keywords:** medicines, homeopathic medicines, dosage form, assortment, pharmaceutical market, the State Register of Medicinal Products.

## РЕЗЮМЕ

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ РЫНКЕ УКРАИНЫ, РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, РЕСПУБЛИК БЕЛАРУСЬ И КАЗАХСТАН

Толочко В.М., Адонкина В.Ю., Вакуленко Д.В., Музыка Т.Ф.

Національний фармацевтичний університет; Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації, кафедра управління та економіки фармації, Харків, Україна

Цель исследования - анализ ассортимента гомеопатических лекарственных средств на фармацевтическом рынке

Украины в сравнении с рынком Российской Федерации, Республик Беларусь и Казахстан для дальнейшего предоставления рекомендаций по возможным научным и практическим направлениям, расширения номенклатуры ГолС на украинском фармацевтическом рынке.

Объектами исследований были Государственные реестры лекарственных средств Украины, Российской Федерации, Республик Беларусь и Казахстан на 01.01.2018 года. В процессе исследований использовались научные методы анализа, систематизации и обобщения, научная литература.

Проведенный сравнительный анализ Государственных реестров лекарственных средств (ЛС) Украины, Российской Федерации, Республик Беларусь и Казахстан показал, что лидером по количеству зарегистрированных ЛС является Россия. На анализируемых рынках основной сегмент гомеопатических лекарственных средств (ГолС) занимают твер-

дые лекарственные формы. На украинском рынке – твердые и жидкие в одинаковом соотношении.

Определено, что основными производителями ГолС являются Германия, Австрия, Российская Федерация. Анализ по фармакотерапевтическим группам показал, что только на рынке Российской Федерации ГолС представлены всеми 14 фармакотерапевтическими группами согласно АТС-классификации. В Республиках Беларусь и Казахстан на рынке доступны ЛС из 9 групп. На фармацевтическом рынке Украины ГолС представлены 11 анатомическими группами из 14 существующих.

Выявлено, что на сегодняшний день для рынков Украины, Республик Беларусь и Казахстан актуальным является расширение ассортимента ГолС, повышение доли ЛС отечественного производства, что приведет к повышению как физической, так и экономической доступности ГолС для населения.

რეზიუმე

ჰომეოპათიური სამკურნალო საშუალებების ასორტიმენტის შედარებითი ანალიზი უკრაინის, რუსეთის ფედერაციის, ბელარუსის რესპუბლიკის და ყაზახეთის რესპუბლიკის ფარმაცევტულ ბაზარზე

ვ. ტოლოჩკო, ვ. აღონკინა, დ. ვაკულენკო, ტ. მუზიკა

ეროვნული ფარმაცევტული უნივერსიტეტი; ფარმაციის სპეციალისტთა კვალიფიკაციის ამაღლების ინსტიტუტი, ფარმაციის მართვისა და ეკონომიკის კათედრა, ხარკოვი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა უკრაინის, რუსეთის ფედერაციის, ბელარუსის რესპუბლიკის და ყაზახეთის რესპუბლიკის ფარმაცევტულ ბაზარზე ჰომეოპათიური სამკურნალო საშუალებების (ჰსს) ასორტიმენტის ანალიზი სამეცნიერო და პრაქტიკული მიმართულებებით სამოძველო რეკომენდაციების შემუშავებისათვის, ჰსს-ის ნომენკლატურის გაფართოებისათვის უკრაინის ფარმაცევტულ ბაზარზე.

კვლევის ობიექტებს წარმოადგენდა უკრაინის, რუსეთის ფედერაციის, ბელარუსის რესპუბლიკის და ყაზახეთის რესპუბლიკის სამკურნალო საშუალებების სახელმწიფო რეესტრი 01.01.2018 წლისთვის. კვლევის პროცესში გამოყენებული იყო ანალიზის, სისტემატიზებისა და განზოგადების სამეცნიერო მეთოდები და სამეცნიერო ლიტერატურა.

უკრაინის, რუსეთის ფედერაციის, ბელარუსის რესპუბლიკის და ყაზახეთის რესპუბლიკის სამკურნალო საშუალებების სახელმწიფო რეესტრის შედარებითი ანალიზმა გამოავლინა, რომ რვეის-ტრიბრებული სამკურნალო საშუალებების რა-

ოდენობის მხრივ ლიდერია რუსეთის ფედერაცია. გაანალიზებულ ბაზრებზე ჰსს-ის ძირითადი სეგმენტი მყარი სამკურნალო ფორმებია; მყარი და თხევადი ფორმები თანაბარი ოდენობით არის მხოლოდ უკრაინულ ბაზარზე.

დადგენილია, რომ ჰსს-ის ძირითადი მწარმოებლებია გერმანია, ავსტრია, რუსეთის ფედერაცია. ფარმაცეპტული ჯგუფების მიხედვით ანალიზით გამოვლინდა, რომ ჰსს მხოლოდ რუსეთის ფედერაციის ბაზარზეა წარმოდგენილი სათანადო კლასიფიკაციით გათვალისწინებული 14-ვე ფარმაცეპტული ჯგუფით. უკრაინის ფარმაცევტულ ბაზარზე ჰსს წარმოადგენილია 11 ანატომიური ჯგუფით არსებული 14-დან.

გამოვლენილია, რომ სადღეისოდ უკრაინის, ბელარუსის რესპუბლიკის და ყაზახეთის რესპუბლიკის ბაზრებისათვის აქტუალურია ჰსს-ის ასორტიმენტის გაფართოება, სამომავლო წარმოების სამკურნალო საშუალებების მომეტება, რაც განაპირობებს ჰსს-ის როგორც ფიზიკურ, ასევე ეკონომიკურ ხელმისაწვდომობას მოსახლეობისათვის

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДОВ ОПЛАТЫ СТАЦИОНАРНОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН

<sup>1</sup>Наурзалиева А.Д., <sup>2</sup>Рахымбеков Т.К.

Государственный медицинский университет города Семей; Медицинский университет Астана, Казахстан

Во многих странах расходы на стационарное лечение составляют почти половину всех государственных расходов на медицинскую помощь, при этом основными показателями, определяющими расходы, являются стоимость госпитализации и продолжительность пребывания в стационаре [8]. В связи с этим существует множество методов оплаты стационарной помощи, каждая из которых показала ту или иную эффективность в использовании [5,6]. Среди суще-

ствующих методов оплаты медицинских услуг можно выделить следующие виды: 1) постатейный бюджет, 2) глобальный бюджет, 3) посуточная оплата (койко-дни), 4) по пролеченному случаю и 5) оплата за услугу.

Система постатейного бюджета основана на расходах с платежами, определяемыми и осуществляемыми перспективно. При данной системе у медицинских организаций (МО) нет стимула к повышению эффективности структуры расходов [14].

Глобальный бюджет на уровне МО представляет собой заранее установленный платеж на покрытие общих расходов больницы, на предоставление в общих чертах согласованного набора услуг за определенный срок. Глобальный бюджет может быть основан как на расходах, так и на результатах, или на комбинации того и другого. Глобальный бюджет широко используют в Германии, Канаде, Тайване [10,12].

При системе посуточной (за койко-день) оплаты доминирующим стимулом является увеличение количества дней пребывания в больнице, повышение занятости коек и, возможно, увеличение коечного фонда и общее перемещение амбулаторных и общественных реабилитационных услуг в стационар. В то же время, имеется стимул к снижению интенсивности услуг, оказываемых в течение каждого койко-дня. Высокий показатель занятости койки достигается за счет увеличения числа госпитализаций и средней продолжительности пребывания в больнице (СПП).

Средняя ставка посуточной оплаты основывается на общих затратах больницы, разделенных на общее число койко-дней. Средняя ставка посуточной оплаты также может корректироваться, чтобы отражать характеристики пациентов, клинические специальности и различия в структуре случаев по больницам и, кроме того, посуточные ставки могут быть разными для разных дней пребывания в больнице.

Система оплаты стационаров по пролеченному случаю одновременно создает стимулы к увеличению числа случаев и к минимизации расходов на каждый случай. Так как использование ресурсов на каждый случай лучше поддается контролю поставщиками, нежели количество пролеченных случаев, то последний стимул обычно сильнее, и системы оплаты стационаров по пролеченному случаю используются в качестве механизма контроля над затратами и сокращения мощностей в стационарах. По всему миру имеются свидетельства того, что системы оплаты стационаров по пролеченному случаю связаны с сокращением СПП в больнице [13].

Принцип систем посуточной оплаты и оплаты по пролеченному случаю заключается в том, что они подразумевают осуществление таких выплат стационарам, которые отражали бы среднюю стоимость производства единицы результата в рядовой больнице, и которые могут корректироваться с целью учета региональных экономических условий. Оплата средней стоимости единицы результата, такой как пролеченный случай, создает стимул к повышению эффективности, тогда как покрытие фактических расходов на каждый случай создает слабый или вообще нулевой стимул для повышения эффективности.

Каждый из перечисленных методов базируется на различных критериях оценки и единицы измерения результатов различны. По исследованиям ВОЗ применение данной методики в разных странах во многом схожи, однако существенно отличаются в калькуляции и оценке затрат на лечение [4].

С 2012 года в Республике Казахстан повсеместно внедряется система оплаты за пролеченный случай по клинико-затратным группам (КЗГ). Получившее широкое распространение во многих странах методика оплаты по пролеченному случаю была основана "diagnosis-related groups (DRG)" впервые разработанная в США в конце 60-х годов XX века. Методика DRG в переводе как «диагностически родственные группы (ДРГ)» означает классификацию клинических случаев стационарного лечения по однородным ресурсо-затратным группам [1,2]. По определению DRG классифицируют случаи в соответствии со следующими переменными: основные и вторичные диагнозы, возраст и пол пациента, наличие сопутствующих заболеваний и осложнений и выполняемые процедуры [11]. Данная методика давно используется в Medicare и систематически обновляется. Основой

методики является клиническая классификация случаев госпитализации и система кодификаторов. Использование данной методики началось с 1983 года на территории США, далее распространившись во многих странах мира [8]. В настоящее время функционируют следующие вариации DRG: Medicare DRG, Refined DRGs (R-DRG), All Patient DRGs (AP-DRG), Severity DRGs (S-DRG), All Patient, Severity-Adjusted DRGs (APS-DRG), All Patient Refined DRGs (APR-DRG), International-Refined DRGs (IR-DRG) и другие. Каждая страна использует данный метод адаптируя к своим социально-экономическим условиям. Относительные различия в них это методические подходы к расчету стоимости и в способах оплаты медицинских услуг [9].

В казахстанской модели КЗГ за основу расчета взяты четыре основных метода клинико-экономического анализа: анализ «минимизаций затрат»; анализ «затраты-эффективность»; анализ «затраты-полезность»; анализ «затрата-выгода» [3]. Данный метод КЗГ означает группу клинически однородных заболеваний, сходных по средней стоимости, структуре затрат и набору используемых клинических ресурсов. Система финансирования, основанная на КЗГ, предполагает расчет с больницами по среднему региональному тарифу, т.е. стационар за каждого выписанного пациента получает возмещение, равное средним по группе стационаров сложившимся затратам по клинической классификации, в которую попадает данный больничный случай. Основной целью внедрения КЗГ в РК было повышение качества медицинской помощи и рациональное управление затратами [7].

С момента внедрения КЗГ в систему оплаты медицинских услуг, данный метод прошел несколько этапов трансформации. На этапе перехода Казахстана в систему обязательного медицинского страхования вызывает интерес произвести анализ влияния систем оплаты медицинских услуг на медико-экономические показатели МО РК.

Целью исследования явилась оценка эффективности методов оплаты медицинской помощи в условиях стационаров Республики Казахстан.

**Материал и методы.** Материалом исследования явились медико-статистические и финансовые показатели деятельности трех медицинских организаций с различными формами оплаты за 2010-2017 гг.

Региональный онкологический диспансер г. Семей (РОД) является одним из крупных лечебных учреждений в Восточном регионе Республики Казахстан. Численность населения обслуживаемой территории, в состав которой входят шесть районов Восточно-Казахстанской области, составляет 619,4 тысяч человек. Диспансер с момента организации и в течение своей деятельности решает проблемы по охране здоровья населения региона, связанные с ранним выявлением, лечением и реабилитацией больных с предраковыми и злокачественными заболеваниями, имеет давние сложившиеся традиции по оказанию квалифицированной онкологической помощи населению. В онкологическом центре развернуто 140 круглосуточных и 20 стационар замещающих коек, где получают лечение около 5000 больных ежегодно. Поликлиника онкологического диспансера ежегодно оказывает консультативную помощь свыше 42 000 пациентам.

Университетский госпиталь Государственного медицинского университета г. Семей, является крупнейшим многопрофильным лечебным, учебно-педагогическим учреждением в Республике. В составе центра 15 стационарных отделений на 530 коек (210 педиатрических и 320 для взрослых), оказывающих 31 вид специализированной помощи.

КГП на ПХВ «Тайыншинская центральная районная больница» является лечебно-профилактической организаци-

ей, расположенной в Северо-Казахстанской области. Плановая мощность поликлиники 400 посещений в смену и 125 коек круглосуточного стационара. Радиус обслуживаемой территории составляет 110 км. Количество прикрепленного населения по состоянию на начало 2018 г. - 45503. В поликлинике работают врачи по 17 специальностям.

**Результаты и их обсуждение.** Финансирование по глобальному бюджету

До 2012 г. РОД г. Семей финансировался за счет пролеченных случаев, состоящих в КЗГ. Возмещение оплаты стационарного лечения производился по следующей схеме (рис. 1).

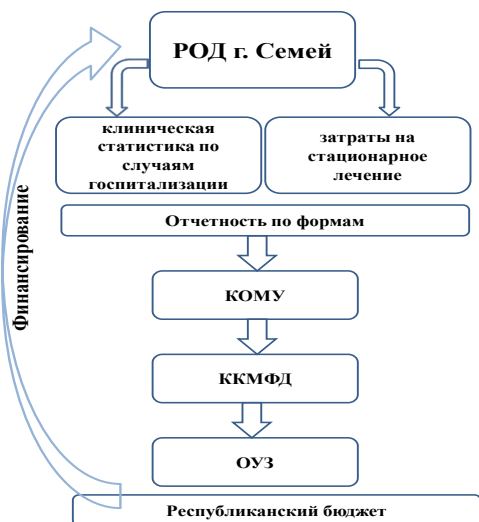


Рис. 1. Схема финансирования по клинко-затратным группам (КЗГ)

(КОМУ - комитет оплаты медицинских услуг, ККМФД – комитет по контролю медицинской и фармацевтической деятельности, ОУЗ – Областное управление здравоохранения)

В последующем данный метод возмещения затрат показал низкую эффективность в следующих показателях:

- отсутствие ориентированности на результат и раннюю диагностику;
- отсутствие комплексного подхода к лечению на амбулаторном и стационарном уровнях;
- не пациент-ориентированность (зависимость бюджета от объема услуг);
- недостаточное лекарственное обеспечение в т.ч. на амбулаторном уровне;
- отсутствие интегрированности финансирования между амбулаторным и стационарным уровнями;
- низкая мотивация персонала на качество.

В связи с этим решением МЗ РК в 2012 году было принято перевести онкологическую службу РК на глобальный бюджет.

Целями внедрения глобального бюджета послужили:

1. увеличение ранней диагностики и продолжительности жизни 5 лет и более;
2. доступность, непрерывность и качество лечения;
3. развитие социальных и психологических услуг;
4. доступность лекарственного обеспечения повышение удовлетворенности пациентов;
5. оптимизация ресурсов и повышение эффективности их использования;

6. повышение мотивация медицинского персонала;
7. повышение экономической самостоятельности и качества менеджмента.

Глобальный бюджет – это метод оплаты медицинской помощи, при котором финансирующая сторона оплачивает поставщику медицинских услуг ЛПУ заранее согласованный объем медицинской помощи. Условия оплаты по методу глобального бюджета определяются договором, заключаемым между финансирующей стороной и поставщиком медицинских услуг.

Оплата за оказанные медицинские услуги онкологическим больным в рамках гарантированного объема бесплатной медицинской помощи (ГОБМП) осуществляется по комплексному тарифу на одного онкологического больного субъектам здравоохранения, за исключением республиканских организаций здравоохранения, оплата которым осуществляется за оказание стационарной и стационарозамещающей медицинской помощи по тарифу за один пролеченный случай. Финансирование онкологического диспансера начало производится по количеству диспансерных учетных по комплексному тарифу, утвержденному ОУЗ. В рамках глобального бюджета действовала система финансирования «пациент-ориентированность», то есть деньги следовали за пациентом. При выборе пациентом другого лечебного учреждения, РОД нес обязательства по оплате за лечение. Особое значение в реализации программы развития придавалось интеграции с первичной медико-санитарной помощью (ПМСП) и повышению онконастороженности среди врачей первичного звена.

Кроме того, МЗ РК были определены индикаторы, по которым проводилась рейтинговая оценка онкологических диспансеров. Основными показателями для проведения рейтинговой оценки онкологических диспансеров выбраны целевые индикаторы Программы («Программа развития онкологической помощи в Республике Казахстан на 2012–2016 гг.») и динамика индикаторов менеджмента.

Целевые значения по показателям установлены с учетом таковых Программы (Меморандум) по каждому региону или показателей за аналогичный период прошлого года (рис. 2).

Целевой индикатор по Меморандуму

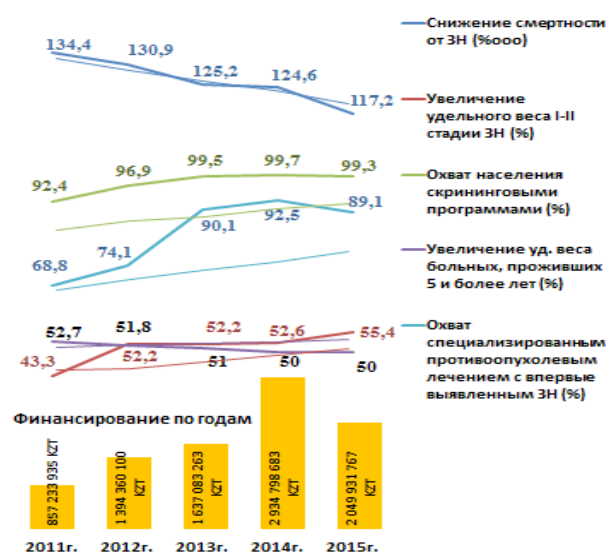


Рис. 2. Выполнение целевых индикаторов по Меморандуму РОД г.Семей (тонкая линия - плановые индикаторы, толстая линия - фактическое выполнение)

Согласно данному графику очевидны изменения показателей онкологической заболеваемости при изменении объемов финансирования. Так, в 2011-2015 гг. достигнуты основные целевые индикаторы по Меморандуму. Снижена смертность от злокачественных новообразований на 17,2%; увеличен охват скрининговыми программами населения на 6,9% и на 20,3% - специализированным противоопухолевым лечением, на 12,1% - удельный вес выявления злокачественных новообразований на I-II стадии.

Внедрение глобального бюджета привело к уменьшению стационарных коек с 210 до , т.е. на 33,3%, однако количество пролеченных в стационаре существенно не изменилось. Отмечается увеличение коек дневного стационара с 10 до 40 в 2017 г., при этом количество пролеченных в дневном стационаре увеличилось с 716 в 2010 году (до внедрения глобального бюджета) до 1139 в 2012 и 1619 в 2017 году (таблица 1).

Таким образом, внедрение системы глобального бюджета позволило пролечить такое же количество пациентов при сокращении коек на 33,3% и увеличить количество пролеченных в дневном стационаре на 55,8%, что свидетельствует о повышении экономической самостоятельности и эффективности использования бюджетных средств МО.

До 2018 года в РОД г.Семей оплата за высокотехнологические медицинские услуги (ВТМУ) производилась по тарифам стационарной медицинской помощи (СМП), при этом с 2013 по 2017 гг. отмечается значительный рост пролеченных случаев по ВТМУ, увеличение числа пролеченных на 95,9% (таблица 2). Данный показатель характеризует

тенденцию роста ресурсоемких и трудозатратных методов лечения онкобольных. Объем финансирования в 2017 году снизился на 4,6% по причине прекращения финансирования из местного бюджета.

Со временем в работе глобального бюджета были выявлены существенные пробелы, которые препятствуют дальнейшему развитию службы.

Согласно действующему приказу МЗСР РК №627 «Об утверждении Правил возмещения затрат организациям здравоохранения за счет бюджетных средств» (пункт 40), онкологические диспансеры в рамках комплексного тарифа, т.е. бюджетных средств, выделенных на онкологических больных, зарегистрированных в Электронном регистре (ЭРОБ), должны оказывать комплекс медицинских услуг предраковым - и больным с доброкачественными новообразованиями. Для онкологических диспансеров это является чрезмерной нагрузкой, так как из всех пролеченных случаев 10%, а среди оперативных видов лечения около 34% составляют доброкачественные и предраковые заболевания.

В рамках профилактических осмотров, скрининговых исследований цитологическая лаборатория диспансера выполняет цитологические исследования. Кроме скрининговых профилактических исследований в цитологическую лабораторию поступали исследования женщин 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 лет (из ЦПМСП города и районов профосмотр, межскрининговый возраст – здоровые женщины, которые обращаются в ПМСП первый раз за текущий год и им проводится забор цитологических мазков из цервикального канала) (таблица 3).

Таблица 1. Оснащенность койками РОД г.Семей

| Показатели                                            | 2006 г. | 2010 г. | 2011 г. | 2012 г. | 2015 г. | 2016 г. | 2017 г. |
|-------------------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Оснащенность по койке круглосуточного стационара (КС) | 210     | 210     | 210     | 210     | 140     | 140     | 140     |
| - дневной стационар                                   | -       | 10      | 10      | 30      | 20      | 20      | 40      |
| Количество пролеченных КС                             | 3969    | 4216    | 4125    | 3865    | 3617    | 3800    | 3954    |
| - дневной стационар                                   | -       | 716     | 873     | 1139    | 1128    | 1397    | 1619    |
| Оборот койки (стационар)                              | 18,9    | 20,0    | 19,6    | 18,4    | 24,1    | 27,1    | 28,2    |
| - дневной стационар                                   | -       | 71,6    | 87,3    | 38,0    | 56,4    | 69,8    | 80,9    |
| Среднее пребывание коек в КС                          | 17,4    | 16,8    | 17,4    | 16,7    | 13,8    | 12,8    | 12,2    |
| - в дневном стационаре                                | -       | 8,9     | 10,1    | 10,4    | 15,0    | 15,4    | 14,4    |

Таблица 2. Объемы финансирования РОД г.Семей по ВСМП и СМП с 2013-2017 гг.

| Объем финансирования | 2013 г             |                  | 2014 г             |                  | 2015 г             |                  | 2016 г      |                  | 2017 г             |                  |
|----------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|-------------|------------------|--------------------|------------------|
|                      | Пролеченные случаи | сумма (в тыс.лг) | Пролеченные случаи | сумма (в тыс.лг) | Пролеченные случаи | Сумма (в тыс.лг) | Пролеченные | Сумма (в тыс.лг) | Пролеченные случаи | Сумма (в тыс.лг) |
| ВТМУ                 | 19                 | Как СМП          | 51                 | Как СМП          | 60                 | Как СМП          | 427         | Как СМП          | 471                | Как СМП          |
| СМП                  | 4915               | 1637083,263      | 4702               | 1737747,182      | 4685               | 2016976,766      | 4770        | 2037347,815      | 5102               | 1946632,722      |

Таблица 3. Показатели цитологических исследований за 2011-2015 гг.

| 2011 год     | 2012 год     | 2013 год     | 2014 год     | 2015 год     |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 34 855 иссл. | 34 659 иссл. | 38 846 иссл. | 38 066 иссл. | 44 957 иссл. |

Таблица 4. Основные показатели финансовой экономической деятельности Тайыншинской ЦРБ

| Показатели                             | 2013 год | 2014 год | 2015 год | 2016 год | 9 мес. 2017 год |
|----------------------------------------|----------|----------|----------|----------|-----------------|
| Количество прикрепленного населения    | 47988    | 46324    | 46327    | 44759    | 45486           |
| Годовое финансирование ЦРБ (млн.тенге) | 797,8    | 883,9    | 943,5    | 1062,7   | 1089,1          |
| Средняя заработная плата (тенге)       | 68036    | 77296    | 77229    | 86763    | 90589           |
| Средняя заработная плата врачей        | 171358   | 194821   | 182296   | 208971   | 241327          |
| Средняя заработная плата СМР           | 79285    | 93101    | 97607    | 104773   | 107323          |

Таблица 5. Количество штатных единиц и сокращение кадров стационара Тайыншинской ЦРБ (шт. ед.)

| Показатели   | 2013 год | 2014 год | 2015 год | 2016 год | 9 мес. 2017 год |
|--------------|----------|----------|----------|----------|-----------------|
| <b>Всего</b> | 316,25   | 222,25   | 207,25   | 207,25   | 207,5           |
| <b>Врачи</b> | 36,25    | 27,75    | 27,5     | 27,5     | 22              |
| <b>СМР</b>   | 122,25   | 86,5     | 86,5     | 86,5     | 84,5            |

Таблица 6. Основные показатели деятельности стационарной службы

| Показатели                          | 2013 год | 2014 год | 2015 год | 2016 год | 9 мес. 2017 год |
|-------------------------------------|----------|----------|----------|----------|-----------------|
| Количество прикрепленного населения | 47988    | 46324    | 46327    | 44759    | 45486           |
| Коечный фонд                        | 175      | 140      | 140      | 140      | 125             |
| Оборот койки                        | 20,3     | 23,7     | 25,6     | 26,2     | 28,9            |
| Среднее число дней пребывания       | 8,2      | 8        | 8,1      | 7,8      | 7,8             |

Цитологическая лаборатория РОД г. Семей не является централизованной, все расходы осуществлялись за счет бюджета диспансера. В 2015 году диспансер потратил на данные исследования 25 165 130,3 тенге (из расчета по тарификатору 559,76 т. за одно цитологическое исследование). На тот момент, так называемые оппортунистические цитологические профилактические исследования не входили в перечень ГОБМП ни онкологического диспансера, ни ПМСП. При этом, при оппортунистическом профилактическом осмотре ежегодно выявляются более 30 случаев рака шейки матки.

В связи с вводом программы АПП врачи первичного звена в целях экономии своих средств стали направлять пациентов на консультации не в онкологические, маммологические и проктологические кабинеты, согласно Маршрутизации пациента (приказ №452 МЗ РК «Об утверждении онкостандартов»), а напрямую в онкологический диспансер. Вследствие чего за несколько лет увеличилось количество посещений пациентами диспансерных отделений и резко увеличился объем работы в параклинических отделениях. В случае, когда пациент направлен в онкодиспансер, ему не имеют права отказать в дообследовании. Мощност диспансерного отделения составляет 56 посещений в смену. Фактический в смену получают консультации более 200 лиц. Из 5652 первично обратившихся в РОД в 2015 году диагноз подтвердился только у 1400-1500, остальные направлены необоснованно. Расходы онкодиспансера не покрываются. Возникает необходимость разрешения проблем по обоснованным направлениям.

С 2013 года применение глобального бюджета распространилось и на медицинских организации сельских населенных пунктов. Одним из примеров являются показатели Тайыншинской центральной районной больницы (таблицы 4,5).

Данные таблицы 4 указывают, как система оплаты медицинской помощи повлияла на уровень средней заработной платы медицинских работников, изменения произошли в сторону увеличения на 24,9%, средняя заработная плата врачей увеличилась на 28,9%, а СМР на 26%.

Система глобального бюджета существенно повлияла на штатный состав медицинской организации, так с 2013 года произошла оптимизация штата: врачей стационара на 14,25 шт.ед., СМР - на 37,75 шт.ед. (таблица 5).

Как и во многих стационарах республики, в Тайыншинской ЦРБ за период с 2013-2017 гг. сокращено количество коек на 50 (28,6%), при этом увеличен оборот койки на 8,6 (29,7%). Среднее пребывание пациента на койке сократилось на 0,4 дня.

#### Финансирование по клинко-затратным группам

Финансирование Университетского госпиталя Государственного медицинского университета г. Семей осуществляется за счет КЗГ по пролеченному случаю. После внедрения данной системы оплаты медицинских услуг выявлены как положительные, так и отрицательные стороны.

Анализ статических данных показал, что количество коек в 2017 году в сравнении с 2013 годом сократилось на 30 (5,6%). Имеется значительное увеличение оборота коек. Следует отметить сравнительное снижение показателя пребывания в стационаре в 2015 г. на 1,4 койко-дней по сравнению с 2011 г. (таблица 7).

Таблица 7. Койкооборот УГ ГМУ г. Семей за 2013-2017 гг.

| Показатели                                            | 2013 г. | 2014 г. | 2015 г. | 2016 г. | 2017 г. |
|-------------------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Оснащенность по койке круглосуточного стационара (КС) | 530     | 530     | 500     | 500     | 500     |
| - дневной стационар                                   | 30      | 30      | 35      | 35      | 35      |
| Количество пролеченных КС                             | 15990   | 15544   | 15706   | 16470   | 16403   |
| - дневной стационар                                   | 1250    | 1148    | 870     | 1317    | 1597    |
| Оборот койки (стационар)                              | 30,2    | 29,3    | 31,4    | 32,9    | 32,8    |
| - дневной стационар                                   | 41,7    | 38,3    | 24,8    | 37,6    | 45,6    |
| Среднее пребывание коек в КС                          | 10,4    | 10,6    | 10,6    | 10,1    | 9,6     |
| - в дневном стационаре                                | 7,7     | 7,9     | 7,8     | 7,9     | 8,0     |

Таблица 8. Объемы финансирования УГ ГМУ г. Семей по ВТМУ и СМП с 2013 г. по 2017 г.

| Объем финансирования | 2012 г             |                  | 2013 г             |                  | 2014 г             |                  | 2015 г             |                  | 2016 г             |                  | 2017 г             |                  |
|----------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|
|                      | Пролеченные случаи | сумма (в тыс.тг) | Пролеченные случаи | сумма (в тыс.тг) | Пролеченные случаи | сумма (в тыс.тг) | Пролеченные случаи | сумма (в тыс.тг) | Пролеченные случаи | сумма (в тыс.тг) | Пролеченные случаи | сумма (в тыс.тг) |
| ВТМУ                 | 94                 | 62 622,69        | 253                | 281 100,0        | 227                | 266 617,971      | 277                | 358 409 366      | 436                | 763 896 941      | 453                | 809 574 230      |
| СМП                  | 14728              | 1 177 490,0      | 15388              | 1 346 626,0      | 15297              | 1 632 189,259    | 16021              | 1 754 778 476    | 17680              | 2 331 336 076    | 17062              | 2 454 051 806    |

Отмечается ежегодный рост объемов финансирования пропорционально росту пролеченных случаев, так с 2012 г. финансирование МО к 2017 г. увеличилось на 62%, пролеченных случаев по ВТМУ - на 79,2% и СМП - на 13,7% (таблица 8).

Анализ соотношения пролеченных случаев и оплаты по КЗГ показал, что в зависимости от весового коэффициента клинического случая пропорционально зависит уровень дохода медицинской организации (рис. 3 и 4). При коэффициенте в пределах 0,5-1, что составляет основную массу случаев, уровень дохода снижается, в среднем, на 18%. Основную прибыль МО получает от клинического случая с коэффициентом >1,5, которые относятся к кардиохирургической патологии. Данные показатели свидетельствуют о необходимости пересмотра базовых ставок по КЗГ.

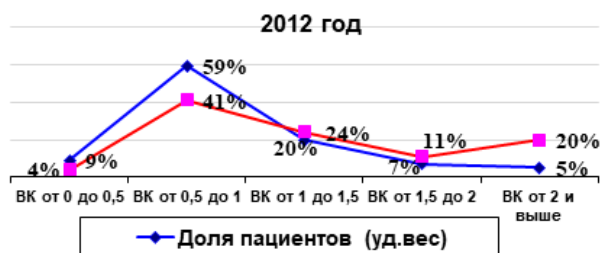


Рис. 3. Соотношение пролеченных случаев и оплаты КЗГ в УГ ГМУ г. Семей за 2012 год в зависимости от весового коэффициента

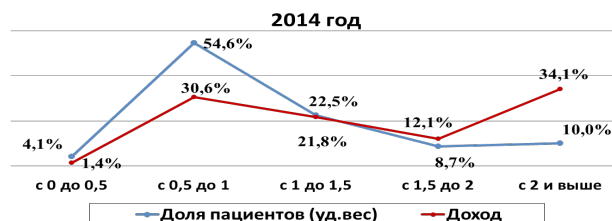


Рис. 4. Соотношение пролеченных случаев и оплаты КЗГ в УГ ГМУ г. Семей за 2014 год в зависимости от весового коэффициента



Рис. 5. Структура основных расходов УГ ГМУ г. Семей

В 2014 г. в сравнении с 2012 г. наблюдается снижение расходов по оплате труда на 11% (с 65% до 54%). Расходы на приобретение медикаментов увеличились на 13%. Неизменными остаются расходы на содержание стационара 10% как в 2012 г., так и в 2014 г.

Основная проблема УГ ГМУ г. Семей состоит в недостаточности средств для развития стационара.

**Выводы.** Таким образом, применение в отечественной практике систем глобального бюджета и оплаты по КЗГ в условиях стационара показали свою результативность, доказав, что система оплаты призвана стимулировать увеличению эффективности и препятствовать оказанию ненужных услуг. В то же время можно выделить ряд отрицательных сторон методов оплаты. Негативными последствиями внедрения КЗГ могут служить: ранняя необоснованная выписка пациентов; избегание ресурсоемких случаев при низкой стоимости КЗГ; сокращение объема медицинской помощи пациенту; госпитализация в больницы более высокого уровня (областные больницы, специализированные больницы, научные центры, научно-исследовательские институты) больных, не нуждающихся в таком уровне помощи; искажение кодов в пользу более дорогостоящих КЗГ. Это свидетельствует о необходимости пересмотра КЗГ с целью повышения эффективности использования бюджетных средств. Оплата медицинских услуг по системе глобального бюджета также требует проведение ряда изменений:

- установление единого комплексного тарифа для онкологических больных в РК с поправочным коэффициентом в зависимости от природно-климатических условий, МТБ диспансера, уровня категориальности специалистов и уровня оказываемой помощи по 3-ступенчатой методике;
- при составлении годового плана среднесписочных онкологических больных на оказание ГОБМП выставляется заведомо завышенная среднесписочная цифра, при этом искусственно создается невыполнение бюджета. Предлагается планировать среднесписочную цифру от количества больных на конец предыдущего года;
- для онкологических диспансеров следует предусмотреть квотирование на проведение ВТМУ либо приравнять к тарифам, согласно КЗГ;
- производить оплату непрофильных затрат онкологического диспансера из других источников, к примеру, лечение доброкачественных, предраковых новообразований – через местный бюджет или КЗГ; оппортунистический проф.осмотр, дообследование необоснованно направленных больных – посредством субподряда за счет ПМСП до верификации (до регистрации в ЭРОБ).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Авксентьева М.В. Перспективы использования клинко-статистических групп для оплаты медицинской помощи в педиатрии и неонатологии. // Вопросы современной педиатрии, 2014, том 13/№4, стр.55-61
2. Авксентьева М.В., Салахутдинова С.К. Клинико-статистические группы (КСГ) как новый метод оплаты стационарной и стационарозамещающей помощи в Российской Федерации. // Лекарственный вестник, №2 (62) 2016, том 10.
3. Асылбекова Г.О., доклад КОМУ МЗСР РК, Астана, 2015.
4. Брыксина Н.В., Ключников М.Ю., Аленичева О.В. Экономические аспекты применения инновационных способов оплаты стационарных медицинских услуг в системе обязательного медицинского страхования. // Центр научного сотрудничества «Интерактив плюс».
5. Гехт И.А., Артемьева Г.Б. Некоторые методические аспекты реализации Закона об обязательном медицинском страховании на региональном уровне. Самара, 2011. 108 с.
6. Гехт И.А., Артемьева Г.Б. О применении различных спо-

собов оплаты медицинских услуг в системе обязательного медицинского страхования // Экономика здравоохранения. 2010. N 11 - 12. С. 34 - 39.

7. Капанова Г.Ж., Аяганова Л.Б., Сарыбаева Г.К., Калмаханов С.Б., Тулеков Ж.Д. Клинико-затратные группы (КЗГ) как новый метод возмещения оплаты стационарной помощи при ишемических инсультах. // Вестник КазНМУ №1-2017, 543-548 с.
8. МЗ РФ ФФОМС. Способы оплаты медицинской помощи в рамках программы государственных гарантий на основе групп заболеваний, в том числе клинко-статистических групп болезней (КСГ), Москва, 2012 // Менеджер здравоохранения №3, 2013, 55-65 с.
9. Семенов В.Ю., Самородская И.В. Оценка затрат: стандарты медицинской помощи и клинко-статистические группы. // Реформы здравоохранения, 2014.
10. Bradley Chen, Victoria Y. Fan. Strategic Provider Behavior Under Global Budget Payment with Price Adjustment in Taiwan. Health Econ. 2015 Nov;24(11):1422-36
11. Jason M. Sutherland. Pricing hospital care: Global budgets and marginal pricing strategies. // Health Policy. 2015;119(8):1111-8.
12. Liaw W., Bazemore A., Mishori R., Diller P., Bardella I., Chang N. The financial health of global health programs. // Fam Med. 2014 Oct;46(9):672-8.
13. O'Donnell BE, Schneider KM, Brooks JM, Lessman G, Wilwert J, Cook E, Martens G, Wright K, Chrischilles EA. Standardizing Medicare payment information to support examining geographic variation in costs. // Medicare Medicaid Res Rev. 2013 Sep 10;3(3).
14. Tangcharoensathien V., Pitayarangarit S., Patcharanarumol W., Prakongsai P., Sumalee H., Tosanguan J., Mills A. Promoting universal financial protection: how the Thai universal coverage scheme was designed to ensure equity. // Health Res Policy Syst. 2013; 11: 25.

## SUMMARY

### ESTIMATION OF EFFICIENCY OF HOSPITAL PAYMENT METHODS IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

<sup>1</sup>Naurzaliyeva A., <sup>2</sup>Rakhypbekov T.

<sup>1</sup>Semey State Medical University; <sup>2</sup>Astana Medical University, Kazakhstan

Purpose - to evaluate the methods of payment for medical aid in the medical organizations of the Republic of Kazakhstan.

The materials of the study were statistical and financial indicators of the activity of medical organizations of the Republic of Kazakhstan for 2010-2017. The research is based on methods of organizational and economic research: theoretical analysis, economic and statistical analysis.

With the implementation of the system of "global budget" at the Regional Oncologic Dispensary main target indicators of the memorandum was reached with the year 2011-2015. With the introduction of the system, the beds were reduced by 33.3%, but due to the increase in beds in the day hospital, the number of patients treated increased by 55.8%.

In the Tayinshinsky Central District Hospital, the increase in funding by 26.7% and wages of medical workers by 24.9%.

Thus, the application in the domestic practice of global budget systems and payment for diagnosis-related groups in a hospital environment showed its effectiveness, proving that the payment

system is designed to stimulate efficiency gains and to prevent the provision of unnecessary services. At the same time, a number of negative aspects of payment methods can be identified, which requires a further revision of the diagnosis-related groups in order to improve the efficiency of using budget funds. Payment of medical services for the global budget system, in particular oncological services also require a number of changes on the part of the regulatory normative legal acts.

**Keywords:** Hospital Care Payment, methods of payment, Kazakhstan.

## РЕЗЮМЕ

### ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДОВ ОПЛАТЫ СТАЦИОНАРНОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН

<sup>1</sup>Наурзалиева А.Д., <sup>2</sup>Рахыпбеков Т.К.

<sup>1</sup>Государственный медицинский университет г. Семей;

<sup>2</sup>Медицинский университет Астана, Казахстан

Целью исследования явилась оценка методов оплаты медицинской помощи в медицинских организациях Республики Казахстан.

Материалом исследования явились статистические и финансовые показатели деятельности медицинских организаций Республики Казахстан за 2010-2017 гг. В основу исследования положены методы организационно-экономических исследований: теоретический анализ, экономический и статистический анализ.

После внедрения системы «глобального бюджета» в Региональный онкологический диспансер в 2011-2015 гг. достигнуты основные целевые индикаторы, позволяющие при сокращении на треть больничных коек и расширении дневного стационара, увеличить оборот койки до 8,6 (29,7%). Соответственно возросло и число пролеченных пациентов на 55,8%. Достигнутые результаты, в свою очередь, привели к росту объема финансирования на 26,7% и заработной платы медицинских работников на 24,9%.

Таким образом, применение в отечественной практике систем глобального бюджета и оплаты по клинико-затратным группам (КЗГ) в условиях стационара показали свою результативность, доказав, что система оплаты призвана стимулировать увеличение эффективности и исключить случаи оказания ненужных услуг. В то же время следует выделить ряд отрицательных сторон методов оплаты, что требует дальнейшего пересмотра КЗГ с целью повышения

эффективности использования бюджетных средств. Оплата медицинских услуг по системе глобального бюджета, в частности онкологических служб, требуют ряда изменений по части регламентирующих нормативно-правовых актов.

## რეზიუმე

სტაციონარული სამედიცინო დახმარების ანაზღაურების მეთოდების ეფექტურობის შეფასება ყაზახეთის რესპუბლიკაში

<sup>1</sup>ა. ნაურზალიევა, <sup>2</sup>ტ. რახიპბეკოვი

<sup>1</sup>სემეის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>ასტანას სამედიცინო უნივერსიტეტი, ყაზახეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სამედიცინო დახმარების ანაზღაურების მეთოდების შეფასება ყაზახეთის რესპუბლიკის სამედიცინო ორგანიზაციებში.

კვლევის მასალა შეადგინა ყაზახეთის რესპუბლიკის სამედიცინო ორგანიზაციების სტატისტიკურმა და ფინანსურმა მაჩვენებლებმა 2010-2017 წწ. კვლევას საფუძვლად დაედო ორგანიზაციულ-ეკონომიკური კვლევის მეთოდები: თეორიული, ეკონომიკური და სტატისტიკური ანალიზი.

“გლობალური ბიუჯეტის” სისტემის დანერგვით 2011-2015 წწ. მიღწეულია ძირითადი სამიზნე ინდიკატორები, რომელიც საავადმყოფოს საწოლების ერთი მესამედით შემცირების და დღის სტაციონარის გაფართოების პირობებში იძლევა საწოლბრუნვის 8,6-მდე (29,7%) გაზრდის საშუალებას; შესაბამისად, 55,8%-მდე გაიზარდა განკურნებული პაციენტების რაოდენობა.

მიღწეულმა შედეგებმა, თავის მხრივ, განაპირობა ფინანსირების მოცულობის გაზრდა 26,7%-ით, სამედიცინო პერსონალის ხელფასის კი – 24,9%-ით.

ამრიგად, სამამულო პრაქტიკაში გლობალური ბიუჯეტის სისტემების გამოყენებამ სტაციონარის პირობებში გამოავლინა შედეგიანობა და დაამტკიცა, რომ ანაზღაურების სისტემა მოწოდებულია ეფექტურობის ამაღლების სტიმულირებაზე და არასაჭირო მომსახურების გაწევის შემცირებაზე. ამავე დროს, შესაძლებელია გარკვეული უარყოფითი მხარეების გამოყოფაც, რაც საბიუჯეტო სახსრების გამოყენების ეფექტურობის ამაღლების თვალსაზრისით შემდგომ გადახედვას საჭიროებს. სამედიცინო მომსახურების ანაზღაურება გლობალური ბიუჯეტის სისტემით, კერძოდ – ონკოლოგიური სამსახურებისა, ასევე, რეგლამენტაციურ ცვლილებებს საჭიროებს.

\* \* \*