

# GEORGIAN MEDICAL NEWS

---

ISSN 1512-0112

No 3 (252) March 2016

---

ТБИЛИСИ - NEW YORK



ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Медицинские новости Грузии  
საქართველოს სამედიცინო სიახლენი

# GEORGIAN MEDICAL NEWS

No 3 (252) 2016

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, рецензии, 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, რეცენზიები.

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

## 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

### НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

Михаил Бахмутский (США), Александр Геннинг (Германия), Амиран Гамкрелидзе (Грузия),  
Константин Кипиани (Грузия), Георгий Кавтарадзе (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,  
Рима Бериашвили, Лео Бокерия, Отар Герзмава, Лиана Гогиашвили, Нодар Гогебашвили,  
Николай Гонгадзе, Манана Жвания, Ирина Квачадзе, Нана Квирквелия, Зураб Кеванишвили,  
Гурам Кикнадзе, Палико Кинтраиа, Теймураз Лежава, Джанлуиджи Мелотти, Караман Пагава,  
Николай Пирцхалаишвили, Мамука Пирцхалаишвили, Фридон Тодуа,  
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

### **SCIENTIFIC EDITORIAL COUNCIL**

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

Michael Bakhmutsy (USA), Alexander Gënning (Germany), Amiran Gamkrelidze (Georgia), David Elua (USA), Konstantin Kipiani (Georgia), Giorgi Kavtaradze (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, Rima Beriashvili, Leo Bokeria, Kakhaber Chelidze, Tinatin Chikovani, Archil Chkhotua, Otar Gerzmava, Liana Gogiashvili, Nodar Gogebashvili, Nicholas Gongadze, Rudolf Hohenfellner, Zurab Kevanishvili, Ramaz Khetsuriani, Guram Kiknadze, Paliko Kintraia, Irina Kvachadze, Nana Kviravelia, Teymuraz Lezhava, Gianluigi Melotti, Kharaman Pagava, Nicholas Pirtskhalaishvili, Mamuka Pirtskhalaishvili, Ramaz Shengelia, Pridon Todua, 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. Библиографическое описание литературы составляется на языке текста документа. 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, соответствующему номеру данной работы в списке литературы.

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 საქურაღებოლ!

რედაქციაში სტატიის წარმოდგენისას საჭიროა დაიცვათ 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, შემაჯამებელი და პროცენტული მონაცემები უნდა შეესაბამებოდეს ტექსტში მოყვანილს.

6. ფოტოსურათები უნდა იყოს კონტრასტული; სურათები, ნახაზები, დიაგრამები - დასათაურებული, დანომრილი და სათანადო ადგილას ჩასმული. რენტგენოგრამების ფოტოასლები წარმოადგინეთ პოზიტიური გამოსახულებით **tiff** ფორმატში. მიკროფოტოსურათების წარწერებში საჭიროა მიუთითოთ ოკულარის ან ობიექტივის საშუალებით გადიდების ხარისხი, ანათალებების 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.

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>Sesitashvili T., Tomadze G., Gvantseladze G., Rekhviashvili A.</b> A RARE CASE OF RIGHT DIAPHRAGM AGENESIS .....	7
<b>Abutidze A., Bolokadze N., Chkhartishvili N., Sharvadze L., Tsertsvadze T.</b> INCIDENCE OF TUBERCULOSIS AMONG HIV/HCV CO-INFECTED PATIENTS RECEIVING HEPATITIS C TREATMENT WITH PEGYLATED INTERFERON AND RIBAVIRIN IN GEORGIA.....	10
<b>Japaridze L., Sadunishvili M., Megreladze I.</b> COMBINATION THERAPY EFFECTIVENESS OF EZETIMIBE AND ATORVASTATIN IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME .....	15
<b>Tatishvili S., Jorbenadze R., Kavtaradze G.</b> ASSOCIATION OF DEPRESSION WITH HOSPITAL LENGTH OF STAY IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME.....	22
<b>Varim C., Sipahi S., Yaylaci S., Kaya T., Nalbant A.</b> EFFECTS OF VITAMIN D ANALOGS ON ERYTHROPOIESIS-STIMULATING AGENT DASAGE AND SECONDARY ANEMIA IN HEMODIALYSIS PATIENTS .....	26
<b>Тургунова Л.Г., Ларюшина Е.М., Амирханова Д.Т., Алина А.Р., Башева Т.А.</b> ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ МОДИФИЦИРУЕМЫХ ФАКТОРОВ РИСКА РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКИХ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СРЕДИ СЕЛЬСКОГО И ГОРОДСКОГО НАСЕЛЕНИЯ КАРАГАНДИНСКОЙ ОБЛАСТИ.....	32
<b>Самсония М.Д., Канделаки М.А., Самсония К.Д., Джоджуа И.Д.</b> СМЕРТЕЛЬНЫЙ ДИАГНОЗ И ЖИЗНЕННЫЙ ГОРИЗОНТ ЧЕЛОВЕКА (ОБЗОР) .....	37
<b>Sheveleva N., Minbayeva L., Belyayeva Y.</b> SHOCK-WAVE THERAPY APPLICATION IN CLINICAL PRACTICE (REVIEW).....	42
<b>Mirzikashvili N., Kazakhashvili N.</b> MAIN TRENDS IN ACCESS TO PRIMARY HEALTH CARE FOR ADOLESCENTS IN GEORGIA.....	47
<b>Кобешавидзе Д.Д., Чиквиладзе Д.П., Гаччиладзе Х.Э., Микеладзе М.Л.</b> АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ/РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРОБНЫХ ШТАММОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ РОЖЕНИЦ, НОВОРОЖДЕННЫХ И ПРОБ ВНУТРЕННЕЙ СРЕДЫ РОДИЛЬНОГО ОТДЕЛЕНИЯ.....	54
<b>Dashniani M., Chighladze M., Burjanadze M., Beselia G., Kruashvili L.</b> MEMANTINE ATTENUATES THE OKADAIC ACID INDUCED SHORT-TERM SPATIAL MEMORY IMPAIRMENT AND HIPPOCAMPAL CELL LOSS IN RATS .....	59
<b>Matitashvili T., Domianidze T., Emukhvari N., Khananashvili M.</b> BEHAVIORAL CHARACTERISTICS OF RATS ON VARIOUS HIERARCHICAL LEVEL CAUSED BY ACUTE INFORMATIONAL STRESS.....	63
<b>Атаман Ю.А., Ермоленко Т.С., Грек А.В., Жаркова А.В., Овечкин Д.В.</b> АНАЛИЗ СВЯЗИ THR83ALA ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА МАТРИКСНОГО GLA-ПРОТЕИНА С РАЗВИТИЕМ КАЛЬЦИФИКАЦИИ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ .....	73
<b>Фадеева А.А., Приступа Л.Н., Погорелова О.С., Кириченко Н.Н., Дудченко И.А.</b> РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ SLC2A9 И ABCG2 ГЕНОВ В ВОЗНИКНОВЕНИИ ГИПЕРУРИКЕМИИ И ПОДАГРЫ (ОБЗОР) .....	79

<b>Dzidziguri D., Rukhadze M., Modebadze I., Bakuradze E., Kurtanidze M., Giqoshvili V.</b> THE STUDY OF THE IMMUNE CORRECTIVE PROPERTIES OF GREEK WALNUT (JUGLANS REGIA L.) SEPTA ON THE EXPERIMENTAL MODEL OF LEUKOPENIA.....	84
<b>Barabadze E., Burkadze G., Munjishvili V.</b> ACCURATE DIAGNOSIS OF THYROID NODULES: A REVIEW OF DIAGNOSTIC DILEMMAS ON THYROID FINE-NEEDLE ASPIRATION BIOPSIES.....	89
<b>Горгиладзе Г.И., Букия Р.Д., Каландаришвили Э.Л., Тактакишвили А.Д., Гелашвили Н.Ш., Давиташвили М.Т., Маджагаладзе Н.Б.</b> УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ И МЕЖКЛЕТОЧНЫХ СВЯЗЕЙ В СТАТОЦИСТАХ НАЗЕМНОЙ ЛЕГОЧНОЙ УЛИТКИ HELIX LUCORUM.....	95
<b>Давыденко В.Ю., Нидзельский М.Я., Старченко И.И., Давыденко А.Н., Кузнецов В.В.</b> МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЯЗЫКА КРЫСЫ В РАННИЙ ПЕРИОД ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НЕЕ МОНОМЕРА АКРИЛОВОЙ ПЛАСТМАССЫ.....	102
<b>Семочкин С.В., Толстых Т.Н., Дудина Г.А., Финк О.С.</b> КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ У ВЗРОСЛЫХ .....	108

## A RARE CASE OF RIGHT DIAPHRAGM AGENESIS

Sesitashvili T., Tomadze G., Gvantseladze G., Rekhviashvili A.

*Archangel St. Michael Multiprofile Clinical Hospital, Tbilisi, Georgia*

Diaphragmatic agenesis, unilateral or bilateral, is a rare occurrence in adults. Development of the diaphragm starts at the fourth week of gestation and completes by the ninth week. Some experimental studies have been carried out to understand the organogenesis of the diaphragm and causes of congenital defects' development; therefore, exact causes are still not established [3]. Diaphragm agenesis is connected with the herniation of intestine and other viscera into the chest. Diaphragmatic agenesis is the most severe form of diaphragmatic defects. Mortality rate is high and varies from 40% to 62% [1]. In extreme form of diaphragmatic maldevelopment, there might be a complete agenesis of diaphragm [4]. Due to its rarity in adult patients, only anecdotal references are available in the literature. We report an unusual case of an adult man admitted in a hospital because of small bowel intussusception and peritonitis caused by the strangulated intestinal obstruction, which underwent to the surgical operation and unilateral, right-sided agenesis of diaphragm was diagnosed during surgical exploration.

### **Materila and methods. Case Report.**

A 63-year old mentally healthy, uneducated, married male with history of periodic shortness of breath, weakness, frequent nagging cough and pneumonia from early childhood was admitted at our hospital because of severe abdominal pain. He gave a history of severe abdominal pain, bloating, fever, nausea, vomiting and sweating for past two days. He did not have act of defecation for 4 days and was complaining on severe meteorism. Patient was previously hospitalized 10 years ago because of appendicitis and undergone to its surgical removal; in a hospital he was diagnosed as having Crohn's disease. He did not have any hospitalizations because of respiratory system diseases; therefore, antibiotic medications because of numerous pneumonia, bronchitis and pleurisy episodes were frequently prescribed on an outpatient level. Chest x-ray revealed homogeneous opacity on the right side of the chest and several times mistakenly he was diagnosed as a case of pleural effusion by his local general practitioner

Physical examination while hospital admission revealed temperature - 37.4°C, supine blood pressure of 145/90 mm Hg, pulse rate of 102 bpm, a respiratory rate of 26 breaths/min. On pulse oximetry, oxygen saturation was 96% on room air. Lung auscultation showed decreased breath sounds on the right lower chest. Heart sounds were normal. Physical examination of abdominal cavity revealed

abdominal wall tension and severe pain on palpation; no sounds of peristalsis were heard while auscultation. Rest of the systemic examination was unremarkable. Routine laboratory blood tests were: hemoglobin 120 g/L, WBC 14/10<sup>9</sup>L, platelets 220/10<sup>9</sup>L, HCT-36% and ESR of 27 mm per hour. The renal functions and serum electrolytes were normal at creatinine of 0.8 mg/dl, serum Na 143 mmol/L, serum K 4.02 mmol/L level. Urinalysis and liver function tests were normal. Nasogastric tube was placed and intestinal masses appeared into it immediately. Patient underwent to the abdominal ultrasound and X-ray examination for overall review of chest and abdominal cavity. Signs characteristic for intussusception were revealed on x-ray as well as on abdominal ultrasound. Therefore, chest radiograph showed similar findings as before, no other additional changes were present.

Because of having small bowel intussusception which is considered as a medical emergency and taken into account patient's general health status, in spite of existing respiratory problems, patient was taken into the surgery room for surgical operation. Time from the hospital admission to the surgical operation was not more than two hours. Laparotomy and partial resection of intestine was performed. Surgeons revealed that more than 1 meter of intestine was necrotized. Damaged part of the intestine was successfully removed. Intra-operatively while revision of abdominal cavity, a small, tiny rim of diaphragm was present in the posterior aspect and diagnosis of partial agenesis of diaphragm was confirmed. Postoperative period was remarkable with complications from respiratory system organ side; namely, bilateral pneumonia and pleurisy with the right sided predominance appeared and acute respiratory failure took place. Patient underwent to the multiple bronchoscopy procedures because of bad-smelling and excessive bronchial secretions and diagnosis of *purulent endobronchitis*. Drainage of right pleural cavity, bronchial lavage and antibiotic therapy according to the microbial sensitivity started. Inhalation of oxygen was mandatory because of patient's blood oxygenation was significantly low. A contrast enhanced computed tomography (CECT) of thorax revealed part of liver and some loops of small intestine present on the right side of the chest. On the fifth day from the surgery patient's health status deteriorated significantly. In abdominal cavity appeared severe pain. Laboratory analyses showed leukocytosis with left shift (WBC – 12.39\*10<sup>9</sup>L, bands – 26%). Abdominal ultrasound revealed liquid in an abdominal cavity and patient was undergone to the re-operation. After

small bowel resection healing process was not adequate and appeared failure of intestine anastomosis. Damaged parts of intestine were removed and new side-to-side anastomosis was performed. Postoperative period similarly to the first postoperative one was very difficult because of respiratory system disorders. Whole hospital stay of the patient was 35 days. He was discharged from the hospital under careful ambulatory follow up. Construction of new diaphragm was advised to him after stabilization and improvement of his general health status.

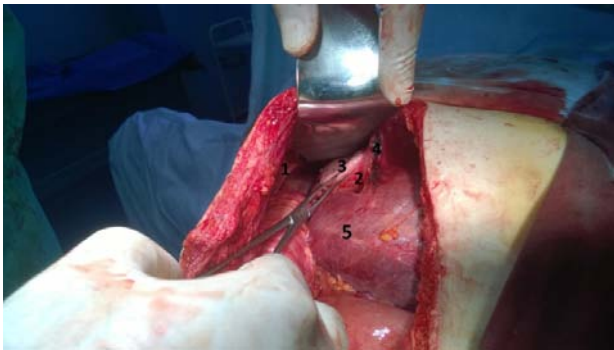


Fig. 1. Absence of right-sided diaphragm. Surgical material 1, 2 – Diaphragmatic edges; 3 – Lung; 4 – Falciform ligament; 5 – Liver

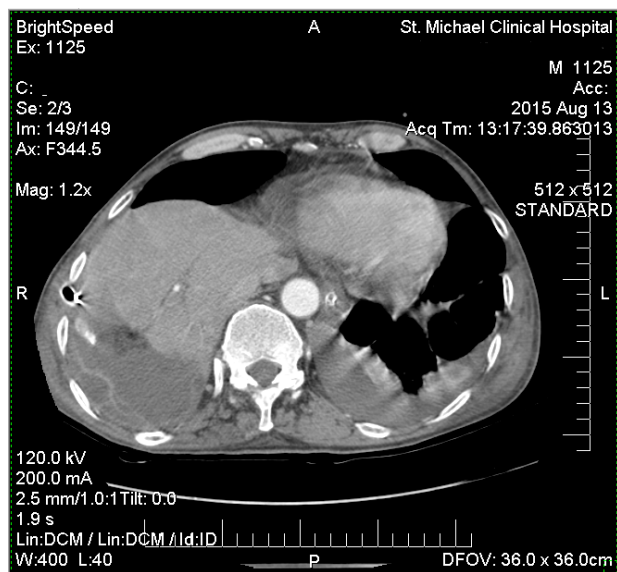


Fig. 2. CT scan of thoracic cavity after surgery

**Results and their discussion.** The development of the diaphragm occurs early in gestation via a fusion of the embryonic pleuro-peritoneal membrane and the transverse septum. During the third week of gestation, the fusion of the transverse septum with the dorsal mesentery of the foregut creates two openings whereby the thoracic and abdominal contents meet. During the ninth week of gestation, these openings close. Thus, any defect or arrest of this developmental process may lead to defects in the diaphragm, including congenital diaphragmatic hernia and diaphragmatic agenesis. Complete agenesis of a hemi-diaphragm is a rare malformation in adulthood whose embryologic

basis is unknown. An abnormal organogenesis may lead to a diaphragmatic defect as well, that may be variable in site and size. The diaphragmatic agenesis is the largest diaphragmatic defect, and is associated with herniation of the abdominal contents into the thoracic cavity and pulmonary hypoplasia. Left diaphragmatic defects are more common than the right side, probably because of earlier closure of the right pleura-peritoneal hiatus. Hernia caused by the left sided congenital diaphragmatic defect is called as the Bochdalek's hernia and accounts for about 90% of all cases of congenital diaphragmatic hernias. It involves an opening on the left side of the diaphragm, and the stomach and intestines usually move up into the chest cavity. The Morgagni's hernia makes up about 2% of all cases, involves an opening on the right side of the diaphragm, and the liver and intestines usually move up into the chest cavity. However, isolated diaphragmatic agenesis is an exceedingly rare entity. Diaphragmatic agenesis is typically diagnosed very early in infancy and carries a significant mortality of up to 38% to 62%, depending upon other congenital anomalies. In complete hemi-diaphragmatic agenesis, no diaphragmatic remnant is present but in partial agenesis a small rim of diaphragm may be present in the posterior aspect. The first reported case of diaphragmatic agenesis in an adult was described in 1988 by Tzelepis et al on the left side of hemidiaphragm [7]. The diaphragmatic hernia may or may not manifest any symptoms depending on the compensatory respiratory mechanisms, site and size of the hernia. While most adult patients with left-sided diaphragmatic defects become symptomatic because of the visceral herniation, it has been seen that a right-sided agenesis may occur with few symptoms or may be asymptomatic due to the presence of the liver preventing other viscera from herniating through the diaphragmatic defect [2].

Our patient was not asymptomatic prior to surgery. His symptoms started in the childhood when lung function became compromised by the displaced liver and part of colon. Several imaging modalities are used to assess diaphragmatic hernias including routine chest radiographs after nasogastric tube placement, upper gastrointestinal contrast studies, ultrasonography, computed tomography of thorax and magnetic resonance imaging. Despite all these, an early diagnosis is always challenging [5]. Patients usually present with breathlessness or obstructive symptoms owing to change in thoracic respiratory mechanics and intra-thoracic visceral herniation. On routine chest radiography these have ill-defined opacity which can be confused with consolidation, pulmonary tumors, contusion or thickened pleura [6]. Solid organ herniation may be more difficult to diagnose and may require computed tomography. Further imaging is crucial when symptoms are more understated or patients are asymptomatic.

The management of the right-sided diaphragmatic defects is controversial. In the trauma literature, patients who present with right-sided herniation can often be managed

non-operatively because the liver prevents visceral herniation. However, patients with right-sided agenesis may require an operative intervention to prevent liver as well as other abdominal organ herniation. Patients who are symptomatic with dyspnoea or asymptomatic should have an operative intervention to prevent further complications [6]. Our patient needed operative correction of diaphragm to prevent complications in future, but because of medical emergency he underwent to the abdominal surgery because of small bowel intussusception; therefore, diaphragmatic plastic was postponed for future, when his overall health status will be good enough.

**Conclusion.** In conclusion, congenital diaphragmatic agenesis is a very rare diagnosis in adulthood, even more so on the right side with no history of trauma. A possible differential diagnosis should always be kept in mind when there is opacity in the right lower chest. Early diagnosis and management of a diaphragmatic hernia is extremely important to reduce further morbidity or mortality.

## REFERENCES

1. Ali S, Haseen M, Beg M. Agenesis of right diaphragm in the adults: a diagnostic dilemma. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 2014;56:121-123.
2. Bhan V, Rajagopal P, Kumar K, Raghavendra K. Agenesis of the Hemidiaphragm: A Rare Presentation in an Adult. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 2013;55:109-111.
3. Clugston R, Greer J. Diaphragm development and congenital diaphragmatic hernia. *Seminars in Pediatric Surgery* 2007;16:94-100.
4. Mirza B, Bashir Z, Sheikh A. Congenital right hemidiaphragmatic agenesis. *Lung India* 2012;29(1): 53-55.
5. Pousios D, Panagiotopoulos N, Argyriou P, Piyis A. Diagnosis and surgical management of diaphragmatic agenesis in an adult: report of a case. *Surgery Today* 2010;40:357-359.
6. Sheehan JJ, Kearns SR, McNamara DA, Brennan RB, Deasy JM. Adult presentation of agenesis of the hemidiaphragm. *Chest* 2000;117:901-902.
7. Tzelepis G, Etensohn D, Shapiro B, McCool F. Unilateral absence of the diaphragm in an asymptomatic adult. *Chest* 1988;94:1301-1303.

## SUMMARY

### A RARE CASE OF RIGHT DIAPHRAGM AGENESIS

**Sesitashvili T., Tomadze G., Gvantseladze G., Rekhviashvili A.**

*Archangel St. Michael Multiprofile Clinical Hospital, Tbilisi, Georgia*

Diaphragmatic agenesis is the most extreme and rare form of congenital diaphragmatic maldevelopment and therefore diagnosis of it are only few in literature, especially

in children. It may be unilateral or bilateral. Frequently, diaphragmatic agenesis is accompanied with diaphragmatic hernia, when through a congenital defect of the diaphragm liver, intestine and other viscera herniate into the chest. Diagnostics typically are made early in infancy and is generally associated with other genetic anomalies, especially aneuploidy syndromes. It is associated with a high mortality, if not treated in infancy. However, according to published literature only a few patients have survived till adulthood.

In this report, we describe the case of a 63 years old male patient who admitted in a hospital with small bowel intussusception because of strangulated intestinal obstruction and peritonitis. While surgical operation and revision of abdominal cavity, partial right-sided agenesis of the diaphragm was revealed. Two operations were performed on a patient; one because of strangulated intestinal obstruction and accompanied peritonitis and the second, because of stitch insufficiency after 5 days from the first surgical operation. Taking into account the heavy overall status of the patient, diaphragm plastic was not performed and its performance postponed for future.

**Keywords:** diaphragm agenesis, small bowel intussusception, surgical treatment.

## РЕЗЮМЕ

### РЕДКИЙ СЛУЧАЙ ПРАВОСТОРОННЕЙ ДИАФРАГМАЛЬНОЙ АГЕНЕЗИИ

**Сеситашвили Т.Г., Томадзе Г.Д., Гванцеладзе Г.Б., Рехвиашвили А.И.**

*Мультипрофильная клиническая больница им. Архангела Святого Михаила, Тбилиси, Грузия*

Диафрагмальная агенезия - самая экстремальная и редкая форма врожденного диафрагмального недоразвития, следовательно, в литературе описание ее случаев, особенно, у детей малочисленно. Диафрагмальная агенезия может быть односторонней или двусторонней, часто сопровождается диафрагмальной грыжей, когда через врожденный дефект диафрагмы печень, кишечник и другие внутренние органы мигрируют в грудную полость. Диагностика происходит в раннем младенчестве и, как правило, патология связана с генетическими аномалиями, особенно с анеуплоидным синдромом. Агенезию необходимо выявлять и лечить в раннем детском возрасте, однако, согласно данным литературы, немногие пациенты доживают до взрослого возраста.

Описан случай 63-летнего мужчины, который был госпитализирован со странгуляционной кишечной непроходимостью и перитонитом. Во время хирургиче-

ской операции и ревизии брюшной полости выявлена частичная правосторонняя агенезия диафрагмы. Проведены две операции: одна - ввиду ущемлённой кишечной непроходимости и перитонита и вторая - ввиду недостаточности шва спустя 5 дней после первого хирургического вмешательства. Принимая во внимание тяжелое общее состояние пациента, пластика диафрагмы не выполнена.

რეზიუმე

დიაფრაგმის მარჯვენამხრივი აგენეზიის იშვიათი შემთხვევა

თ. სესიტაშვილი, გ. თომაძე, გ. გვანცელაძე,  
ა. რეხვიაშვილი

წმინდა მიქაელ მთავარანგელოზის სახ. მრავალპროფილიანი კლინიკური საავადმყოფო, თბილისი, საქართველო

დიაფრაგმის აგენეზია დიაფრაგმის განვითარების ანომალიათა ყველაზე ექსტრემალური და იშვიათი ფორმაა. ამ დაავადების მხოლოდ რამდენიმე შემთხვევაა აღწერილი ლიტერატურაში, უპირატესად - ბავშვებში. იგი შესაძლოა იყოს ცალმხრივი ან ორმხრივი. ხშირად დიაფრაგ-

მის აგენეზიას თან ახლავს დიაფრაგმის თიაქარი, რომლის დროს ღვიძლი, წვრილი ნაწლავი და სხვა შინაგანი ორგანოები დიაფრაგმული თიაქრის გავლით მიგრირებენ გულმკერდის ღრუში. დიაგნოსტიკა, უპირატესად, აღრეულ ახალშობილთა ასაკში ხდება და, ჩვეულებისამებრ, ასოცირებულია სხვა გენეტიკურ ანომალიებთან, უხშირესად, ანეუპლოიდურ სინდრომთან. იმ შემთხვევაში, თუ პათოლოგია არ იქნა ნამკურნალები ახალშობილთა ასაკში, იგი ასოცირდება მაღალ სიკვდილობასთან. ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, მხოლოდ რამდენიმე პაციენტმა მიაღწია ზრდასრულ ასაკს.

სტატიაში აღწერილია 63 წლის მამრობითი სქესის პაციენტი, რომელმაც კლინიკას მიმართა წვრილი ნაწლავის სტრანგულაციური გაუვალობით და პერიტონიტით. ქირურგიული ოპერაციის დროს მუცლის ღრუს რევიზიისას გამოვლინდა დიაფრაგმის მარჯვენამხრივი ნაწილობრივი აგენეზია. პაციენტს ჩაუტარდა 2 ოპერაცია: პერიტონიტით გართულებული სტრანგულაციური ნაწლავური გაუვალობის, და მეორე, პირველი ქირურგიული ჩარევიდან 5 დღის შემდეგ - ნაკერის უკმარისობის გამო. მძიმე ზოგადი მდგომარეობიდან გამომდინარე, პაციენტს დიაფრაგმის პლასტიკა არ ჩაუტარდა.

---

## INCIDENCE OF TUBERCULOSIS AMONG HIV/HCV CO-INFECTED PATIENTS RECEIVING HEPATITIS C TREATMENT WITH PEGYLATED INTERFERON AND RIBAVIRIN IN GEORGIA

<sup>1</sup>Abutidze A., <sup>1</sup>Bolokadze N., <sup>1</sup>Chkhartishvili N., <sup>1,2</sup>Sharvadze L., <sup>1,2</sup>Tsertsvadze T.

<sup>1</sup>Infectious Diseases, AIDS and Clinical Immunology Research Center, Tbilisi;  
<sup>2</sup>I. Javakhishvili Tbilisi State University, Faculty of Medicine, Georgia

Highly Active Antiretroviral Treatment (HAART) revolutionized the care of HIV-infected patients and caused significant reductions in HIV-associated morbidity and mortality, including many of the opportunistic infections [1,6,8]. In the era of effective antiretroviral therapy (ART), chronic liver diseases has become more prevalent among HIV-infected persons and is the second most common cause of death in HIV-infected patients [2,4,11,12]. Despite the use of ART, patients co-infected with HIV and hepatitis C virus (HCV) have higher rates of chronic liver disease complications (cirrhosis, hepatocellular carcinoma and liver failure) compared with patients with HCV monoinfection [18].

Successful treatment of hepatitis C is necessary for ensuring quality of life and higher life expectancy among HIV/HCV co-infected patients. However it represents a significant challenge because of multiple safety concerns, including potentially serious drug interactions with ART.

The main goal of HCV treatment is cure, defined as undetectable levels of HCV RNA 12-24 weeks after completion of therapy, also referred to as sustained virologic response (SVR). Until recently, a combination of Pegylated interferon (PEG-IFN) and Ribavirin (RBV), given for at least 24 weeks, was standard of care for chronic hepatitis C. Efficacy of this combination averaged 50-55% and was

associated with clinically significant adverse reactions [19]. Hematological toxicities including leucopenia occurring during IFN therapy frequently induces a decrease of CD4<sup>+</sup> cell count in HIV/HCV co-infected patients [7, 16]. Multiple studies also showed a higher risk of developing bacterial infections in HCV-infected patients receiving hepatitis C treatment with IFN [7,14,17,20].

Although cellular immunodeficiency is associated with a higher incidence of various infections, Tuberculosis (TB) has rarely been reported during HCV treatment with a combination of IFN and RBV [9].

Hepatitis C is a serious health problem in Georgia. Population-based survey conducted in the Capital of Georgia - Tbilisi found high (6.7%) prevalence of HCV infection in adult general population [15]. Georgia has developed strong human and technical capacity for providing high quality diagnostic and treatment services for hepatitis C. Since 2011, for the first time in Eastern Europe, all HIV/HCV co-infected patients in Georgia have access to free antiviral treatment for hepatitis C. This is the first precedent in the country when specific population group receives free hepatitis C treatment in accordance with international standards.

Despite a relatively low prevalence rate, the HIV/AIDS epidemic remains a significant public health concern in Georgia. Since the detection of the first case of HIV in 1989, the rate of new HIV diagnoses in the country has been increasing steadily [4].

Georgia also belongs to high TB burden countries. Up to 22% of HIV-infected individuals were found to have active TB in Georgia [5].

Therefore, the objective of this study was to describe the characteristics and clinical outcomes of tuberculosis in HIV/HCV co-infected patients receiving hepatitis C treatment with pegylated interferon and ribavirin and calculate incidence rate of TB.

**Material and methods.** A retrospective study was conducted among HIV-infected patients receiving combination therapy with PEG-IFN and RBV from December 2011 until May 2015 at the Infectious Diseases, AIDS and Clinical Immunology Research Center (IDACIRC), Tbilisi, Georgia, which is the country's referral institution for HIV/AIDS diagnosis, treatment, and care. All acid-fast bacilli (AFB) smear microscopy and culture tests were performed at the National TB Reference Laboratory in Tbilisi, Georgia.

Medical chart data abstraction was performed to collect information on patient socio-demographic factors and medical history. Clinical characteristics measured included opportunistic infections at baseline visit, HIV stage before HCV treatment, baseline CD4<sup>+</sup> cell count, baseline HIV RNA level, ART regimens, HCV genotypes, duration of

HCV treatment, SVR after HCV infection treatment, Tuberculin skin test (TST) result, latent TB infection (LTBI) treatment, TB site. The incidence of TB was defined as the number of HIV-infected patients with incident active TB per 1000 patient-years of follow-up.

*Definitions of TB:* The diagnosis of TB was defined as either presumptive or definitive. A diagnosis of presumptive pulmonary TB was determined by a consistent clinical picture of more than 30 days, presence of AFB mycobacteria in sputum, bronchoalveolar lavage or other sterile specimen, lack of response to standard antibiotic therapy and/or successful response to standard anti-TB treatment in one month. A diagnosis of definitive TB was determined by a consistent clinical picture and positive culture for isolation of *M. Tuberculosis* [10].

**Results and their discussion.** A total of 420 HIV/HCV co-infected patients received HCV treatment with PEG-IFN and RBV at the IDACIRC from December 2011 to May, 2015. Six of 420 patients developed TB during HCV treatment. The incidence rate of TB in the study cohort was 1.4 cases per 100 person-years (95% CI=0.58-2.97). All 6 patients were on ART and had baseline HIV RNA level below 34 copies/mL. No opportunistic infections were observed in all cases.

Three of 6 patients had a previous positive TST result and had completed Isoniazid prophylactic therapy (IPT) several years before TB diagnosis. In 2 patients TST was not performed. Only one patient had experienced a previous episode of TB and had completed anti-TB treatment one year before initiation of HCV antiviral treatment. Four patients developed TB within 12 weeks of HCV treatment. TB was diagnosed in remaining 2 patients after 24 weeks of HCV treatment. Therapy with PEG-IFN and RBV was stopped in all 6 patients who developed TB. SVR was not achieved in those two patients who developed TB after 24 weeks of HCV treatment. HIV and HCV baseline clinical and laboratory characteristics, HCV treatment and TB characteristics are summarized in Table.

The present study is the first cohort study to date in Georgia, evaluating TB incidence and describing characteristics of TB among HIV/HCV co-infected patients receiving PEG-IFN and RBV combination therapy. After analyzing data on HIV/HCV co-infected patients receiving antiviral treatment for HCV infection, we can conclude that TB may complicate treatment with PEG-IFN and RBV.

In our study incidence of TB during antiviral therapy for hepatitis C was 1.4 cases per 100 person-years (95% CI=0.58-2.97). Our incidence was higher to the incidence of TB (0.7 cases per 100 person-years [95% CI=0.19-1.78]) in a cohort of HIV/HCV co-infected patients receiving IFN-based hepatitis C treatment at three outpatient HIV/AIDS clinics in Madrid, Spain[14].

Table. Socio-demographic, clinical and laboratory characteristics of HIV/HCV co-infected patients who developed TB after receiving HCV treatment with Pegylated Interferon and Ribavirin; (n=6)

Variable	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6
Sex	Male	Male	Female	Male	Male	Male
Age, years	38	41	37	30	40	39
HIV transmission route	IDU	IDU	Heterosexual	IDU	IDU	IDU
HIV stage before HCV treatment	II	I	II	II	I	II
HIV RNA level at baseline, copies/mL	<34	<34	<34	<34	<34	<34
CD4 <sup>+</sup> cell count at baseline, cells/mm <sup>3</sup>	431	513	356	457	516	497
HIV treatment	TDF/FTC/EFV	TDF/FTC/RTG	TDF/FTC/LPV/RTV	TDF/FTC/EFV	ABC/3TC/EFV	TDF/FTC/EFV
HCV treatment	Pegylated IFN/RBV	Pegylated IFN/RBV	Pegylated IFN/RBV	Pegylated IFN/RBV	Pegylated IFN/RBV	Pegylated IFN/RBV
HCV genotype	3a	1b	2a/2c	1b	1b	3a
Previous history of TB	N/A	N/A	N/A	N/A	2009	N/A
Previous TST result	Positive	Positive	N/A	Positive	Not performed	Not performed
Latent TB infection treatment	6 month of Isoniazid therapy	6 month of Isoniazid therapy	No	6 month of Isoniazid therapy	No	No
HCV treatment duration at time of TB diagnosis, in weeks	8	27	4	25	7	10
Site of TB	Pulmonary	Pulmonary	Pulmonary	Pulmonary	Lymph nodes	Pulmonary

The observed high incidence of TB during HCV treatment with PEG-IFN and RBV reflects the high prevalence of TB in Georgia and the increased risk of disease in immunocompromised patients.

Although our incidence of TB was lower than TB incidence in HIV-infected patients not receiving ART (4.7 cases per 100 person-years; [95% CI=3.94–5.59]) reported in multicenter hospital-based cohort study of patients presenting to 10 Spanish hospitals [13].

Because of the limitations due to a small sample size, we were restricted to examine association between risk factors and incidence of TB during antiviral treatment for chronic hepatitis C.

We found that three of six patients who developed TB during PEG-IFN and RBV treatment had LTBI test result with the TST and had completed IPT. However, occurrence of TB after IPT as documented by our study has also been reported [14]. LTBI diagnosis and treatment is a key component of the WHO Three I's Program - Isoniazid preventive treatment (IPT), intensified case finding (ICF) for active TB, and TB Infection Control (IC), which represents as one

of the major public health strategies to decrease the impact of TB on HIV-infected patients [3].

Due to scarcity of data on the long-term benefits of LTBI treatment in settings with high TB prevalence, further studies are required to determine optimal strategies. As mentioned above 3 patients in our study had completed IPT several years before TB diagnosis. Therefore considering IPT among HIV/HCV co-infected patients soon after exposure to IFN-based treatment can be considered as a reasonable strategy to avoid complication of hepatitis C treatment due to TB reactivation.

## REFERENCES

1. Badri M, Wilson D, Wood R. Effect of highly active antiretroviral therapy on incidence of tuberculosis in South Africa: a cohort study. *Lancet* 2002; 359:2059-64.
2. Bica I, McGovern B, Dhar R, Stone D, McGowan K, Scheib R, et al. Increasing mortality due to end-stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis*. 2001; 32:492-7.
3. Chkhartishvili N, Kempker RR, Dvali N, Abashidze L, Sharavdze L, Gabunia P, et al. Poor agreement between



interferon-gamma release assays and the tuberculin skin test among HIV-infected individuals in the country of Georgia. *BMC Infect Dis.* 2013; 13:513.

4. Chkhartishvili N, Sharvadze L, Chokoshvili O, Bolokadze N, Rukhadze N, Kempker RR, et al. Mortality and causes of death among HIV-infected individuals in the country of Georgia: 1989-2012. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2014; 30:560-6.

5. Gabunia P, Salakaia A, Kiria N, Kandelaki G, Tsertsvadze T. TB/HIV co infection in Georgia. *Georgian Med News* 2008; 7-10.

6. Girardi E, Sabin CA, d'Arminio Monforte A, Hogg B, Phillips AN, Gill MJ, et al. Incidence of Tuberculosis among HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy in Europe and North America. *Clin Infect Dis.* 2005; 41:1772-82.

7. Laguno M, Murillas J, Blanco JL, Martinez E, Miquel R, Sanchez-Tapias JM, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of HIV/HCV co-infected patients. *AIDS* 2004; 18: 27-36.

8. Lawn SD, Badri M, Wood R. Tuberculosis among HIV-infected patients receiving HAART: long term incidence and risk factors in a South African cohort. *AIDS* 2005; 19:2109-16.

9. Lin SY, Chen TC, Lu PL, Lin CY, Lin WR, Yang YH, et al. Incidence rates of tuberculosis in chronic hepatitis C infected patients with or without interferon based therapy: a population-based cohort study in Taiwan. *BMC Infect Dis.* 2014; 14:705.

10. Manosuthi W, Chottanapand S, Thongyen S, Chaovanich A, Sungkanuparph S. Survival rate and risk factors of mortality among HIV/tuberculosis-coinfected patients with and without antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2006; 43: 42-6.

11. Martin-Carbonero L, Soriano V, Valencia E, Garcia-Samaniego J, Lopez M, Gonzalez-Lahoz J. Increasing impact of chronic viral hepatitis on hospital admissions and mortality among HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2001; 17:1467-71.

12. Monga HK, Rodriguez-Barradas MC, Breux K, Khattak K, Troisi CL, Velez M, et al. Hepatitis C virus infection-related morbidity and mortality among patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis.* 2001; 33: 240-7.

13. Moreno S, Jarrin I, Iribarren JA, Perez-Elias MJ, Viciana P, Parra-Ruiz J, et al. Incidence and risk factors for tuberculosis in HIV-positive subjects by HAART status. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008; 12: 1393-400.

14. Perez-Elias MJ, Garcia-San Miguel L, Gonzalez Garcia J, Montes Ramirez ML, Muriel A, Machin-Lazaro JM, et al. Tuberculosis complicating hepatitis C treatment in HIV-infected patients. *Clin Infect Dis.* 2009; 48: 82-5.

15. Stvilia K, Tsertsvadze T, Sharvadze L, Aladashvili M, del Rio C, Kuniholm MH, et al. Prevalence of hepatitis C, HIV, and risk behaviors for blood-borne infections: a population-based survey of the adult population of Tbilisi,

Republic of Georgia. *J Urban Health* 2006; 83:289-98.

16. Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, Lissen E, Gonzalez-Garcia J, Lazzarin A, et al. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2004; 351:438-50.

17. Vento S, Di Perri G, Cruciani M, Garofano T, Concia E, Bassetti D. Rapid decline of CD4+ cells after IFN alpha treatment in HIV-1 infection. *Lancet* 1993; 341:958-9.

18. Weber R, Sabin CA, Friis-Moller N, Reiss P, El-Sadr WM, Kirk O, et al. Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus: the D:A:D study. *Arch Intern Med.* 2006; 166:1632-41.

19. Webster DP, Klenerman P, Dusheiko GM. Hepatitis C. *Lancet* 2015; 385:1124-35.

20. Yu ML, Dai CY, Lee LP, Hsieh MY, Hou NJ, Huang JF, et al. Outcome of chronic hepatitis C patients who required early termination of pegylated interferon-alpha plus ribavirin combination therapy. *Antivir Ther.* 2006; 11:1015-9.

## SUMMARY

### INCIDENCE OF TUBERCULOSIS AMONG HIV/HCV CO-INFECTED PATIENTS RECEIVING HEPATITIS C TREATMENT WITH PEGYLATED INTERFERON AND RIBAVIRIN IN GEORGIA

<sup>1</sup>Abutidze A., <sup>1</sup>Bolokadze N., <sup>1</sup>Chkhartishvili N.,  
<sup>1,2</sup>Sharvadze L., <sup>1,2</sup>Tsertsvadze T.

<sup>1</sup>Infectious Diseases, AIDS and Clinical Immunology Research Center, Tbilisi; <sup>2</sup>I. Javakhishvili Tbilisi State University, Faculty of Medicine, Georgia

Treatment of hepatitis C is necessary for ensuring higher life expectancy among HIV/HCV co-infected patients. However antiviral treatment for chronic HCV infection with Pegylated interferon (PEG-IFN) and Ribavirin (RBV) is associated with a variety of side effects. In Georgia up to 22% of HIV-infected patients were found to have active Tuberculosis (TB) and 22.4 to 32.6% had latent TB. The objective of this study was to describe the characteristics and clinical outcomes of tuberculosis in HIV/HCV co-infected patients receiving hepatitis C treatment with pegylated interferon and ribavirin and calculate incidence rate of TB. A retrospective study was conducted among HIV/HCV co-infected patients receiving antiviral treatment for chronic HCV infection at the Infectious Diseases, AIDS and Clinical Immunology Research Center, Tbilisi, Georgia from December 2011 to May, 2015.

A total of 420 HIV/HCV co-infected patients received HCV therapy with PEG-IFN and RBV during study period. Six of 420 patients developed TB while receiving PEG IFN + RBV therapy. These patients were on Antiretroviral treatment. Baseline HIV RNA load was <34 copies/ml and CD4+ cell counts >350 cells/mm<sup>3</sup>. No opportunistic infections were observed in all cases.

Three of 6 patients had a previous positive tuberculin skin test (TST) result and had completed isoniazid chemoprophylaxis several years before TB diagnosis. In 2 patients TST was not performed. Only one patient had experienced a previous episode of TB and had completed the anti-TB therapy 1 year before hepatitis C treatment. In all patients TB was diagnosed during the PEG IFN + RBV therapy. Hepatitis C treatment was immediately stopped in all patients. The incidence rate of TB was 1.4 cases per 100 person-years (95% CI=0.58-2.97).

Our study emphasizes the necessity of screening for latent TB prior to the initiation of chronic hepatitis C treatment with PEG IFN and RBV.

**Keywords:** HIV/HCV co-infection, tuberculosis, incidence, isoniazid preventive treatment, Georgia.

## РЕЗЮМЕ

### ИНЦИДЕНТНОСТЬ ТУБЕРКУЛЕЗА У ВИЧ/ВГС КО-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГЕПАТИТА С ПЕГИЛИРОВАННЫМ ИНТЕРФЕРОНОМ И РИБАВИРИНОМ В ГРУЗИИ

<sup>1</sup>Абутидзе А.Т., <sup>1</sup>Болокадзе Н.Э., <sup>1</sup>Чхартишвили Н.И.,  
<sup>1,2</sup>Шарвадзе Л.Г., <sup>1,2</sup>Церцвадзе Т.Н.

<sup>1</sup>Научно-практический центр инфекционной патологии, СПИДа и клинической иммунологии, Тбилиси;  
<sup>2</sup>Тбилисский государственный университет им. Ив. Джавахашидзе, факультет медицины, Грузия

Лечение гепатита С является необходимым для обеспечения более долгой продолжительности жизни ВИЧ/ВГС ко-инфицированных пациентов. Однако противовирусное лечение хронического гепатита С (ХГС) пегилированным интерфероном (ПЭГ-ИФН) и рибавирином вызывает различные побочные эффекты. В Грузии приблизительно у 22% ВИЧ-инфицированных пациентов установлен диагноз активного туберкулеза (ТБ) и у 22,4-32,6% - латентной формы туберкулеза.

Целью данного исследования явилось изучение характера и клинического исхода случаев туберкулеза при лечении ВИЧ/ВГС-коинфицированных пациентов, получающих лечение гепатита С, пегилированным интерфероном и рибавирином, а также установление инцидентности туберкулеза.

Ретроспективное исследование проведено среди ВИЧ/ВГС инфицированных пациентов, получавших противовирусное лечение ХГС в Научно-практическом центре инфекционной патологии, СПИДа и клинической иммунологии с декабря 2011 по май 2015 года.

В период исследования противовирусную терапию ПЭГ-ИФН и рибавирином получали 420 ВИЧ/ВГС-инфицированных пациентов. У 6 из них во время противовирусного лечения ХГС развился ТБ. Все эти пациенты были на антиретровирусной терапии, до начала лечения ХГС ВИЧ-РНК нагрузка была <34 коп/мл и количество CD4<sup>+</sup> клеток >350 клеток/мм<sup>3</sup>. Во всех случаях были исключены оппортунистические инфекции.

Трое из 6 пациентов имели предыдущую положительную туберкулиновую кожную пробу и прошли полный курс химиопрофилактики изониазидом за несколько лет до установления диагноза ТБ. В 2 случаях кожная проба не проводилась. Лишь один больной имел раньше эпизод активного туберкулеза и завершил противотуберкулезную терапию за 1 год до начала лечения ХГС. У всех 6 пациентов туберкулез был диагностирован во время лечения ПЭГ-ИФН и рибавирином и лечение ХГС был немедленно прервано.

Инцидентность туберкулеза составила 1,4 случаев на 100 ВИЧ/ВГС пациентов, получающих лечение ХГС в год (95% CI=0.58-2.97).

Проведенное исследование подчеркивает необходимость скрининга латентной формой ТБ до начала лечения ХГС ПЭГ-ИФН и рибавирином.

## რეზიუმე

ტუბერკულოზის ინციდენტობა პეგილირებული ინტერფერონით და რიბავირინით C ჰეპატიტის მკურნალობაზე მყოფ აივ/შიდსის და C ჰეპატიტის კოინფექციით ავადმყოფებში საქართველოში

<sup>1</sup>ა. აბუთიძე, <sup>1</sup>ნ. ბოლოკაძე, <sup>1</sup>ნ. ჩხარტიშვილი,  
<sup>1,2</sup>ლ. შარვაძე, <sup>1,2</sup>თ. ცერცვაძე

<sup>1</sup>ინფექციური პათოლოგიის, შიდსისა და კლინიკური იმუნოლოგიის სამეცნიერო-პრაქტიკული ცენტრი, თბილისი; <sup>2</sup>ივ. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო

C ჰეპატიტის მკურნალობას უდიდესი მნიშვნელობა ენიჭება აივ/შიდსის და C ჰეპატიტის კოინფექციით ავადმყოფების სიცოცხლის გახანგრძლივების და ცხოვრების ხარისხის გაუმჯობესების თვალსაზრისით. თუმცა, ქრონიკული HCV ინფექციის ანტივირუსულ მკურნალობას პეგილირებული ინტერფერონით და რიბავირინით თან ახლავს მრავალი გვერდითი ეფექტი. საქართველო მიეკუთვნება ტუბერკულოზის მაღალი გავრცელების ქვეყანას; კერძოდ, აივ/შიდსით ავადმყოფების დაახლოებით 22%-ს აქვს აქტიური ტუბერკულოზი, 22,4-32,6%-ს კი - ლატენტური ტუბერკულოზი.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა პევილირებული ინტერფერონით და რიბავირინით C ჰეპატიტის მკურნალობაზე მყოფ აივ/შიდსის და C ჰეპატიტის კონფექციით ავადმყოფებში ტუბერკულოზის შემთხვევების მახასიათებლების და კლინიკური გამოსავლების შესწავლა და ტუბერკულოზის ინსიდენტობის დადგენა.

რეტროსპექტული კვლევა ჩატარდა ინფექციური პათოლოგიის, შიდსისა და კლინიკური იმუნოლოგიის სამეცნიერო-პრაქტიკულ ცენტრში. კვლევაში ჩართული იქნა 2011 წლის დეკემბრიდან 2015 წლის მაისამდე ქრონიკული C ჰეპატიტის მკურნალობაზე მყოფი აივ/შიდსის და C ჰეპატიტის კონფექციით ავადმყოფები. კვლევის პერიოდში ქრონიკული C ჰეპატიტის მკურნალობა პევილირებული ინტერფერონით და რიბავირინით ჩატარდა 420 კონფიცირებულ ავადმყოფს; მათგან 6 პაციენტში განვითარდა ტუბერკულოზი. აღსანიშნავია, რომ ექვსივე პაციენტი იმყოფებოდა ანტირეტროვირუსულ თერაპიაზე და ქრონიკული C ჰეპატიტის მკურნალობის დაწყებისას აივ-რნმ დატვირთვა სისხლში იყო <34 ასლი/მლ, CD4<sup>+</sup> უჯრედების აბსოლუტური რიცხვი - >350/მმ<sup>3</sup>. ქრონიკული C ჰეპატიტის მკურნალობის დაწყებამდე 420-ვე პაციენტში გამოირიცხა ოპორტუნისტული ინფექციების არსებობა.

ტუბერკულოზით გართულების მქონე 6 პაციენტიდან 3 პაციენტს ქრონიკული C ჰეპატიტის მკურნალობის დაწყებამდე რამდენიმე წლით ადრე ჰქონდა გაკეთებული ტუბერკულოზის კანის ტესტი და, შესაბამისად, ჩატარებული ჰქონდა იზონიაზიდით პროფილაქტიკური მკურნალობის სრული კურსი; 2 პაციენტს არ ჰქონდა ჩატარებული ტუბერკულოზის კანის ტესტი, ხოლო 1 პაციენტს ანამნეზში ჰქონდა აქტიური ტუბერკულოზის ეპიზოდი და ჩატარებული ანტიტუბერკულოზური მკურნალობის კურსი, რომელიც დასრულდა C ჰეპატიტის მკურნალობის დაწყებამდე 1 წლით ადრე. ექვსივე პაციენტში ტუბერკულოზის დიაგნოზი დაისვა C ჰეპატიტის ანტივირუსული მკურნალობის დროს. ყველა პაციენტს შეუწყდა ქრონიკული C ჰეპატიტის მკურნალობა. ტუბერკულოზის ინსიდენტობამ შეადგინდა 1.4 შემთხვევა 100 პაციენტზე წელიწადში (95% CI=0.58-2.97).

კვლევის შედეგებმა ცხადყო ლატენტური ტუბერკულოზის გამორიცხვის საჭიროება აივ/შიდსით ავადმყოფებში ქრონიკული C ჰეპატიტის პევილირებული ინტერფერონითა და რიბავირინით მკურნალობის დაწყებამდე.

## COMBINATION THERAPY EFFECTIVENESS OF EZETIMIBE AND ATORVASTATIN IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME

Japaridze L., Sadunishvili M., Megreladze I.

*Amtel Hospital First Clinical;  
Tbilisi State Medical University, Department of Cardiology, Georgia*

The use of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors (statins) reduces both low-density lipoprotein (LDL) cholesterol levels and the risk of cardiovascular events in patients with and those without cardiovascular disease [21,13,2,1]. Intensive statin therapy, as compared with moderate-dose statin therapy, incrementally lowers LDL cholesterol levels and rates of nonfatal cardiovascular events [6,15,18,9]. Because of the residual risk of recurrent cardiovascular events and safety concerns associated with high dose statin therapy [20], additional lipid-modifying therapies have been sought [11,5,16,22]. Ezetimibe (EZE) targets the Niemann-Pick C1-like 1 (NPC1L1) protein, thereby reducing absorption of cholesterol from the intestine [24,14]. When added to statins, ezetimibe reduces LDL cholesterol levels by an additional 23 to 24%, on average.[3,17]. Polymorphisms affecting NPC1L1 are associated with both lower levels of

LDL cholesterol and a lower risk of cardiovascular events [23]. The Improved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial (IMPROVE-IT) evaluated the effect of ezetimibe combined with simvastatin, as compared with that of simvastatin alone, in stable patients who had had an acute coronary syndrome (ACS) and whose LDL cholesterol values were within guideline recommendations [12,19,7,4,8]. IMPROVE-IT study showed that following ACS, high-risk patients had demonstrated a reduction in the primary endpoints. Whether further lowering of LDL cholesterol levels achieved with the addition of EZE to atorvastatin therapy leads to a benefit in clinical outcomes is unknown.

The aim of our study is to determine if adding ezetimibe to atorvastatin would result in additional improvements in outcomes following acute coronary syndrome.

**Material and methods.** *Study design.* a 16-week one-center, prospective, randomized, and open-label clinical trial. involving 323 patients who had been hospitalized for an acute coronary syndrome (STEMI, NSTEMI, or UA) within the preceding 14 days. They were received atorvastatin 20 mg during 28 days, and after that 292 patients, who had LDL cholesterol levels  $\geq 1.81$  mmol/L, were randomized to ezetimibe 10 mg/day co-administered with atorvastatin therapy (EZE+Statin) or doubling their current atorvastatin dose. All patients in both groups received clopidogrel, a beta-blocker, aspirin, and an ace inhibitor during hospitalization and after discharge. Intravenous heparin or low molecular weight heparin was administered during hospitalization to every patient in both treatment groups. In EZE + Atorvastatin treatment group 52 patients underwent primary percutaneous coronary intervention (PCI) with bare metal stent and in atorvastatin treatment group 56 patients underwent primary PCI with bare metal stent. Statin-naïve patients (an individual who has never taken a statin treatment) and patients unable to have their statin dose doubled due to maximal statin dosing already, or tolerability/safety concerns, were excluded. Additional exclusion criteria were: (i) treatment with bile acid sequestrants, niacin, or fibrates, and; (ii) active liver disease, uncontrolled endocrine illness, kidney disease, and creatine kinase (CK)  $>50\%$  above the upper limit of normal (ULN). The study was approved by the Tbilisi Medical State University research ethics board. After providing informed consent, study participants attended 4 clinic visits. At screening (visit 1) the fasting lipid profile, and liver function parameters were assessed. Eligible patients entered a 4-week stabilization phase during which they continued taking their current statin dose (Fig. 1). At Visit 2, eligibility for randomization was confirmed with another fasting lipid profile. Patients who remained eligible ( $LDL-C \geq 1.81$  mmol/L) were randomized (1:1 ratio) to receive either ezetimibe 10 mg daily coadministered with current statin dosing (EZE + Atorvastatin) or doubling of current Atorvastatin dose. Bloodwork for exploratory marker (C-reactive protein (CRP)) was obtained at Visit 2 and 4. After 8 weeks (Visit 3), a brief exam, blood draw for fasting lipid profile, liver panel, and review of any adverse events occurred. For EZE + Statin patients, if  $LDL-C$  levels were  $\geq 1.81$  mmol/L, the statin dose was doubled for the next 8 weeks. For atorvastatin patients with  $LDL-C \geq 1.81$  mmol/L, the statin dose was again doubled for the next 8 weeks. At week 16 (Visit 4), patients underwent a brief exam, review of adverse events, liver panel, and fasting lipid profile. If the atorvastatin-monotherapy patients were already at maximum statin dose (80 mg) and  $LDL-C \geq 1.81$  mmol/L, ezetimibe 10 mg/day could be added at the physician's discretion. The primary efficacy end point was a composite of death from cardiovascular disease, a major coronary event (nonfatal myocardial infarction, documented unstable angina requiring hospital admission, or coronary revascularization occurring at least 30 days after randomization), or nonfatal stroke, assessed from the

time of randomization until the first occurrence of one of the events. The secondary endpoint was the proportion of patients in each treatment group achieving target  $LDL-C$  concentration ( $< 1.81$  mmol/L) after 16 weeks of therapy.

Statistical analysis of the results was carried out using the software packages SPSS 23, StatSoft Statistica 10 and SigmaPlot 12.5. mean group value and standard deviation (SD) were determined for each quantitative index. Data are presented as  $M \pm SD$ . All analyses were performed in the intent-to-treat (ITT) population including all patients who were randomized. Estimates of the hazard ratios and associated 95% confidence intervals for the comparison of atorvastatin-ezetimibe with atorvastatin monotherapy were obtained with the use of a Cox proportional-hazards model, with study group as covariate. For publication quality, figure 4 was derived from SigmaPlot 12.5. The independent-samples Student's *t*-test was used to assess between-group differences in  $LDL-C$  target achievement.

All statistical tests were two-sided with an alpha level of 0.05. Sample size calculation was based on the primary outcome measure. It was calculated via StatSoft Statistica 10 (Survival - Log-Rank Test  $H_0: P_1 = P_2$ ). From our educated guess survival rate for atorvastatin+EZE is about  $P_1 = 0.70$  and survival rate for atorvastatin monotherapy –  $P_2 = 0.65$ . In order to detect a similar magnitude of difference for this outcome, with 5% significance and 80% power, a total of 1364 patients per group were required. Due to the small sample size the results of this study must be interpreted with caution.

**Results and their discussion.** *Study Participants.* 351 acute coronary syndrome patients hospitalized in Amtel Hospital First Clinical's intensive coronary care unit were informed of the purpose of the trial and had to give their signed informed consent before being enrolled. 5 patients declined to participate without giving a reason. From 346 patients 323 met eligibility criteria. From 323 patients screened, 292 met the inclusion/exclusion criteria and were randomized (Fig. 2). The most common reason for exclusion was a Baseline  $LDL-C < 1.81$  mmol/L. Among the 292 patients enrolled, 283 (97%) patients completed the 8-week assessment and 263 (90%) completed the 16-week assessment. During the course of the study, there were 16 patients who were prematurely discontinued (3 were lost to follow-up and 13 had adverse events) and 13 patients were died. Of the 127 statin of patients who completed 16 weeks treatment, 60 were eligible for a crossover since they had not achieved  $LDL-C$  target while treated with the maximum statin dose (80mg) for 8 weeks. All of them had ezetimibe 10 mg added to their statin treatment and were, therefore, crossed over to the EZE + Statin group after 16 weeks (End of study). 17 from the 136 EZE + Statin of patients, who completed 16 weeks treatment and had not achieved  $LDL-C$  target, doubled the statin dose (80 mg).

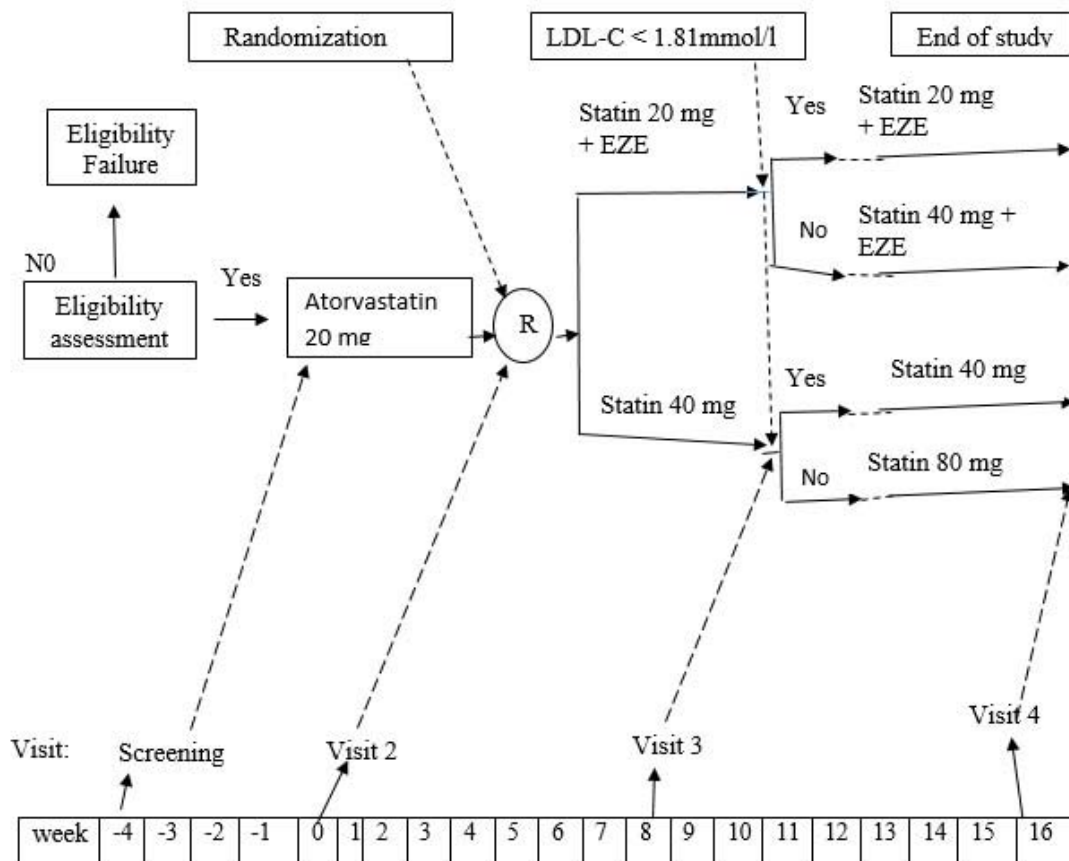


Fig. 1. Study design

Table 1. Baseline characteristics

Characteristic	EZE + Atorvastatin	Atorvastatin
	n=146	n=146
Women, n (%)	67 (45.9)	68 (46.9)
Age, years, mean±SD	62.21±11.36	62.62±11.03
Body mass index, mean±SD	25.22±3.43	24.87±2.88
Diabetes, n (%)	7 (4.8)	2 (1.4)
PAD, n (%)	58 (39.7)	67 (45.9)
Old MI, n (%)	25 (17.1)	4 (2.7)
CABG, n (%)	23 (15.8)	12 (8.2)
PCI, n (%)	12 (8.2)	22 (15.1)

There were no clinically significant differences in baseline demographic or lipide level characteristics across the two treatment groups (Table 1 and 2). There were some differences in baseline coexisting diseases (Table 1 and Fig. 3). At the time of randomization (at 4 weeks), the mean LDL-C4 cholesterol level was 2.83 mmol/l in atorvastatin + EZE group and 2.74 mmol/l in atorvastatin group (P=0.170). Among patients who had blood samples obtained at 16 weeks, the mean LDL-C16 cholesterol level was 1.91 mmol/l in the atorvastatin-monotherapy group and 1.60 mmol/l in the atorvastatin-ezetimibe group (P<0.0001)

(Table 2). This difference of 0.31 mmol/l (P<0.0001) represented a 16% further lowering of LDL cholesterol level when ezetimibe was combined with atorvastatin in comparison with when atorvastatin was administered alone (Fig. 4). Some between-group differences were seen in the percentage of patients who had elevations in alanine aminotransferase levels that exceeded three times the upper limit of the normal range (ULN). There were 4 patients in the atorvastatin-ezetimibe group (2 patients had received atorvastatin 20 mg and 2 patients - atorvastatin 40 mg) with ALT, AST, or both  $\geq 3 \times$  ULN.

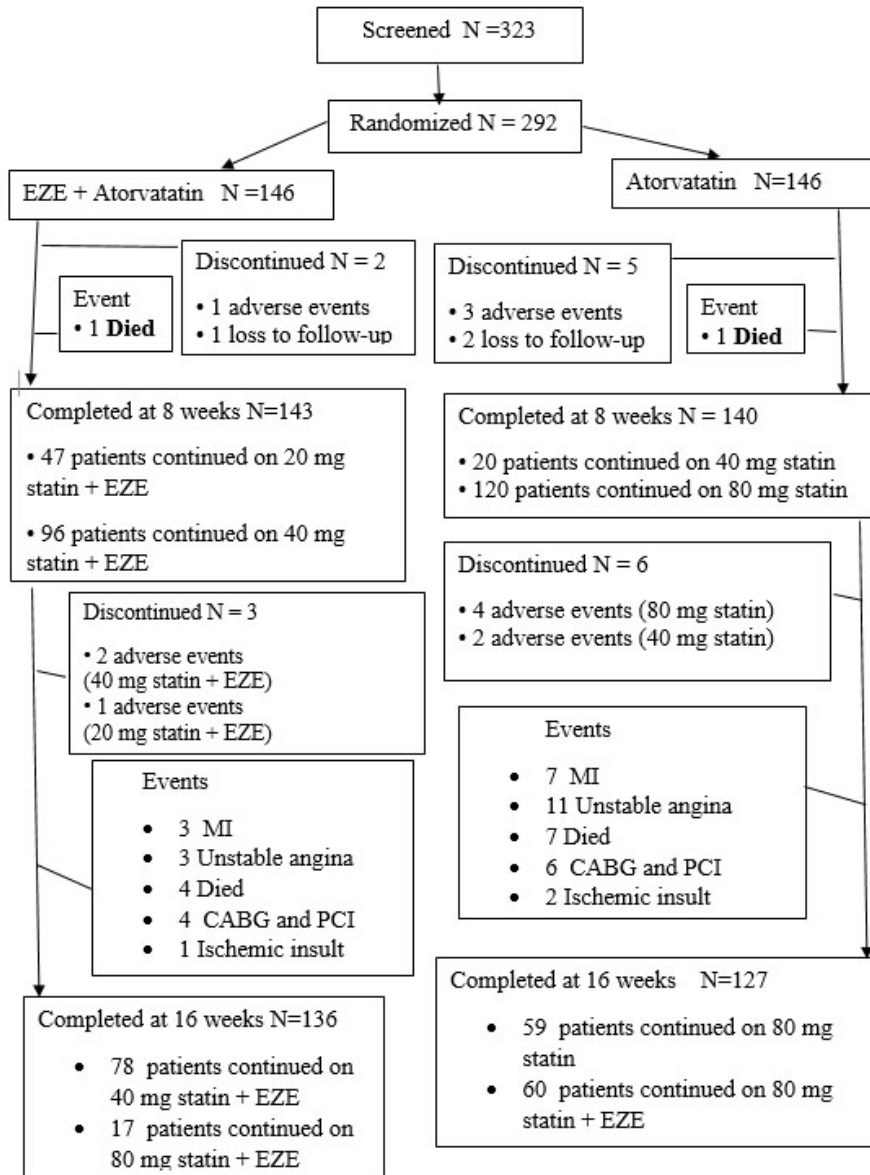


Fig. 2. Enrollment, randomization, and follow-up of study participants

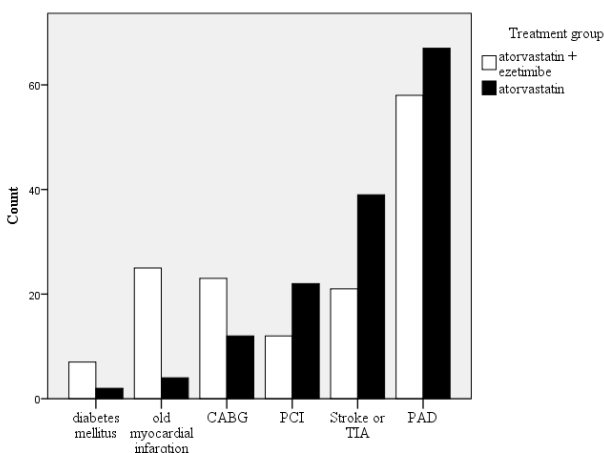


Fig. 3. History of coexisting conditions

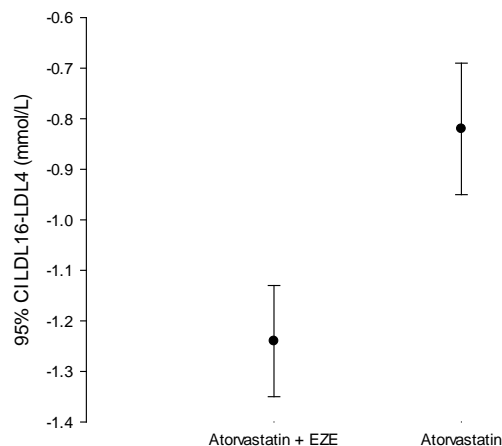


Fig. 4. Mean of LDL-C16-LDL-C4 at 16 weeks by treatment group

Table 2. LDL-C at randomization and 16 weeks

Parameter	Atorvastatin+Ezetimibe	Atorvastatin	p value (between group)
	n=146	n=146	
Randomization, mmol/L, (mean±SD) LDL-C4	2.83±0.55	2.74±0.64	0.170
	n=136	n=127	
16 weeks, mmol/L (mean±SD) LDL-C16	1.60±0.39	1.91±0.40	<0.0001

Table 3. Absolute change in LDL-C parameters from randomization to 16 weeks by treatment group

Parameter	Atorvastatin+Ezetimibe	Atorvastatin	p value (between group)
	n=146	n=146	
Randomization, mmol/L, (mean±SD) LDL-C16- LDL-C4	-1.24±0.67	-0.82±0.76	<0.0001

There were 9 patients in the atorvastatin group (5 patients had received atorvastatin 40 mg and 4 patients - atorvastatin 80 mg) with ALT, AST, or both  $\geq 3 \times \text{ULN}$ . Discontinuation of study medication owing to the adverse event occurred in 6.2 % of the patients in the atorvastatin-monotherapy group and in 2.7% of those in the atorvastatin-ezetimibe group. The Kaplan-Meier survival rate at 16 weeks were 88.1% in the atorvastatin-ezetimibe group and 77.0% in the atorvastatin monotherapy group (absolute risk reduction, 11.1 percentage points; hazard ratio, 2.099 ; 95% confidence interval, 1.165 to 3.781;  $P=0.014$ ) (Fig. 5).

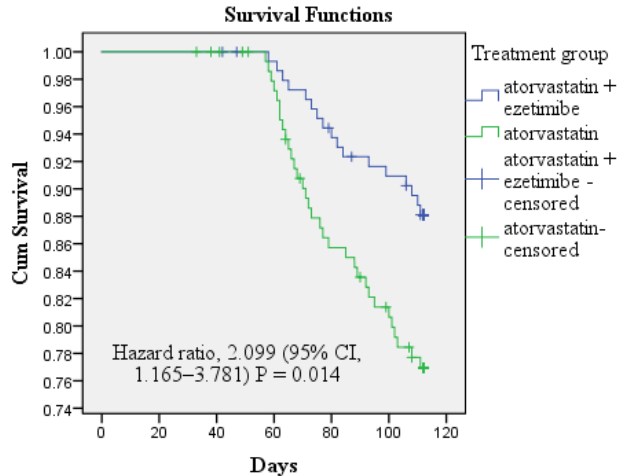


Fig. 5. Kaplan-Meier Curves for the survival rates

Over the past two decades, statin trials have shown clinical benefit when LDL cholesterol was lowered to progressively lower levels [1,2,6,9,10,13,15,18,21]. On the basis of these trials, a target LDL cholesterol of less than 70 mg per deciliter has been recommended for patients after an acute coronary syndrome [12,19]. Whether additional clinical benefit would be observed with further reductions of LDL cholesterol to levels below 70 mg per deciliter has not been clear. The benefit of ezetimibe in IMPROVE-IT suggests that there is additional clinical benefit [4,7,8].

In our study the addition to statin therapy of a nonstatin agent, ezetimibe, which reduces the absorption of cholesterol from the gastrointestinal tract, lowered LDL cholesterol by approximately 16%. The combination of atorvastatin and ezetimibe also resulted in a significantly lower risk of cardiovascular events than that with statin monotherapy, with a 11.1-percentage-point lower rate of the primary composite end point of cardiovascular death, major coronary events, or nonfatal stroke (hazard ratio, 2.099).

There were some differences between the two study groups in the percentage of patients who had elevations in alanine aminotransferase levels that exceeded three times the upper limit of the normal range (9 patients were in atorvastatin group and 4 patients - in atorvastatine-ezetimibe group).

In spite of this clear benefits, however, several limitations of our study should be considered. First, we evaluated patients who had had an acute coronary syndrome, and our results are most relevant to that population. Second, due to the small sample size recruited the results of this study must be interpreted with caution. Finally, this trial had a particularly small duration of follow-up and the open-label study design may have biased the assessment or reporting of adverse events. It is worth to further evaluate the clinical effect of the combined therapy in larger population of ACS patients with enough longer follow-up.

In conclusion, the addition of ezetimibe to statin therapy in stable patients who had had an acute coronary syndrome and who had LDL cholesterol levels within guideline recommendations further lowered the risk of cardiovascular events. The event reduction was consistent with the predicted effects seen with statins, and no offsetting adverse events or toxic effects were observed.

**Acknowledgments.** This study was supported by grant from Pfizer's Georgian office.

**The contributors list.** Lasha Japaridze carried out the study, as part of her PhD project, and was responsible for all parts of the research Project, including the writing of the paper and the doing of statistical analysis. Maia Sadunishvili was responsible for the initial study design. Irakli Megreladze was responsible for overall supervision.

## REFERENCES

1. Baigent C, Blackwell L, Emberson J, et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet* 2010; 376:1670-81.
2. Baigent C, Keech A, Kearney PM, et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* 2005; 366: 1267-78.
3. Ballantyne CM, Blazing MA, King TR, Brady WE, Palmisano J. Efficacy and safety of ezetimibe co-administered with simvastatin compared with atorvastatin in adults with hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2004; 93: 1487-94.
4. Blazing MA, Giugliano RP, Cannon CP, et al. Evaluating cardiovascular event reduction with ezetimibe as an adjunct to simvastatin in 18,144 patients after acute coronary syndromes: final baseline characteristics of the IMPROVE-IT study population. *Am Heart J* 2014; 168(2): 205.e1-212.e1.
5. Boden WE, Probstfield JL, Anderson T, et al. Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. *N Engl J Med* 2011; 365: 2255-67.
6. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, et al. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2004; 350:1495-504.
7. Cannon CP, Giugliano RP, Blazing MA, et al. Rationale and design of IMPROVE-IT (IMProved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial): comparison of ezetimibe/simvastatin versus simvastatin monotherapy on cardiovascular outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Am Heart J* 2008; 156: 826-32.
8. Califf RM, Lokhnygina Y, Cannon CP, et al. An update on the IMPROVED reduction of outcomes: Vytorin Efficacy International Trial (IMPROVE-IT) design. *Am Heart J* 2010; 159: 705-9
9. Cannon CP, Steinberg BA, Murphy SA, Mega JL, Braunwald E. Meta-analysis of cardiovascular outcomes trials comparing intensive versus moderate statin therapy. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 438-45.
10. de Lemos JA, Blazing MA, Wiviott SD, et al. Early intensive vs a delayed conservative simvastatin strategy in patients with acute coronary syndromes: phase Z of the A to Z trial. *JAMA* 2004; 292: 1307-16.
11. Ginsberg HN, Elam MB, Lovato LC, et al. Effects of combination lipid therapy in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2010; 362: 1563-74.
12. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CNB, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation* 2004; 110: 227-39.
13. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 7-22.
14. Kosoglou T, Meyer I, Veltri EP, et al. Pharmacodynamic interaction between the new selective cholesterol absorption inhibitor ezetimibe and simvastatin. *Br J Clin Pharmacol* 2002; 54: 309-19.
15. LaRosa JC, Grundy SM, Waters DD, et al. Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1425-35.
16. Landray MJ, Haynes R, Hopewell JC, et al. Effects of extended-release niacin with laropiprant in high-risk patients. *N Engl J Med* 2014; 371: 203-12.
17. Morrone D, Weintraub WS, Toth PP, et al. Lipid-altering efficacy of ezetimibe plus statin and statin monotherapy and identification of factors associated with treatment response: a pooled analysis of over 21,000 subjects from 27 clinical trials. *Atherosclerosis* 2012; 223: 251-61.
18. Pedersen TR, Faergeman O, Kastelein JJ, et al. High-dose atorvastatin vs usual dose simvastatin for secondary prevention after myocardial infarction: the IDEAL study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2005; 294: 2437-45.
19. Perk J, De Backer G, Gohlke H, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012): the Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J* 2012; 33: 1635-701.
20. Preiss D, Seshasai SR, Welsh P, et al. Risk of incident diabetes with intensive dose compared with moderate-dose statin therapy: a meta-analysis. *JAMA* 2011; 305: 2556-64.
21. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994; 344: 1383-9.
22. Schwartz GG, Olsson AG, Abt M, et al. Effects of dalcetapib in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2012; 367: 2089-99.
23. Stitzel NO, Won HH, Morrison AC, et al. Inactivating mutations in NPC1L1 and protection from coronary heart disease. *N Engl J Med* 2014; 371: 2072-82.
24. Sudhop T, Lütjohann D, Kodal A, et al. Inhibition of intestinal cholesterol absorption by ezetimibe in humans. *Circulation* 2002; 106: 1943-8.



## SUMMARY

### COMBINATION THERAPY EFFECTIVENESS OF EZETIMIBE AND ATORVASTATIN IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME

Japaridze L., Sadunishvili M., Megreladze I.

*Amtel Hospital First Clinical;  
Tbilisi State Medical University, Department of Cardiology, Georgia*

Atorvastatin reduces low-density lipoprotein (LDL) cholesterol levels and the risk of cardiovascular events, but whether the addition of ezetimibe (EZE), a nonstatin drug that reduces intestinal cholesterol absorption, can reduce the rate of cardiovascular events further is not known.

We conducted a 16-week one-center, prospective, randomized, and open-label clinical trial, involving 323 patients who had been hospitalized for an acute coronary syndrome within the preceding 14 days. They were received atorvastatin 20 mg during 28 days and after that 292 patients, who had LDL cholesterol levels  $\geq 1.81$  mmol/L, were randomized to ezetimibe 10 mg/day co-administered with atorvastatin therapy (EZE+Statin) or doubling their current atorvastatin dose. The primary end point was a composite of cardiovascular death, nonfatal myocardial infarction, unstable angina requiring rehospitalization, coronary revascularization ( $\geq 30$  days after randomization), or nonfatal stroke.

At 16 weeks, the mean LDL cholesterol level during the study was 1.60 mmol per liter in the atorvastatine-ezetimibe group, as compared with 1.91 mmol per liter in the atorvastatin-monotherapy group ( $p < 0.001$ ). The Kaplan-Meier survival rate at 16 weeks were 88.1% in the atorvastatin-ezetimibe group and 77.0% in the atorvastatin monotherapy group (absolute risk reduction, 11.1 percentage points; hazard ratio, 2.099; 95% confidence interval, 1.165 to 3.781;  $p = 0.014$ ). Patients receiving ezetimibe and statin were more likely to achieve target LDL-C after 16 weeks compared to patients doubling their statin dose. When added to statin therapy, ezetimibe resulted in incremental lowering of LDL cholesterol levels and improved cardiovascular outcomes. Ezetimibe/statin combination therapy was well tolerated among these patients, without safety concerns.

**Keywords:** acute coronary syndrome, atorvastatin, ezetimibe, low-density lipoprotein cholesterol.

## РЕЗЮМЕ

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ЭЗЕТИМИБОМ И АТОРВАСТАТИНОМ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ

Джапаридзе Л.У., Садунишвили М.З., Мегреладзе И.И.

*Амтел госпиталь первый клинический;  
Тбилисский государственный медицинский университет, департамент кардиологии, Грузия*

Статины, ингибиторы фермента ГМГ-КоА-редуктазы снижают содержание холестерина липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в крови и исключают сердечно-сосудистые осложнения у больных острым коронарным синдромом. Эффективность применения atorvastatina в сочетании с эзетимибом, который снижает всасывание холестерина кишечником, по сей день не изучена.

Целью данного исследования явилось изучение эффективности комбинированной терапии эзетимибом и atorvastатином больных острым коронарным синдромом. Проведено 16-недельное, одноцентровое, проспективное, открытое рандомизированное исследование, в котором участвовали 323 больных острым коронарным синдромом. Больные в течение 28 дней принимали atorvastatin в дозе 20 мг. После истечения этого срока осталось 292 больных, у которых холестерин ЛПНП составил  $\geq 1.81$  ммоль/л.

Пациенты рандомизированы в 2 группы - основную (n=146) и контрольную (n=146). В основной группе проводилось лечение atorvastатином (20 мг) и эзетимибом (10 мг), в контрольной группе пациентам удваивали дозу atorvastatina (40 мг). Эффективность лечения оценивали по динамике уровня холестерина ЛПНП в крови и конечной комбинированной клинической точке (кардиоваскулярная смертность, нефатальный инфаркт миокарда, нефатальный инсульт, нестабильная стенокардия, требующая госпитализации и коронарная реваскуляризация -  $\geq 30$  дней после рандомизации). На 16 неделе уровень ЛПНП холестерина в основной группе составил 1,6 ммоль/л, в контрольной группе - 1,9 ммоль/л ( $p < 0.001$ ). Коэффициент выживания Каплан-Мейера в основной группе равнялся 88,1%, в контрольной - 77% (снижение абсолютного риска на 11,1%; отношение рисков 2.099; 95% доверительный интервал 1.165-3.781;  $p = 0.014$ ).

На основании проведенного исследования следует заключить, что добавление эзетимиба при монотерапии аторвастатином вызывает инкрементальное снижение уровня холестерина ЛПНП и кардиоваскулярных осложнений в сравнении с применением удвоенной дозы аторвастатина.

რეზიუმე

ეხეტემიბის და ატორვასტატინის კომბინირებული თერაპიის ეფექტურობა მწვავე კორონარული სინდრომის დროს

ლ. ჯაფარიძე, მ. სადუნიშვილი, ი. მეგრელაძე

ამტელ ჰოსპიტალი პირველი კლინიკური; თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, კარდიოლოგიის დეპარტამენტი, საქართველო

შრომის მიზანს წარმოადგენდა მწვავე კორონარული სინდრომით დაავადებულ პაციენტებში ატორვასტატინის და ეხეტემიბის კომბინირებული მკურნალობის ეფექტურობის შეფასება ავადობასთან და სიკვდილიანობასთან მიმართებაში.

ჩატარდა 16 კვირის ხანგრძლივობის, ერთცენტრული, პროსპექტული, ღია რანდომიზებული კვლევა, რომელშიც მონაწილეობდა 323 ავადმყოფი მწვავე კორონარული სინდრომით. ავადმყოფები ღებულობდნენ ატორვასტატინს დოზით 20 მგ 28 დღის განმავლობაში. ამ დროის გაელის შემდეგ დარჩა 292 პაციენტი, რომელთა დაბალი სიმკვრი-

ვის ლიპოპროტეინების ქოლესტეროლის (LDL-C) დონე შეადგენდა  $\geq 1.81$  მმოლ/ლ. განხორციელდა ამ პაციენტების რანდომიზირება ძირითად და საკონტროლო ჯგუფებში თანაფარდობით 1:1. ძირითადი ჯგუფის ავადმყოფები ღებულობდნენ 20 მგ ატორვასტატინს და 10 მგ ეხეტემიბს, ხოლო საკონტროლო ჯგუფის პაციენტები - ატორვასტატინის გაორმაგებულ დოზას (40 მგ). მკურნალობის ეფექტურობის შეფასება ხდებოდა სისხლში LDL-C დონის დინამიკის და საბოლოო კომპოზიტური წერტილის გათვალისწინებით (კარდიოვასკულური სიკვდილიანობა, არაფატალური მიოკარდიუმის ინფარქტი, ინსულტის, არასტაბილური სტენოკარდია, რომელიც საჭიროებდა ურგენტულ ჰოსპიტალიზაციას და კორონარული რევასკულარიზაცია -  $\geq 30$  დღე რანდომიზაციიდან).

დაკვირვების ბოლოს LDL-C საშუალო დონე ძირითად ჯგუფში შეადგენდა 1.6 მმოლ/ლ, ხოლო საკონტროლო ჯგუფში - 1.9 მმოლ/ლ ( $p < 0.001$ ). კაპლან-მაიერის გადარჩენის კოეფიციენტი ძირითად ჯგუფში იყო 88.1%, საკონტროლოში - 77% (აბსოლუტური რისკის შემცირება 11.1%-ით; რისკების თანაფარდობა - 2.099; 95% სარწმუნოების ინტერვალი, 1.165-3.781;  $p = 0.014$ ).

ამრიგად, ეხეტემიბის დამატება ატორვასტატინით მონოთერაპიაზე იწვევს LDL ქოლესტერინის დონის ინკრემენტალურ დაწევას და კარდიოვასკულური გართულებების შემცირებას ატორვასტატინის დოზის გაორმაგებასთან შედარებით.

## ASSOCIATION OF DEPRESSION WITH HOSPITAL LENGTH OF STAY IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME

Tatishvili S., Jorbenadze R., Kavtaradze G.

Tbilisi State Medical University, Department of Internal Medicine №3; G. Chapidze Center, Tbilisi, Georgia

A growing number of studies have been conducted in order to establish the optimal hospital length of stay in patients with acute coronary events with regard to their risk [3]. In the modern era of angioplasty and fibrinolysis, the duration of hospital stay for patients with acute coronary syndrome (ACS) has been significantly reduced. Discharge of patient with uncomplicated ASC at three days is considered to be safe. However, recent guidelines recommend that length of stay should be determined according to patient's condition [1].

Multiple cardiac and non-cardiac comorbid conditions are often related to increased mortality, prolonged hospital length of stay and higher hospital costs in patients with acute coronary

events [4]. Out of non-cardiac comorbid conditions, psychosocial risk factors have been increasingly associated with coronary disease morbidity and mortality and poor outcomes in patients with ACS [2]. However, only a few studies focus on the role of depression on hospital stay prolongation [4].

The aim of our study was to establish the association of depression with hospital length of stay in patients with acute coronary events.

**Material and methods.** In 2013 depression screening was performed in the Chapidze Center, Tbilisi, Georgia. The main inclusion criteria in the study were acute coronary

events – non-ST elevation myocardial infarction or unstable angina. The total number of participants was 84. All of them underwent coronarography. Information concerning physical examinations and laboratory and instrumental test results was obtained from hospital recordings.

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.

Coronary obstruction was defined as  $\geq 50\%$  stenosis in the left main coronary artery or  $\geq 70\%$  stenosis in major coronary arteries [8]. Coronary risk factors were assessed in all patients.

Depression was assessed by the Beck Depression Inventory (BDI).

Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) score for unstable angina/non-STEMI was calculated and the risk was estimated for all participants. The TIMI formula included patients' age,  $\geq 3$  coronary risk factors, the known coronary stenosis, aspirin use in the past 7 days, severe angina in 24 hours, ST segment changes on electrocardiogram and positive cardiac markers.

Systolic dysfunction was assessed by echocardiography at admission. The variable for systolic dysfunction was provided by two categories – ejection fraction (EF)  $< 35\%$  and  $> 35\%$ . Our decision was based on the ESC guidelines, which consider EF  $< 35$  as systolic heart failure [6].

The variable for hospital length of stay was categorized into two categories:  $< 3$  days and more than 3 days.

Descriptive statistical tests were used for the calculation of frequencies, means and standard deviations. Independent T-test was used to compare means for numerical variables “depression” and TIMI score. P value was set at 0.05. A binary logistic regression was applied in order to assess contribution of depression to prolonged hospital stay. 95% Confidence interval was used for statistical analysis. All statistical tests were performed using SPSS 16.0.

**Results and their discussion.** Out of 84 patients, 78.6% were men and 21.4% women. The mean age for both genders was 59.2 (10.2) years. Unstable angina was diagnosed in 75.0% of patients and acute myocardial infarction in 25.0% respectively.

Most of patients were non-smokers (62%), hypertensive (90.5) and obese (72.6%). Obstructive CAD was found in 87% of cases. The mean depression score was 13.2 (SD 7.7). The hospital stay more than 3 days was revealed in 35.3% of cases. Mean TIMI score was 3.2 (SD1.3), in other words the risk of all cause mortality, new or recurrent myocardial infarction (MI) or severe recurrent ischemia was 13% at 14 days.

Table 1. Summary of general characteristics of the patients included in the study

n=84	All
Age ( years), mean and SD	59.2 (10.2)
Sex %	
Men	78.6
Women	21.4
Depression score, mean, SD	13.2 (7.7)
Obstructive CAD %	
Yes	86.9
No	13.1
BMI %	
>25	72.6
<25	21.4
Arterial hypertension	
Yes	90.5
No	8.3
Tobacco consumption %	
Yes	38.1
No	61.9
Diabetes %	
Yes	25.0
No	73.8
Hospital duration in days %	
>3 day	35.7
< 3 day	64.3
TIMI score (mean, SD)	3.2 (1.3)
Ejection fraction (systolic dysfunction) %	
<35%	7.1
> 35%	79.8
Coronary artery disease %	
Unstable angina	75.0
Non-ST elevation myocardial infarction	25.0

Results expressed by mean and standard deviation or percentage

The highest depression score was found in patients with systolic dysfunction (EF  $< 35\%$ ). BDI  $> 10$  was revealed in women, in elderly patients and in those who had not undergone revascularization. (Table 2).

In the binary logistic regression model, myocardial infarction and depression were found to be significant contributors to prolonged hospital stay, when TIMI score was included into the model. The hospital length of stay was increased by 10% for every one point increase of depression score. Myocardial infarction was associated with four-fold increase of length of stay. The presence of systolic dysfunction was related to 8 times increase of HLS; however, this finding did not reach statistical significance (Table 3).

Table 2 Depression scores

n=84	Depression scores, mean, SD	p value
Sex		
Men	12.1 (7.3)	0.008
Women	17.5 (8.2)	
Age group		
>65	16.6 (8.6)	0.009
<65	11.8 (6.9)	
Ejection fraction (systolic dysfunction)		
<35%	20.7 (8.3)	0.011
>35%	12.2 (7.4)	
Revascularization		
Yes	11.1	0.002
No	16.5	

Results expressed by mean and standard deviation. Independent T- test were used to compare means; p value set at 0.005

Table 3. Multivariate analysis data. Predictors of increased hospital length of stay.

n=84	Hospital length of stay in days/Odds Ratio	95% Confidence Intervals	p value
Age	1.05	0.99-1.11	0.103
Sex	0.8	0.19-3.36	0.769
Myocardial infarction	3.89	1.21-12.28	0.022
TIMI score	0.80	0.5-1.3	0.338
Depression (BDI score)	1.10	1.02-1.19	0.011
Systolic dysfunction	8.37	0.80-88.02	0.077

In the current study we tried to determine the relationship between depression and hospital length of stay in patients with acute coronary syndrome. We found that depression was an independent predictor of the prolongation of hospital stay. The increased level of depressive symptoms was associated with hospital stay more than 3 days in patients with non-STEMI. This relationship could be explained by several factors: specifically, patients with systolic dysfunction and those who had not undergone revascularization were more depressed. BDI score was also higher in women and elderly patients. The prolongation of HLS in elderly patients is partly explained by the delay of catheterization or less frequent revascularization [9]. Therefore, clustering of these factors in depressed patients could contribute to the increase of hospital stay.

The same trend was shown in the ACTION Registry-GWTG study, which suggests that older age is associated with increased HLS because elderly patients less frequently undergo catheterization [9]. Additionally, female gender and systolic dysfunction were related to increased HLS in this study [9].

Our findings are in line with the PULSE study that showed that patients with unstable angina/non-STEMI and depressive symptoms stayed in the emergency department longer than non-depressed patients [5].

Although our study revealed that systolic dysfunction, older age and lower percentage of revascularization in depressed patients can contribute to longer hospital stay, further investigation is needed to better understand the mechanisms underlying the relationship between depression and increased HLS.

There are several limitations in our study. First, it was conducted only in one cardiologic centre and the sample size was small. It was difficult to establish significant relationship between HLS and other predictors, such as systolic dysfunction. In our analysis, we included the TIMI score for risk estimation, because it was calculated for all hospitalized patients, although currently the Grace score has been preferred for the risk assessment [7].

**Conclusion:** Depressive symptoms contribute independently to the prolongation of hospital stay in patients with non-STEMI. A higher BDI score was found in elderly patients, women, patients with systolic dysfunction and patients who had not undergone revascularization.

**Acknowledgements:** The study was supported by the University Research Program by the U.S. Embassy in Georgia (grant No S-GE800-13-GR-122).

## REFERENCES

1. Anderson J.L., Adams C.D., Antman E.M. et al. ACC/AHA 2007 guidelines for the management of patients with unstable angina/non ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/ Non ST-Elevation Myocardial Infarction): developed in collaboration with the American College of Emergency Physicians, the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and the Society of Thoracic Surgeons: endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation and the Society for Academic Emergency Medicine. *Circulation*. 2007.
2. Barth J., Schumacher M., Herrmann-Lingen C. Depression as a risk factor for mortality in patients with coronary heart disease: a meta-analysis. *Psychosom Med*. 2004; 66:802–813.
3. Berger A.K., Duval S., Jacobs D.R. Jr., Barber Ch., Vazquez G., Lee S., Luepker R.V. Relation of length of hospital stay in acute myocardial infarction to postdischarge mortality. *Am J Cardiol*. 2008; 101(4): 428–434.
4. Chen H.Y., Saczynski J.S., McManus D.D., Lessard D., Yarzebski J., Lapane K.L., Gore J.M., Goldberg R.J. The impact of cardiac and noncardiac comorbidities on the short-term outcomes of patients hospitalized with acute myocardial infarction: a population-based perspective. *Clin Epidemiol*. 2013; 5: 439-48.
5. Edmondson D., Newman J.D., Chang M.J., Wyer P., Davidson K.W. Depression is associated with longer emergency department length of stay in acute coronary syndrome patients. *BMC Emergency Medicine* 2012; 12:14.
6. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. 2012.
7. ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. 2015.
8. Ko D.T., Tu J.V., Austin P.C., Wijeyesundera H.C., Samadashvili Z., Guo H., Cantor W.J., Hannan E.L. 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.
9. Vavalle J.P., Lopes R.D., Chen A.Y., Newby L.K., Wang T.Y., Shah B.R., Ho P.M., Wiviott S.D., Peterson E.D., Roe M.T., Granger Ch.B. Identifying Factors that Influence Hospital Length of Stay in Patients with Non-ST-segment Elevation Myocardial Infarction: Insights from the Acute Coronary Treatment Intervention Outcomes Network Registry®-Get With The Guidelines. *Am J Med*. 2012; 125(11).

## SUMMARY

### ASSOCIATION OF DEPRESSION WITH HOSPITAL LENGTH OF STAY IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME

**Tatishvili S., Jorbenadze R., Kavtaradze G.**

*Tbilisi State Medical University, Department of Internal Medicine №3; G. Chapidze Center, Tbilisi, Georgia*

Psychosocial risk factors are known to have a negative impact on coronary disease morbidity and mortality. The aim of our study was to establish contribution of depression on hospital length of stay in patients with acute coronary events.

Depression screening was performed in the Chapidze Center, Tbilisi Georgia. Main inclusion criteria in the study were acute coronary events – non-ST elevation myocardial infarction or unstable angina. The total number of participants was 84. A binary logistic regression was used in order to assess contribution of depression on prolonged hospital stay.

The mean age for both genders was 59.2 (10.2) years. Most patients had coronary risk factors. Higher BDI score was found in elderly patients, females, and in those with systolic dysfunction as well as in whom revascularization was not performed. In binary logistic regression model myocardial infarction and depression were found to be significant contributors of prolonged hospital stay.

Depressive symptoms contribute independently to prolongation of hospital stay in patients with non-STEMI.

**Keywords:** cardio-vascular disease, acute coronary syndrome, Beck depression inventory, Body mass index, coronary artery disease, ejection fraction. ST-elevation myocardial infarction, hospital length of stay.

## РЕЗЮМЕ

### СВЯЗЬ ДЕПРЕССИИ С ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ ГОСПИТАЛИЗАЦИИ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ

**Татишвили С.М., Джорбенадзе Р.А., Кавтарадзе Г.В.**

*Тбилисский государственный медицинский университет, департамент внутренней медицины №3; Центр неотложной кардиологии им. Г. Чапидзе, Тбилиси, Грузия*

Психосоциальные факторы риска оказывают негативное влияние на клиническое состояние пациентов с

острым коронарным синдромом. Целью данного исследования явилось изучение роли депрессии на продолжительность пребывания в стационаре пациентов с острым коронарным синдромом.

Скрининг депрессии проведен у 84 больных Центра неотложной кардиологии им. Г. Чапидзе. Критериями включения в исследование явилось наличие нестабильной стенокардии или инфаркта миокарда без элевации ST сегмента. Средний возраст пациентов составил 59 лет. Большинство пациентов имели факторы риска ишемической болезни сердца. Статистический анализ

данных исследования включал параметрические и непараметрические методы. Высокий уровень депрессии выявлен у пожилых пациентов, женщин, у пациентов с систолической дисфункцией, а также у пациентов, которым реваскуляризация не проводилась. В результате проведенных исследований выявлено, что у пациентов с выраженными симптомами депрессии длительность госпитализации увеличивалась.

Таким образом, следует заключить, что депрессия способствует продлению госпитализации больных с острым коронарным синдромом.

### რეზიუმე

დეპრესიის კავშირი ჰოსპიტალიზაციის ხანგრძლივობასთან მწვავე კორონარული სინდრომის მქონე პაციენტებში

ს. ტატიშვილი, რ. ჯორბენაძე, გ. ქავთარაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, შინაგანი მედიცინის დეპარტამენტი №3;  
გ. ჩავჭიძის სახ. გადაუდებელი კარდიოლოგიის ცენტრი, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა დეპრესიის ასოციაციის შესწავლა ჰოსპიტალიზაციის ხანგრძლივობაზე მწვავე კორონარული სინდრომის დროს.

დეპრესიის სკრინინგი ჩატარდა გ. ჩავჭიძის სახ. გადაუდებელი კარდიოლოგიის ცენტრში. კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმებს წარმოადგენდა არასტაბილური სტენოკარდიის ან მიოკარდიუმის ინფარქტის (ST სეგმენტის ელევაციის გარეშე) არსებობა. კვლე-

ვაში ჩართული იყო 84 პაციენტი. გამოყენებული იქნა სტატისტიკის პარამეტრული და არაპარამეტრული მეთოდები. პაციენტთა საშუალო ასაკი იყო 59 წელი. პაციენტთა უმრავლესობას გამოუვლინდა კორონარული დაავადების რისკის ფაქტორები. პაციენტებს, რომელთაც აღენიშნებოდათ დაბალი განდევნის ფრაქცია და არ ჩატარდათ რევასკულარიზაცია, გამოუვლინდათ დეპრესიის შედარებით მაღალი ქულები. დეპრესიის სიმპტომების არსებობა იწვევს ჰოსპიტალიზაციის გახანგრძლივებას.

## EFFECTS OF VITAMIN D ANALOGS ON ERYTHROPOIESIS-STIMULATING AGENT DASAGE AND SECONDARY ANEMIA IN HEMODIALYSIS PATIENTS

<sup>1</sup>Varim C., <sup>2</sup>Sipahi S., <sup>3</sup>Yaylaci S., <sup>1</sup>Kaya T., <sup>1</sup>Nalbant A.

Sakarya University Medicine Faculty, <sup>1</sup>Department of Internal Medicine, <sup>2</sup>Department of Internal Medicine, Division of Nephrology, Sakarya; <sup>3</sup>Rize Findikli State Hospital Rize, Department of Internal Medicine, Turkey

Secondary hyperparathyroidism (sHPT) occurs as a result of the stimulation of the parathyroid glands by external factors that increase the production of parathyroid hormone leading hyperplastic (%98) or adenomatous (2%) changes [12]. The most common and important factor causing sHPT is chronic renal failure, referred to as renal hyperparathyroidism. In addition, idiopathic hypercalciuria, hypermagnesemia, rickets, osteomalacia, malnutrition, low

active vitamin D (1, 25 (OH) vit D) level with osteoporosis are amongst the underlying reasons of sHPT. Black race, younger age, female gender, long-term dialysis and hemodialysis treatment have also been considered to be effective in the development of sHPT [6,10,15]. In the process of chronic renal failure, the reduction in glomerular filtration rate (GFR) causes retention of phosphorus. Increased inorganic phosphorus creates a complex with plasma cal-

cium leading decrease in plasma ionized calcium levels. Hypocalcemia mediated stimulation of parathyroid gland leads increased parathyroid hormone (PTH) secretion. Increased phosphorus levels via reducing the activity of the OH 25-hydroxyvitamin D-1 enzyme in the kidney causes development of hypocalcemia. Vitamin D analogs are used to treat sHPT. However, vitamin D analogs increase the calcium and phosphate levels by increasing the intestinal calcium and phosphate absorption, as well as increasing the calcium and phosphate mobilization from the bone [7]. Treatment modalities such as non-calcium-containing phosphate binders, selective vitamin D analogs, and calcimimetics have been developed for suppressing the sHPT without increasing calcium and phosphate. Alfacalcidol (1 $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub>) and paricalcitol (19-nor-1 $\alpha$ , 25 dihydroxyvitamin D<sub>2</sub>) are the two vitamin D analogs have been frequently used in Europe. Alfacalcidol has been used in the treatment of secondary hyperparathyroidism and renal osteodystrophy for almost 35 years. Paricalcitol, which is a less calcemic and phosphatemic vitamin D analog, is being used since 2004 (first marketed in Denmark). Paricalcitol suppresses parathyroid hormone (PTH) levels and was reported to be associated with lesser hypercalcemic and hyperphosphatemic effects than calcitriol (1 $\alpha$ , 25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>) in uremic rats [19]. Secondary hyperparathyroidism is one of the several reasons that lead to anemia in patients with chronic renal failure. Secondary hyperparathyroidism causes bone marrow fibrosis due to inhibition of erythropoiesis. To date, there is no randomized controlled study conducted to provide data on comparative evaluation of alfacalcidol and paricalcitol treatments on hemoglobin levels and Erythropoiesis-Stimulating Agent Dosage [17]. In this study, we aimed to investigate the effect of paricalcitol and alphacalcidol on hemoglobin levels and ESA dosage in patients under hemodialysis treatment for chronic renal failure.

**Material and methods.** Out of 310 screened patients who were under hemodialysis treatment for chronic renal failure and received alfacalcidol or paricalcitol treatments for 6 months, while no vitamin D therapy; 111 patients (mean age: 60 years, 51 males, 60 females) were included in this retrospective multicenter study. Patients were divided into three groups including paricalcitol treated (group 1, n=42), alphacalcidol treated (group 2, n=37) and untreated (group 3, n=32) patients. Data on PTH levels, hemoglobin (Hb)

levels, erythropoietin-stimulating agents (ESA) doses, C-reactive protein (CRP), effectiveness of dialysis (Kt/V), albumin, ferritin, calcium and phosphate levels were collected from medical records within the last 6 months to comparatively evaluate patients treated with paricalcitol or alphacalcidol and untreated patients.

Stable patients who received low-flux hemodialysis treatment for the native arterio-venous fistula 3x/week for at least 6 months, aged between 18-85 years were included in the study, while having blood transfusions within the last three months, CRP levels of >15 mg/dL, past history of acute infection within the last four weeks, long-term antibiotic or steroid use, chronic liver disease, chronic inflammatory intestinal disease, malignancy, serious periodontal disease and pregnancy were the exclusion criteria.

Statistical analysis was made using computer software (SPSS version 13.0, SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Student's t test and ANOVA test were used for the analysis of data. Data were expressed as "mean (standard deviation; SD)" and percent (%) where appropriate. p<0.05 was considered statistically significant.

**Results and their discussion.** Study groups were homogenous in terms of age and gender distribution (Table 1). Also there was no significant difference between groups considering the effectiveness of dialysis.

Apart from significantly higher levels for hematocrit in patients treated with paricalcitol compared to pre-treatment values (32.3(3.8) vs. 34.1(3.1) p=0.007), pre-treatment and post-treatment values for biochemical parameters were similar in paricalcitol and alphacalcidol groups including ESA dosage (Table 1).

When both treatment groups were compared with untreated patients; a significant increase in parathormone levels (p<0.001 for each) while a significant decrease in calcium (Group 1 p=0.040 and Group 2 p=0.003, respectively), hemoglobin (p=0.009 and p=0.001, respectively) and hematocrit (p=0.021 and p=0.001, respectively) levels were determined in paricalcitol and alphacalcidol treated patients compared with untreated patients. Also, phosphate levels in alphacalcidol treated patients were significantly higher (p=0.018) than untreated patients (Table 1).

Table 1. Demographic datas in study groups

Demographics	Group 1	Group 2	Group 3
	Paricalcitol (n=42)	Alphacalcidol (n=37)	Untreated (n=32)
Gender (males/females)	19/23	19/21	16/16
Age, mean; (SD)	60.1 (11.0)	60.2 (14.7)	60.2 (15.5)

\*SD - standard deviation

Table 2. Hemodialysis datas in study groups

Hemodialysis parameters		Group 1		Group 2		Group 3	p value	
		Paricalcitol (n=42)		Alphacalcidol (n=37)		Untreated (n=32)	Group 2 vs. 3	Group 1 vs. 3
		Mean (SD)	P value	Mean (SD)	P value	Mean (SD)		
Kt/V	Pre-treatment	1.5 (0.3)	0.808	1.6 (0.3)	0.188	1.5 (0.2)	0.753	0.266
	Post-treatment	1.6 (0.3)		1.5 (0.2)				
Parathormon	Pre-treatment	702.4 (0.8)	0.090	766.4 (505.1)	0.345	269 (183.9)	<0.001	<0.001
	Post-treatment	504.0 (0.9)		704.1 (522.6)				
Calcium	Pre-treatment	8.4 (1.2)	0.336	8.4 (0.8)	0.305	9.0 (0.9)	0.003	0.040
	Post-treatment	8.5 (1.2)		8.3 (0.8)				
Phosphate	Pre-treatment	4.6 (1.1)	0.490	5.6 (1.4)	0.654	5.0 (1.2)	0.018	0.388
	Post-treatment	4.8 (1.5)		5.7 (1.2)				
C reactive protein	Pre-treatment	8.0 (15.3)	0.676	7.7 (4.3)	0.128	8.1 (10.0)	0.267	0.925
	Post-treatment	8.7 (5.7)		11.9 (14.7)				

Table 3. Hematologic datas in study groups

Hematologic parameters		Group 1	Group 1	Group 2	Group 2	Group 3	p value	
		Paricalcitol (n=42)	Paricalcitol (n=42)	Alphacalcidol (n=37)	Alphacalcidol (n=37)	Untreated (n=32)	Group 2 vs. 3	Group 1 vs. 3
		Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)		
Hemoglobin	Pre-treatment	10.7 (3.5)	0.449	10.9 (1.0)	0.332	11.8 (1.4)	0.001	0.009
	Post-treatment	10.9 (3.6)		10.6 (1.3)				
Hematocrit	Pre-treatment	32.3 (3.8)	0.007	33.1 (3.2)	0.599	36.3(4.6)	0.001	0.021
	Post-treatment	34.1 (3.1)		32.7 (4.0)				
Ferritin	Pre-treatment	764.7 (4.6)	0.800	524.4 (236.1)	0.250	681.7 (426.9)	0.623	0.496
	Post-treatment	743.0 (6.5)		623.9 (399.5)				
Darbepoetin alpha	Pre-treatment	36.7 (0.8)	1.000	40.0 (12.2)	0.477	41.1 (13.6)	0.673	0.918
	Post-treatment	36.7(0.9)		36.0 (18.2)				
Erythropoietin	Pre-treatment	90.8 (33.4)	0.135	86.7 (33.4)	0.475	107.8 (27.6)	0.485	0.903

Secondary hyperparathyroidism is a common complication in ESRD. Renal osteodystrophy is associated with increased fracture risk [11], increased cardiovascular mortality and morbidity [3,9]. Renal osteodystrophy is characterized by

changes in PTH, calcium (Ca), phosphate (P) and vitamin D (vit D) metabolism leading bone tissue disease. In patients with ESRD, 25 (OH) cholecalciferol does not return into 1.25 (OH) 2 dihydroxycholecalciferol causing active



vitamin D3 deficiency and hypocalcemia in addition to P retention. Owing to compensatory increase in blood PTH levels, secondary hyperparathyroidism develops in patients. PTH begins to increase when GFR <60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. Serum phosphorus, calcium, and calcitriol levels are usually normal at the first period of GFR reduction. As the kidney damage progresses, mineral homeostasis disruption and renal osteodystrophy occurs. Vitamin D analogs are used to treat sHPT.

While the available literature is still controversial, several studies showed that, treatment of hyperparathyroidism in patients with ESRD, decreased the need of erythropoiesis-stimulating agents (ESA) and that surgical (parathyroidectomy, PTX) or medical (calcitriol) treatment actually improved or even corrected the rhEPO-resistant anemia of ESRD patients with severe SHP [14].

In a study which investigates the relation of vitamin D insufficiency and lowering hemoglobin and ESA resistance in chronic kidney disease patients, reported that serum 25(OH) D (3) concentration was independently associated with erythropoietin responsiveness. Hence the need for trials on the effect of vitamin D supplementation on anemia treatment in chronic kidney disease patients was emphasized [13].

Also, treatment by calcimimetic was reported to improve the control of anemia by ESA in chronic hemodialysis patients and to interfere positively on a cause of secondary resistance to ESA represented by sHPT. The reduction in bone marrow fibrosis and inflammation as well as the triptych formed by the reduction in iPTH, CaxP and phosphate has been proposed as the mechanism underlying these effects [16].

Likewise, the possible beneficial effects of vitamin D therapy in controlling PTH secretion, which in turn determines an improvement of anemia of uremic subjects has become a field of clinical interest. Several uncontrolled studies confirmed this possibility, indicating that patients who respond to calcitriol or its analogs also show an increase of their hemoglobin levels via possible reversibility of bone marrow fibrosis, which is a common feature of secondary hyperparathyroidism [4]. Besides, in patients with uremia, the dose of erythropoietin needed to achieve an adequate hematocrit response was reported to likely to depend on the severity of secondary hyperparathyroidism and the extent of bone marrow fibrosis [18]. Hence, the increased sensitivity to EPO therapy has also been indicated to induce a successful reduction of its dosage, thus allowing an interesting reduction of costs [4].

Additionally, high-dose alfacalcidol was shown to be efficient in anaemic patients with ESRD and moderate hyperparathyroidism on maintenance HD and to have a

direct effect on erythropoietic cells regardless of serum calcium and iPTH levels [1].

In a past study conducted with ESRD patients who underwent parathyroidectomy, increase in hemoglobin and hematocrit levels while a decrease in ESA dosage were reported at the end of 12-month follow-up [20]. Past studies documented a parallel reduction in ESA dosage and PTH levels in ESRD patients treated with calcimimetics (cinacalcet) [2,8]. In another study on comparison of hemoglobin, iron, ferritin and the EPO doses in patients with sHPT under paricalcitol or calcitriol treatment, data on 12-month follow up revealed significantly higher mean levels for hemoglobin in patients under paricalcitol treatment despite significantly lower doses of EPO in these patients, while there were no significant difference between groups in terms of iron and ferritin levels [5]. Moreover, high-dose alfacalcidol was shown to be effective in anaemic patients with moderate hyperparathyroidism on maintenance hemodialysis and to have a direct effect on erythropoietic cells regardless of serum calcium and PTH levels [1].

Given the consistently reported substantial influence of PTH levels on anemia parameters as well as ESA doses, significantly higher levels for hemoglobin and hematocrit in untreated than treated patients in our study population emphasize the negative impact of insufficiently suppressed PTH levels on hemogram in paricalcitol and alfacalcidol treated patients under hemodialysis for chronic renal failure. However, possibly in relation to insufficient suppression of PTH levels under Vit D analog treatment, no significant difference was observed in ESA dosage between treated and untreated patients in our study.

Besides, aside from lack of normalization in hemoglobin and hematocrit levels, significantly lower calcium levels in treated patients than untreated patients regardless of the type of Vit D analogs while significantly higher phosphate levels in alfacalcidol treated patients but not in paricalcitol treated patients when compared to untreated patients seem compatible with the milder hyperphosphatemic effect associated with paricalcitol treatment [19].

### Conclusions.

In conclusion, effect of vitamin D analogs, paricalcitol and alfacalcidol, on hemoglobin levels and ESA dosage in hemodialysis patients revealed insufficient suppression of PTH levels and thereof lower hemoglobin and hematocrit levels but similar ESA dosage among patients treated with Vit D analogs compared with untreated patients. Hence use of Vit D forms providing more effective suppression of PTH levels seems to be associated with a better hematological profile as well as normalized calcium homeostasis in patients with ESRD. Future larger scale randomized studies are needed to clarify the mechanism of action related to Vit D analogs in ESRD patients.

## REFERENCES

1. Albitar S., Genin R., Fen-Chong M., et al. High-dose alfacalcidol improves anaemia in patients on haemodialysis. *Nephrology, Dialysis, Transplantation* 1997; 12(3): 514-518.
2. Battistella M., Richardson R.M., Bargman J.M., Chan C.T. Improved parathyroid hormone control by cinacalcet is associated with reduction in darbepoetin requirement in patients with end-stage renal disease. *Clinical Nephrology* 2011; 76(2): 99-103.
3. Block G.A., Klassen P.S., Lazarus J.M. et al. Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *Journal of the American Society of Nephrology* 2004; 15(8): 2208-2218.
4. Brancaccio D., Cozzolino M., Gallieni M. Hyperparathyroidism and anemia in uremic subjects: a combined therapeutic approach. *Journal of American Society of Nephrology* 2004; 15(Suppl 1): 21-24.
5. Capuano A., Serio V., Pota A., Memoli B., Andreucci V.E. Beneficial effects of better control of secondary hyperparathyroidism with paricalcitol in chronic dialysis patients. *Journal of Nephrology* 2009; 22(1): 59-68.
6. Chertow G.M., Plone M., Dillon M.A., Burke SK., Slatopolsky E. Hyperparathyroidism and dialysis vintage. *Clinical Nephrology* 2000; 54(4): 295-300.
7. Dusso A.S., Brown A.J., Slatopolsky E. Vitamin D. *American Journal of Physiology Renal Physiology* 2005; 289(1): F8-28.
8. Fusaro M., D'Angelo A., Naso A. et al. Treatment with calcimimetic (cinacalcet) alters epoetin dosage requirements in dialysis patients: preliminary report. *Renal Failure* 2011; 33(7): 732-735.
9. Ganesh S.K., Stack A.G., Levin N.W., et al., "Association of elevated serum PO(4), Ca x PO(4) product, and parathyroid hormone with cardiac mortality risk in chronic hemodialysis patients. *Journal of the American Society of Nephrology* 2001; 12(10): 2131-2138.
10. Gupta A., Kallenbag L.R., Zasuwa G., and Divine G.W. Race is a major determinant of secondary hyperparathyroidism in uremia. *Journal of the American Society of Nephrology* 2000; 11(2): 330-334.
11. Jadoul M., Albert J.M., Akiba T., et al. Incidence and risk factors for hip or other bone fractures among hemodialysis patients in the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Kidney International* 2006; 70(70): 1358-1366.
12. Johnson W.J., McCarthy J.T., Heerden J.V. Results of subtotal parathyroidectomy in hemodialysis patients. *The American Journal of Medicine* 1988; 84(1): 23-32.
13. Kiss Z., Ambrus C., Almasi C., et al. Serum 25(OH)-cholecalciferol concentration is associated with hemoglobin level and erythropoietin resistance in patients on maintenance hemodialysis. *Nephron Clinical Practice* 2011; 117(40): 373-378.
14. Lin C.L., Hung C.C., Yang C.T., Huang C.C. Improved anemia and reduced erythropoietin need by medical or surgical intervention of secondary hyperparathyroidism in hemodialysis patients. *Renal Failure* 2004; 26(3): 289-295.
15. Malberti F., Marcelli D., Conte F. et al. Parathyroidectomy in patients on renal replacement therapy: An epidemiologic study. *Journal of the American Society of Nephrology* 2001; 12(6): 1242-1248.
16. Mpio I., Boumendjel N., Karaaslan H., et al. Secondary hyperparathyroidism and anemia. Effects of a calcimimetic on the control of anemia in chronic hemodialysed patients. Pilot Study. *Néphrologie & thérapeutique* 2011; 7(40): 229-236.
17. Palmer S.C., McGregor D.O., Craig J.C., et al. Vitamin D compounds for people with chronic kidney disease requiring dialysis. *Cochrane Database of Systemic Reviews* 2009; CD005633.
18. Rao D.S., Shih M.S., Mohini R. Effect of serum parathyroid hormone and bone marrow fibrosis on the response to erythropoietin in uremia. *New England Journal of Medicine* 1993; 328(9): 171-175.
19. Slatopolsky E., Finch J., Ritter C., et al. A new analog of calcitriol, 19-nor-1,25-(OH)2D2, suppresses parathyroid hormone secretion in uremic rats in the absence of hypercalcemia. *American Journal of Kidney Disease* 1995; 26(5): 852-860.
20. Trunzo J.A., McHenry C.R., Schulak J.A., Wilhelm S.M. Effect of parathyroidectomy on anemia and erythropoietin dosing in end-stage renal disease patients with hyperparathyroidism. *Surgery* 2008; 144(6): 915-918.

## SUMMARY

### EFFECTS OF VITAMIN D ANALOGS ON ERYTHROPOIESIS-STIMULATING AGENT DOSAGE AND SECONDARY ANEMIA IN HEMODIALYSIS PATIENTS

<sup>1</sup>Varim C., <sup>2</sup>Sipahi S., <sup>3</sup>Yaylaci S., <sup>1</sup>Kaya T., <sup>1</sup>Nalbant A.

*Sakarya University Medicine Faculty, <sup>1</sup>Department of Internal Medicine, <sup>2</sup>Department of Internal Medicine, Division of Nephrology, Sakarya; <sup>3</sup>Rize Fındıklı State Hospital Rize, Department of Internal Medicine, Turkey*

To investigate the effects of Vitamin D Analogs, paricalcitol and alfacalcidol, on hemoglobin levels and erythropoietin-stimulating agents' dosage in hemodialysis patients with chronic renal failure.

A total of 310 patients under hemodialysis treatment for chronic renal failure were included in this retrospective multicenter study. Data on serum parathormone and hemoglobin levels, erythropoietin-stimulating agents' doses, C-reactive protein, calcium and phosphate levels were collected from medical records to comparatively evaluate paricalcitol, alfacalcidol and no treatment groups.

Apart from significantly higher levels for hematocrit in patients treated with paricalcitol compared to pre-treatment

values (32.3(3.8) vs. 34.1(3.1)  $p=0.007$ ), pre-treatment and post-treatment values for biochemical parameters were similar in paricalcitol and alphacalcidol groups including ESA dose. A significant increase in parathormone levels ( $p=0.000$  for each) while a significant decrease in calcium ( $p=0.003$  and  $0.040$ , respectively), Hb ( $p=0.001$  and  $0.009$ , respectively) and hematocrit ( $p=0.001$  and  $0.021$ , respectively) levels were determined in paricalcitol and alphacalcidol treated patients compared with untreated patients. Also, phosphate levels in alphacalcidol treated patients were significantly higher ( $p=0.018$ ) than untreated patients

Our findings revealed insufficient suppression of parathormone levels and there of lower hemoglobin and hematocrit levels, but similar ESA dosage among CRF patients treated with Vitamin D analogs compared with untreated patients.

**Keywords:** erythropoiesis-stimulating agents, hemoglobin, parathormone, end-stage renal disease.

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ АНАЛОГОВ ВИТАМИНА D НА ДОЗЫ ЭРИТРОПОЭЗ-СТИМУЛИРУЮЩЕГО АГЕНТА И ВТРОИЧНАЯ АНЕМИЯ У ПАЦИЕНТОВ НА ГЕМОДИАЛИЗЕ

<sup>1</sup>Варим Ц., <sup>2</sup>Сипахи С., <sup>3</sup>Яылац С., <sup>1</sup>Кая Т.,  
<sup>1</sup>Налбант А.

*Университет Сакарья, медицинский факультет, <sup>1</sup>департамент внутренней медицины; <sup>2</sup>департамент внутренней медицины, отделение нефрологии, Сакарья; <sup>3</sup>Государственный госпиталь, департамент внутренней медицины, Ризе, Турция*

Исследовалось влияние аналогов витамина D парикальцитола (paricalcitol) и альфакарцидола (alphacalcidol) на уровень гемоглобина и дозировку эритропоэз-стимулирующего агента у пациентов с хронической почечной недостаточностью. Проведено ретроспективное исследование 310 пациентов, которые находились на гемодиализе по причине хронической почечной недостаточности. Пациенты были разделены на три группы: I группу составили пациенты, которых лечили парикальцитолом; II группу - пациенты, которых лечили альфакарцидолом; III группу - пациенты, которым лечение не проводилось. Данные об уровнях паратгормона, гемоглобина, С-реактивного белка, уровне кальция и фосфатов в сыворотке крови, а также о дозе эритропоэз-стимулирующего агента заимствованы из историй болезни.

Исследование показало, что у пациентов, леченных парикальцитолом, значительно более высокий уровень гематокрита в сравнении с уровнем до лечения - 32.3(3.8) vs. 34.1(3.1)  $p=0.007$ ; что касается биохимических

показателей, то они были одинаковыми до и после лечения как парикальцитолом, так и альфакарцидольными группами, включая эритропоэз-стимулирующие агенты. У пациентов, леченных парикальцитолом и альфакарцидольными группами, в сравнении с не леченными пациентами, выявлено существенное повышение уровня паратгормона ( $p=0.000$  для каждого) при существенном снижении уровня кальция ( $p=0.003$  и  $0.040$ , соответственно), гемоглобина ( $p=0.001$  и  $0.009$ , соответственно) и гематокрита ( $p=0.001$  и  $0.021$ , соответственно). Уровень фосфата у пациентов, леченных альфакарцидолом, был существенно выше ( $p=0.018$ ), чем у нелеченых пациентов. Полученные данные выявили недостаточное подавление уровня паратгормона и отсюда более низкие уровни гемоглобина и гематокрита, однако одинаковую дозу эритропоэз-стимулирующего агента у пациентов с наличием С-реактивного белка, леченных аналогами витамина D, в сравнении с не леченными пациентами.

## რეზიუმე

ვიტამინი D-ს ანალოგების ზემოქმედება ერითროპოეზის მასტიმულირებელ აგენტზე და დიალიზზე მყოფი პაციენტების მეორადი ანემია

ც. ვარიმი, ს. სიპახი, ს. იაილაცი, ტ. კაია,  
ა. ნალბანტი

*საკარიას უნივერსიტეტი, მედიცინის ფაკულტეტი, <sup>1</sup>შინაგანი მედიცინის დეპარტამენტი; <sup>2</sup>შინაგანი მედიცინის დეპარტამენტი, ნეფროლოგიის განყოფილება; <sup>3</sup>სახელმწიფო ჰოსპიტალი, შინაგანი მედიცინის დეპარტამენტი, რიზე, თურქეთი*

გამოკვლეულია ვიტამინ D-ს ანალოგების, პარიკალციტოლის (paricalcitol) და ალფაკარციდოლის (alphacalcidol) გავლენა ჰემოგლობინის დონეზე და ერითროპოეზის მასტიმულირებელი აგენტის დოზაზე პაციენტებში თირკმლის ქრონიკული უკმარისობით. რეტროსპექტულად შესწავლილი იქნა თირკმლის ქრონიკული უკმარისობის გამო დიალიზზე მყოფი 310 პაციენტი. შედარებითი ანალიზის ჩატარების მიზნით პაციენტები გაყოფილი იყო 3 ჯგუფად. I ჯგუფი შეადგინა პაციენტებმა, რომლებიც იმყოფებოდნენ პარიკალციტოლით მკურნალობაზე; II ჯგუფის პაციენტების მკურნალობა ტარდებოდა ალფაკარციდოლით; III ჯგუფის პაციენტები არ ღებულობდნენ არავითარ მკურნალობას. მონაცემები სისხლის შრატში პარათჰორმონის და ჰემოგლობინის დონის მასტიმულირებელი ერითროპოეზის აგენტის დოზის, C-რეაქტიული ცილის, კალციუმის და ფოსფატების დონის შესახებ ამოღებულია ავადმყოფობის ისტორიებიდან.

ანალიზმა გამოავლინა, რომ პაციენტებს, რომელთაც ჩატარდათ პარიკალციტოლით მკურნალობა აღმო-

ანდათ ჰემატოკრიტის გაცილებით უფრო მაღალი დონე - 32.3(3.8), ვიდრე მკურნალობის დაწყებამდე - 34.1(3.1) ( $p=0.007$ ). ბიოქიმიური მაჩვენებლები, ერ-

ითროპოეზის მასტიმულირებელი აგენტების ჩათვლით, პარიკალციტოლით და ალფაკარციდოლით მკურნალობის შემდეგ სრულიად ერთნაირი იყო.

## ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ МОДИФИЦИРУЕМЫХ ФАКТОРОВ РИСКА РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКИХ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СРЕДИ СЕЛЬСКОГО И ГОРОДСКОГО НАСЕЛЕНИЯ КАРАГАНДИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Тургунова Л.Г., Ларюшина Е.М., Амирханова Д.Т., Алина А.Р., Баетшева Т.А.

*Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан*

Хронические неинфекционные заболевания представляют серьезную медико-социальную и экономическую проблему, развитие которых обусловлено наличием множества различных факторов риска: курение, избыточная масса тела, низкая физическая активность, злоупотребление алкоголем, недостаточная приверженность к лечению, наличие стрессовых ситуаций на работе, несбалансированное питание, артериальная гипертензия (АГ) и дислиппротеидемии [4]. Литературные данные свидетельствуют, что уменьшение факторов риска улучшает состояние здоровья [6]. Оценка рисков для популяционного здоровья является ключевым аспектом общественного здравоохранения, так как позволяет определить наиболее актуальные риски для отдельно взятого общества и разработать соответствующие подходы и программы по их снижению и улучшению состояния здоровья населения в будущем [3,16,18,21,22]. В этой связи изучение распространенности модифицируемых факторов риска хронических неинфекционных заболеваний среди жителей города и села Карагандинской области является весьма актуальной проблемой.

Целью исследования явилось установление наличия и распространенности модифицируемых факторов риска развития хронических неинфекционных заболеваний среди жителей села и города Карагандинской области.

**Материал и методы.** Проведено одномоментное поперечное (кросс-секционное) исследование в виде скрининга среди городского и сельского населения Карагандинской области (г. Сарани и Осакаровского района). Обследовано 1453 жителей (672 - города и 781 - села) в возрасте от 18 до 65 лет, из них 1082 (74,4%) женщины и 372 (25,6%) мужчины. На участие в исследовании получено информированное со-

гласие. Отбор респондентов проводился случайным образом с учетом необходимого объема выборки и численности населения. Необходимое количество анкет было определено в ходе предварительного расчета, исходя из уровня статистической значимости исследования. В исследование не включались беременные и лица с психическими, тяжелыми неврологическими заболеваниями.

Скрининг включал анкетирование, антропометрию, измерение АД, определение глюкозы и холестерина в крови. Для проведения анкетирования разработана анкета для участника скринингового исследования «Экологические риски и здоровье населения», включающая оценку поведенческих факторов исследуемых (курение, физическая активность, злоупотребление алкоголем - AUDIT) [7]. Индекс курильщика и ИМТ рассчитывались по общепринятым формулам [2]. Уровень депрессии оценивался с помощью опросника PHQ-9 [11], тревожности - GAD-7 [12]. Контакт с респондентами осуществлялся методом интервьюирования. Определение глюкозы в крови проводилось посредством глюкометра Accu-Chek (Roche Diagnostics, Германия), холестерина - Accutrend Plus (Roche Diagnostics, Германия).

Статистический анализ проводился с использованием пакета STATISTICA 8.0. Для сравнения частоты встречаемости качественного признака в различных независимых совокупностях использовался критерий хи-квадрат. Различия считались статистически значимыми при  $p<0,05$ . При анализе количественных признаков для каждой группы определялись медиана, нижний и верхний квартили; статистическая значимость различий между группами оценивалась по непараметрическому критерию Мана-Уитни, различия считались статистически значимыми при  $p<0,05$ .

Таблица. Показатели распространенности модифицируемых факторов риска среди обследуемых лиц г. Сарани и Осакаровского района

Факторы риска	Жители города, n=672			Жители села, n=781			Показатели	
	n	p	ДИ	n	p	ДИ	$\chi^2$	p
Низкая физическая активность	92	13,7	6,65;20,7	83	10,7	4,03;17,4	2,7695	0,096077
Активное курение	176	26,3	19,8;32,9	152	19,5	13,1;25,8	10,043	0,001530
Пассивное курение	293	44,9	39,2;50,6	278	36,4	30,7;42,1	10,885	0,000969
Индекс курильщика более 10	41	6,51	0;14,1	76	9,73	3,04;16,4	4,3495	0,037019
Ожирение	222	33,4	27,2;39,7	221	28,7	22,7;34,7	4,0299	0,044702
Гипергликемия	90	14,9	7,49;22,3	92	12,4	5,64;19,2	1,9683	0,160626
Гиперхолестеринемия	279	46,2	40,3;52,1	275	36,9	31,2;42,7	12,116	0,000500
Артериальная гипертензия	264	39,3	35,3;42,9	251	32,2	26,4;37,9	7,66	0,006
Злоупотребление алкоголем	77	11,5	4,31;18,6	46	5,89	0;12,7	15,182	0,000098
Высокий уровень депрессии	140	21,1	14,3;27,8	190	25,2	18,9;31,4	3,1263	0,077039
Высокий уровень тревожности	128	19,4	12,5;26,3	148	20,1	13,6;26,6	0,065	0,798813

**Результаты и их обсуждение.** Анализ распространенности модифицируемых факторов риска развития заболеваний выявил, наиболее высокую частоту гиперхолестеринемии, артериальной гипертензии и курения как среди городского, так и сельского населения с превалированием у жителей города (таблица). Обращает внимание высокая частота пассивного курения, которая превышает частоту активного курения в 1,7 раз среди жителей города и в 1,9 раз - среди жителей села, что увеличивает риск, прежде всего, хронической обструктивной болезни легких, бронхиальной астмы, кардиоваскулярных событий и онкологических заболеваний [1,10,13-15,20-22]. При рассмотрении частоты указанных факторов в зависимости от пола, установлено, что при сопоставимой высокой частоте активного курения среди мужчин как в городе, так и в сельском районе, отличием является статистически значимое увеличение процента активно курящих женщин в городе (21,2%) в сравнении с селом (10,3%),  $p=0,00001$ . Показатель распространенности пассивного курения среди женщин является высоким как в городе, так и в сельской местности. Процент злостных курильщиков с индексом более 10 статистически значимым оказался среди жителей села в возрастной категории 45-59 лет, преимущественно у мужчин. Распространенность злостного курения в данной возрастной категории, очевидно, обусловлена увеличением с возрастом стажа курения. Углубленный анализ распространенности активного курения в разных возрастных группах показал наибольшую частоту курения среди жителей города в возрасте от 25 до 44 лет- 35,4%, пассивного курения – в возрастной группе 45-59 лет.

Установленная распространенность гиперхолестеринемии среди жителей г. Сарани (46,9%) со-

поставима с аналогичными показателями России (43,8-56,1%) [1,6]; в Осакаровском районе частота гиперхолестеринемии несколько ниже - 36,9%. Отмечено увеличение распространенности гиперхолестеринемии с возрастом обследуемых. Следует отметить статистически значимые различия между частотой гиперхолестеринемии у жителей города и села у лиц в возрасте от 25 до 44 лет: среди жителей города 26,8% лиц с гиперхолестеринемией, среди жителей села - 15,2% ( $p=0,001$ ). Полученные данные позволили определить группу риска, в которой необходимо проведение целенаправленных мероприятий по профилактике и донозологической диагностике ишемической болезни сердца. В г.Сарани гиперхолестеринемия наиболее часто выявлена среди женщин; в Осакаровском районе частота гиперхолестеринемии не выявила существенных гендерных различий. Полученные результаты требуют более углубленного изучения с учетом характера питания, физической активности, генетической предрасположенности. Большая распространенность гиперхолестеринемии среди женщин в г. Сарани по сравнению с мужчинами, возможно, обусловлена преобладанием среди них лиц старше 45 лет (70,6% женщин и 44,8% мужчин).

Частота АГ, отражающая процент респондентов, знающих о наличии у них синдрома АГ, варьирует в широких пределах: от 40,9% среди женщин, проживающих в городе, до 24% - среди мужчин, проживающих в сельском районе. Установлено статистически значимое превалирование АГ у жителей города ( $p=0,006$ ). Данные об уровне распространенности АГ среди женщин Осакаровского района и мужчин ниже независимо от места проживания по сравнению с таковыми России [12,21], что, вероятно, следует объяснить недостаточ-

ной обследованностью населения сельского района, меньшей обращаемостью мужчин за медицинской помощью.

В результате проведенного исследования установлено, что ожирение наиболее распространено среди жителей города в сравнении с селом, и в основной возрастной группе от 60 до 65 лет (52,2% жители города и 33,6% - жители села,  $p=0,002$ ). Показатели распространенности ожирения у женщин в Казахстане выше, чем у мужчин и выше уровня распространенности ожирения в сравнении с другими странами СНГ, приближаясь по уровню к таким странам как Канада, США [5,12-15,20-22], где распространенность ожирения составляет более 33%. Ожирение ассоциировано не только с риском сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета 2 типа, дислипидемией, но и с риском развития онкологических заболеваний [5,8,9,17,21,22]. Развитие ожирения у городского населения, у лиц пожилого возраста, по всей вероятности, связано с режимом и продуктами питания и физической активностью.

Показатели распространенности физической активности, основанной на оценке 30-минутной ежедневной физической нагрузки, в обследуемых населенных пунктах в 2 раза ниже, чем по Казахстану в целом (31-43% у мужчин, 25-39% - у женщин) [21,22]. Низкая физическая нагрузка выявлена среди городского населения, особенно у мужчин (17,9% - г. Сарань, 7,76% - Осакаровский район,  $\chi^2=7,65$ ,  $p=0,006$ ) в возрасте 25 лет и старше. Проведение сравнительного анализа физической активности респондентов исследуемого региона с показателями в других странах вызывало трудности, поскольку исследователями применялись различные инструменты опроса. Тем не менее, в докладе Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) о ситуации в области неинфекционных заболеваний в мире показано, что самая высокая распространенность недостаточной физической активности (менее пяти 30-минутных эпизодов умеренной физической активности в неделю или менее трех 20-минутных эпизодов активной физической нагрузки, либо их эквивалентов) отмечается в Америке и странах Восточного Средиземноморья [23]. Во всех регионах мужчины имели более высокую физическую активность, чем женщины. Полученные нами данные требуют проведения дальнейшего, более углубленного анализа с целью выявления связи недостаточной физической активности с риском развития неинфекционных заболеваний.

Не менее значимым фактором риска, определяющим состояние здоровья, является потребление алкоголя. Согласно исследованию ВОЗ, уровень потребления чистого этилового спирта на душу населения в Казахстане составляет 10,96 литров в год. По этому показателю

Республика занимает 34 место в мире. Результаты проведенного исследования свидетельствуют также о том, что злоупотребление алкоголем имеет наименьшую частоту встречаемости среди всех поведенческих факторов риска. Возможно, это обусловлено выборкой, где преобладают лица женского пола и старших возрастных групп. Необходимо отметить, что процент лиц, злоупотребляющих алкоголем в городе, в 2 раза превышает аналогичный показатель в селе ( $p=0,0001$ ); сравнение этой зависимости с учетом пола и возраста выявило, что женщины и мужчины в возрасте от 18 до 59 лет, проживающие в городе, чаще злоупотребляют алкоголем по сравнению с жителями села. Несомненно актуальность проведения мероприятий по борьбе с алкоголизмом, в первую очередь, среди мужчин и лиц трудоспособного возраста, проживающих в городе.

Полученные в результате проведенного исследования показатели уровня гипергликемии варьирует в пределах от 14,9% до 12,4% (г. Сарань и Осакаровский район соответственно) и соответствуют наиболее высокому уровню распространенности гипергликемии в мире (12,7-25,5% среди мужчин; 12,8-31,9% среди женщин) [21,22]. Статистически значимых различий в зависимости от места проживания и пола не обнаружено. Наиболее высокая частота гипергликемии отмечается в возрасте 45-65 лет. Выявленная распространенность гипергликемии в крови в сочетании с высокой частотой курения, АГ, ожирения и гиперхолестеринемии прогрессивно увеличивает риск кардиоваскулярных катастроф.

Изучение психологического здоровья обследованных выявило, что примерно 1/5 часть этого контингента независимо от места проживания, пола и возраста имеет высокий уровень депрессии и тревожности. Согласно данным ВОЗ, на психические расстройства приходится 14% глобального бремени болезней, 75% которых проживают в странах с низким уровнем дохода [11,14,21,22]. Некоторая тенденция к увеличению распространенности депрессии и тревоги у жителей Осакаровского района, очевидно, связана с более низким социально-экономическим статусом жителей села.

Таким образом, установлено, что наиболее часто встречающимися факторами риска развития неинфекционных заболеваний среди жителей г. Сарани и Осакаровского района являются гиперхолестеринемия (46,2% и 36,9%, соответственно), артериальная гипертензия (39,3% и 32,2%, соответственно) и курение (26,3% и 19,5%, соответственно). Результаты проведенного исследования диктуют необходимость проведения лечебно-профилактических мероприятий по изменению образа жизни (исключение курения, оздоровление питания, повышение двигательной активности, коррекции стресса), что позволит снизить риск развития хронических неинфекционных заболеваний среди городского и сельского населения Карагандинской области.

**Выводы.** 1. Часто встречающимися факторами риска развития хронических неинфекционных заболеваний среди жителей г. Сарани и Осакаровского района являются гиперхолестеринемия (46,2% и 36,9% соответственно), артериальная гипертензия (39,3% и 32,2% соответственно) и курение (26,3% и 19,5%, соответственно).

2. Выявлено, что частота активного и пассивного курения, артериальной гипертензии, гиперхолестеринемии, ожирения и злоупотребления алкоголем в 1,2-2,0 раза выше среди городского населения по сравнению с сельским.

3. Установлено статистически значимое увеличение процента активно курящих женщин в городе, чем в сельской местности (21,2% в сравнении с 10,3%,  $p=0,00001$ ), частоты гиперхолестеринемии у жителей города в возрасте от 25 до 44 лет в сравнении с жителями села аналогичной возрастной группы (26,8% по сравнению с 15,2%;  $p=0,001$ ), злоупотребления алкоголем у лиц в возрасте от 18 до 59 лет в сравнении с аналогичной возрастной группой, проживающей в сельской местности.

4. Полученные результаты позволяют определить группы риска, нуждающихся в проведении целенаправленных мер профилактики.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирный атлас профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и борьбы с ними. Под ред.: Mendis S, Puska P, Norgving B. Всемирная организация здравоохранения. Женева: 2013.
2. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2011 г.) Пер. с англ. под ред. А.С. Белевского. М.: Российское респираторное общество; 2012:80.
3. Досмагамбетова Р.С., Турмухамбетова А.А., Терехин С.П. и др. Экологические риски и здоровье населения. Медицина и экология 2014; 3(72): 5-10.
4. Кардангушева А.М., Эльгарова Л.В., Эльгаров А.А. Основные факторы риска хронических неинфекционных заболеваний у студентов: распространенность и многолетние тренды. Клиническая медицина 2013; 2: 25-28.
5. Программа ВОЗ по охране психического здоровья. [http://www.who.int/mental\\_health/mhgap/ru/](http://www.who.int/mental_health/mhgap/ru/) 21.09.14
6. Халикова З.В. Оценка и коррекция модифицируемых факторов риска хронических неинфекционных заболеваний у сотрудников правоохранительных органов, имеющих соматические заболевания. Автореф. дисс... канд. мед. Наук. Уфа: 2010; 151.
7. Babor Th.F., Higgins-Biddle J.C., Saunders J.B., Monteiro M.G. The alcohol use disorders identification test. Guidelines for Use in Primary Care. World Health Organization: 2001.
8. Bhaskaran K., Douglas I., Forbes H., dos-Santos-Silva I., Leon D.A., Smeeth L. Body-mass index and risk of 22 specific cancers: a population-based cohort study of 5.24 million UK adults. Lancet 2014.
9. Flegal K.M., Carroll M.D., Ogden C.L., Curtin L.R. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2008. JAMA 2010;303(3): 235-241.
10. Jha P., Ramasundarahettige C., Landsman V., Rostron B., Thun M., Anderson R.N., McAfee T., Peto R. 21st-century hazards of smoking and benefits of cessation in the United States. New England Journal of Medicine 2013; 368(4): 341-350.
11. Kroenke K., Spitzer R., Williams W. The PHQ-9: Validity of a brief depression severity measure. JGIM 2001; 16:606-616.
12. Lowe B., Decker O., Muller S. et al. Validation and standardization of the generalized anxiety disorder screener (GAD-7) in the general population. Med Care 2008; 46 (3): 266-74.
13. Małgorzata H.J. Sikorska-Jaroszyńska I, Mielnik-Błaszczak M., Krawczyk D., Nasiłowska-Barud A., Błaszczak J. Passive smoking as an environmental health risk factor. Annals of Agricultural and Environmental Medicine 2012; 19(3): 547-550.
14. Matt GE. Residual tobacco smoke in used cars: futile efforts and persistent pollutants. Nicotine Tob Res. 2010; 12(10): 1029-1036.
15. Oberg M., Jaakkola M.S., Woodward A., Peruga A., Prüss-Ustün A. Worldwide burden of disease from exposure to second-hand smoke: a retrospective analysis of data from 192 countries. Lancet 2011; 377(9760): 139-146.
16. Samet JM, Burke TA. Epidemiology and risk assessment. In: Brownson RC and Petitti DB, Applied Epidemiology: Theory to Practice. New York: Oxford University Press., 1998. - P.137-175.
17. Tjepkema M. Adultobesity 2006; 17(3): 9-25.
18. US Environmental Protection Agency. Guidelines for carcinogenic risk assessment. Federak Register. 1986; 51: 33992-34003.
19. Van Oyen H., Berger N., Nusselder W., Charafeddine R., Jagger C., Cambois E., Robine J.-M., Demarest S. The effect of smoking on the duration of life with and without disability, Belgium 1997-2011. BMC Public Health 2014; 14(1): Article number 723.
20. Wdowiak A., Wiktor H., Wdowiak L. Maternal passive smoking during pregnancy and Neonatal health. Ann. Agric. Environ. Med. 2009; 16: 309-312.
21. World Health Organization: Assessment and management of Environmental Health Hazards. Vol 89.6. Geneva: WHO/PEP.; 1989.
22. World Health Organization. Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Geneva, WHO, 2009.
23. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva, WHO, 2010.

#### SUMMARY

#### PREVALENCE OF MODIFIABLE RISK FACTORS OF CHRONIC NONINFECTION DISEASES AMONG URBAN AND RURAL RESIDENTS OF KARAGANDA REGION

**Turgunova L., Laryushina E., Amirkhanova D., Alina A., Bayesheva T.**

*Karaganda State Medical University, Kazakhstan*

The study aimed to investigate prevalence of modifiable risk factors of chronic non infection diseases among ur-

ban and rural residents in Karaganda region. The cross-sectional screening study of 1453 respondents' age 18 to 65 among the urban and rural population of the Karaganda region: 672 urban and 781 rural adult residents were included into the study.

The screening stage included conducting survey using international questionnaires, anthropometry, arterial blood pressure, fasting plasma glucose and total cholesterol measurement.

According study results the most common risk factors among residents of Saran town and Osakarovsky area included: hypercholesterolemia (46,2 % and 36,9 %, respectively), arterial hypertension (39,3 % and 32,2 %, respectively) and smoking (26,3 % and 19,5 % respectively). Frequency of active and passive smoking, hypertension, hypercholesterolemia, obesity and alcohol abuse 1.2-2.0 times higher compared in urban population in comparison rural population.

These differences gave possibility to identify special groups need to management preventive targeted measures.

**Keywords:** risk factors, modifiable, chronic non infection diseases, rural residents, urban residents, Karaganda region, Kazakhstan.

## РЕЗЮМЕ

### ИЗУЧЕНИЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ МОДИФИЦИРУЕМЫХ ФАКТОРОВ РИСКА РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКИХ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ СРЕДИ СЕЛЬСКОГО И ГОРОДСКОГО НАСЕЛЕНИЯ КАРАГАНДИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Тургунова Л.Г., Ларюшина Е.М., Амирханова Д.Т., Алина А.Р., Баетова Т.А.

*Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан*

Целью исследования явилось изучение частоты модифицируемых факторов риска развития хронических неинфекционных заболеваний среди жителей села и города Карагандинской области.

Проведено кросс-секционное исследование в виде скрининга среди городского и сельского населения Карагандинской области. Обследовано 1453 жителей, 672 - города и 781 - села, в возрасте от 18 до 65 лет. Скрининг включал анкетирование с помощью международных опросников, антропометрию, измерение АД, определение глюкозы и холестерина в крови.

Установлено, что наиболее часто встречающимися факторами риска среди жителей г. Сарани и Оса-

каровского района являются гиперхолестеринемия (46,2% и 36,9% соответственно), артериальная гипертензия (39,3% и 32,2% соответственно) и курение (26,3% и 19,5% соответственно). Частота активного и пассивного курения, артериальной гипертензии, гиперхолестеринемии, ожирения и злоупотребления алкоголем в 1,2-2,0 раза выше среди городского населения в сравнении с сельским.

Полученные результаты позволяют определить группы риска, нуждающихся в проведении целенаправленных мер профилактики.

## რეზიუმე

ქრონიკული არაინფექციური დაავადებების მოდიფიცირებადი რისკ-ფაქტორების შეფასება ყარაგანდის ოლქის ქალაქისა და სოფლის მაცხოვრებლებში

ლ. ტურგუნოვა, ე. ლარეშინა, დ. ამირხანოვა, ა. ალინა, ტ. ბაეშევა

ყარაგანდის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ყაზახეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ქრონიკული არაინფექციური დაავადებების რისკ-ფაქტორების შეფასება ყარაგანდის ოლქის ქალაქისა და სოფლის მაცხოვრებლებში.

ჩატარდა კროს-სექციური გამოკვლევა სკრინინგის სახით. გამოკვლეულია 18-დან 65 წლამდე ასაკის 1453 მაცხოვრებელი (672 - ქალაქის, 781 - სოფლის). სკრინინგში შედიოდა ანკეტირება საერთაშორისო კითხვარების მეშვეობით, ანტროპომეტრია, არტერიული წნევის მონიტორინგი, გლუკოზის და ქოლესტერინის დონის განსაზღვრა სისხლში.

დადგენილია, რომ ქ. სარანის და ოსაკაროვის რაიონის მაცხოვრებლებში მეტად გავრცელებულია შემდეგი რისკ-ფაქტორები: ჰიპერქოლესტერინემია (46,2% და 36,9%, შესაბამისად), არტერიული ჰიპერტენზია (39,3% და 32,2%, შესაბამისად) და თამბაქოს მოწევა (26,3% და 19,5%, შესაბამისად). ქალაქის მოსახლეობაში 1,2-2,0-ჯერ უფრო მაღალია აქტიური და პასიური მწეველობის, არტერიული ჰიპერტენზიის, ჰიპერქოლესტერინემიის, სიმსუქნის და ალკოჰოლის მოხმარების სიხშირე სოფელში მცხოვრებ რესპოდენტებთან შედარებით.

კვლევის შედეგად მიღებული მონაცემები საშუალებას იძლევა განისაზღვროს რისკის მქონე ჯგუფები, რომელთაც ესაჭიროება პროფილაქტიკის მიზანმიმართული ზომების ჩატარება.



## СМЕРТЕЛЬНЫЙ ДИАГНОЗ И ЖИЗНЕННЫЙ ГОРИЗОНТ ЧЕЛОВЕКА (ОБЗОР)

<sup>1,2</sup>Самсония М.Д., <sup>2</sup>Канделаки М.А., <sup>1</sup>Самсония К.Д., <sup>1</sup>Джоджуа И.Д.

<sup>1</sup>Фармацевтическая компания – Legion “Provisus”, Кутаиси; <sup>2</sup>Кутаисский государственный университет им. А. Церетели, факультет медицины, департамент фармации, Грузия

Онкологические заболевания — тяжелейший недуг, борьба с которым является одной из актуальных задач современной медицины [10,11,13]. Они занимают второе место по смертности после сердечно-сосудистой патологии. В последние три десятилетия достигнут значительный прогресс в клинической онкологии [11,13]. Постепенно совершенствуются методы лечения злокачественных новообразований, однако сегодня с сожалением можно констатировать, что большинство распространенных форм рака (на стадии клинической диссеминации) по-прежнему, неизлечимо, а терапия проводится только с целью продления жизни. Поэтому не удивительно, что в сознании большинства людей слово «рак» звучит как приговор. Фатальный диагноз и болезненный процесс восприятия смерти (у многих молодых пациентов) вызывают кардинальные изменения в психоэмоциональном статусе и индуцируют каскад малопрогнозируемых поступков. Наблюдается высокая частота самоубийств, так как человек, страдающий тяжелой соматической болезнью, представляет смерть, как единственный способ прервать неизбежные мучения [13-15]. Многолетние наблюдения за больными этой категории позволяют еще раз оценить с точки зрения медицинской психологии состояние жизненного горизонта человека, оказавшегося перед лицом неминуемой смерти и определить (на фоне тревожных ожиданий) возможность медикаментозной защиты ценностно-смыслового пространства пациента с сохранением имманентных ментальных функций.

Клинические исследования показывают, что озвучивание фатального диагноза у предрасположенного человека всегда вызывает психический конфликт, проявляющийся несоответствием между необходимыми усилиями для решения проблемы и низким уровнем психологической защиты [1,8]. Результатом дисбаланса между процессами адаптации и психотравмирующими нарушениями становится нервно-психическое перенапряжение. Развивается внутриличностный конфликт и как результат – ощущение одиночества, отчужденность, безнадежность и кратковременная утрата смысла жизнедеятельности. На новые неблагоприятные обстоятельства жизненный горизонт всегда реагируют моментально – «ведь ты, один на один со смертью и не с какой-то эфемерной смертью, а со своей». Первая реакция на смертельное заболевание обычно такова: «нет, только не я, это неправда». Такое первоначальное отрицание смерти сравнивают с отчаянными попытками альпиниста остановить падение в пропасть [2]. Сам человек в свою собственную смерть по-настоящему не

верит и не осознает глубоко того факта, что «смерть предстает всему: она — закон, а не кара» (Сенека). Столкнувшись со смертью других людей или уже сам оказавшись в смертельной ситуации, человек испытывает безотчетный страх и тревогу [2,4]. Сначала больной чувствует, что что-то противостоит в осуществлении бытия, но потом он отвечает на вызов и начинает противостоять этому сам. На психологическом уровне, для пациента умереть - значит прекратить чувствовать, покинуть любимых людей и уйти в неведомое [2,4]. Весь тот огромный мир больного, который состоит из весьма сложных сочетаний восприятия и ощущения, эмоций, аффектов и психических переживаний, оказывается под угрозой исчезновения и, осознав реальность происходящего, непродолжительное затишье сменяется гневом или фрустрацией [3,5,9]. Следует понимать, что это состояние враждебности и гнева (с мощным выплеском эмоций) — закономерное, нормальное явление и сдерживать его больному будет очень трудно [2,11]. Шоковая стадия (тревожных расстройств с приступами паники) плохо поддается лечению и активное вмешательство со стороны психотерапевта не дает результата [1,7,8].

Диапазон переживаний человека, поставленного перед лицом неминуемой смерти, весьма широк: от абстрактных и эстетических, до глубоких изначальных (архетипических) и трансцендентальных форм сознания [2]. Поэтому клиницисты считают онкобольных, страдающих неизлечимыми формами рака, одной из наиболее сложных категорий с точки зрения результатов взаимоотношений между врачом и пациентом [11-13]. Важно отметить и низкую удовлетворенность больных качеством оказания психологической помощи, которая обусловлена с одной стороны, соблюдением принципа уважения автономии пациента (с обязательным информированием больного о диагнозе его заболевания), а с другой – отсутствием ожидаемых позитивных действий со стороны онколога. Согласно учению И. Канта, правдивость есть долг человека перед самим собой как моральным, биологическим и онтологическим существом. Лгать означает уничтожить в себе человеческое достоинство [4]. Однако сказать правду умирающему, онкологическому больному без понимания личности (воспринимая его только как биологическую систему), может нанести человеку непоправимый вред. В связи с этим, по сей день не теряет актуальности традиционный медицинский патернализм, который подразумевает во имя блага пациента сокрытие от него правдивой информации.

Следует отметить, что диагностика раковой опухоли в специализированных клиниках обычно занимает несколько дней. Тревожные ожидания и потом получение доказательств того, что у пациента рак, усиливают страх перед неизвестным и человек погружается в безнадежное отчаяние. Соответственно, на этом этапе если планируется фармакопротекция психики (с единственной и безусловно благой целью - облегчить страдания человека), то она должна быть направлена только на коррекцию глубины кризиса, а не на тотальное подавление стенических эмоций и имманентных ментальных функций. В связи с этим, наиболее оправдано и гуманно (до озвучивания диагноза) профилактическое применение транквилизаторов [1,9], так как под действием анксиолитиков видоизменяется интенсивность ощущения смертельного диагноза и врач получает возможность защитить от психотравмирующего фактора как жизненный горизонт, так и ценностно-смысловое пространство онкопациента.

Многочисленные литературные данные указывают на то, что генерализованное тревожное расстройство (ГТР), проявляющееся стойкой диффузной тревогой эффективно поддается лечению алпразоламом в среднесуточной дозировке от 0,5 мг до 3 мг при сравнении с плацебо [1,8,9]. Следует подчеркнуть, что препарат обладает как анксиолитическим эффектом, так и антидепрессивным действием, и по сравнению с диазепамом, в большей степени уменьшает частоту развития панических атак, сокращая при этом выраженность тревожной и депрессивной симптоматики. Именно возможность благоприятного влияния на тревогу ожидания, по мнению ряда авторов [1,8,9,15], радикально отличает алпразолам от других транквилизаторов бензодиазепинового ряда и делает его препаратом выбора во время медикаментозной психопротекции.

Безусловно, диагноз – рак для любого пациента сильнейшее потрясение. Особенно болезненно воспринимают ситуацию лица молодого возраста (до 30 лет) и это можно объяснить тем, что на данный период приходится пик социальной активности. Близость смерти и предстоящая личная смерть побуждают человека к переходу на качественно иной модус существования и поэтому любое – грубое, «искусственное», медикаментозное вмешательство (нейролептиками, психодислептическими средствами) может вызвать только непрогнозируемые последствия как в социальном, так и в этическом плане [3,9,15].

С точки зрения медицинской психологии, столкновение со смертью всегда порождает глубокий экзистенциальный кризис, стремление глубоко осознать смысл жизни. Силы сопротивляться страху смерти имеются у каждого человека, а мужество перед ним требует усилий [4]. Марсель Пруст жизнь определял, как усилие во времени. То есть необходимо совершать усилие, чтобы

оставаться живым. По Мерабу Мамардашвили – «мы являемся только и только желающими существами. И, кстати, одно из самых больших желаний – желание жить аутентичной жизнью». Но как жить дальше, если диагноз поставлен и опасность приобрела вполне реальные очертания?

В психологии принято считать, что сама жизнь – это «бытие, обращенное к смерти» и постоянно присутствующая на периферии сознания мысль о смерти (идея смерти) действует на взрослого человека положительно, как ни странно, оберегает его, делает жизнь более осмысленной, дает возможность радоваться ей [5]. Однако последнее приближение к Танатосу всегда воспринимается человеком как катастрофа и является постоянным источником напряженности. Экзистенциальный кризис усугубляется еще и тем, что в условиях больницы даже невербальный контакт с другими раковыми больными, которые действительно плохо выглядят (несмотря на все усилия врачей), оставляет глубокий отпечаток на психику пациента. Человек понимает и свою беспомощность, и ограниченность собственного существования. Он предвидит конец - смерть. Однако жажда жизни заставляет пациента критически анализировать собственную систему ценностей и с учетом временного фактора, составить архитектуру дальнейших действий. Еще И. Гете верно заметил, что «природа окружает человека мраком и принуждает его вечно стремиться к свету, к цели» [4]. Каково было наше удивление, когда молодой пациент тяжелой категории женился, а невеста, которая находилась также на терминальной стадии рака, спустя несколько дней скончалась. Что это было? Изменение критериев мира ценностей, попытка выделения субъекта из бытия, «поступок-взрыв», своеобразное выражение протеста или просто сопереживание?!

Дружба двух тяжелобольных, родных душ (за несколько дней до гибели) – самоценность, несводимая ни к страстному биению чувств, ни к благу взаимной поддержки. И не так важно, чтобы обиденный рассудок придал этой моральной самоценности дружбы онтологический характер. Именно в том мире обреченных больных, где большинство индивидов «мертвы эмоционально и духовно» и живут только «биологически», дружба в такой форме возможна и находит свое полное экзистенциальное объяснение и этическое обоснование, так как в подсознании онкопациента, восприятие (переживание) времени приобретает внутреннюю нравственно–психологическую парадоксальность с элементами фрустрации [5,6].

Ощущение быстрого течения времени – от прошлого, через настоящее, в будущее – в рамках жизнедеятельности человека прямо ассоциируется с этической проблемой смысла жизни, с особым нравственным самочувствием – счастьем [5]. Жизнь больного «для

себя и про себя» – не жизнь, а пассивное состояние: нужно слово, дело, борьба [4]. Необходим выход из статического положения по принципу: поставленная цель – ничто, а движение (усилия) – все. Жить – это не значит дышать, это значит действовать [4]. Любой человек связан определенными обстоятельствами, условиями жизни, с которыми он должен соотносить свои поступки. Но это отнюдь не пассивный человек, осознавший свою беспомощность перед высшими силами, а борец и созидатель, который идет наперекор судьбе (фортуне). Сопротивление включает в себя осознание опасности с последующим чувством страха в отношении нее, либо борьбы с ней и, наконец, признание неизбежности смерти. Понимание факта неотвратимости кончины пробуждает короткую, хотя и отчаянную борьбу с ней, часто сопровождаемую выраженной тревогой [2]. Тревога олицетворяет состояние, в котором бытие осознает возможность своего небытия (Пауль Тиллих) и поэтому пациент мечется между стремлением к активному господству над ситуацией и тягой к пассивному уходу. Как правило, пока сохраняется хоть малейший шанс на выживание, человек принимает бой и, призыв к решающим действиям становится доминантом в подсознании человека – «если я обречен, то обречен не только на смерть, но обречен и на сопротивление до самой смерти» (Кафка Ф).

В сознании онкопациента всегда происходит стремительная переориентация в отношении времени, с усилением эмоционального акцента на пребывание здесь и сейчас. Параллельно исчезает граница между чудесным и банальным. Избыточное стремление к власти, положению, материальным приобретениям начинает казаться ребячеством и признаком духовной слепоты [2,4,6]. Человек боится не успеть, потерять время и отстать от других – и все по внешнему принуждению фатального течения жизни, а не по внутреннему хотению. Ценность жизни вступает в противоречие с быстротекущим ходом времени, основное содержание которого предопределено безжалостным, необратимым, патологическим, деструктивным опухолевым процессом. Отношение к будущему определяется не только как страх, но и как надежда. И на этом фоне, оказавшиеся в одинаковой ситуации больные объединились, чтобы облегчить страдание друг другу и укрепить внутренние духовные силы. Надежда, как психический элемент (в условиях дефицита времени) разрушает распространенные стереотипы жизненной борьбы и часто инициирует душевный резонанс с малоизученными подсознательными процессами.

Высокая внутренняя культура, сильный характер и тонкие, чувствительные отношения к «себе подобному – с диагнозом рак» существу в условиях пульсирующего, затухающего настоящего, не что иное, как комплекс подсознательных факторов, позволяющих сильному индивиду путем сопереживания, хотя бы виртуаль-

но, вывести молодую пациентку из травмирующего, быстротечного земного бытия. Лица, переживающие процесс соприкосновения с кончиной, постепенно ощущают, что воля к жизни как бы придает им силы, и они страшатся, что, сдавшись – умрут. Действия не всегда приносят счастье; но не бывает счастья без действия (Бенджамин Дизраيلي).

Как известно, находясь в «пограничной ситуации», человеческая активность (как реакция на внешние обстоятельства) часто проявляется «неадекватными поступками», которые обнажают скрытые противоречия нравственного состояния субъекта (нередко неосознаваемые им самим) и символизируют переход личности на новую линию поведения, с новой расстановкой ценностей, целями, способами выбора. Красота такого «поступка-взрыва» состоит в том, что его совершают легко и как бы безо всякого напряжения (только косвенно опираясь на интуицию). Причем, непредсказуемость результатов таких неординарных поступков, переводят эти действия в разряд трудновозможных. Именно поэтому довольно часто «поступки-взрывы» встречаются у тяжелых больных в пограничных ситуациях, как своеобразная форма протеста, отражающая неравное противостояние биологически живого организма и опухолевого процесса. Как говорил О.Уайльд – «если что-то и стоит делать, так только то, что принято считать невозможным», даже если биологический ресурс полностью исчерпан. Эта модель поведения вписывается в логику действия подавленных страхов потерять нечто значимое. Человек во время своей «нормальной» жизни по каким-либо причинам не ощущал за собой права делать то, что ему хочется. Он существовал в некоторой давно устоявшейся колее (в рамках ограниченной свободы), боясь выйти за ее пределы, боясь исследовать собственные желания и возможности, стараясь беречь себя для будущего или просто не решаясь открыто заявить себя миру [5]. Соответственно, когда речь идет о человеке (собственный мир которого находится под угрозой исчезновения), врач должен всегда осознавать, что активное медицинское вмешательство психотропными препаратами с безусловно благой целью – облегчить страдания, может индуцировать у больного состояние ангедонии [3,9,10] и создать только иллюзию господства над ситуацией, лишая пациента возможности, неадекватными поступками (напоследок) открыто заявить себя миру, грубо нарушая права человека как универсума.

Таким образом, исследование характера эмоциональных расстройств человека поставленного перед лицом неминуемой смерти, позволяет определить необходимость проведения профилактической фармакотерапии (анксиолитиками) и тем самым преодолеть как негативные представления о кончине, так и связанный с нею страх, с сохранением жизненного горизонта пациента и имманентных ментальных функций.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарев В.Г., Ширяев Г.П., Павлова Е.Н. Алпразолам как средство экстренной помощи при острых стрессовых расстройствах (практические наблюдения). Современная терапия психических расстройств 2007; 4: 32-33.
2. Гроф С., Хэлифакс Дж. Человек перед лицом смерти. М.: Изд-во Трансперсонального института 1996; 246.
3. Данилов Д.С. Возможности использования сульпирида для лечения психических расстройств. Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова 2012; 112(6): 91–98.
4. Мир философии: Книга для чтения. В 2-х ч. Ч. 1. Исходные философские проблемы, понятия и принципы. М.: Политиздат; 1991: 672.
5. Поварницын С.А. Смысл жизни перед лицом смерти. Известия Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена 2009; 117: 138-44.
6. Титаренко А.И. Антиидеи. М.: Полит. Литературы; 1984: 478.
7. Тукаев Р.Д., Зуева О.П., Кузнецов А.Н. и соавт. Комплексная когнитивно-ориентированная психотерапия тревожных расстройств с приступами паники: Методические рекомендации. М.: 2013; 24.
8. Фурсов Б.Б., Папсуев О.О. Применение Алпразолама в клинической практике. Социальная и клиническая психиатрия 2012; 1: 95-100.

9. Ястребов Д.В. Экстрапирамидные расстройства, осложняющие проведение терапии антипсихотическими препаратами (современное понимание вопросов клиники, патогенеза и коррекции). Психиатрия и психофармакотерапия 2013; 15(1): 36–44.
10. Arslan D., Koca T., Akar E. et al. Cancer pain prevalence and its management. Asian Pac J Cancer Prev. 2014; 15: 8557-62.
11. Bernhofer E. Ethics: ethics and pain management in hospitalized patients. Online J Issues Nurs. 2011; 17: 11.
12. Beautrais A.L. Risk factors for suicide and attempted suicide among young people. Aust. NZ J. Psychiatry 2000; 34: 420–436.
13. Carbognin L., Sperduti I., Nortilli R. et al., Balancing activity and tolerability of neoadjuvant paclitaxel- and docetaxel-based chemotherapy for HER2-positive early stage breast cancer: Sensitivity analysis of randomized trials. Cancer Treatment Reviews. 2015; 41:262–270.
14. Donovan M.R. et al. Comparative efficacy of antidepressants in preventing relapse in anxiety disorders – a meta-analysis. J. Affect. Dis. 2010; 123(1): 9–16.
15. Katschnig H., Amerig M., Stolk J.M., Ballenger J.C. Predictors of quality of life in a long-term followup study in panic disorder patients after a clinical drug trial. Psychopharmacol. Bull. 1996;32: 149–155.

## SUMMARY

### FATAL DIAGNOSIS AND THE HORIZON OF HUMAN LIFE (REVIEW)

<sup>1,2</sup>Samsonia M., <sup>2</sup>Kandelaki M., <sup>1</sup>Samsonia K., <sup>1</sup>Jojua I.

<sup>1</sup>Pharmaceutical Company – Legion “Provisus”, Kutaisi;

<sup>2</sup>A. Tsereteli Kutaisi State University, Department of Pharmacy, Kutaisi, Georgia

The majority of widespread cancers on the stage of clinical manifestation is incurable and therapy is only for the purpose of life extension. So, it isn't surprising that most of people realize the word “cancer“ as a verdict. A man himself doesn't believe in his own death and doesn't realize the fact that “Death is an appropriate phenomenon, but not punishment”. Facing the death causes existential crisis. The understanding of inevitable fact of death arouses short, but desperate fight against it, which is, in most cases accompanied by anxiety. Some fundamental changes in psychoemotional status take place within the young pa-

tients (knowing the diagnosis), which help an individual move into a new stage of actions with forming new values and aims. All these give conditions for better adaptation of an individual with psychic traumas. So, the research of a person's emotional situation, facing the death, will help to identify the necessity of prophylactic pharmacotherapy with anxiolytics and to overcome both the negative associations with death and the fear connected with it (preserving life horizon).

**Keywords:** fatal diagnosis, philosophy of death, anxiety disorders, pharmacoprotection, anxiolytics.

## РЕЗЮМЕ

### СМЕРТЕЛЬНЫЙ ДИАГНОЗ И ЖИЗНЕННЫЙ ГОРИЗОНТ ЧЕЛОВЕКА (ОБЗОР)

<sup>1,2</sup>Самсония М.Д., <sup>2</sup>Канделаки М.А., <sup>1</sup>Самсония К.Д., <sup>1</sup>Джоджуа И.Д.

<sup>1</sup>Фармацевтическая компания – Legion “Provisus”, Кутаиси; <sup>2</sup>Кутаисский государственный университет им. А. Церетели, факультет медицины, департамент фармации, Грузия

В обзоре анализируется текущая и ретроспективная литература о психологическом статусе онкобольных

и необходимости его коррекции. Большинство распространенных форм рака на стадии клинической

диссеминации неизлечимо, а терапия проводится только с целью продления жизни. Поэтому не удивительно, что в сознании большинства людей слово «рак» звучит как приговор. Фатальный диагноз порождает глубокий экзистенциальный кризис. Понимание факта неотвратимости кончины пробуждает короткую, хотя и отчаянную борьбу с ней, часто сопровождаемую выраженной тревогой. У многих молодых пациентов наблюдаются кардинальные изменения в психоэмоциональном статусе, которые обуславливают переход личности на новую линию

поведения, с новой расстановкой ценностей, целями, способами выбора и создают условия для облегчения адаптации индивида к психотравмирующим факторам. Поэтому исследование характера эмоциональных расстройств человека, поставленного перед лицом неминуемой смерти, позволяет определить необходимость проведения профилактической фармакотерапии (анксиолитиками) и таким образом преодолеть как негативные представления о кончине, так и связанный с нею страх с сохранением жизненного горизонта.

## რეზიუმე

ფატალური დიაგნოზი და ადამიანის სასიცოცხლო ჰორიზონტი (მიმოხილვა)

<sup>1,2</sup>მ. სამსონია, <sup>2</sup>მ. კანდელაკი, <sup>1</sup>ქ. სამსონია, <sup>1</sup>ი. ჯოჯუა

<sup>1</sup>ფარმაცევტული კომპანია Legion “Provisus”, ქუთაისი, საქართველო;  
<sup>2</sup>აკაკი წერეთლის სახ. სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ქუთაისი, საქართველო

წინამდებარე მიმოხილვაში გაანალიზებულია თანამედროვე და რეტროსპექტული სამეცნიერო ლიტერატურა ონკოგადამყოფების ფსიქოლოგიური სტატუსის გათვალისწინების და მისი კორექციის აუცილებლობის შესახებ. ფართოდ გავრცელებული ავთვისებიანი სიმსივნეების მნიშვნელოვანი ნაწილი კლინიკური მანიფესტაციის სტადიაზე არ იკურნება და თერაპია მიზნად ისახავს მხოლოდ სიცოცხლის გახანგრძლივებას. ამიტომ, ადამიანების ცნობიერებაში დიაგნოზი – კიბო აღიქმება, როგორც განაჩენი. მომავლის შიშით შეპყრობილ ონკოპაციენტში, თვით ის ფაქტი, რომ აღსასრული გარდაუვალია, აღძრავს შეუპოვარი ბრძოლის სურვილს, არსებულ ვითარებაზე დომინირების მცდელობით, ან არსებულ რეალობასთან შეგუების მზაობას. ახალგაზრდა პაციენტებს (დიაგნოზის გაუდერების შემდეგ) აღენიშნებათ კარდინალური ცვლილებები ფსიქო-

ემოციონალურ სტატუსში. აქედან გამომდინარე, ონკოლოგების აზრი იმის შესახებ ეცნობოს თუ არა ეს დიაგნოზი ავადმყოფს არაერთგვაროვანია. ავტორების აზრით, ფსიქოლოგიური დარღვევების და ეკზისტენციური კრიზისის თავიდან აცილების მიზნით მიზანშეწონილია პიროვნების ფსიქოლოგიური სტატუსის გათვალისწინება.

სტატიაში განხილულია ფსიქონეოლოგიის პრობლემები - პაციენტების რეაქცია დიაგნოზზე და ფაქტორები, რომლებიც ზემოქმედებენ ავადობის მსვლელობაზე. გამოტანილია დასკვნა ანქსიოლიზური საშუალებებით პროფილაქტიკური ფარმაკოთერაპიის გამოყენების აუცილებლობის შესახებ გარდაუვალ აღსასრულთან დაკავშირებული ნეგატიური ასოციაციების თავიდან აცილების და პაციენტის სასიცოცხლო ჰორიზონტის შენარჩუნების მიზნით.

## SHOCK-WAVE THERAPY APPLICATION IN CLINICAL PRACTICE (REVIEW)

**Sheveleva N., Minbayeva L., Belyayeva Y.**

*Karaganda State Medical University, Department of Medical Rehabilitation and Physical Training,  
Department of Visual Diagnostics, Kazakhstan*

Lots of attention is paid to rational combination of conservative and surgical methods in rehabilitation programs preparation, as well as carrying out of complex of preventive activities, aimed to possible risk factors correction. The main principles of a rehabilitation program are continuity of treatment, differentiated approach based on nosologic form, stages and features of the main and concomitant diseases, and comprehensiveness of specific and non-specific variants of therapeutic modality use. Those are timely rehabilitation, its succession and consistency coupled with the use of modern, evidence-based programs with ability to assess and monitor treatment efficacy which serve to the main goal of therapy - maximizing life quality of the patients.

One of the basic methods of modern physiotherapy used in a wide range of diseases with treatment and prevention [35] purposes is an extracorporeal shock-wave therapy (ESWT). The high efficacy and perspectivity of this method is noted by many authors [3-5,7,8,10-12,14-18,20,24-26,32,36,39,47,50,51].

Extracorporeal shock-wave therapy (ESWT) is a noninvasive method of treatment based on conversion of electromagnetic oscillations into acoustic waves of infrasound range. Penetration depth is determined by the method of pulse generation used (electrohydraulic, electromagnetic, piezoelectric, mechanic (pneumatic)), amplitude and frequency characteristics. Extracorporeal shock waves renders mechanical effect on biological tissues proportional to the impedance appearing on different body tissues borders and causing subsequent thermal and chemical effects [27]. The main clinical effects of shock waves are: analgesic effect [8,14,17,18,40,41,48], activation of microcirculation and neoangiogenesis, stimulation of metabolic processes [5,13], decrease of fibro-sclerotic changes severity, and anti-inflammatory effect [3,4,12,20].

Interest to the use of shock waves with physiotherapeutic purposes had considerably increased last years. ESWT is successfully applied in a wide range of diseases. The most researches are published past 10 years. However, the global experience of ESWT application still does not have sufficient evidence base in treatment of many diseases. Presented in the literature data are quite disparate, often describe small samples without adequate randomization and inefficiently selected comparison groups.

The greatest amount of research devoted to the use of ESWT in musculoskeletal system pathology of traumatic and inflammatory genesis.

There are studies presented in literature which prove positive effect of ESWT in Achilles and others tendinopathy therapy (with or without calcification) [3,11,12,14,26,34,45,46,50]. For example, high efficacy of ESWT method application in patients with noncalcificated Achilles tendinitis was noted in J.I. Wiegierinck's et al. [50] systematic review. R. Fridman et al. [11] got a positive result applying high-intensity shock-wave therapy in Achilles tendinopathy in 87% of patients. R.R. Bannuru et al. [3] compared efficacy of high- and low-intensity shockwaves in calcifying and non-calcifying shoulder tendinitis therapy. In randomized controlled study they found that the result of high-intensity shock waves used for pain reduction, motor function improvement and calcinates resorption is significantly higher. Kearney R. and Costa M.L. [23], Al-Abbad H. and Simon J.V. [2] in their systematic reviews summarized the validity of shock-wave therapy course application prior to surgery in Achilles tendinopathy therapy after other conservative methods failure. A. Notarnicola et al. [30] determined that a prognostically favorable factor in tendinopathy treatment, according to the results of review study, is higher body mass index (BMI) and male gender.

H. Gollwitzer et al. [14] in a prospective, double-blind, placebo-controlled study found that shock-wave therapy of plantar fasciitis treatment efficacy was 73.2%, while the placebo effect was 32.7% (Mann-Whitney test-0.6737). Similar results were obtained by L. Gerdesmeyer et al. [12], where the comparative efficacy of ESWT and placebo after 3 months was 75% and 49% respectively ( $p=0.002$ ), and after 12 months it was 69.6% and 44% ( $p=0.0020$ ). An interesting review study on evidence-based treatment of plantar fasciitis was published by D. Berbrayer and M. Fredericson [4]. They analysed studies had been published for the period since 1996, when ESWT had been successfully used for plantar fasciitis treatment for the first time by J.D. Rompe [36] up to the year 2012. The authors note that high efficacy of various types and techniques of shock waves application in plantar fasciitis treatment had been proved in numerical studies [4]. J.N. Dizon et al. [10] carried out a meta-analysis of 11 high-quality randomized controlled studies on plantar fasciitis treatment. The authors concluded that the effect manifested maximally against morning pain (average weighted value was -0.77, 95% CI from 1.30 to 0.25; odds ratio was 0.65, 95% CI from 0.42 to 1.00). High efficacy of ESWT was observed in functional outcomes with odds ratio of 0.51 (95% CI 0.30-0.84) and 0.47 (95% CI 0.29-0.75). Moderate efficacy was observed in overall improving and pain intensity reducing (average weighted value was -6.6 (95% CI from 6.74 to -6.46) and

0.47 (95% CI from 0.30 to 0.74) respectively). Pain in affected heel, and erythema at the site of application were the most often variants of ESWT side effects. The authors note that in spite of the proved medium- and high-intensity ESWT efficacy further researches to determine the minimum effective impact parameters of low-intensity shock waves application should be carried out [10].

It is effective to use shock waves in patients with disorders of tone muscle of central genesis. M.I. Gonkova et al. (2013) evaluated effect of radial shock-wave therapy (RSWT) single session on foot flexors in treatment of spasticity in children with cerebral palsy. The positive effect of RSWT procedures manifested in passive motions increasing from  $33.25 \pm 2.2^0$  to  $47 \pm 2.29^0$  and maintained for the next four weeks. Significant improvement in baropodometry was also noted: along the plantar surface - from  $81.32 \pm 6.14$  cm to  $101.58 \pm 5.41$  cm; changing of pressure in the range of heel - from  $50.47 \pm 6.61$  N/cm to  $75.17 \pm 3.42$  N/cm [15]. In an open prospective study A. Santamato et al. [39] studied extracorporeal shock-wave therapy efficacy in post-stroke foot equinus therapy. After a single exposure to the spastic muscles of the affected foot significant decrease of muscle tone and increase of passive motion in the ankle joint was found. More prolonged effect was observed in patients with I-III degree of spastic plantar flexors echo-intensity on Heckmatt scale.

Many authors had proved safety of ESWT method at adequate choice of treatment parameters, allowing to extend the list of indications for shock-wave therapy and avoid side effects [4,5,25,32]. A. Cassar et al. [5] applied ESWT with the purpose of myocardial revascularization in patients with refractory angina of III/IV functional class. Multicenter, prospective, non-comparative study proved safety and high efficacy of this method reflected in statistically significant improvement of treadmill test performance (by 38%) with absence of significant change in blood flow velocity parameters ( $0.4 \pm 5.1$ ;  $p=0.7$ ), electric- and echocardiographic picture. Progression of ischemia in areas without ESWT application was significantly greater than in treated ( $3.69 \pm 6.2$  and  $0.31 \pm 4.5$  respectively,  $p=0.03$ ). There were not significant changes in the level of Troponin, Creatine Kinase and *B-type natriuretic peptide*. Фросин С.А. et al. (2012) evaluated ESWT effect on arrhythmias in 40 patients with stable angina of II-IV functional class, resistant to surgical and medical therapies. The researchers noted positive dynamics of rhythmic indicators (the number of ventricular extrasystoles decreased from  $1130.1 \pm 191.9$  to  $619.8 \pm 88.0$  ( $p<0.001$ ), supraventricular extrasystoles - from  $2963.3 \pm 380.4$  to  $1285.2 \pm 226.8$  ( $p<0.001$ ), episodes of paroxysmal ventricular tachycardia - from  $2.4 \pm 0.9$  to  $0.4 \pm 0.1$  ( $p<0.005$ ), attacks of paroxysmal supraventricular tachycardia - from  $4.3 \pm 1.7$  to  $1.7 \pm 0.4$  ( $p<0.004$ )) on the background of reducing the number of angina attacks (from  $4.5 \pm 1.4$  per day to  $1.7 \pm 1.3$  ( $p<0.05$ )) [1].

I.H. Chow [8] and other researchers say that it is possible to improve ESWT efficacy significantly and influence the disease outcome by ESWT procedure parameters varying. The equipment and used method of shock waves generation may influence the shock-wave therapy efficacy [19].

Also, there are a lot of case reports and very small samples studies among the analyzed publications. However, caused by small sample low level of evidence should not deny ESWT efficacy in studied pathology. Positive results should help to stimulate further research process in this direction. So, Y. Marwan et al. [28] describe 2 cases of effectively used shock-wave therapy in patients with coccygodynia. Pain intensity, estimated by 10-point numeric pain scale after ESWT procedure decreased from 6 to 0 points in the first patient and from 7 to 0 points in the second one. According to the Visual Analog Scale (VAS) pain syndrome decreased from 5.1 to 1 points in the first patient and from 6.9 to 0.8 in the second. The achieved effect was maintained for a year.

Active studying of shock-wave therapy method and its high efficacy in various organs and systems diseases treatment cause the interest to compare ESWT clinical efficacy with other therapeutic methods. Thus, C.J. Wang et al. [47] carried out randomized prospective study of ESWT ( $300+100/\text{cm}^2$  pulses, energy flux density of  $0.11 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ ) and hyperbaric oxygenation (HBO) comparative efficacy evaluation on 72 patients with diabetic foot. Analysis of the results showed ESWT better efficacy (complete healing in 31% of patients, improvement in 58%, unchanged in 11%) compared with HBO (full recovery in 22% of cases, improvement in 50% and without changes in 28%). Immuno-histochemical analysis also confirmed the prevalence of ESWT clinical outcome. In 2007 C.J. Wang et al. [48] in comparative evaluation of ESWT and conventional conservative therapy in patients with patellar tendinopathy had proved that ESWT has more beneficial effect. Y.S. Cho et al. [9] noted that greater efficiency in myofascial syndrome treatment has a complex of ESWT and stabilizing exercises, compared with isolated using of each factor. J.D. Rompe et al. [35] concluded that 8-week manual stretching program for the plantar fascia in acute plantar fasciitis is more effective then 3-week (once per week) course of low-intensity shock wave therapy. In the presence of refractory process priority should be given to ESWT procedures [35], that is also confirmed by W. Hsu et al. [20]. Comparing the efficacy of radial shock-wave therapy (3 weekly sessions) and standard course of physical treatment (10 sessions of ultrasonic therapy and kinesiotherapy) in plantar fasciitis treatment J.M. Greve et al. [16] and M.V. Grecco et al. [17] noted that the clinical effect of ESWT developed faster and persisted for longer time. J.D. Rompe et al. [38] carried out comparative assessment of three-day courses of low-intensive ESWT efficacy in chronic plantar fasciitis treatment (1000 pulses vs 10 pulses). The study revealed that in the group treated with 1000 pulses, severity of pain for

the 6-month period decreased from 77 to 19 points according to the VAS, while in the group treated with 10 pulses remained unchanged (from 79 to 77 points). Necessity for surgical treatment of plantar fasciitis occurred in 13% and in 58% of patients respectively. That allowed researchers to make a conclusion about possibility of shock-wave therapy method applying as an alternative to surgery. Y.A. Radwan et al. [33] confirmed this conclusion. They studied efficacy of high-intensity ESWT in 56 patients with chronic persistent lateral epicondylitis. Positive effect of ESWT and tenotomy after 3 months was comparable - 65.5% and 74.1% respectively. A. Gur et al. [18] compared the efficacy of ultrasonic therapy and ESWT in patients with myofascial pain syndrome. As a result of a randomized controlled trial (66 people) found that low-intensity shock-wave therapy (3 sessions) has higher efficacy compared with ultrasonic therapy, which manifests in the number of trigger points decrease, pain reduce and life quality improvement ( $p < 0.05$ ). M. Vetrano et al. [44] published the analysis of intermediate results of the research proving the better efficacy of platelet concentrate injection in athletes with a "jumper's knee" than ESWT. H. Seok et al. [41] compared efficacy of ESWT and local steroid injections in carpal tunnel syndrome. According to the randomized controlled trials significant reduction of pain was revealed in both groups (by Visual Analog Scale (VAS)), nerve conductivity parameters were significantly better in the group, where injectable corticosteroids were used.

The results of ESWT application in various pathologies treatment ranging from absence of positive results up to clinical symptoms complete relief. Waugh C.M. et al. [49] carried out a study that allows to suggest the cause of the situation. They studied the change of content of interleukins group, vascular endothelial growth factor, interferon- $\gamma$ , matrix-metalloproteinase 2 and 9 (MMP-2 and -9) in peritendineous dialysate before and after ESWT. The scientists found that the content of IL-1 $\beta$  and IL-2 has not changed immediately after scoring, while the concentration of IL-6 and IL-8 increased immediately after procedure and remained at a high level over next 4 hours ( $p < 0.001$ ). The concentration of MMP-2 and -9 proforms were also increased after the procedure ( $p < 0.003$ ), while the content of MMP active forms has not changed significantly. According to the results, the biological response to the shock-wave therapy use is possible with five-fold or more increase in any of the markers of inflammation or MMP after the factor applications. Stimulation of the inflammatory and catabolic processes helps to remove damaged matrix components and stimulates abnormal tissue remodeling [49].

We found the literature data reporting shock-wave therapy effect potentiating when combined with other physiotherapeutic factors. G. Thevendran et al. [43] published data proving potentiation of ESWT in complex application with pulsed electromagnetic fields in athletes with fracture of fifth metatarsal bone. Considering that procedures of high-

intensive ESWT is extremely painful J.D. Rompe et al. [24] and T. Klonschinski et al. [37] used local anesthesia for facilitating ESWT session. However, local anesthesia interrupted effective feedback from patient during procedures and reduced shock-wave therapy efficacy.

To analyze the ESWT influence on different processes in organism, a lot of studies on the use of shock-wave therapy in animals are also conducted. So, N. Ochiai et al. [31] revealed that ESWT using in rats with osteoarthritis reduces the expression of calcitonin gene-related peptide in neurons of spinal nodes innervating the knee. It helps to increase the duration of walking and reduce the severity of claudication. A. Goertz et al. [13] demonstrated ESWT positive effect on microcirculation, angiogenesis and leukocyte-endothelial interaction in burns treatment in mice. The researchers carried out a comparative assessment of two variants of low-intensity ESWT - 0.04 mJ/mm<sup>2</sup> (group A) and 0.015 mJ/mm<sup>2</sup> (group B). In Group C mice were not treated with ESWT. The procedures were performed in mice for the 1, 3, 7 and 12 days after getting burn (500 pulses, 1 Hz). Acceleration of angiogenesis was observed in all groups. Non perfused area in group A was 5.3%, 9.1% in group B and 12.6% in group C ( $p = 0.005$ ). Shock waves had greatly increased the number of «rolling» leukocytes compared with the group where ESWT were not applied (210.8% and 83.3% respectively ( $p = 0.017$ ) for the 7<sup>th</sup> day; 172.3% and 90.9% ( $p = 0.01$ ) for the 12<sup>th</sup> day). C.E. Kawcak et al. [22] found that in treatment of induced osteoarthritis in horses with ESWT osteocalcin, serum b-CrossLaps, synovial liquid epitope CS846 were increased in the absence of subchondral bone changing. Ching-Jen Wang et al. [6] proved chondroprotective effect of shock waves application in knee osteoarthritis in rats. Studying the shock waves influence on the process of osteogenesis (murine osteoblasts) Tamma R. et al. [42] observed an increase of proliferation and differentiation of osteoblasts on the background of osteoclastogenesis inhibiting, leading to the restoration of the bone structure. Kam-Fai Tam et al. [21] revealed an increase of trabecular bone mineral density (goat bones simulated osteoporosis), which was characterized by increase of volume fraction of cancellous bone and trabecular thickening.

Thus, many researchers noted the necessity of ESWT method and techniques of its application further studying as well as analyzing the results of course therapy with acoustic waves of infrasonic range [29,50]. Active discussion on definition of indications and contraindications for shock-wave therapy use is continuing because the mechanisms of its action are studied insufficiently. There are no standardized rules for therapeutic parameters selection (energy flux density, the number of pulses per session, the length of the course).

Listed above confirms the necessity of this comparatively new, promising and highly effective method of treatment further studying.



## REFERENCES

1. Фросин С.А., Рагозин О. Н., Исакова Е. Ю., Хабаров А. Н. Экстракорпоральная сердечная ударно-волновая терапия: изучение антиаритмического эффекта у пациентов со стенокардией напряжения II-IV в сочетании с нарушениями ритма при локализованном воздействии на межжелудочковую перегородку миокарда. Мир науки, культуры, образования 2012; 3(34): 278–80.
2. Al-Abbad H., Simon J.V. The effectiveness of extracorporeal shock wave therapy on chronic achilles tendinopathy: a systematic review. *Foot Ankle Int* 2013; 34(1): 33–41.
3. Bannuru R.R. High-Energy Extracorporeal Shock-Wave Therapy for Treating Chronic Calcific Tendinitis of the Shoulder. *Annals of Internal Medicine* 2014; 8: 542.
4. Berbrayer D., Fredericson M. Update on Evidence-Based Treatments for Plantar Fasciopathy. Narrative Review. *PM&R* 2014; 6: 159–69.
5. Cassar A., Prasad M., Rodriguez-Porcel M. Safety and Efficacy of Extracorporeal Shock Wave Myocardial Revascularization Therapy for Refractory Angina Pectoris. *Mayo Clinic Proceedings* 2014; 89: 346–54.
6. Ching-Jen Wang, Shan-Ling Hsu, Lin-Hsiu Weng, Yi-Chih Sun, Feng-Sheng Wang Extracorporeal shockwave therapy shows a number of treatment related chondroprotective effect in osteoarthritis of the knee in rats. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2013; 14: 44.
7. Cho N.J., Park J.S., Cho W.S. Effect of Wrist Extensor Strength and Pain on Extracorporeal Shock Wave Therapy of the Lateral epicondylitis. *Journal of the Korean Academy of Clinical Electrophysiology* 2008; 6: 57–68.
8. Chow I.H., Cheing G.L. Comparison of different energy densities of extracorporeal shock wave therapy (EESWT) for the management of chronic heel pain. *Clinical rehabilitation* 2007; 21: 131–41.
9. Cho Y.S., Park S.J., Jang S.H. Effects of the Combined Treatment of Extracorporeal Shock Wave Therapy (ESWT) and Stabilization Exercises on Pain and Functions of Patients with Myofascial Pain Syndrome. *Journal of Physical Therapy Science* 2012; 24: 1319–1323.
10. Dizon J.N. Effectiveness of extracorporeal shock wave therapy in chronic plantar fasciitis: A meta-analysis. *Am J Phys Med Rehabil* 2013; 92: 606–20.
11. Fridman R. Extracorporeal shockwave therapy for the treatment of Achilles tendinopathies: a prospective study. *Journal of the American Podiatric Medical Association* 2008; 98: 466–8.
12. Gerdesmeyer L., Frey C., Vester J. Radial extracorporeal shock wave therapy is safe and effective in the treatment of chronic recalcitrant plantar fasciitis. *Am J Sports Med* 2008; 36: 2100–09.
13. Goertz O., Lauer H., Hirsch T. Extracorporeal shock waves improve angiogenesis after full thickness burn. *Burns* 2012; 38(7): 1010–18.
14. Gollwitzer H. Extracorporeal shock wave therapy for chronic painful heel syndrome: A prospective, double blind, randomized trial assessing the efficacy of a new electromagnetic shock wave device. *J Foot Ankle Surg* 2007; 46: 348–57.
15. Gonkova M.I., Ilieva E.M., Ferriero G. Effect of radial shock wave therapy on muscle spasticity in children with cerebral palsy. *International Journal of Rehabilitation Research* 2013; 36: 284–90.
16. Grecco M.V., Brech G.C., Greve J.M. One-year treatment follow-up of plantar fasciitis: radial shockwaves vs. conventional physiotherapy. *Clinics (Sao Paulo)* 2013; 68(8): 1089–95.
17. Greve J.M., Grecco M.V., Santos-Silva P.R. Comparison of radial shockwaves and conventional physiotherapy for treating plantar fasciitis. *Clinics (São Paulo, Brazil)* 2009; 64: 97–103.
18. Gur A., Koca I., Karagullu H. et al. Comparison of the Efficacy of Ultrasound and Extracorporeal Shock Wave Therapies in Patients with Myofascial Pain Syndrome: A Randomized Controlled Study. *Journal of Musculoskeletal Pain* 2013; 21: 210–16.
19. Haake M., König I.R., Decker T. Extracorporeal shock wave therapy in the treatment of lateral epicondylitis: a randomized multicenter trial. *Journal of bone and joint surgery. American volume* 2002; 84-A: 1982–91.
20. Hsu W.H., Lai L.J., Chang H.Y. Effect of shockwave therapy on plantar fasciopathy. *Bone & Joint Journal* 2013; 95B: 1088–93.
21. Kam-Fai Tam, Wing-Hoi Cheung, Kwong-Man Lee, Ling Qin, Kwok-Sui Leung, Shockwave Exerts Osteogenic Effect on Osteoporotic Bone In an Ovariectomized Goat Model. *Ultrasound in Medicine & Biology* 2009; 35: 1109–18.
22. Kawcak C.E., Frisbie D.D., McIlwraith C.W. Effects of extracorporeal shock wave therapy and polysulfated glycosaminoglycan treatment on subchondral bone, serum biomarkers, and synovial fluid biomarkers in horses with induced osteoarthritis. *Am J Vet Res* 2011; 72(6): 772–9.
23. Kearney R., Costa M.L. Insertional achilles tendinopathy management: a systematic review. *Foot Ankle Int* 2010; 31(8): 689–94.
24. Klonschinski T. Application of local anesthesia inhibits effects of low-energy extracorporeal shock wave treatment (ESWT) on nociceptors. *Pain Med* 2011; 12: 1532–7.
25. Kudo P., Dainty K., Clarfield M. Randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial evaluating the treatment of plantar fasciitis with an extracorporeal shockwave therapy (EESWT) device: a North American confirmatory study. *J. Orthop. Res.* 2006; 24(2): 115–23.
26. Lin T.C. Achilles tendon tear following shock wave therapy for calcific tendinopathy of the Achilles tendon: A case report. *Physical Therapy in Sport* 2012; 13: 189–92.
27. Loew M., Jurgowski W., Thomsen M. Effect of extracorporeal shockwave therapy on calcific tendinitis of the shoulder. A preliminary report. *Urologie* 1995; 34: 49–53.
28. Marwan Y., Husain W., Alhajji W. Extracorporeal shock wave therapy relieved pain in patients with coccydynia: a report of two cases. *Spine Journal* 2014; 14: 1–4.
29. Moen M.H. Shockwave treatment for medial tibial stress syndrome in athletes; a prospective controlled study. *British journal of sports medicine* 2012; 46: 253–7.

30. Notarnicola A., Maccagnano G., Tafuri S., Fiore A., Margiotta C., Pesce V. et al. Prognostic factors of extracorporeal shock wave therapy for tendinopathies. *Musculoskelet Surg.* 2015; 1–9.

31. Ochiai N. Extracorporeal shock wave therapy improves motor dysfunction and pain originating from knee osteoarthritis in rats. *Osteoarthritis Cartilage* 2007; 15(9): 1093–1096.

32. Ogden J.A., Alvarez R.G., Marlow M. Shockwave therapy for chronic proximal plantar fasciitis: a meta-analysis. *Foot Ankle Int.* 2002; 23(4): 301–8.

33. Radwan Y.A. Resistant tennis elbow: shock-wave therapy versus percutaneous tenotomy. *International Orthopaedics* 2008; 32: 671–7.

34. Rasmussen S. Shockwave therapy for chronic Achilles tendinopathy: a double-blind, randomized clinical trial of efficacy. *Acta Orthopaedica.* 2008; 79: 249–56.

35. Rompe J.D., Cacchio A., L.Weil Jr. Plantar fascia-specific stretching versus radial shock-wave therapy as initial treatment of plantar fasciopathy. *J Bone Joint Surg Am.* 2010; 92: 2514–22.

36. Rompe J.D., Hopf C., Nafe B. Low-energy extracorporeal shock wave therapy for painful heel: A prospective controlled single-blind study. *Arch Orthop Trauma Surg.* 1996; 115: 75–9.

37. Rompe J.D., Meurer A., Nafe B. Repetitive low-energy shock wave application without local anesthesia is more efficient than repetitive low-energy shock wave application with local anesthesia in the treatment of chronic plantar fasciitis. *J Orthop Res.* 2005; 23: 931–41.

38. Rompe J.D., Schoellner C., Nafe B. Evaluation of low-energy extracorporeal shock-wave application for treatment of chronic plantar fasciitis. *Journal of bone and joint surgery.* American volume 2002; 84-A: 335–41.

39. Santamato A., Micello M.F., Panza F. Wave Therapy for the Treatment of Poststroke Plantar-flexor Muscles Spasticity: A Prospective Open-Label Study. *Topics in Stroke Rehabilitation* 2014; 21: 517–24.

40. Sheveleva N., Minbayeva L. Extracorporeal shock-waves in knee osteoarthritis therapy. Приложение к журналу «Медицина и экология» 2015; 1: 32–4.

41. Seok H., Kim S.H. The Effectiveness of Extracorporeal Shock Wave Therapy vs. Local Steroid Injection for Management of Carpal Tunnel Syndrome A Randomized Controlled Trial. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation* 2013; 92: 327–34.

42. Tamma R., dell’Endice S., Notarnicola A., Moretti L., Patella S., Patella V. et al. Extracorporeal shock waves stimulate osteoblast activities. *Ultrasound Med Biol* 2009; 35(12): 2093–100.

43. Thevendran G., Deol R.S., Calder J.D.F. Fifth Metatarsal Fractures in the Athlete: Evidence for Management. *Foot and Ankle Clinics* 2013; 18: 237.

44. Vetrano M., Castorina A., Vulpiani M.C. Platelet-Rich Plasma Versus Focused Shock Waves in the Treatment of Jumper’s Knee in Athletes. *American Journal of Sports Medicine* 2013; 41: 795–803.

45. Vulpiani M.C., Trischitta D., Trovato P. Extracorporeal

shockwave therapy (EESWT) in Achilles tendinopathy. A long-term follow-up observational study. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 2009; 49: 171–6.

46. Wang C.J., Yang K.D., Wang F.S. Shock wave therapy for calcific tendinitis of the shoulder: a prospective clinical study with two-year follow-up. *American Journal Sports Medicine* 2003; 31: 425–30.

47. Wang C.J., Kuo Y.R., Wu R.W. Extracorporeal shock-wave treatment for chronic diabetic foot ulcers. *Journal of surgical research* 2009; 152: 96–103.

48. Wang C.J., Ko J.Y., Chan Y.S. Extracorporeal shock-wave for chronic patellar tendinopathy. *American Journal of Sports Medicine* 2007; 35: 972–8.

49. Waugh C.M., Morrissey D., Jones E., Riley G.P., Langberg H., Screen H.R. In vivo biological response to extracorporeal shockwave therapy in human tendinopathy. *Eur Cell Mater* 2015; 29: 268–80.

50. Wiegnerinck J.I., Kerkhoffs G.M, van Sterkenburg M.N. Treatment for insertional Achilles tendinopathy: a systematic review. *Knee Surgery Sports Traumatology Arthroscopy* 2013; 21: 1345–55.

51. Zhao Z., Jing R., Shi Z. Efficacy of extracorporeal shock-wave therapy for knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Journal of surgical research* 2013; 185: 661–6.

## SUMMARY

### SHOCK-WAVE THERAPY APPLICATION IN CLINICAL PRACTICE (REVIEW)

**Sheveleva N., Minbayeva L., Belyayeva Y.**

*Karaganda State Medical University, Department of Medical Rehabilitation and Physical Training, Department of Visual Diagnostics, Kazakhstan*

The article presents literature review on the use of extracorporeal shock-wave therapy in physiotherapeutic practice. The basic mechanisms of shock waves influence on the organism are spotlighted. Studies proving high efficacy of the method in treatment of wide variety of inflammatory diseases and traumatic genesis are presented. The data on comparative assessment of shock-wave therapy efficacy, and results of researches on possibility of extracorporeal shock-wave therapy effect potentiating in combination with other therapeutic methods are reflected.

Recent years, the range of indications for shock-wave therapy application had been significantly widened. However, further study of the method is still relevant because mechanisms of action of the factor are studied insufficiently; methods of therapy parameters selection (energy flux density, number of pulses per treatment, duration of a course) are either advisory or empirical.

**Keywords:** rehabilitation, shock-wave therapy, physiotherapy.

## РЕЗЮМЕ

### ПРИМЕНЕНИЕ УДАРНО-ВОЛНОВОЙ ТЕРАПИИ В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ (ОБЗОР)

Шевелева Н.И., Минбаева Л.С., Беляева Я.В.

*Карагандинский государственный медицинский университет, кафедра медицинской реабилитологии и физического воспитания, кафедра визуальной диагностики, Казахстан*

В статье представлен обзор литературы, посвященной применению экстракорпоральной ударно-волновой терапии в физиотерапевтической практике. Освещены основные механизмы действия ударной волны на организм, приведены исследования, доказывающие высокую эффективность метода при лечении широкого спектра заболеваний воспалительного и травматического генеза. Представлены данные по проведению сравнительной оценки эффективности ударно-волновой терапии и результаты исследований, показывающие возможность потенцирования

эффекта экстракорпоральной ударно-волновой терапии при применении в комплексе с другими терапевтическими методами. За последнее время значительно расширился спектр показаний к применению ударно-волновой терапии. Однако, вопрос дальнейшего изучения метода по-прежнему актуален, так как механизмы действия фактора остаются не достаточно изученными, методики подбора параметров терапии (плотность потока энергии, количество импульсов за процедуру, длительность курса) носят рекомендательный или эмпирический характер.

#### რეზიუმე

დარტყმით-ტალღოვანი თერაპიის გამოყენება კლინიკურ პრაქტიკაში (ლიტერატურის მიმოხილვა)

ნ. შეველიოვა, ლ. მინბაევა, ი. ბელიაევა

*ყარაღანდის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, სამედიცინო რეაბილიტოლოგიის და ფიზიკური აღზრდის კათედრა, ვიზუალური დიაგნოსტიკის კათედრა, ყაზახეთი*

სტატიაში მიმოხილულია სამეცნიერო ლიტერატურა ფიზიოთერაპიულ პრაქტიკაში ექსტრაკორპორული დარტყმით-ტალღოვანი თერაპიის გამოყენების შესახებ. გაშუქებულია დარტყმითი ტალღის მოქმედების ძირითადი მექანიზმები ორგანიზმზე. მოყვანილია გამოკვლევები, რომლებიც ამტკიცებენ მეთოდის მაღალ ეფექტურობას ანთებითი და ტრავმული გენეზის ფართე სპექტრის

დაავადებების მკურნალობაში. წარმოდგენილია მონაცემები დარტყმით-ტალღოვანი თერაპიის გამოყენების ეფექტურობის შედარებითი შეფასების შესახებ და შედეგები, რომლებიც ადასტურებენ ექსტრაკორპორული დარტყმით-ტალღოვანი თერაპიის პოტენციურობის ეფექტის გამოყენების შესაძლებლობას, სხვა თერაპიულ მეთოდებთან კომპლექსში.

## MAIN TRENDS IN ACCESS TO PRIMARY HEALTH CARE FOR ADOLESCENTS IN GEORGIA

Mirzikashvili N., Kazakhashvili N.

*I. Javakhishvili Tbilisi State University, Faculty of Medicine, Georgia*

Numbering 1.2 billion worldwide, this generation of adolescents is the largest ever. Four out of five live in developing countries. The period of adolescence, defined by the WHO as 10 to 19 years of age, represents one of the critical transitions in the life span characterized by a

tremendous pace in growth and change that is second only to that of infancy [10]. While most adolescents are healthy, youth is accompanied by certain risks: early and unwanted pregnancy, sexually transmitted infections (STIs) including HIV, and vulnerability to the dangers of tobacco use, alco-

hol and other drugs, as well as interpersonal violence [7]. The leading causes of death among adolescents worldwide are road injury, HIV, suicide, lower respiratory infections and interpersonal violence, and nearly 35% of the global burden of chronic disease manifests in adolescence [11].

Unfortunately, the specific health needs of young people may be overlooked by both practitioners and policy makers because healthy adolescents rarely present to their general practitioner (GP) [6]. Lacking a physical presence in the clinic, and thus a sense of urgency to address what are essentially invisible needs, adolescent health is rarely considered deserving of priority action and youth are instead provided a minimum subset of adult or pediatric services with few adjustments for their special needs. Some evidence suggests that young people regard such health services as irrelevant to their needs and may avoid seeking such services altogether, or seek help only when desperate [3]. Access to health care services remains an area which merits additional research.

Barriers to adolescent healthcare exist across both genders and in all socioeconomic groups. Accessibility means more than just being able to get there. A 'youth friendly' health service must be accessible geographically, physically, culturally and in all its procedures, including financial and administrative arrangements [5]. Adolescents often find mainstream primary care services unacceptable because of perceived lack of respect, privacy and confidentiality, fear of stigma, discrimination, and imposition of the moral values of health-care providers. While adolescents highly value privacy and confidentiality, many are not aware that their regular health-care provider should adhere to these principles, and few identify their primary care provider as a source of confidential care [12]. The health status of young people has not improved significantly over the past few generations. Overweight and obesity, mental health problems, sexually transmissible infections and health risk behaviours are each prevalent in this age group and can lead to acute and chronic health conditions, morbidity and mortality [4]. The delivery of accessible and appropriate preventive services for young people may contribute to promoting health and help to modify health-risk behaviours. However, the aforementioned barriers to care may limit access to existing services, yet scarce literature focuses specifically on access to care among adolescents. While the recently released national strategy (Health Promoting Strategy for Georgia, 2010-2015) emphasizes the importance of targeting youth with preventive efforts, little is known about access to primary care services among Georgian adolescents. It is well recognized that primary prevention is more effective than changing established habits, yet the limited access to primary health care and related health promotion interventions virtually ensures the perpetuity of health risk behaviours which are prevalent among youth in Georgia [2].

According to the Youth Behavioral Surveillance Survey of Georgian school pupils (ages 9-12) and university students (ages 15-24) revealed that almost half of all respondents have smoked tobacco; on average, respondents first tried cigarettes at 13 years of age. Approximately 18% of school pupils and university students smoked cigarettes on a daily basis. In this study, the vast majority of respondents consumed alcohol at some time in their lives, regardless of gender or age; 50% of respondents reported being intoxicated in past month. Approximately 9% of all respondents ever smoked marijuana; the highest rate of marijuana use (21%) was observed among male students; 6% of male and 1% of female respondents reported smoking marijuana at least once in the last 12 months. The vast majority of school pupils and university students who have tried marijuana reported that they first tried it before the age of 18. Less than one-third of all respondents reported being engaged in sports on a daily basis. Male school pupils were more likely to be engaged in physical exercise than male students and female respondents of both age groups [1]. The findings of the "National Study on the Situation of Adolescents and Youth in Georgia" show that more than half of respondents (52.2%) have received medical services in the past 12 months. As is typical with people of all ages, young women visited medical facilities more frequently than their male peers, a pattern which was apparent in all regions of Georgia. The above indicators differ in rural and urban areas: in urban areas, 60.9% of young people attended a medical facility in the past 12 months compared to 42.4% of young people living in rural areas. The list of medical facilities attended is quite diverse, including the two most frequently visited: polyclinics (27.6%) and general hospitals (23.2%). The estimated unmet need is 26.6% - the proportion of young people in Georgia who could not access medical care over the past 12 months during a time of need. The primary barrier was the high cost of medical services (cited by 63.8% of respondents) [9]. The goal of the study is to expand upon the limited existing research by further describing access to primary health care among youth in Georgia.

**Material and methods.** This study is based on findings from primary as well as secondary and tertiary data. The quantitative survey was conducted among 1000 adolescents interviewed across Georgia using a standard questionnaire developed by the researcher. Questionnaires were administered in the schools, universities and in the streets between March-May 2014 and September-October 2014 in the vast majority of cases. The target group was adolescents aged 11-19 years. The survey sampling methodology was multi-stage probability sampling using the following stages: cluster sampling by selected region; simple random sampling. All information were analyzed in SPSS v21.

The study was approved by the medical ethics committee of National Center for Disease Control and Public Health of Georgia. All participating in-school young people provided informed consent.

**Results and their discussion.** Of the 1000 questionnaires distributed, 814 were returned complete. Young people in Georgia identified a range of problems regarding access to primary health services. By far the most important issues were preventive checkups and health promotion at the primary health care level, geographical access, and health care quality for adolescents. They also noted concerns about poor socioeconomic conditions.

One third (33.1%) of respondents are satisfied with services they get at the PHC, but nearly one in five (18.5%) do not trust their family doctor. A third of respondents stated they needed to walk 15-20 minutes in order to access a primary health care facility, 22.5% of respondents walk at least 30 minutes, and 9.2% reported 30 minutes or more by public transport (Fig. 1). Almost 70% of young people like their PHC, and the majority of respondents (65%) know their family doctor very well.

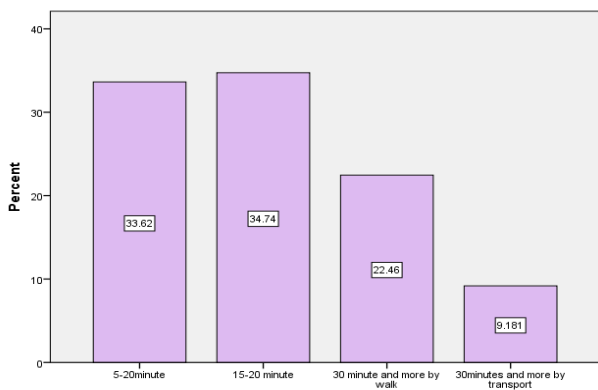


Fig. 1. How many minutes do you need to access your PHC Facility?

To the questions “Do you always contact your family doctor in case of illness?” 34.5% of respondents replied “no” and 24.4% indicated that they would contact a doctor only in a difficult situation. The majority of respondents (78.4%) declared that they do not visit a family doctor for routine preventive care (when well). Many (38.4%) adolescents do not remember having a previous preventive examination; and most (76.6%) stated that neither a physician nor a nurse visited the adolescent at home within the past year. The young respondents reported problems complying with recommendations because either they do not trust their family physician (13.2%) or they do not have finances to buy medications (9.4%).

Another issue was waiting time and the appointment systems. Nearly half (48.4%) of respondents reported at least

a 15 minute wait for their exam (Fig. 2). Despite this, the majority of adolescents think that their doctor is very caring and helpful, and in many cases the family physician gave comprehensive information about diseases.

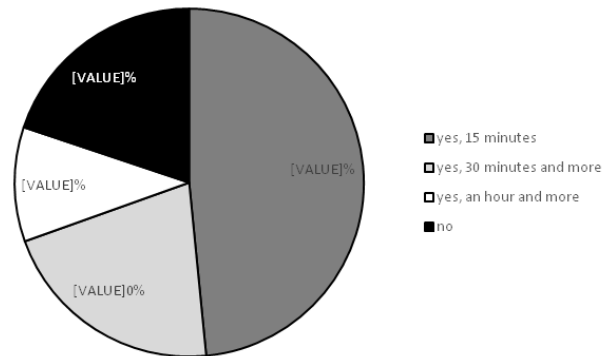


Fig. 2. When you visited PHC facility do you wait for the doctor?

Health professionals play an important role in providing health information to young people. However, according to the survey data, approximately 66% of respondents reported that they had not received or do not recall receiving any advice on physical activity. Overall, 41.3% of respondents reported that they had never received advice from a doctor or health care professional on diet and healthy eating, and fully 81.9% of interviewed young people said that the family doctor did not provide any information about reproductive health issues (Fig. 3).

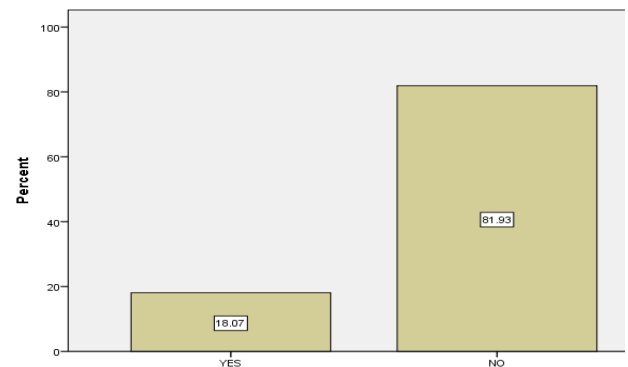


Fig. 3. Do you have talk with your doctor about reproductive health issues?

Almost as many (77.3%) stated that their family doctor had never talked about reproductive health and prevention of sexually transmitted infections (such as contraception, HIV/AIDS, STIs, etc.). One in three (32.1%) of respondents do recommend the PHC to other people while a nearly identical proportion (32.6%) are not sure whether to recommend the PHC to other patients (Fig. 4). Another frequently mentioned barrier was young people’s lack of knowledge of the existence of services or what they provided.

Table 1. Crosstabulation

			In case of illness do you always visit PHC doctor?			Total
			yes	no	Only in a difficult situation	
Do you think that your doctor is knowledgeable and competent?	No I doubt	count % of total	22 2,7%	26 3,2%	27 3,4%	75 9,4%
	I do not know	count % of total	71 8,9%	103 12,8%	72 9,0%	246 30,7%
	I trust his professionalism	count % of total	236 29,4%	147 18,3%	98 12,2%	481 60,0%
Total		count % of total	329 41,0%	276 34,4%	197 24,6%	802 100,0%

Table 2. Crosstabulation

			Does your family income is sufficient to do regular medical checkup?			Total
			yes	no	partly	
Do you access to doctor without any complains?	Yes	count % of total	97	29	39	165
			27,5%	14,9%	17,1%	21,3%
			12,5%	3,7%	5,0%	21,3%
	No	count % of total	256	166	189	611
			72,5%	85,1%	82,9%	78,7%
			33,0%	21,4%	24,4%	78,7%
Total		count % of total	353 100,0%	195 100,0%	228 100,0%	776
		45,5%	25,1%	29,4%	100,0%	

*Bivariate associations*

To assess the significance of an association between access to services at the PHC and the competence of the primary health care doctor, we used cross tabulation in SPSS. Of the 34.4% of healthy young people who do not seek routine preventive care, half do not trust the doctor's competence and professionalism, the primary barrier to care for these adolescents. We found that this association between access and trust in competency was statistically significant ( $p < 0.05$ ) (Table 1).

The family income is also related to primary care. We asked if family income was sufficient to afford a regular medical checkup. One in four (25.1%) reported that access to the family doctor was not affordable on the family's income, and the vast majority of these adolescents (85.1%) reported difficulty with visiting the doctor ( $p < 0.05$ ) (Table 2).

We also analyzed the association between geographical access to the PHC with respect to rural and urban areas. Primary health care access in the villages is still problem in Georgia; and in some areas, young people need more than 30 minutes by public transport. The limited access in rural compared to urban areas is statistically significant ( $p < 0.05$ ).

Primary health care is classically defined as comprised of the following: 1) evidence based essential health care, 2) using current technology, and 3) made universally accessible to individuals and families in the community through their full participation, 4) at a cost that the community and the country can afford to maintain at every stage of their development in the spirit of self-determination (Alma Ata international conference definition, 1978). [8] In practice, PHC components vary according to context but should be available at first contact with the health system and on a continuous

basis. It incorporates the tasks of medical diagnosis and treatment, psychological assessment and management, personal support, communication of information about illness, prevention, and health maintenance. The WHO has identified adolescent health as a priority area, and has developed a 9-step approach to scaling up health care services from national to state/district levels and finally at the health facility level.

Major reforms were undertaken in 2013 by the Georgian government to ensure primary health care. The aim of reform interventions was to enhance the capacity of the PHC network to meet the health needs of the Georgian population through sustainable, accessible and affordable health care services. Primary health care was strengthened and privatized, and hospitals were streamlined, introducing new arrangements for purchasing and reimbursement of health services. As the health sector moved toward universal health coverage, adolescent health needs must be considered.

The universal health care program launched in 2013 provides basic services free to citizens of Georgia. However, we found that adolescents still experience financial barriers to accessing PHC. When the family does not have money, the child does not visit the doctor.

We must concur with these findings in that physician qualification at the primary health care level is a key concern with respect to the deliver of safe, high quality health care. Physicians are licensed for life, with no requirement for ongoing medical education or recertification. In addition, timely access to a regular healthcare provider and continuity of care for those with chronic conditions is limited, especially for those living in rural communities. It appears that transport from rural areas is a greater challenge than restrictive hours of operation in that only a small number of young people mentioned structural issues concerning the operation of services, such as opening hours, inadequate transport, cost and waiting lists.

In summary, we found access to care limited by availability of services, particularly in certain regions, costs, skill of clinicians, and the limited training of physicians with respect to working with young people. Awareness of health concerns is also a major challenge. Most health promotion strategies fail to consider the unique health needs of adolescents, nor does the public health messaging specifically appeal to this population.

**Conclusion.** Currently, adolescents are not receiving much attention, and a real sense of urgency is growing that more action is needed now. Responding to the health and development needs of adolescents requires a broad response that goes beyond health services. Adolescents' health and health-related behaviours issues can be incorporated in

many programs supported young population of Georgia. More evidence can help to improve data collection of youth and analysis health status of young population in regional and national level. Georgia should strengthen the health sector response to adolescent health and development. Improvements at the primary health care level can be made to ensure health services are accessible for youths. Addressing access to care will strengthen health care delivery overall, reduce costs by preventing chronic conditions and injuries, and serve as an investment in the workforce of the future.

## REFERENCES

1. აშშ საერთაშორისო განვითარების სააგენტო, აივ პრევენციის პროექტი “ქცევაზე ზედმხედველობის კვლევა ახალგაზრდებში, აივ ინფექცია/შიდსთან მიმართებაში ცოდნის, დამოკიდებულებებისა და ქცევის შესწავლა სკოლის მოსწავლეებსა და უნივერსიტეტის სტუდენტებში” თბილისი: 2012.
2. დაავადებათა კონტროლის და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრი, მოზარდთა და ახალგაზრდების ჯანმრთელობა საქართველოში. მოკლე მიმოხილვა: 2015.
3. A project of Advocates for Youth “Why adolescent health so important?” <http://amplifyyourvoice.org/u/sraj2009s/2011/05/31>(Accessed 12 December 2015)
4. Australian Institute of Health and Welfare. Young Australians: their health and wellbeing. Cat. no. PHE 140. Canberra: AIHW, 2011.
5. Cummings M, Kang M. Youth health Services Improving access to primary care, Australian Family Physician 2012; 41(5): 339.
6. McPherson A. Adolescent in primary care. BMJ 2005; <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.330.7489.465>
7. McIntyre P, Williams G, Peattie S. Adolescent Friendly Health Services - Agenda for Change. World Health Organization; 2002.
8. Primary health care: report of the International Conference on Primary Health Care, Alma-Ata, USSR, 6-12 September, 1978, jointly sponsored by the World Health Organization and the United Nations Children's Fund. Geneva: World Health Organization; 1978 (Health for All Series No. 1).
9. UNICEF, National Study on the Situation of Adolescents and Youth in Georgia Youth Survey. Tbilisi: 2014.
10. World Health Organization, Maternal, newborn, child and adolescents Health-Adolescent development [http://www.who.int/maternal\\_child\\_adolescent/topics/adolescence/dev/en/](http://www.who.int/maternal_child_adolescent/topics/adolescence/dev/en/)
11. World Health Organization, Maternal, newborn, child and adolescents Health-Adolescent health epidemiology [http://www.who.int/maternal\\_child\\_adolescent/epidemiology](http://www.who.int/maternal_child_adolescent/epidemiology)
12. World Health Organization publication, Health for the World's Adolescents, A second chance in the second decade. 2014.

## SUMMARY

### MAIN TRENDS IN ACCESS TO PRIMARY HEALTH CARE FOR ADOLESCENTS IN GEORGIA

Mirzikashvili N., Kazakhashvili N.

*I. Javakhishvili Tbilisi State University, Faculty of Medicine, Georgia*

This study identifies barriers to accessing primary health care among youth in Georgia to inform strategies for improving the appropriateness, quality and usage of primary health care services.

The quantitative survey was conducted throughout Georgia among 1000 adolescents 11-19 years of age via interview. Multi stage probability sampling was used to administer questionnaires in the schools, universities and in the streets between March-May 2014 and September-October 2014.

Young people in Georgia identified a range of problems in accessing primary health services. By far the most important issues were preventive checkups, geographical access, cost of care, and perceptions about the quality of care. The majority of respondents (78.4%) declared that they do not visit family doctor when well, and 81.9% said that no information was provided about reproductive health issues. Most (77.3%) stated that their family doctor had never talked about health promotion or life style risk factors. Access to health care is still problematic in the villages; and in some areas young people must travel more than 30 minutes by public transport. Limited access

in rural areas compared to urban areas was statistically significant ( $p < 0.05$ ).

As our survey data shows, most adolescents do not visit a health provider annually, obviating opportunities to integrate prevention into clinical encounters. Because repeated contacts with a primary care provider may occur over several years, clinicians should ideally have multiple opportunities to screen and counsel an adolescent patient for risky health behaviors. However, young people report that there is little screening or discussion about healthy lifestyles. The biggest health challenge for young people in Georgia is overcoming barriers (socio-economic, geographic, trust, and perceived competence) to visit a doctor for regular preventive checkups and to get health behavior advice from health professional.

Addressing the health and development needs of adolescents requires a comprehensive and timely response, and interventions can be incorporated in many programs supported young population of Georgia.

**Keywords:** Adolescent, primary care, access, health care services.

## РЕЗЮМЕ

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ДОСТУПНОСТИ ПЕРВИЧНОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ ДЛЯ ПОДРОСТКОВ В ГРУЗИИ

Мирзикашвили Н.Г., Казахашвили Н.А.

*Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, факультет медицины, Грузия*

Подростковый период, влияющий на состояние здоровья подростка, Всемирной организацией здравоохранения определяется, как один из критических моментов в жизни человека. Несмотря на то, что состояние здоровья значительной части подростков относительно благополучно, этот период жизни сопровождается определенными рисками, которые при непринятии необходимых мер могут привести к развитию целого ряда серьезных заболеваний. Почти 35% глобального бремени хронических заболеваний впервые проявляется в подростковом возрасте. Гиподинамия, курение, раннее употребление алкоголя и наркотиков, учащение случаев ранней беременности, инфекции, передаваемые половым путем, включая ВИЧ-инфекцию,

склонность к самоубийствам – неполный перечень рисков, приводящих к серьезным последствиям, которые становятся основными причинами инвалидизации и смертности среди подростков. Несмотря на актуальность проблемы, медико-социальных исследований, связанных с изучением состояния здоровья подростков в Грузии практически не проводится.

Исходя из вышеизложенного, в 2014 году авторами статьи в ряде регионов Грузии изучены проблемы, связанные с состоянием здоровья подростков, их потребностью в оказании необходимой медико-социальной помощи. Наряду с другими методами исследования проведено конкретное медико-социоло-



გიგანტური გამოკვლევა, რომელიც მიზანს შეადგენდა საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში მცხოვრები მოზარდების ჯანმრთელობის ძირითადი ინდიკატორების და საჭირო სამედიცინო დახმარების ხელმისაწვდომობის შეფასება.

2014 წ. ჩატარდა რაოდენობრივი კვლევა სპეციალური კითხვარის მეშვეობით, რომელიც შეიცავდა 56 ღია კითხვას. გამოკითხვაში მონაწილეობა მიიღო საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში მცხოვრებმა 11-19 წლის ასაკის 1000 საშუალო და უმაღლესი სკოლების მოსწავლეებმა. რესპონდენტების შერჩევა განხორციელდა მრავალსაფეხურიანი ალბათური შერჩევის მეთოდით. მიღებული მონაცემები

გეგმით, რომელიც მიზანს შეადგენდა საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში მცხოვრები მოზარდების ჯანმრთელობის ძირითადი ინდიკატორების და საჭირო სამედიცინო დახმარების ხელმისაწვდომობის შეფასება.

2014 წ. ჩატარდა რაოდენობრივი კვლევა სპეციალური კითხვარის მეშვეობით, რომელიც შეიცავდა 56 ღია კითხვას. გამოკითხვაში მონაწილეობა მიიღო საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში მცხოვრებმა 11-19 წლის ასაკის 1000 საშუალო და უმაღლესი სკოლების მოსწავლეებმა. რესპონდენტების შერჩევა განხორციელდა მრავალსაფეხურიანი ალბათური შერჩევის მეთოდით. მიღებული მონაცემები

გეგმით, რომელიც მიზანს შეადგენდა საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში მცხოვრები მოზარდების ჯანმრთელობის ძირითადი ინდიკატორების და საჭირო სამედიცინო დახმარების ხელმისაწვდომობის შეფასება.

## რეზიუმე

პირველადი ჯანდაცვის სერვისებზე ხელმისაწვდომობის ძირითადი ტენდენციები საქართველოს მოზარდებში

ბ. მირზიკაშვილი, ნ. ყაზახაშვილი

ო. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, მედიცინის ფაკულტეტი, საქართველო

კვლევის მიზანს შეადგენდა საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში მცხოვრები მოზარდების ჯანმრთელობის ძირითადი ინდიკატორების და საჭირო სამედიცინო დახმარების ხელმისაწვდომობის შეფასება.

2014 წ. ჩატარდა რაოდენობრივი კვლევა სპეციალური კითხვარის მეშვეობით, რომელიც შეიცავდა 56 ღია კითხვას. გამოკითხვაში მონაწილეობა მიიღო საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში მცხოვრებმა 11-19 წლის ასაკის 1000 საშუალო და უმაღლესი სკოლების მოსწავლეებმა. რესპონდენტების შერჩევა განხორციელდა მრავალსაფეხურიანი ალბათური შერჩევის მეთოდით. მიღებული მონაცემები

დამუშავდა სტატისტიკური პროგრამის SPSS v21 მეშვეობით.

შედეგები მიუთითებს, რომ არც სკოლა, არც ოჯახი და არც სამედიცინო დაწესებულება არ უთმობენ სათანადო ყურადღებას მოზარდების ჯანმრთელობას. არსებული ვითარება მოითხოვს ახალგაზრდებისათვის ხელმისაწვდომი პირველადი ჯანდაცვის სერვისების მიწოდებას, რაც გამოსატყუღად შეიზღუდა საგანმანათლებლო დაწესებულებებში საექიმო პუნქტების გაუქმების შედეგად. მიღებული შედეგების საფუძველზე ავტორების მიერ დამუშავებულია მოზარდების ჯანმრთელობის მდგომარეობის გაუმჯობესებაზე მიმართული რეკომენდაციები.

## АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ/РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРОБНЫХ ШТАММОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ РОЖЕНИЦ, НОВОРОЖДЕННЫХ И ПРОБ ВНУТРЕННЕЙ СРЕДЫ РОДИЛЬНОГО ОТДЕЛЕНИЯ

<sup>1</sup>Кобешавидзе Д.Д., <sup>2</sup>Чиквиладзе Д.П., <sup>2</sup>Гачечиладзе Х.Э., <sup>2</sup>Микеладзе М.Л.

<sup>1</sup>ООО «Имедис Клиника», Тбилиси; <sup>2</sup>Тбилисский государственный медицинский университет, направление патологии и судебной медицины, департамент микробиологии, Грузия

В последние годы достигнуты значительные успехи в лечении гнойно-воспалительных заболеваний рожениц и новорожденных. Наблюдается уменьшение частоты тяжёлых клинических форм послеродовой инфекции, таких, как сепсис, перитонит, гнойный мастит. Однако не наблюдается уменьшение частоты встречаемости таких наиболее распространённых заболеваний, как послеродовой эндометрит, эндометрит после кесарева сечения, воспалительные заболевания мочеполовой системы. В тоже время в этиологической структуре гнойно-воспалительных заболеваний в акушерстве, перманентно происходят изменения в видовом составе микробов. Эти изменения могут быть обусловлены рядом причин, в частности, возрастающим применением антибактериальных препаратов, особенно препаратов широкого спектра действия, бесконтрольное использование которых в клинической практике приводит не к снижению частоты инфекционных осложнений, а к возникновению резистентных микробных штаммов. Следует отметить, что на антибиотикорезистентность микробов влияет множество факторов: масштабы использования противомикробных препаратов и «тоннаж антибиотиков»; избыточное применение отдельных представителей некоторых групп антибиотиков; соотношение между профилактическим и терапевтическим применением антибиотиков; отношение монотерапии к комплексной терапии; меры по борьбе с инфекцией [2-5,7,8].

Необходимо различать антибиотикопрофилактику и антибиотикотерапию – как эмпирическую, так и рациональную. Антибактериальная профилактика основана на принципе: микробная контаминация операционной раны является практически неизбежной, даже при идеальном соблюдении правил асептики и антисептики. Исходя из этого принципа, суть современной антибиотикопрофилактики заключается в создании необходимых концентраций препарата в тканях с момента возможной микробной контаминации и дальнейшем поддержании этого уровня на протяжении некоторого промежутка времени (зависящего от времени генерации бактерий), например, введение антибиотика после операции кесарева сечения сразу после пережатия пуповины и повторно спустя 6, 12 или 24 часа после родоразрешения (ингибиторов β-лактамаз и цефалоспоринов трёх поколений). Применение антибиотиков с профилактической целью часто используется также в случае наличия сопутствующих заболеваний, как экстрагенитальных, таких как сахар-

ный диабет, иммунодефицит, гипотрофия, ожирение, острый инфекционный процесс, так и генитальных [2,5]. Что касается эмпирической антибиотикотерапии для отдельных нозологических форм гнойно-воспалительных заболеваний, необходимо учитывать данные эпидемиологического мониторинга за антибиотикорезистентностью микроорганизмов, циркулирующих в конкретных регионах, городах, стационарах, отделениях [2,5,6,9-12]. Например, в природных условиях наиболее крупный резервуар резистентных микроорганизмов существует в популяциях домашнего скота и птиц, поскольку в корм в последние годы принято добавлять антибиотики. Со временем этот резервуар антибиотикоустойчивости переходит на человеческие контингенты, вследствие чего образуется хронический «человеческий резервуар» устойчивых микроорганизмов. Считается, что отсутствие положительного клинического эффекта от эмпирического лечения в пределах 48-72 часов должно расцениваться как проявление резистентности микроорганизмов к антибиотикам [4,5]. Принципами рациональной антибиотикотерапии являются: микробиологический принцип – антибиотики следует применять только по показаниям, когда заболевание вызвано микроорганизмами, в отношении которых существуют эффективные препараты; фармакологический принцип – необходимо определить правильную дозировку препарата, интервалы введения, продолжительность курса; клинический принцип – учитывать общее состояние, возраст, пол, состояние иммунной системы, сопутствующие болезни, беременность; эпидемиологический принцип – необходимо знать, к каким антибиотикам устойчивы микроорганизмы в среде, окружающей больного (отделение, больница, регион); фармацевтический принцип – соблюдать сроки годности и условия хранения препарата.

Исходя из вышеизложенного и учитывая, что одним из важнейших компонентов инфекционного контроля вообще и, в частности, в акушерстве является проведение микробиологического мониторинга, который создаёт условия для рациональной ротации антибиотиков, целью данного исследования явилось определение антибиотикочувствительности/резистентности микробных штаммов, выделенных от рожениц, новорожденных, а также проб внутренней среды родильного отделения.

**Материал и методы.** Изучено 714 штаммов разных видов микроорганизмов, выделенных от рожениц, новорожденных, а также проб внутренней среды

в родильном отделении ООО «Имедис Клиника», г. Тбилиси. Определение чувствительности/ резистентности к антибиотикам разных групп проводилось с использованием дискодиффузионного метода и метода серийных разведений на твердой питательной среде [1].

**Результаты и их обсуждение.** В результате проведенного исследования установлено, что в структуре выделенных микроорганизмов (всего 714 микробных штаммов) грамположительные микроорганизмы (526 штаммов) преобладали над грамотрицательными (188 штаммов) почти в 3 раза.

Таблица 1. Оксациллиночувствительность/резистентность КОС

Виды КОС	Количество штаммов, изученных по отношению к оксациллину	Количество оксациллинорезистентных штаммов		Количество оксациллиночувствительных штаммов	
		абс.	%±m	абс.	%±m
S.epidermidis	79	42	53,17±5,61	37	46,83±5,61
S.cohnii	218	123	56,42±3,36	95	43,58±3,36
S.warneri	7	7	100,0	0	0
всего	304	172	56,58±2,84	132	43,42±2,84

Таблица 2. Антибиотикорезистентность грамположительных микроорганизмов

Антибиотики	оксациллинорезистентные КОС n=172			оксациллиночувствительные КОС n=132		S. aureus n=114	Enterococcus faecium n=80	Enterococcus faecalis n=28
	S.cohnii n=123	S.epidermidis n=42	S.warneri n=7	S.cohnii n=95	S.epidermidis n=37			
	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)			
Пенициллин	120 (97,56)	42 (100)	6 (85,71)	31 (32,63)	11 (29,73)	110 (96,49)	76 (95,0)	27 (96,43)
Гентамицин	110 (89,43)	39 (92,86)	6 (85,71)	35 (36,84)	13 (35,14)	112 (98,25)	51 (63,75)	18 (64,29)
Эритромицин	109 (88,62)	42 (100)	5 (71,43)	39 (41,05)	15 (40,54)	109 (95,61)	69 (86,25)	23 (82,14)
Ампициллин	105 (85,37)	42 (100)	7 (100)	41 (43,16)	17 (45,95)	110 (96,49)	5 (6,25)	4 (14,29)
Ванкомицин	7 (5,69)	6 (14,29)	0	2 (2,11)	2 (5,41)	3 (2,63)	28 (35,0)	10 (35,71)
Ципрофлоксацин	8 (6,50)	9 (21,43)	0	5 (5,26)	3 (8,11)	5 (4,39)	49 (61,25)	12 (42,86)
Цефотаксим	6 (4,88)	3 (7,14)	2 (28,57)	8 (8,42)	4 (10,81)	8 (7,02)	42 (52,50)	15 (53,57)
Цефепим	5 (4,07)	0	0	4 (4,21)	2 (5,41)	3 (2,63)	47 (58,75)	13 (46,43)
Цефуросим	7 (5,69)	2 (4,76)	1 (14,29)	5 (5,26)	3 (8,11)	7 (6,14)	42 (61,25)	11 (39,29)
Амоксилав	6 (4,88)	2 (4,76)	1 (14,29)	5 (5,26)	2 (5,41)	4 (3,51)	2 (2,50)	1 (3,57)
Линкомицин	10 (8,13)	8 (19,05)	0	7 (7,37)	3 (8,11)	95 (83,33)	80 (100)	28 (100)
Амикацин	8 (6,50)	2 (4,76)	2 (28,57)	6 (6,32)	4 (10,81)	6 (5,26)	25 (31,25)	8 (28,57)

Среди грамположительных микробных штаммов 304 штамма были представлены разными видами коагулазоотрицательных стафилококков (КОС) – *S. epidermidis*, *S. cohnii*, *S. warneri*. При оценке антибиотикочувствительности/резистентности этих штаммов к оксациллину оказалось (таблица 1), что доля оксациллинорезистентных штаммов составила  $56,58 \pm 2,84\%$ , доля оксациллиночувствительных –  $43,42 \pm 2,84\%$ . В пределах отдельных видов КОС количество оксациллинорезистентных штаммов колебалось в пределах от 53,17% (*S. epidermidis*) до 100% (*S. warneri*).

Данные о антибиотикорезистентности/чувствительности грамположительной микрофлоры представлены в таблице 2, из которой видно, что оксациллинорезистентные штаммы КОС обладали высоким уровнем резистентности к пенициллину, гентамицину, эритромицину, ампициллину. Более низким уровнем резистентности к этим же антибиотикам обладали оксациллиночувствительные штаммы КОС. Как оксациллинорезистентные изоляты *S. cohnii*, *S. epidermidis* и *S. warneri*, так и оксациллиночувствительные изоляты *S. cohnii* и *S. epidermidis* обладали высоким уровнем

чувствительности к ванкомицину, ципрофлоксацину, цефотаксиму, цефепиму, цефуросиму, амоксиклаву, линкомицину и амикацину. Что касается изолятов *S. aureus*, они проявляли высокий уровень чувствительности к ванкомицину, ципрофлоксацину, цефотаксиму, цефепиму, цефуросиму, амоксиклаву и амикацину, в то время как к пенициллину, гентамицину, эритромицину, ампициллину и линкомицину выявлен высокий уровень резистентности.

Оба вида энтерококков, *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*, в 100% случаев проявляли резистентность к линкомицину, а высокий уровень резистентности – к пенициллину, эритромицину и гентамицину. Средний уровень резистентности энтерококки проявляли в отношении ципрофлоксацина, цефотаксима, цефепима, цефуросима. Высокий уровень чувствительности энтерококки проявляли к ампициллину, амоксиклаву и амикацину. Результаты изучения резистентности/чувствительности к разным антибиотикам грамотрицательных микроорганизмов представлены в таблице 3.

Таблица 3 Антибиотикорезистентность грамотрицательных микроорганизмов

Антибиотики	<i>E.coli</i> n=18	<i>Ps.aeruginosa</i> n=54	<i>Kl.pneumoniae</i> n=10	<i>Citrobacter</i> <i>freundii</i> n=5	<i>Serratia marc-</i> <i>escens</i> n=4	<i>Enterobacter</i> <i>cloacae</i> n=95	<i>Morganella</i> <i>morganii</i> n=2
	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)	абс. (%)
Гентамицин	18 (100)	54 (100)	7 (70,0)	5 (100)	4 (100)	89 (93,68)	2 (100)
Ампициллин	13 (72,22)	54 (100)	8 (80,0)	4 (80,0)	4 (100)	95 (100)	2 (100)
Эритромицин	18 (100)	54 (100)	10 (100)	5 (100)	4 (100)	95 (100)	2 (100)
Амикацин	3 (16,67)	49 (90,74)	2 (20,0)	4 (80,0)	3 (75,0)	31 (32,63)	1 (50,0)
Амоксилав	2 (11,11)	48 (88,89)	5 (50,0)	2 (40,0)	2 (50,0)	7 (7,37)	1 (50,0)
Цефотаксим	1 (5,56)	49 (90,74)	3 (30,0)	3 (60,0)	2 (50,0)	36 (37,90)	1 (50,0)
Цефепим	1 (5,56)	3 (5,56)	2 (20,0)	3 (60,0)	3 (75,0)	34 (35,79)	0
Линкомицин	18 (100)	53 (98,15)	10 (100)	5 (100)	4 (100)	93 (97,90)	2 (100)
Ципрофлоксацин	2 (11,11)	49 (90,74)	10 (100)	2 (40,0)	2 (50,0)	12 (12,63)	0
Имипенем-циластат	0	8 (14,81)	0	0	0	1 (1,05)	0
Меропенем	0	14 (25,93)	0	1 (20,0)	0	3 (3,16)	0

Как видно из этой таблицы, изоляты *E. coli* в 100% случаев проявляли резистентность к гентамицину, эритромицину и линкомицину. Высоким уровнем чувствительности штаммы *E. coli* обладали к амикацину, амоксиклаву, цефотаксиму, цефепиму и ципрофлоксацину, а в 100% случаев были чувствительными к имипенем-циластату и меропенему. Другие представители грамотрицательной микрофлоры, такие как, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae* и *Morganella morganii* проявляли весьма высокий уровень чувствительности к имипенем-циластату и меропенему, причем *Morganella morganii* проявляла высокую чувствительность и к цефепиму. Что касается изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, они «традиционно» проявляли высокий уровень резистентности практически ко всем антибиотикам, за исключением цефепима, имипенем-циластата и меропенема.

Результаты проведенных исследований подтверждают необходимость проведения в отдельно взятых стационарах перманентного микробиологического мониторинга, так как он является одним из важнейших компонентов инфекционного контроля, благодаря которому появляется возможность правильно проводить антибиотикопрофилактику, а в случае необходимости – рациональную антибиотикотерапию.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. მ. კერესელიძე. კლინიკური ბაქტერიოლოგია. მეთოდური სახელმძღვანელო-ცნობარი. თბ.: 2013; 259 გვ.
2. Гуртовой Б.Л., Кулаков В.И., Воропаева С.Д. Применение антибиотиков в акушерстве и гинекологии. М.: Медицина: Триада – X; 2004: 176.
3. Кулаков В.И., Гуртовой Б.Л., Анкирская А.С., Антонов А.Г. Актуальные проблемы антимикробной терапии и профилактики инфекций в акушерстве, гинекологии и неонатологии. Акушерство и гинекология 2004; 1: 3-6.
4. Кулаков В.И., Серова В.Н., Абубакова П.Р., Антонов А.Г. Рациональная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии. Рук. для практикующих врачей. М.: Литтера; 2009: 944.
5. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013, <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/pdf-threats-2013-508pdf>
6. Antibiotic Resistance Will Kill 300 Million People by 2050, <http://articles.mercola.com/sites/articles/archive/2015/02/17/antibiotic-resistance-food-production.aspx>
7. Antibiotic Therapeutic Guidelines Update 2010, <http://lifeinthefastlane.com/antibiotic-guidelines-2010/>
8. Antimicrobial resistance, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en>

9. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* Infections in Adults and Children. [http://www.idsociety.org/uploadedFiles/IDSA/Guidelines-Patient\\_Care](http://www.idsociety.org/uploadedFiles/IDSA/Guidelines-Patient_Care)

10. Surbhi Leekha, MBBS, Christine L. Terrell, MD, and Randall S. Edson, MD. General Principles of Antimicrobial Therapy. *Mayo Clin Proc.* 2011; 86(2): 156-167.

11. The bacterial challenge time to react, [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/report](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/report)

12. Van den Hoogan A, Gerards L.J, Verboon-Macielek M.A, Fleer A, Krediet T.G. Long-Term Trends in the Epidemiology of Neonatal Sepsis and Antibiotic Susceptibility of Causative Agents. *Neonatology* 2009; 97(1):22-18.

#### SUMMARY

#### ANTIBIOTIC SENSITIVITY/RESISTANCY OF MICROBIAL STRAINS, ISOLATED FROM PUERPERAS, NEWBORNS AND SAMPLES OF MATERNITY WARD ENVIRONMENT

<sup>1</sup>Kobeshavidze D.D., <sup>2</sup>Chikviladze D.,  
<sup>2</sup>Gachechiladze Kh., <sup>2</sup>Mikeladze M.

<sup>1</sup>LTD “Imedis Clinica”, Tbilisi; <sup>2</sup>Tbilisi State Medical University, Direction Of Pathology And Forensic Medicine, Department Of Microbiology, Georgia

In this article, there are given data of microorganisms sensitivity/resistancy investigation, to different groups of antibiotics. Microorganisms were isolated from puerperas, newborns and samples of maternity ward environment. Investigation was performed in L.T.D. “Imedis Clinica”. Detection of microorganisms sensitivity/resistancy to antibiotics was performed by use of two methods: method of disc diffusion and serial dilution on solid breeding substratum. It was determined that gram positive, as well as gram negative microorganisms had sufficiently high level of resistancy to some penicillines, aminoglycosides, macrolides. Some species of gram negative microorganisms had resistancy to lincomycin in 100% of cases. High level of sensitivity was revealed to such antibiotics as amicalin, amoxiclav, cefepim, ciprofloxacin. Gram negative microorganisms had high level of sensitivity to imipenem-cilastatin and meropenem. Performed investigation confirms necessity of microbiological monitoring in different clinics, because it is one of the most significant components of infection control. It gives opportunity to perform exact antibiotic prophylaxis and if necessary – rational antibiotic therapy.

**Keywords:** microorganisms; antibiotics; antibiotic sensitivity; antibiotic resistancy; puerperas; newborns.

## РЕЗЮМЕ

### АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ/РЕЗИ- СТЕНТНОСТЬ МИКРОБНЫХ ШТАММОВ, ВЫ- ДЕЛЕННЫХ ОТ РОЖЕНИЦ, НОВОРОЖДЕННЫХ И ПРОБ ВНУТРЕННЕЙ СРЕДЫ РОДИЛЬНОГО ОТДЕЛЕНИЯ

<sup>1</sup>Кобешавидзе Д.Д., <sup>2</sup>Чиквиладзе Д.П.,  
<sup>2</sup>Гачечиладзе Х.Э., <sup>2</sup>Микеладзе М.Л.

<sup>1</sup>ООО «Имедис Клиника», Тбилиси; <sup>2</sup>Тбилисский госу-  
дарственный медицинский университет, направление  
патологии и судебной медицины, департамент микро-  
биологии, Грузия

В статье приведены результаты изучения чувствительности/резистентности к антибиотикам разных групп микроорганизмов, выделенных от рожениц и новорожденных, а также проб внутренней среды в родильном отделении ООО «Имедис Клиника». Выявление чувствительности/резистентности к антибиотикам было проведено двумя методами – дискодиффузионным методом и методом серийных разведений на твердой питательной среде. Установлено, что как грамположительные, так и грамотрицательные микроорганизмы обладали достаточно высоким уровнем резистентности к некоторым пенициллинам, аминогликозидам, макролидам. Некоторые виды грамотрицательных микроорганизмов проявляли к линкомицину резистентность в 100% случаев. Высокий уровень чувствительности был выявлен в отношении таких антибиотиков, как амикацин, амоксицилин, цефепим, ципрофлоксацин. Грамотрицательные микроорганизмы проявляли высокий уровень чувствительности к имипенем-циластатину и меропенему. Проведённые исследования подтверждают необходимость проведения в отдельно взятых стационарах микробиологического мониторинга, так как он является одним из важнейших компонентов инфекционного контроля, благодаря которому появляется возможность правильно проводить антибиотикопрофилактику, а в случае необходимости – рациональную антибиотикотерапию.

## რეზიუმე

სამშობიარო განყოფილებაში მელოგინეებიდან, ახალშობილებიდან და შიდა გარემოს სინჯებიდან გამოყოფილი მიკროორგანიზმების ანტიბიოტიკომგრძობელობა/რეზისტენტობა

<sup>1</sup>დ.დ. კობეშავიძე, <sup>2</sup>დ. ჩიკვილაძე, <sup>2</sup>ხ. გაჩეჩილაძე,  
<sup>2</sup>მ. მიქელაძე

<sup>1</sup>შპს “იმედის კლინიკა”, თბილისი; <sup>2</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, მიკრობიოლოგიის დეპარტამენტი, საქართველო

სტატიაში მოყვანილია შპს “იმედის კლინიკა”-ს სამშობიარო განყოფილებაში მელოგინეებიდან, ახალშობილებიდან და შიდა გარემოს სინჯებიდან გამოყოფილი მიკროორგანიზმების სხვადასხვა ჯგუფის ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძობელობა/რეზისტენტობის შეფასების შედეგები. ანტიბიოტიკების მიმართ მიკროორგანიზმების მგრძობელობა/რეზისტენტობის გამოვლენა ჩატარდა ორი მეთოდით – დისკოდიფუზიური მეთოდით და მყარ საკვებ ნიადაგზე სერიული განზავების მეთოდით. დადგენილია, რომ როგორც გრამდადებითი, ისე გრამუარყოფითი მიკროორგანიზმები ზოგიერთი პენიცილინების, ამინო-გლიკოზიდების, მაკროლიდების მიმართ ფლობენ რეზისტენტობის მაღალ დონეს. გრამუარყოფითი მიკროორგანიზმების ზოგიერთი სახეობა ლინკო-მიცინის მიმართ ავლენს 100%-იან რეზისტენტობას. მგრძობელობის მაღალი დონე გამოვლინდა ამიკაცილის, ამოქსიკლავის, ცეფეპიმის, ციპროფლოქსაცილის მიმართ. გრამუარყოფითი მიკროორგანიზმები იმიპენემ-ცილასტატინის და მეროპენემის მიმართ ავლენენ მგრძობელობის მაღალ დონეს. ჩატარებული კვლევები ადასტურებენ ცალკეულ სტაციონარებში მიკრობიოლოგიური მონიტორინგის ჩატარების აუცილებლობას, რადგან ეს წარმოადგენს ინფექციური კონტროლის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან კომპონენტს, რომლის მეშვეობითაც შესაძლებელი ხდება სწორი ანტიბიოტიკოპროფილაქტიკის, აუცილებლობის შემთხვევაში კი - რაციონალური ანტიბიოტიკოთერაპიის ჩატარება.

## MEMANTINE ATTENUATES THE OKADAIC ACID INDUCED SHORT-TERM SPATIAL MEMORY IMPAIRMENT AND HIPPOCAMPAL CELL LOSS IN RATS

<sup>1</sup>Dashniani M., <sup>2</sup>Chighladze M., <sup>1</sup>Burjanadze M., <sup>1</sup>Beselia G., <sup>1</sup>Kruashvili L.

<sup>1</sup>I. Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi;

<sup>2</sup>St. Andrew the First-Called Georgian University of Georgian Patriarchate, Tbilisi, Georgia

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease that causes progressive cognitive and behavior deterioration over age 65 [8]. Currently, the etiology and pathogenesis of AD remains unknown. Several factors such as A $\beta$  production, cholinergic dysfunction, neurofibrillary tangles (NFT) accumulation, inflammatory agents, oxidative stress, mitochondrial dysfunction, glutamate-mediated excitotoxicity, and genetic components are reported to be involved in the pathogenesis [19]. Proposed explanations for the pathophysiology of AD include the cholinergic hypothesis [5], the soluble A $\beta$  oligomers hypothesis [12] and the tau hypothesis [12,22]. Very few species are known to develop the behavioral, cognitive and neuropathological symptoms of AD spontaneously. It is critical to develop useful models to study the pathology of AD for pre-clinical testing of drugs. AD in human is much more complicated and animal models can only mimic partial symptoms of AD. In spite of the limitations of animal model, the progress toward a cure for AD depends on the development of animal models.

Changes in the cerebral activity of protein phosphatases have been implicated in the pathogenesis of Alzheimer's disease. Individuals suffering from this disease suffer memory loss, and histological examination of the brains of such individuals has revealed neuronal neurodegeneration and the presence of NFT within neurons and extracellular deposits of  $\beta$ -amyloid [4,9,11]. In AD brain, it is reported that the expression and activities of some PPs decline [10,20]. PP2A is reported the major tau phosphatase in brain [17], whose activity is reduced in AD brain [2] and dephosphorylation of tau can be blocked in cells by Okadaic acid.

Okadaic acid (OA), a polyether C38 fatty acid toxin extracted from a black sponge *Hallichondria okadaei*, is a potent and selective inhibitor of protein phosphatase, PP1 and protein phosphatase 2A (PP2A). Intracerebral injection of OA causes tau hyperphosphorylation, formation of NTF and deposits of  $\beta$ -amyloid, together with memory loss and neurodegeneration. It was therefore suggested that intracerebral injection of OA, through its ability to inhibit protein phosphatases, would provide a useful model of Alzheimer's disease [6].

Oka induced memory deficit and elevation of Ca<sup>2+</sup> was found to be correlated with neurotoxicity and N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor emerged as a plausible link [16]. The glutamatergic synapses are most likely site for initiation of neurodegenerative process. Activation of glutamate receptors is believed to play a major role in the

neuronal cell death [18]. The excitotoxicity induced by over activation of NMDA receptor is closely related to excess of intracellular Ca<sup>2+</sup>. Oka increases Ca<sup>2+</sup> in hippocampal neuronal cell culture through the ionotropic excitatory amino acid receptors resulting in neuronal degeneration [7].

In the present study, intracerebroventricular (ICV) injection of OA in rats was used as a memory impairment and hippocampal neurodegeneration animal model. The possible beneficial effect of memantine on the OA-induced spatial short-term memory impairment was examined in spatial alternation task, and the neuroprotective potential of memantine on OA-induced structural changes in the hippocampus was evaluated by Nissl staining. The effects of memantine have been studied in relation to cognitive function in animal models of long-term memory, but have rarely been tested in short-term memory paradigms. Chronic treatment with memantine in male rats at dose which produces a plasma level within the therapeutic range [23] was used to verify whether blocking NMDA receptors may impair or improve spatial short term memory.

**Material and methods.** A total of 34 male rats, approximately 4 months of age and weighing 220-250 g at the start of experimentation served as subjects. The rats were housed in standard cages at a natural light/dark cycle and were tested during the light period. All animals were given access to food and water *ad libitum*.

**Surgery.** Rats were anaesthetized with i.p. injection of 4 % chloral hydrate (9 ml/kg) and placed in a stereotaxic apparatus. OA was dissolved in artificial cerebrospinal fluid (aCSF) and injected ICV (A: 0,2 mm from bregma, L: 1,1mm and V: 3,6mm) 200 ng in a volume of 10  $\mu$ l bilaterally (OA group). Vehicle control received 10  $\mu$ l of aCSF ICV bilaterally (Control). All injections were made with a 1- $\mu$ l Hamilton syringe with a microinjection pump (CMA 402 Syringe Pump, Sweden). The rats were allowed to recover from the surgery for two weeks before starting the behavioral experiments.

**Drug Treatment.** Control and OA injected rats were divided into 2 subgroups: control rats injected i.p. with saline (n=8) or memantine (n=8) and OA injected rats treated i.p. with saline (n=8) or memantine (n=10). Memantine (5 mg/kg, i.p; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) or saline were given daily for 13 days starting from the day of OA injection. Intraperitoneal administration was chosen to avoid the variability in absorption associated with oral administration.

**Spontaneous alternation behavior.** Rats were trained in a four-arm plus-shaped maze with floor and walls made of black Plexiglas. The arms of the maze (12.5 cm wide by 46 cm long by 7 cm high) extended radially from a central square platform (sides = 13 cm); the floor of the maze was positioned 0.7 m above the floor. Each rat was placed at the center of the maze and allowed to transverse the maze freely for 15 min. The number and sequence of arms entered were recorded to determine alternation scores. An arm entry was defined as the entry of all four paws into one arm. The sequence of arm entries was recorded with a video camera. An alternation was defined as entry into four different arms on overlapping quintuple sets. Five consecutive arms choices within the total set of arm choices make up a quintuple set, e.g. a quintuple set consisting of arms choices A, B, A, C, B was not considered an alternation. Using this procedure percentage alternation was calculated as follows: (Actual alternation/possible alternation) × 100; possible alternation sequences are equal to number of arm entries minus four.

**Histology.** At the end of the behavioral experiments OA treated and control rats were deeply anesthetized with pentobarbital and perfused through the ascending aorta with 300 ml saline followed by 600 ml 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4). The surviving pyramidal cells in the hippocampus of rats were visualized by Nissl staining. The number of the hippocampal pyramidal cells in Nissl staining sections was counted at X400 magnification. Stained sections were analyzed with fluorescence optic microscope Leica MM AF.

Statistical analysis were performed by one-way analysis of variance (ANOVA) (SigmaStat statistical software) followed by Tukey's test where data of more than two groups were compared. Two-sample *t*-test was used to compare histological data between control and OA treated groups. All data are presented as mean ± standard error of the mean. Differences were considered significant when  $p < 0.05$ .

**Results and their discussion.** Nissl staining of hippocampal sections showed that the number of pyramidal cells in the CA1 region of the hippocampus in the control group is significantly higher than that in the OA injected rats ( $p < 0.01$ ). Two-sample *t*-test indicated that the number of pyramidal cells in the hippocampal CA1 region is significantly higher in memantine treated OA injected rats than that in the saline treated OA injected rats ( $p < 0.05$ ). These results showed that chronic administration of memantine effectively attenuated OA induced neuropathological changes in the hippocampus.

The one way ANOVA for the number of arms entered during the testing session showed significant effect of group ( $F_{3,33} = 7.108$ ,  $p < 0.001$ ). Post hoc (Tukey Test) analysis showed a significant difference between the saline and memantine treated control ( $p = 0.035$ ) and between the saline and memantine treated OA injected rats ( $p = 0.034$ ).

The difference between the saline treated control and saline or memantine treated OA injected rats were not significant ( $p = 0.415$ ;  $p = 0.6$ , respectively). Behavioral study showed that memantine treated control rats, relative to saline treated control rats, had a significantly lower level in the number of arms entered during the testing session.

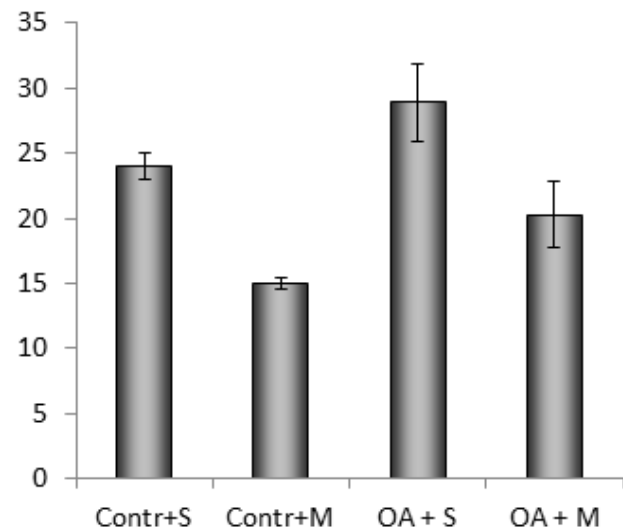


Fig. 1. Behavioral data (Mean ± SEM) from a single session of spontaneous alternation testing for saline or memantine treated control and OA injected rats.

Ordinate: number of arm entries. \* -  $p < 0.05$

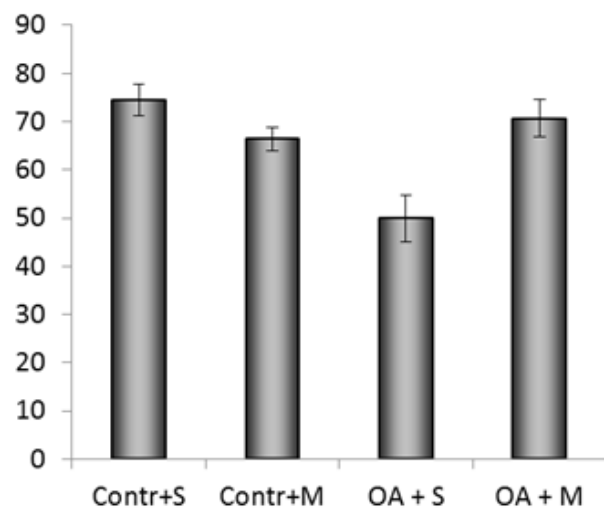


Fig. 2. Behavioral data (Mean ± SEM) from a single session of spontaneous alternation testing for saline or memantine treated control and OA injected rats.

Ordinate: alternation score (%). \* -  $p < 0.01$  vs Contr+S and OA+M groups

As shown in Fig. 2, ICV injection of OA significantly impaired SA performance. The one way ANOVA for spatial alternation score showed significant effect of group ( $F_{3,33} = 8.057$ ,  $p < 0.001$ ). Post hoc (Tukey Test) analysis showed a significant difference between the saline treated control and the saline treated OA injected rats ( $p < 0.001$ ),



but there was no significant difference between the saline and memantine treated control ( $p=0,467$ ) and between saline treated control and memantine treated OA injected ( $p=0,891$ ) rats. Memantine treatment causes improvement of spontaneous alternation performance; the difference between saline and memantine treated OA injected rats is significant ( $p=0,002$ ).

Interestingly, the findings showed that memantine treated control rats, relative to saline treated, had a significantly lower level in the number of arms entered during the testing session. However, these groups did not differ in the level of alternation behavior. It can be suggested that the reduced locomotor activity in OA injected rats are not responsible for reduced alternation scores. Furthermore, it can be assumed that the changes observed in short-term memory were due to the ICV injection of OA.

Memory impairment induced by microinjection of OA into animal brains has been reported [3,13-15]. Similarly, in the present study, bilateral ICV microinjection of OA induced impairment in spatial short-term memory assessed in spatial alternation paradigm. Nissl staining in the present study showed that the ICV microinjection of OA significantly decreased the number of surviving pyramidal neurons in the CA1 region of the hippocampus. Because the intact hippocampus is required for the spatial memory of animals [1,21], the OA-induced spatial short-term memory impairment may be attributed, at least in part, to the hippocampal cell death caused by the OA. Chronic administration of memantine significantly attenuated the OA-induced spatial memory impairment. This improvement is parallel to the alleviative effect of memantine on the OA-induced cell loss in the hippocampus, suggesting an association between the neuroprotective effect and the memory-improving effect exerted by memantine. The attenuating effect of chronic administration of memantine on the OA-induced neurodegeneration provides the direct evidence supporting the neuroprotective action of memantine.

In conclusion, bilateral ICV microinjection of OA significantly induced spatial short-term memory impairment, and caused hippocampal cell loss. Chronic administration of memantine effectively attenuated OA induced spatial short-term memory impairment and the OA-induced neuropathological changes in the hippocampus. Therefore, ICV injection of OA can be used as an experimental model to study mechanisms of neurodegeneration and define novel therapeutics targets for AD pathology.

## REFERENCES

1. Alvarado MC., Bachevalier J. Selective neurotoxic damage to the hippocampal formation impairs performance

of the transverse patterning and location memory tasks in rhesus macaques. *Hippocampus* 2005; 15: 118–131.

2. Arendt T., Holzer M., Fruth R., Bruckner MK., Gartner U. Phosphorylation of tau, abeta-formation, and apoptosis after in vivo inhibition of PP-1 and PP-2A. *Neurobiol Aging*. 1998; 19(1): 3-13.

3. Bennett PC., Moutsoulas P., Lawen A., Perini E., Ng KT. Novel effects on memory observed following unilateral intracranial administration of okadaic acid, cyclosporin A, FK506 and [MeVal4]CyA. *Brain Res*. 2003; 988: 56–58.

4. Blennow K., de Leon M.J., Zetterberg H. Alzheimer's Disease. *Lancet* 2006; 368: 387–403.

5. Contestabile A. The history of the cholinergic hypothesis. *Behav Brain Res*. 2011; 221: 334-40.

6. Doens D., Fernandez PL. Microglia receptors and their implications in the response to amyloid beta for Alzheimer's disease pathogenesis. *J Neuroinflammation* 2014;11:48.

7. Ekinci FJ., Ortiz D., Shea TB. Okadaic acid mediates Tau phosphorylation via sustained activation of the L-voltage-sensitive calcium channel. *Brain Res Mol Brain Res*. 2003; 117:145-151.

8. Ferri CP., Prince M., Brayne C., Brodaty H., Fratiglioni L., Ganguli M., et al. Global prevalence of dementia: A delphi consensus study. *Lancet* 2005; 366(9503): 2112-7.

9. Gómez-Isla T., Hollister R., West H., Mui S., Growdo, JH., Petersen RC., Parisi JE., Hyman B.T. Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Ann. Neurol*. 2004; 41: 17–24.

10. Gong CX., Singh TJ., Grundke-Iqbal I., Iqbal K. Phosphoprotein phosphatase activities in alzheimer disease brain. *J Neurochem*. 1993; 61(3):921-7.

11. Gong CX., Liu F., Grundke-Iqbal I., Iqbal K. Dysregulation of protein phosphorylation/dephosphorylation in Alzheimer's disease: a therapeutic target. *J. Biomed. Biotechnol*. 2006; ID 31825, 1-11.

12. Hardy J., Selkoe D.J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 2002; 297:353-6.

13. He J., Yamada K., Zou L., Nabeshima T. Spatial memory deficit and neurodegeneration induced by the direct injection of okadaic acid into the hippocampus in rats. *J Neural Transm*. 2001; 108: 1435–1443.

14. Kamat P.K., Rai S., Swarnkar S., Shukla R., Ali S., Najmi AK., Nath C. Okadaic acid-induced Tau phosphorylation in rat brain: role of NMDA receptor. *Neuroscience* 2013; 238:97-113.

15. Kamat P.K., Rai S., Swarnkar S., Shukla R., Nath C. Mechanism of synapse redox stress in okadaic acid (ICV) induced memory impairment: Role of NMDA receptor. *Neurochem Int*. 2014; 76:32-41.

16. Kamat P.K., Tota S., Saxena G., Shukla R., Nath C. Okadaic acid (ICV) induced memory impairment in rats: a suitable experimental model to test anti-dementia activity. *Brain Res*. 2010; 1309:66-74.

17. Liu F., Grundke-Iqbal I., Iqbal K., Gong CX. Contributions of protein phosphatases PP1, PP2A, PP2B and PP5 to the regulation of tau phosphorylation. *Eur J Neurosci.* 2005; 22(8):1942-50.
18. Mattson M.P. Calcium and free radicals: mediators of neurotrophic factor and excitatory transmitter-regulated developmental plasticity and cell death. *Perspect. Dev. Neurobiol.* 1996; 3:79-91.
19. Querfurth H.W., LaFerla F.M. Alzheimer's disease. *N Engl. J. Med.* 2010; 362:329-44.
20. Sontag E., Luangpirom A., Hladik C., Mudrak I., Ogris E., Speciale S., et al. Altered expression levels of the protein phosphatase 2A A $\beta$ Alphac enzyme are associated with Alzheimer disease pathology. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004; 63(4):287-301.
21. Sweatt J.D. Hippocampal function in cognition. *Psychopharmacology* 2004; 174: 99-110.
22. Zempel H., Thies E., Mandelkow E., Mandelkow EM. A $\beta$  oligomers cause localized Ca<sup>2+</sup> elevation, missorting of endogenous Tau into dendrites, Tau phosphorylation, and destruction of microtubules and spines. *J Neurosci.* 2010; 30:11938-50.
23. Zoladz P.R., Campbell A.M., Park C.R., Schaefer D., Danyasz W., Diamond D.M. Enhancement of long-term spatial memory in adult rats by the noncompetitive NMDA receptor antagonists, memantine and neramexane. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006; 85:298-30.

## SUMMARY

### MEMANTINE ATTENUATES THE OKADAIC ACID INDUCED SHORT-TERM SPATIAL MEMORY IMPAIRMENT AND HIPPOCAMPAL CELL LOSS IN RATS

<sup>1</sup>Dashniani M., <sup>2</sup>Chighladze M., <sup>1</sup>Burjanadze M., <sup>1</sup>Beselia G., <sup>1</sup>Kruashvili L.

<sup>1</sup>I. Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi; <sup>2</sup>St. Andrew the First-Called Georgian University of Georgian Patriarchate, Tbilisi, Georgia

In the present study, the possible beneficial effect of memantine on the Okadaic Acid (OA) induced spatial short-term memory impairment was examined in spatial alternation task, and the neuroprotective potential of memantine on OA-induced structural changes in the hippocampus was evaluated by Nissl staining. OA was dissolved in artificial cerebrospinal fluid (aCSF) and injected intracerebroventricularly (ICV) 200 ng in a volume of 10  $\mu$ l bilaterally. Vehicle control received aCSF ICV bilaterally. Control and OA injected rats were divided into 2 subgroups injected i.p. with saline or memantine (5 mg/kg). Memantine or saline were given daily for 13 days starting from the day of OA

injection. Behavioral study showed that bilateral ICV microinjection of OA induced impairment in spatial short-term memory. Nissl staining in the present study showed that the ICV microinjection of OA significantly decreased the number of surviving pyramidal neurons in the CA1 region of the hippocampus. Chronic administration of memantine effectively attenuated OA induced spatial short-term memory impairment and the OA-induced neuropathological changes in the hippocampus. Therefore, ICV injection of OA can be used as an experimental model to study mechanisms of neurodegeneration and define novel therapeutic targets for AD pathology.

**Keywords:** okadaic acid, memory, hippocampus, rat.

## РЕЗЮМЕ

### МЕМАНТИН УМЕНЬШАЕТ ДЕФИЦИТ КРАТКОСРОЧНОЙ ПАМЯТИ И НЕЙРОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГИППОКАМПЕ, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЕМ ОКАДАЕВОЙ КИСЛОТЫ

<sup>1</sup>Дашниани М.Г., <sup>2</sup>Чигладзе М.Р., <sup>1</sup>Бурджанадзе М.А., <sup>1</sup>Беселия Г.В., <sup>1</sup>Круашвили Л.Б.,

<sup>1</sup>Центр экспериментальной биомедицины им. И.С. Бериташвили, Тбилиси; <sup>2</sup>Грузинский университет Патриархии Грузии им. Святого Андрея Первозванного, Тбилиси, Грузия

В настоящем исследовании проведена оценка эффекта интрацеребровентрикулярной (ИЦВ) билатеральной микроинъекции окадаевой кислоты (ОК) на функцию пространственной краткосрочной памяти, измеряемой в тесте спонтанного чередования, и на структуру гиппокампа крыс, а также возможность превенции этих изменений в условиях хронического интраперитонеального введения мемантина (5 мг/кг). В поведенческих экспериментах выявлено что ИЦВ микроинъекция ОК вызывает дефицит пространственной краткосрочной памяти, а исследование окрашенных методом Ниссля гиппокампальных срезов выявило уменьшение количества пирамидных клеток. Хроническое введение мемантина достоверно уменьшает дефицит памяти и нейропатологические изменения в гиппокампе, обусловленные воздействием ОК. На основе полученных результатов следует предположить, что интрацеребровентрикулярная микроинъекция окадаевой кислоты может быть использована в качестве экспериментальной модели для изучения механизмов нейродегенерации и исследования активности препаратов, применяемых при болезни Альцгеймера.

## რეზიუმე

მემანტინი ამცირებს ოკადაიკის მჟავას მიკროინიექციით გამოწვეულ ხანმოკლე მესხიერების დეფიციტს და ჰიპოკამპის ნეირონების კვლამას

ბ. დაშნიანი, ზ. ჭილაძე, მ. ბურჯანაძე,  
გ. ბესელია, ლ. ყრუაშვილი

ბ. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრი, თბილისი; <sup>2</sup>საქართველოს საპატრიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის ქართული უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

ნაშრომში შესწავლილია ვირთაგების ტვინის პარაკუტებში ოკადაიკის მჟავას (OA) მიკროინიექციის გავლენა ჰიპოკამპის პირამიდული ნეირონების კვლამასა და სივრცით ხანმოკლე მესხიერებაზე, ასევე, მემანტინის ქრონიკული ინტრაპერიტონეული შეყვანით ამ დარღვევათა პრევენციის შესაძლებლობა. ექსპერიმენტულ ცხოველებში ტვინის პარაკუტებში ორმხრივად შეყვანებოდა 200 ნგ – 10 მკლ ლიკორში ოკადაიკის

მჟავა, ხოლო საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებში ტვინის პარაკუტებში შეყვანებოდა იგივე მოცულობით არტიფიციული ლიკორი. საკონტროლო და ექსპერიმენტული ჯგუფის ცხოველებში მემანტინის (5 მგ/კგ), ან ფიზიოლოგიური ხსნარის ინტრაპერიტონეული შეყვანა ხორციელდებოდა ყოველდღიურად, OA-ს შეყვანიდან 13 დღის განმავლობაში. გამოვლინდა, რომ აღნიშნული დოზით ტვინის პარაკუტებში ოკადაიკის მჟავას მიკროინიექცია იწვევს ხანმოკლე სივრცითი მესხიერების გაუარესებას და ჰიპოკამპის C 1 ველში პირამიდული ნეირონების სარწმუნო შემცირებას.

მემანტინით ქრონიკული ზემოქმედება სარწმუნოდ ამცირებს OA-ს მიკროინიექციით გამოწვეულ მესხიერების დეფიციტს და ჰიპოკამპის ნეიროპათოლოგიურ ცვლილებებს. მიღებული შედეგები იძლევა ვარაუდის საფუძველს, რომ ტვინის პარაკუტებში ოკადაიკის მჟავას მიკროინიექცია შესაძლოა გამოყენებულ იქნას ექსპერიმენტულ მოდელებად ნეიროდეგენერაციის მექანიზმების კვლევისა და ალცჰეიმერის დაავადების სამკურნალოდ ახალი სამიზნეების განსაზღვრისათვის.

---

## BEHAVIORAL CHARACTERISTICS OF RATS ON VARIOUS HIERARCHICAL LEVEL CAUSED BY ACUTE INFORMATIONAL STRESS

Matitaishvili T., Domianidze T., Emukhvari N., Khananashvili M.

*I. Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi, Georgia*

Modern society relations and problems, such as a variety of socio-political, economic and other environmental factors under which the people permanently live and work leads to serious mental health problems. In order to develop effective prevention and treatment of mental disorders, it is important to study similar disorders in different stages of physiological, biochemical and behavioral changes and to seek the pharmacological ways of its correction by using animal models with human-like mental disorders.

According to the numerous experimental studies, chronic psychogenic stress which developed in response to long-term, moderate stress is the initiating agent causing psycho-neural diseases [3,8,10,11,16,20]. The nature and consequences of developed psychogenic stress depends on individual characteristics of nervous system. The latter is defined with inherent mechanisms as well as with the environmental conditions in which the organism has been developed. Among the factors that affect the formation and realization processes of brain's highest functions, one of the

most important places is occupied by intra social relations [4,5,14,15]. At present, less researches are carried out to study the significance of individuals' social status, as one of the forms of intra-species relations on the formation of adaptability of organism, particularly protective, regulatory and compensatory mechanisms. Subsequently, during stress modeling process, social factors such as social hierarchy and dominant-submissive relations in animal groups should be considered.

Notwithstanding the numerous experimental studies, still the topical issue of modern medicine is to use such experimental model of stressing in which the leading factor will be psychogenic factor. Nowadays, we may use the model of "informational" stress as the adequate experimental model of human psychogenic stress, where the animal (rat) is in condition of three unfavorably combined factors of motivation, time and information [6,13]. This is the animal model which is similar to the stressful condition in which modern human being often exists. Besides, the mentioned model of

„informational“ stress enables to study not only pathological disorders but protective, self-regulating mechanisms as well from the beginning of stressogenic influence till the development of pathological condition [1,16].

The aim of the research was to study behavioral indices of rats on various hierarchical levels in conditions of acute informational stress as well as to study the resistance towards stress in view of their social status.

**Material and methods.** Experiments were performed on 200-250 gm. 60 male white laboratory rats. Initially, we made 15 groups of animals (10 experimental groups, 5 control groups). Each group consisted of 4 male and 1 female adult rats. In order to establish dominant hierarchy, the animals lived together in groups within 1 month. During the experiment the animals were given access to water and food without restriction. Experimental groups of animals were divided into 2 sub-groups: I (n=5) and II (n=5). In I sub-group, after formation and determination of hierarchical relations, we used to stress only dominant rat. In II sub-group – we stressed all the rats of the group. Stressing procedure was performed during 14 days. The animals of Control Group (III) were subject to only determining hierarchical relations (without stressing procedure).

Determination of hierarchical relations in groups of rats was performed during the interspecies conflict in a competitive environment. Two methods were used for that reason. In the first case, we studied the activities of animals under high food motivation condition. After 48 hours food deprivation we used to place food granule (2 gm) in a common domestic cage (of 15X35X45 cm. size), which was sufficient for only one animal. The mentioned procedure was repeated several times during 30 minutes. During the experiment the following has been recorded: a number of bites, food grasping, attempts of food grasping, portions of food taken during the experiment as well as duration of grooming (in seconds).

In the second study case we used to place a water bowl in a common domestic cage (of 15X35X45 cm. size) after 48 hours water deprivation so as to be accessible for only one animal. During 15 minutes of experiment the number of water takings, bites and duration of grooming (in seconds) has been registered. As a result of summarized behavioral parameters (in both conflict situations) the selection of animals was made as of dominant, subdominant and other submissive types. It should be noted, that we only registered the behavior of male rats.

Stressing procedure was performed in a special device, the so-called “stress box” [6], which consisted of 3 equal sized compartments (1 central and 2 lateral) divided with the barrier of 10 cm. The sound signal devices were fixed on right and left sides of the walls (metronome – 2 Hz – on the right, tone – 500Hz – on the left). The floors and barriers

of all the three compartments of the cage were electrified (with 40V alternating current), which gave the possibility of provoking painful electric irritation of rat’s paws.

Stressing procedure was performed with testing of two active avoidance reactions during one experimental session (14 days). We placed the animal in the central (starting) cell. The rat had to act as follows: On metronome (2 Hz) sound signal the animal had to move to the right section of the “stress box” within 5 seconds and had to return to the starting place within 10 seconds, while on tone signal (500 Hz) it had to perform avoidance reaction in the left section within 5 seconds and return to the starting place within 10 seconds. In case of incorrect movements to the conditional signals (metronome, tone) the animal was irritated with painful electric stimulator. Alteration of conditional signals (metronome, tone) was performed according to random number scheme Excel (Microsoft Office 2003). Each subsequent conditional signal within one minute interval was given to the animal only when it was in the central cell. Each trial contained 20 tests.

During the experiment the following behavioral indices have been registered: grooming, duration of rearing (vertical standing) and horizontal standing, a number of intersignal movements.

After every day stressing, we used to replace animals back to their groups in usual environmental conditions.

In order to assess experimental and locomotor activity of rats as well as their fright and emotional condition, the well-known “open field” test was used [19].

The data were processed statistically by Student’s criterion.

**Results and their discussion.** On the basis of summarized behavioral parameters revealed by animals in different conflict situations, we identified dominant, subdominant and other submissive animals both in control and experimental groups. The experiment showed a significant difference in behavioral activities of rats standing on various hierarchical level.

The behavior of dominant rats were significantly different from the other animals’ behavior. The dominants in conflict situations showed high movement activity. In agonist relations, in the circumstances of high nutritional motivation, the dominants were more active compared with the other animals. In particular, the dominants quickly moved within the cage, easily obtained food granules and they did not give other animals access to food. During the experiment the number and attempts of grasping food, the portions of food taken by dominants were reliably higher in comparison with the subdominant and other submissive animals ( $p < 0,01$ ) (Fig.1).

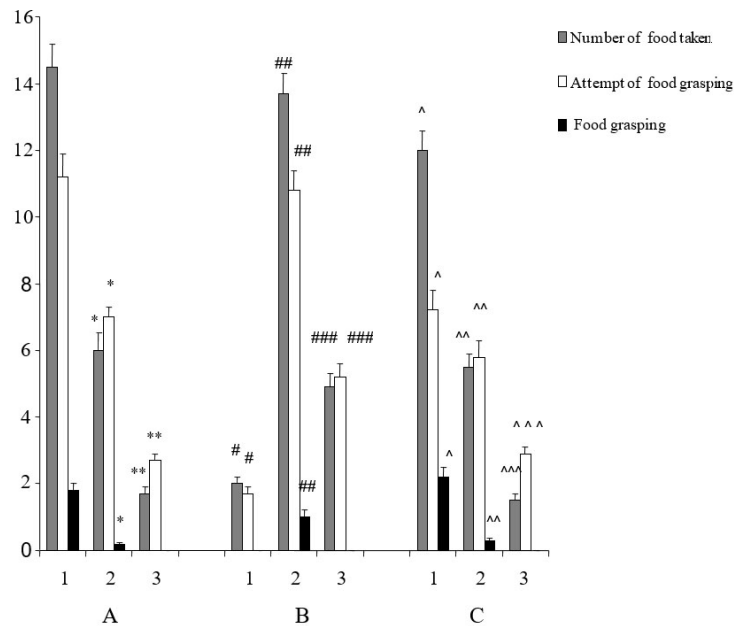


Fig. 1. Behavior of rats in conflict situations under high nutritional motivation  
A - before stressing dominant ; B - after stressing dominant ; C - after 14 days of stressing procedure  
1 - dominants; 2 - subdominants; 3 - other submissive rats  
\* - in comparison with dominants; \*\* - in comparison with subdominants;  
#, ##, ### - compared to the period before stressing procedure of dominant;  
^, ^^, ^^ - compared to the period after stressing procedure of dominant. \*, \*\*, #, ##, ###, ^, ^^, ^^ -  $p < 0,01$

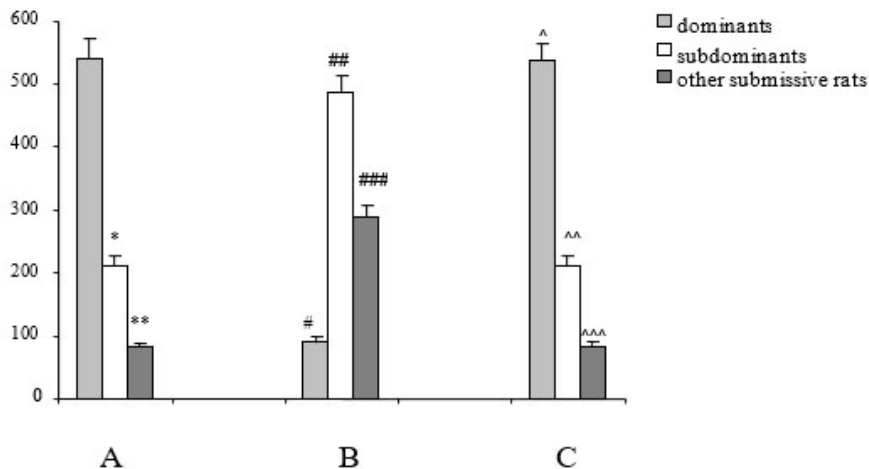


Fig. 2. Duration of water taking (in seconds) in conflict situations under high thirst motivation  
A - before stressing dominant ; B - after stressing dominant ; C - after 14 days of stressing procedure  
\* - in comparison with dominants; \*\* - in comparison with subdominants; #, ##, ### - compared to the period before stressing procedure of dominant; ^, ^^, ^^ - compared to the period after stressing procedure of dominant.  
\*, \*\*, #, ##, ###, ^, ^^, ^^ -  $p < 0,01$

In conflict situations, in the condition of high thirst motivation the dominants actively avoided other animals from the water bowl and did not allow them to drink water. The duration of water drinking by dominants was reliably higher compared to subdominants and other submissive animals ( $p < 0,01$ ) (Fig. 2). The duration of grooming in both conflict situations was ( $26 \pm 3,3$  sec) (Fig. 3).

Subdominant animals were active as well in both conflict situations. They were actively involved in the process of ob-

taining food and water but in comparison with the dominant animals the number of behavioral activities performed by them during this process was reliably lower ( $p < 0,01$ ) (Fig. 1; 2). The duration of grooming was ( $43,3 \pm 4,5$  sec) (Fig. 3).

The other submissive animals showed passive activities in conflict situations. They could not obtain food and water. They almost did not participate in this process. The behavioral activities showed by the submissive animals during the process of obtaining food and water is reliably lower in

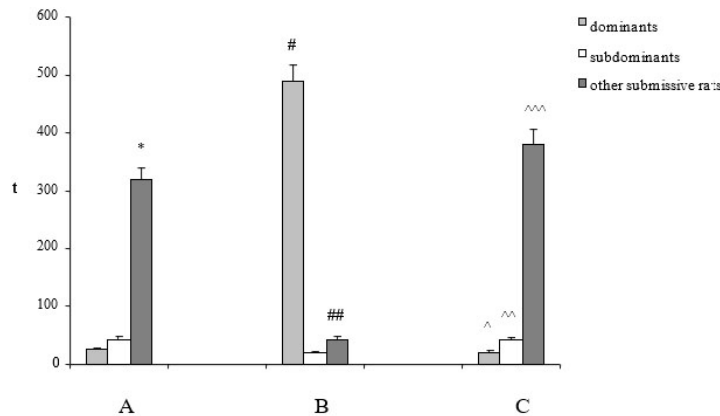


Fig. 3. Duration of grooming ( in seconds) in conflict situations under high nutritional and thirst motivations.

A - before stressing dominant; B - after stressing dominant ; C - after 14 days of stressing procedure

\* - in comparison with dominants and subdominants; #, ## - compared to the period before stressing procedure of dominant; ^, ^^, ^^ - compared to the period after stressing procedure of dominant. \*, \*\*, #, ##, ^, ^^, ^^ -  $p < 0,01$

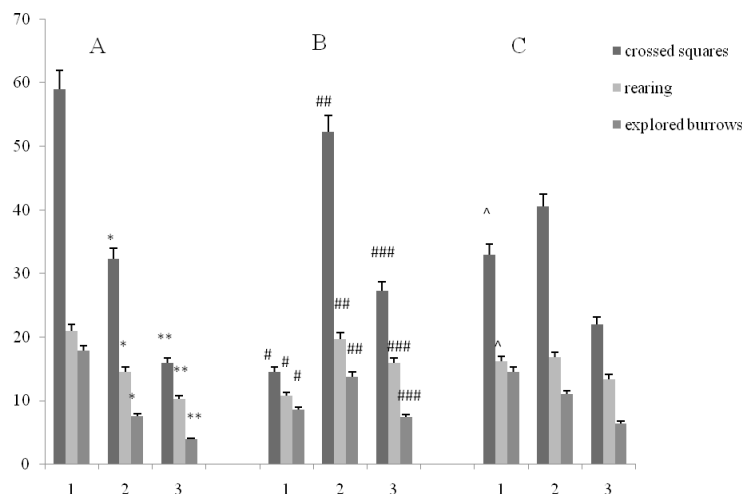


Fig. 4. Behavioral activities of rats in "open field" test

A - before stressing dominant ; B - after stressing dominant ; C - after 14 days of stressing procedure

1 - dominants; 2 - subdominants; 3 - other submissive rats

\* - in comparison with dominants; \*\* - in comparison with subdominants;  
#, ##, ### - compared to the period before stressing procedure of dominant;  
^ - compared to the period after stressing procedure of dominant.  
\*, \*\*, #, ##, ###, ^ -  $p < 0,01$

comparison with the dominants and subdominants ( $p < 0,01$ ) (Fig. 1,2). In both conflict situations the submissive animals were mostly occupied with grooming ( $319 \pm 24,5$  sec.), which is reliably higher compared to the dominant and subdominant animals ( $P < 0,01$ ) (Fig. 3).

According to "open field" test the dominants (in all animal groups) were characterized with high research behavioral activities in comparison with the submissive animals. In particular, the research behavioral activities of dominants such as the number of crossed squares, rearing (vertical standing) and explored burrows reliably higher than in case of subdominant and other submissive animals ( $P < 0,01$ ) (Fig. 4). The latent period of movement activity did not

exceed 1,5 sec. The duration of grooming was ( $6,8 \pm 2,4$  sec.) (Fig. 5). In "open field" test the number of crossed squares, rearing and explored burrows in subdominants was reliably lower compared to dominants ( $P < 0,01$ ). The latent period of movement activity was ( $3 \pm 0,7$  sec.). The duration of grooming was ( $18 \pm 2,7$  sec.). In case of other submissive animals rearing and the number of crossed squares were significantly lower than in dominant and subdominant animals ( $P < 0,01$ ) (Fig. 4). The latent period of movement activity in the "open field" test was ( $3,3 \pm 1,1$  sec.) (Fig. 5). Statistically it is higher ( $P < 0,01$ ) compared to the dominant animals. The duration of grooming was reliably higher in submissive animals than is dominants and subdominants ( $24,5 \pm 2,3$  sec.) ( $P < 0,01$ ).

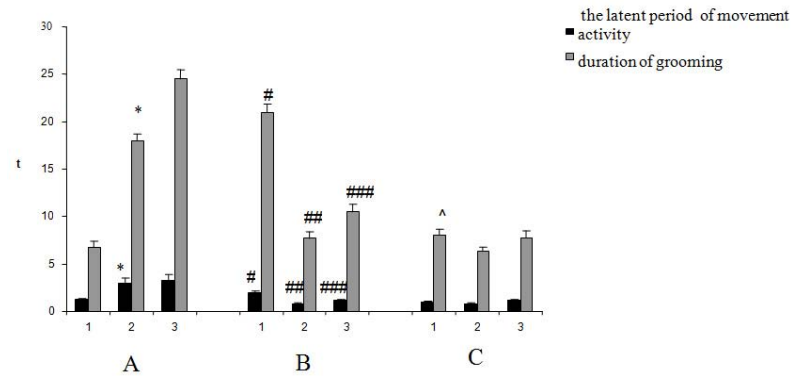


Fig. 5. Behavioral activities of rats in "open field" test. Duration of behavioral activities in vertical axis. A - before stressing dominant ; B - after stressing dominant ; C - after 14 days of stressing procedure 1 - dominants; 2 - subdominants ; 3 - other submissive rats \* - in comparison with dominants; #, ##, ### - compared to the period before stressing procedure of dominant; ^ - compared to the period after stressing procedure of dominant. \*, #, ##, ###, ^ -  $p < 0,01$

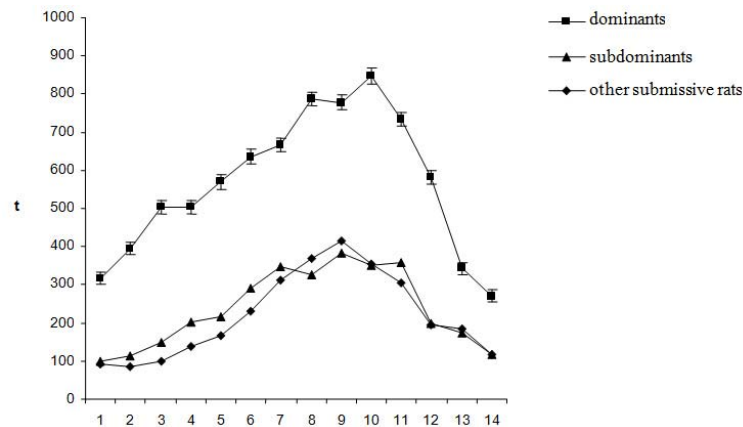


Fig. 6. Index of rearing under stressing procedure (in seconds)

In the condition of stressing procedure the following behavioral activities were observed: rearing and horizontal standings, intersignal movements and grooming. During the experiment (14 days) the percentage index of correct responses to the conditional signals (metronome, tone) did not exceed 30-40% in rats on various hierarchical level.

During the experiment in "stress box" rearing was dominant activity of all the animals standing on various hierarchical level. According to this indicator the difference was identified between the animals standing on various hierarchical level. In particular, the duration of rearing was reliably higher than in subdominants and other submissive animals (Fig. 6). No difference was shown in the number of intersignal movements as well as in the duration of grooming and horizontal standing among the animals on various hierarchical level.

After 14 days stressing procedure in animal groups (I control sub-groups) the behavioral activities of stressed dominants and other animals significantly changed. In the repeated experiment of identification hierarchical relations, the stressed dominant animals became passive (in all groups). They did not participate in the processes of

obtaining food and water. In both conflict situations the duration of grooming was reliably increased ( $p < 0,01$ ). The number and duration of behavioral activities of dominants in regards to obtaining food and water significantly decreased ( $p < 0,01$ ) (Fig. 1,2). After stressing dominant animals this indicator was reliably increased in case of subdominants and other submissive animals. The results showed that behavioral activities of subdominants during the process of obtaining food and water outpaced those of dominants. As regards the submissive animals they were actively involved in food and water obtaining processes after stressing dominant animals. The behavioral activity reliably increased in both conflict situations ( $P < 0,01$ ) (Fig. 1,2). The index of duration of grooming was reliably decreased ( $P < 0,01$ ) (Fig. 3).

After stressing dominant animal in group, the behavioral activities of animals were changed according to the "open field" test as well. The latent period of movement activity in stressed dominant animals significantly increased ( $P < 0,01$ ) ( Fig.5.) while the number of crossed squares, rearing and explored burrows reliably decreased ( $P < 0,01$ )(Fig.4.).The duration of grooming was significantly increased ( $P < 0,01$ ) (Fig. 5). In subdominants and other submissive animals the

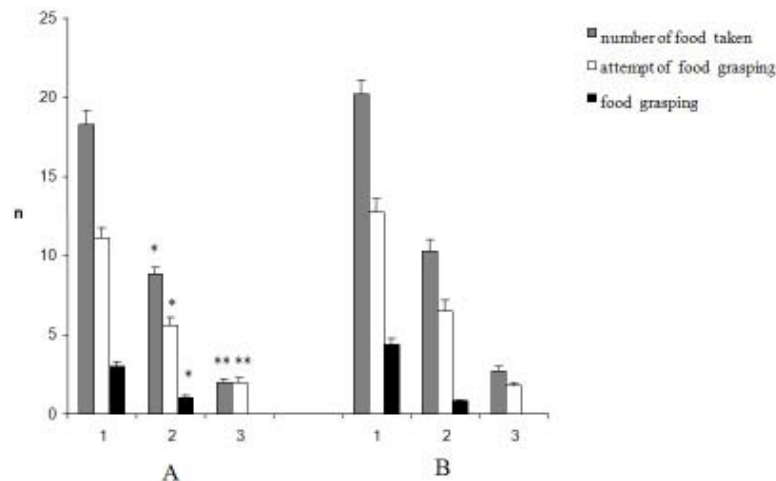


Fig. 7. Behavior of rats in conflict situations under high nutritional motivation.  
A - before stressing all group members; B - after stressing all group members  
1 - dominants; 2 - subdominants; 3 - other submissive rats

\* - in comparison with dominants; \*\* - in comparison with subdominants; \*, \*\* -  $p < 0,01$

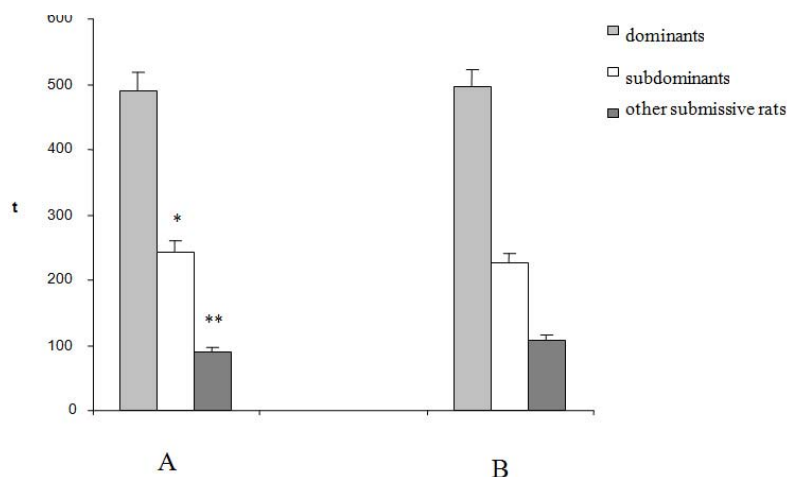


Fig. 8. Duration of water taking (in seconds) in conflict situations under high thirst motivation  
A - before stressing all group members; B - after stressing all group members

\* - in comparison with dominants; \*\* - in comparison with subdominants; \*, \*\* -  $p < 0,01$

latent period of movement activity was reduced significantly ( $P < 0,01$ ) but the number of crossed squares, explored burrows and rearing was increased ( $P < 0,01$ ). The duration of grooming was reliably reduced ( $P < 0,01$ ) (Fig. 5).

Thus, as a result of 14 days stressing procedure of dominant animals the hierarchical relations were changed within groups. Particularly, the dominant animal occupied submissive position, subdominant occupied dominant position while one of the submissive animals took the position of subdominant (Fig. 1,2).

In experimental groups of animals (II sub-group) stressing procedure was performed on all the rats of this group during 14 days. After stressing procedure during the repeated hierarchical relations' identification process, the number and duration of behavioral activities in rats was not significantly changed. Rats, standing on the higher level of the hierarchy (dominants, subdominants)

remained active in both conflict situations and maintained their hierarchical status (Fig. 7,8). According to the "open-field" test, after stressing procedure the number of crossed squares, rearing, explored burrows was reliably decreased and the duration of grooming was increased (Fig. 9,10).

As regards control groups of animals (III) where only determination of hierarchical relations was performed with 14 day intervals, the hierarchical relations of animals were not changed without stressing.

The studies showed that as a result of psychogenic stressing of dominant rats during 14 days (in all animal groups) the hierarchical relations between animals have been changed. In particular, dominant animal occupied the submissive position, subdominant occupied the dominant position and one of the submissive animals took the position of subdominant (Fig. 1,2).



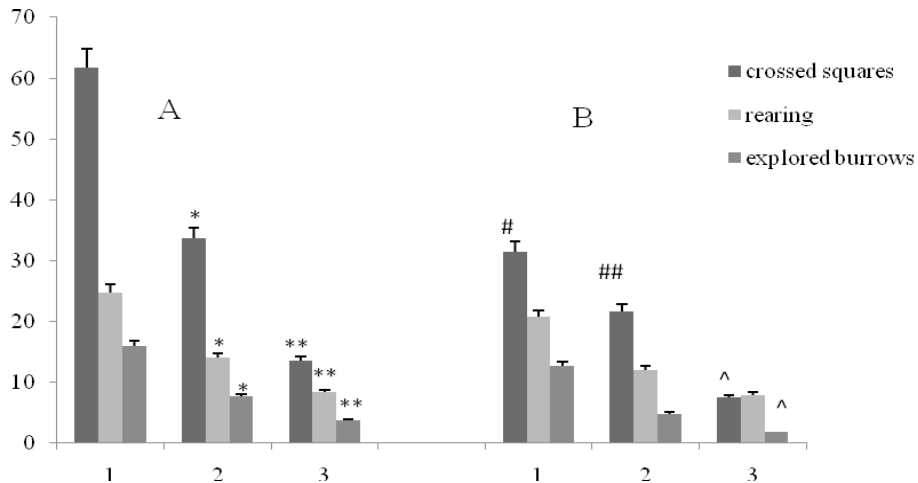


Fig. 9. Behavioral activities of rats in "open field" test  
A - before stressing all group members; B - after stressing all group members  
1 - dominants; 2 - subdominants; 3 - other submissive rats  
\* - in comparison with dominants; \*\* - in comparison with subdominants;  
#, ##, ^ - in comparison with stressing procedure of all group members. \*, \*\*, #, ##, ^ -  $p < 0,01$

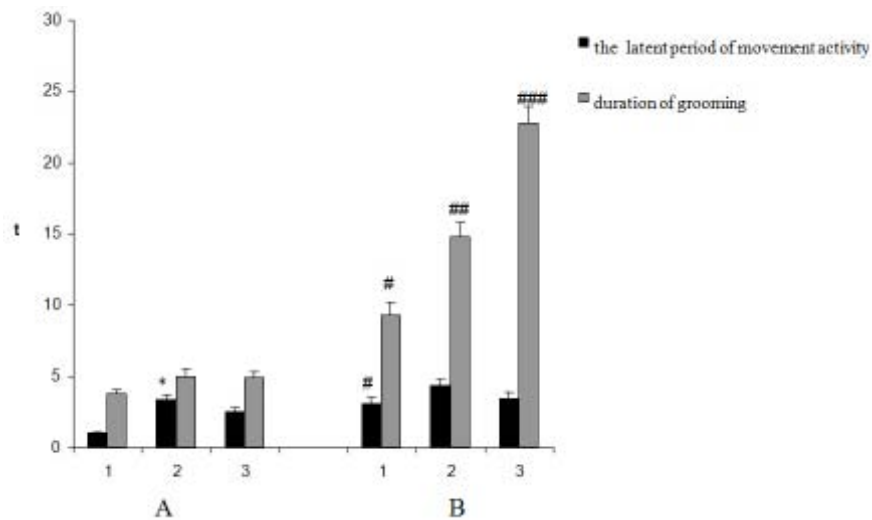


Fig. 10. Behavioral activities of rats in "open field" test.  
Duration of behavioral activities (in seconds) in vertical axis  
A - before stressing all group members; B - after stressing all group members  
1 - dominants; 2 - subdominants; 3 - other submissive rats  
\* - in comparison with dominants; #, ##, ### - in comparison with stressing procedure of all group members.  
\*, #, ##, ### -  $p < 0,01$

While high protective motivation, in conditions of time and pragmatic information deficiency, the rat was not able to behave adequately that enabled the development of informational stress. The stressed dominants became passive (I sub-group). They were no longer involved in food and water obtaining processes that led to the statistically reliable reduction of number and duration of animals' behavioral activities ( $P < 0,01$ ). In both conflict situations the index of duration of grooming reliably increased in behavior of dominant rats ( $P < 0,01$ ) (Fig. 3). In accordance of „open field“ test, the dominant animal demonstrated increased fright and emotional tension, which reflected in decreased movement and trial activities and increased latent period

of movement and duration of grooming (Fig. 4,5). On the basis of existing literary data, grooming is considered as the typical behavioural form of rodents that serves to regulate emotional tension. It is specifically activated during stress and that is why it is considered as one of the behavioral indicators. Some authors consider grooming as a means of relaxation of emotional tension [9,10] and manifestation of brain's self-regulatory action [7,11].

On the basis of existing literary data and the results obtained by us we assume that after stressing the group leader in both conflict situations, the increased index of grooming duration in dominant animals' behavior is one of the manifestations

of self-regulatory behavioral activity and in this situation contributes to the relaxation of negative emotional tension of the stressed dominant animal.

Decreased food and thirst motivation in leader rats as well as increased duration of grooming in both conflict situations gives us reason to conclude that the observed changes in hierarchical relations of animals in experimental groups (I) is caused by reinforcement of fright and anxiety reactions induced by stressing of leader animals. Based on a number of studies, the model of informational stress used by us leads to a violation of motivation, emotion and memory regulation [7,8,11]. It is known from literature that submissive individuals also play an active role in regulation of dominant-submissive relations [4,5,17,18]. It is also acknowledged that the presence of dominant animal in group plays a role of stressogenic factor for submissive animals. Therefore, submissives always aspire to occupy dominant position in changed environmental conditions [4,5]. We suppose that in the conditions of stressing dominant animal, the stressogenic influence on submissive animals was released from the group leader. This is confirmed by reduced emotional tension of subdominants and other submissive animals in conflict situations, in accordance with the „open field“ test.

It should be noted that at the mentioned stage of stress the changes in behavioral activities of dominant animals are of reversible nature. 14 days later, after removing stressogenic influence from dominant animal, initial hierarchical relations will be restored in animals within the groups. Particularly, the dominant still occupies the dominants position, subdominant still takes its initial position. This process is going against the background of reducing emotional tension of stressed dominants (Fig. 1, 2).

The performed studies have demonstrated that after stressing all animals in experimental groups (II sub-group), the behaviour of rats in conflict situations was not reliably changed. The rats standing on the high hierarchical level (dominants, subdominants) remained active in both conflict situations. The dominant maintained its hierarchical status (Fig. 7,8). Despite the fact that during our experiments we performed the stressogenic impact of equal strength on each animal of the group, the influence of stressing procedure on dominant's behaviour was less as it (dominant) had much stronger self-regulating mechanisms. As evidenced by the survey results, submissive rats were stressed much more greatly.

As we already noted, during 14 days simultaneous testing of two active avoidance reactions, the percentage of correct reactions to conditional signals did not exceed 30-40% in animals on various hierarchical level.

Consequently, this task turned out to be completely unresolved for all rats regardless hierarchical status. We suppose

that according to the given experiment („stress box“) the low percentage of correct responses is caused by pragmatic information deficiency. The rats could not perform adequate spatial-orientation behaviour and hence they were irritated with painful electric stimulator accordingly. Thus, according to the given experiment, inability of making correct decisions in the conditions of pragmatic information deficiency and high motivation of self-defensive behaviour, serves as a psychogenic stress inducing factor.

In „stress box“ experiment, rearing was dominating behaviour of all animals standing on various hierarchical level. These very records revealed the difference between the animals of various hierarchical level. Specifically, duration of rearing in dominant animals is statistically reliably higher than in subdominants ( $P < 0,01$ ) and other submissive animals ( $P < 0,01$ ) (Fig. 6). Duration of rearing in subdominant animals is higher (but unreliably) than in submissive animals.

According to the number of intersignal movements and duration of horizontal standings and grooming, the animals of various hierarchical level did not differ from each other. Thus, according to other behavioural activities (excluding rearing) the difference was not revealed in behaviour of animals standing on various hierarchical levels.

Based on the existing literary data and our laboratory studies performed in so called „stress box“, the behavioral activities of rats according to complexity in various conditions were revealed in different duration and ratio that should play a biologically positive role for the individual's adaptation to a stressogenic environment and should be considered as demonstration of self-regulating character of brain [8,11,12,16]. According to the existing data in the conditions of the so-called „hyper-stress“ [11], the index of rearing itself represents the means of demonstrating self-regulating character of brain. The results obtained by our studies confirm that dominant animals are characterized with better developed self-regulating mechanisms of brain.

Research work is supported by Shota Rustaveli National Science Foundation grant FR/260/7-270/13

## REFERENCES

1. Хананашвили М.М. Теория переходного состояния между нормой и патологией. Патологическая физиология и экспериментальная терапия 2012; 1: 3-12.
2. Akhaladze L., Domianidze T., Chikadze A., Khananashvili M., Labadze I. Alterations of emotional indices of the rats in defense responses tests of different complexity. Proc. Georgian Acad. Sci., Biol. Ser. A, 2006; 32(2): 215-221.
3. Bartolomucci A., de Biurrun G., Czech B., van Kampen M., Fuchs E. Selective enhancement of spatial learning under chronic psychosocial stress. Eur. J. Neurosci. 2002; 15: 1863-1866.

4. Blanchard R.J., Dullog L., Markham C. Sexual and aggressive interactions in a visible burrow system with provisioned burrows. *Physiol. Behav.* 2001;72: 245-254.
5. Blanchard D.C., Mckittrick C.R., Hardy M.P., Blanchard R.J. Social stress effect on hormones, brain and behavior. *Hormones and Behavior* 2002; 735-772.
6. Chichinadze K., Domianidze T., Matitaishvili T., Labadze I., Pantsulaia I., Khananashvili M. Psychogenic stress induced depression: a new model. *Jornal of Evolutionary Biochemistry and Physiology* 201; 48(2): 154-159.
7. Domianidze T.R., Khananashvili M.M. Imipramin pharmacological effect on different stages of pscogenic stress in rats. *Proc. Georgian Nat. Acad. Sci., Series Biol.* A 2006; 32(5): 973-978.
8. Domianidze T., Matitaishvili T., Chichinadze K., Pantsulaia I., Khananashvili M. Chronic psychogenic stress as a factor in the formation of behavioral depression. *Georgian Medical News* 2011; 10: 86-91.
9. Kalueff A.V. Today and tomorrow of anxiety research. *Stress Behav.* 2003; 8: 145-147 .
10. Kalueff A.V., Stewart A.M., Craybiel A.M. Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. *Nature Reviews Neuroscence* 2015; 17(1): 45-59.
11. Khananashvili M. Informational Stress. *Georgian Nat. Acad. Sci. Publishing. Tbilisi:* 2008; 167.
12. Khananashvili M.M. Theory of Transition State between Norm and Pathology. *Pathophysiology and Experimental Therapy* 2012; 1: 3-12.
13. Khananashvili M.M., Domianidze T.R. Nervous Model. Certificate 1506474, 1989. S.U.
14. Khonicheva N.M., Czabak-Garbacz R., Krupina N.A. Behavioral consequences of isolation in early ontogeny in rats: selectivity of anxiety. *Journal of Higher Nervous Activity* 2002; 52(6): 743-749.
15. Labadze I., Domianidze T., Matitaishvili T., Papashvili G., Khananashvili M. Social isolacion rearing of rats decreases the nervous systems resistance to the psychogenic stress stimuli. *Georgian Medical News* 2006; 8(137): 82-85.
16. Matitaishvili T., Domianidze T., Chichinadze K., Pantsulaia I., Khananashvili M. Study of self-regulating behavior at different stages of psychogenic stress before the formation of depressive-like state in rats. *Georgian Medical News* 2011; 2: 44-48.
17. Matitaishvili T., Ghogoberidze M., Khananashvili M., Labadze I. Influence of psychogenic stress on hierarchical structure of the small group of rats. *Proc.Georgian Acad. Sci., Biol. Ser.A* 2006; 32(4): 763-767.
18. Matitaishvili T., Ghogoberidze M., Khananashvili M., Labadze I., Domianidze T. Hierarchical structure of small group of rats following stress impact on the group leader. *Proc.Georgian Acad. Sci., Biol. Ser. A* 2006; 32(2): 341-345.
19. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effect of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol.* 2003; 463(1-3): 3-33.
20. Willner P, Mitchell PJ. The validity of animal model of predisposition to depression. *Behav. Pharmacol.* 2002; 13: 169-188.

## SUMMARY

### BEHAVIORAL CHARACTERISTICS OF RATS ON VARIOUS HIERARCHICAL LEVEL CAUSED BY ACUTE INFORMATIONAL STRESS

**Matitaishvili T., Domianidze T., Emukhvari N., Khananashvili M.**

*I. Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi, Georgia*

The aim of our research was to study behavioral indices of rats standing on various hierarchical level in the conditions of acute informational stress as well as their resistance to stress taking into account their social status.

The Animal's behavior has been studied in conflict and agonist conditions against the background of high food and thirst motivation. After determination of hierarchical relations the stressing procedure of two active avoidance reactions was performed simultaneously during one trial (14 days). During the experiment, behavioral indices of rats induced by stressing procedure were registered. We used "open field" test in order to assess animals' emotional state.

The studies performed by us demonstrated behavioral characteristics of animals standing on various hierarchical level. The obtained results showed that after stressing all the animals of the group under stressogenic influence of equal strength, behavior of rats did not reliably differ in conflict situations. Dominants standing on high hierarchical level remained active in both conflict situations. The impact of stress on their behavior was less detected. Dominant animal maintained its hierarchical status. Submissive rats were more greatly influenced by stress. The obtained results confirmed that dominant animals were characterized with more comprehensively developed self-regulating mechanisms of brain.

**Keywords:** informational stress, dominance hierarchy, behavior, rats.

## РЕЗЮМЕ

### ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НАХОДЯЩИХСЯ НА РАЗЛИЧНОМ ИЕРАРХИЧЕСКОМ УРОВНЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ИНФОРМАЦИОННОГО СТРЕССА

**Матитаишвили Т.Ц., Домианидзе Т.Р., Эмухвари Н.М., Хананашвили М.М.**

*Центр экспериментальной биомедицины им. И. Бериташвили, Тбилиси, Грузия*

Целью исследования явилось изучение поведенческих показателей крыс различного иерархического ранга в

условиях острого информационного стресса и исследование устойчивости к стрессу с учетом их социального статуса.

Поведение животных изучено в конфликтных, агонистических взаимоотношениях на фоне высокой пищевой и питьевой мотивации. После определения иерархических взаимоотношений осуществлялась процедура стрессирования путем тестирования реакций активного избегания при одновременном использовании двух раздражителей (тон и метрон) в течение 14 дней. В процессе эксперимента регистрировались связанные с процедурой стрессирования поведенческие показатели. Для оценки эмоционального состояния животных был использован тест «открытого поля».

Проведенные исследования выявили поведенческие особенности животных, находящихся на различных иерархических уровнях. Показано, что после стрессирования всех членов группы в условиях стрессогенного воздействия одинаковой силы поведение крыс в конфликтных ситуациях существенно не меняется. Крысы, находящиеся на высокой ступени иерархии (доминанты), сохраняют активность в обеих конфликтных ситуациях. Влияние процедуры стрессирования на их поведение выражено слабо. Доминант сохраняет свой иерархический статус. В гораздо большей степени стрессирование повлияло на подчиненных крыс. Полученные результаты доказывают, что животные-доминанты характеризуются более совершенным развитием механизмов саморегуляции головного мозга.

### რეზიუმე

სხვადასხვა იერარქიულ საფეხურზე მდგომი ვირთაგვების ქცევითი თავისებურებები მწვავე ინფორმაციული სტრესის პირობებში

თ. მათითაიშვილი, თ. დომინიძე, ნ. ემუხვარი, მ. ხანანაშვილი

ი. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრი, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სხვადასხვა იერარქიული რანგის ვირთაგვების ქცევითი მახვენებლების შეფასება მწვავე ინფორმაციული სტრესის პირობებში და სტრესისადმი მდგრადობის შესწავლა მათი სოციალური სტატუსის გათვალისწინებით.

ცხოველების ქცევა შესწავლილი იქნა კონფლიქტურ, აგონისტურ ურთიერთობებში მაღალი კვებითი და წყურვილის მოტივაციის ფონზე. იერარქიული ურთიერთობების განსაზღვრის შემდეგ ხორციელდებოდა სტრესირების პროცედურა ორი აქტიური განრიდების რეაქციის ერთდროული ტესტირების პირობებში, 14 დღის განმავლობაში. ექსპერიმენტის მსვლელობისას რეგისტრირდებოდა სტრესირების პროცედურასთან დაკავშირებული ქცევითი მახვენებლები. ცხოველების ემოციური მდგომარეობის შესაფასებლად გამოყენებული იქნა “ღია ველის” ტესტი.

ჩატარებული კვლევებით გამოვლინდა განსხვავებულ იერარქიულ საფეხურზე მდგომი ცხოველების ქცევითი თავისებურებები. ნახვენებია, რომ ჯგუფის ყველა წევრის სტრესირების შემდეგ, ერთნაირი ძალის სტრესოგენური ზემოქმედების პირობებში, ვირთაგვების ქცევა კონფლიქტურ სიტუაციაში სარწმუნოდ არ იცვლება. იერარქიის მაღალ საფეხურზე მდგომი ვირთაგვები (დომინანტები) რჩებიან აქტიური ორივე კონფლიქტურ სიტუაციაში, სტრესირების პროცედურის გავლენა მათ ქცევაზე ნაკლებადაა გამოხატული, დომინანტი ინარჩუნებს თავის იერარქიულ სტატუსს. გაცილებით ღრმად სტრესირებული არიან სუბორდინანტები. მიღებული მონაცემები ადასტურებს, რომ დომინანტი ცხოველები ხასიათდებიან ტვინის თვითმარეგულირებელი მექანიზმების უფრო სრულყოფილი განვითარებით.

## АНАЛИЗ СВЯЗИ THR83ALA ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА МАТРИКСНОГО GLA-ПРОТЕИНА С РАЗВИТИЕМ КАЛЬЦИФИКАЦИИ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

<sup>1</sup>Атаман Ю.А., <sup>1</sup>Ермоленко Т.С., <sup>2</sup>Грек А.В., <sup>1</sup>Жаркова А.В., <sup>3</sup>Овечкин Д.В.

*Сумской государственной университет, медицинский институт, <sup>1</sup>кафедра семейной и социальной медицины; <sup>2</sup>кафедра внутренней медицины, <sup>3</sup>кафедра хирургии с детской хирургией и курсом урологии Украина*

Кальцификация артерий нижних конечностей (КА) является фактором риска сопутствующих острых сердечно-сосудистых событий, а также гангрены нижних конечностей [1,3]. Согласно современным исследованиям, кальцификация периферических артерий в старших возрастных группах весьма распространена и составляет от 33,3% [1] до 50,2% [4].

Известно, что матриксный Gla-протеин (MGP) является мощным ингибитором сосудистой кальцификации. Он относится к представителям группы зависимых от витамина К белков, содержащих остатки  $\gamma$ -карбоксиглутаминовой кислоты (Gla). К этой же группе относятся белки, участвующие в коагуляции крови: протромбин, факторы VII, IX и X, протеины С, S и Z. В состав молекулы MGP человека (мол. масса 10 кДа) входят 84 аминокислотных остатка, пять из которых представлены  $\gamma$ -карбоксиглутаминовой кислотой (Gla) [13]. Заново синтезированная молекула MGP состоит из 103 остатков аминокислот (84 - это зрелый белок, 19 - трансмембранный сигнальный пептид) и содержит, начиная с N-конца, три функциональных участка: трансмембранный сигнальный пептид (transmembrane signal peptide), вероятный сайт, который распознает  $\gamma$ -карбоксилазу (putative recognition site for  $\gamma$ -carboxylase), домен, содержащий остатки Gla (Gla-containing domain) [6].

Образованный в клетках MGP испытывает посттрансляционную модификацию, которая заключается в карбоксилировании пяти остатков глутаминовой кислоты (Glu) с образованием  $\gamma$ -карбоксиглутаминовой кислоты. Указанная реакция катализируется ферментом  $\gamma$ -глутамилкарбоксилазой (GGCX) и является сопряженной с окислением восстановленной формы витамина К (гидрохинона) в 2,3-эпоксид витамина К. Таким образом, без окисления витамина К не может происходить карбоксилирование Glu-остатков молекулы MGP. В свою очередь достаточное количество витамина К для реакции карбоксилирования MGP зависит от состояния обратной реакции его восстановления, которая осуществляется посредством витамин К-эпоксидредуктазного комплекса (VKOR). В дополнение к  $\gamma$ -карбоксилированию, MGP может подвергаться и другим посттрансляционным модификациям, в частности, специфическому протеолитическому расщеплению в С-терминальной области молекулы [9, 15] и фосфорилированию трех сериновых остатков в N-концевом хвосте [11].

Ген MGP у человека представлен одной копией, которая содержится в коротком плече 12-й хромосомы (12p12.3-13.1) [6]. В нем закодировано 84 аминокислотных остатка зрелого белка и 19 остатков трансмембранного сигнального пептида. Длина гена - 3900 нуклеотидов, он состоит из 4 экзонов, разделенных тремя большими промежуточными последовательностями (интронами), на которые приходится более 80% общей длины гена.

Однонуклеотидный полиморфизм Thr83Ala (rs4236) представляет собой перестройку, которая заключается в том, что в 4-м экзоне гена MGP, в 3748 позиции, тимин замещен на аденин. Это приводит к тому, что 83-я аминокислота молекулы MGP треонин заменяется на аланин. Изменения первичной структуры белковых молекул проявляются в разнообразных функциональных нарушениях, в случае MGP следует ожидать изменений тех известных эффектов белка, которые связаны с его антикальциногенными свойствами. К таким относятся, например, связывание с ионами кальция и кристаллами гидроксиапатита; с компонентами внеклеточного матрикса; взаимодействие с костным морфогенетическим протеином (BMP-2) и устранение эффектов последнего; участие в регуляции апоптоза [7,8].

Цель исследования - анализ взаимосвязи Thr83Ala полиморфизма гена матриксного Gla-протеина с развитием кальцификации артерий нижних конечностей.

**Материал и методы.** Исследовано 80 пациентов, из них 40 имели признаки кальцификации артерий нижних конечностей (основная группа) и 40 (контрольная группа) не имели. Больные с диагностированным сахарным диабетом не входили ни в одну из исследуемых групп с целью исключения влияния этого фактора на исследуемую взаимосвязь. Контрольная и основная группы больных не отличались по соотношению лиц разного пола ( $p=0,369$ ), среднему возрасту ( $74,4\pm 0,76$  против  $74,4\pm 0,97$ ,  $p=0,984$ ) и показателю индекса массы тела ( $26,02\pm 0,22$  против  $26,01\pm 0,35$ ,  $p=0,999$ ). Наличие КА определяли на основании рентгенологических и доплерографических данных [14].

Исследования проводились с соблюдением основных положений Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине, а также Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения научных медицинских исследований с участием человека (1964, с последующим

дополнениями, включая версию 2000 года). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследованиях с последующим забором венозной крови на генетический анализ.

Определение полиморфизма генов проводили посредством метода полимеразной цепной реакции (polymerase chain reaction, PCR) с последующим анализом длины рестрикционных фрагментов при обнаружении их путем электрофореза в агарозном геле (restriction fragment length polymorphism, RFLP).

Для генотипирования венозную кровь забирали в стерильных условиях в моноветт объемом 2,7 мл с калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты («Sarstedt», Германия), которая служила антикоагулянтом. Кровь замораживали и хранили при температуре -20 ° С. ДНК из нее выделяли, используя наборы «Изоген» (Россия).

Аmplификацию участка гена, содержащего сайт Thr83Ala полиморфизма в 4-м экзоне гена MGP проводили посредством пары специфических праймеров: прямого (sense) - 5'-TCAATAGGGAAGCCTGTGATG-3' и обратного (antisense) - 5'-AGGGGGATACAAAATCAGGTG-3'. Программа амплификации была следующей: денатурация - 94°C (50 с), гибридизация праймеров - 64,5°C (45 с), элонгация - 72°C (1 мин), вместе 33 цикла. В дальнейшем 6 мкл продукта амплификации инкубировали при 37°C в течение 18 часов с 3 ЕД рестриктазы Eco477 в буфере R следующего состава: 10 mM трис-HCl (pH 8,5), 10 mM хлорида магния 100 mM хлорида калия и 0,1 мг/мл альбумина. Наличие в 3748 позиции гена MGP аденина препятствует рестрикции, а при замене аденина на тимин рестриктаза расщепляет

амплифицированный участок 4-го экзона (длина - 173 пары азотистых оснований) на два фрагмента: 127 и 46 пар оснований (рис. 1).

Аmplификаты полученного фрагмента гена MGP после рестрикции разбавляли в 2,5% агарозном геле, содержащем бромистый этидий. Горизонтальный электрофорез (0,1А; 140V) проводили в течение 20 мин. Визуализацию ДНК после электрофореза осуществляли посредством трансиллюминатора («Биоком», Россия).

Статистический анализ проводили с использованием программы SPSS-17. При этом достоверность различий определяли по критерию  $\chi^2$  Пирсона и критерию t Стьюдента. Значение  $p < 0,05$  считали достоверным. Отношение шансов (OR) и 95%-й доверительный интервал рассчитывали посредством метода логистической регрессии.

**Результаты и их обсуждение.** Существуют три возможных варианта генотипа по полиморфизму Thr83Ala: Thr/Thr (гомозиготы по основному аллелю), Thr/Ala (гетерозиготы) и Ala/Ala (гомозиготы по минорному аллелю) (рис. 1).

Генотипирование больных КА и пациентов контрольной группы по данному SNP позволило установить частоту, с которой встречаются определенные варианты этого гена, а также сравнить их между группами в целом и по полу. При проверке соответствия распределения аллелей закону Харди-Вайнберга установлено, что соотношение Thr- и Ala-аллелей в обеих группах существенно не отличается от ожидаемых (таблица 1).

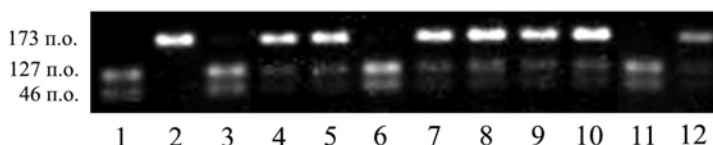


Рис. 1. Результаты электрофореза фрагментов гена MGP после проведения рестрикции для выявления полиморфизма Thr83Ala. Дорожки 1, 3, 6, 11 соответствуют Thr/Thr-генотипу; 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12 – Thr/Ala-генотипу; 2 – Ala/Ala-генотипу

Таблица 1. Частота аллельных вариантов и аллелей по Thr83Ala полиморфизму гена MGP в контрольной группе и у больных КА нижних конечностей

	Контрольная группа	Больные КА
Гомозиготы Thr/Thr, n (%)	13 (32,5)	16 (40,0)
Гетерозиготы Thr/Ala, n (%)	17 (42,5)	19 (47,5)
Гомозиготы Ala/Ala, n (%)	10 (25,0)	5 (12,5)
Thr-аллель	0,54	0,64
Ala-аллель	0,46	0,36
$\chi^2$	0,84	0,03
p	>0,05	>0,05

Таблица 2. Связь Thr83Ala полиморфизма гена MGP с КА

		Контроль	КА	Всего
Thr/Thr	n	13	16	29
	%	32,5	40,0	
Thr/Ala	n	17	19	36
	%	42,5	47,5	
Ala/Ala	n	10	5	15
	%	25,0	12,5	
Всего	n	40	40	80
	100%		100%	

$$\chi^2=2,088; p=0,352$$

Таблица 3. Связь Thr83Ala полиморфизма гена MGP с кальцификацией артерий (КА) у лиц женского и мужского пола

Пол	Генотип		Контроль	КА	Вместе
Женщины	Thr/Thr	n	3	8	11
			18,8%	40,0%	
	Thr/Ala	n	8	11	19
			50,0%	55,0%	
	Ala/Ala	n	5	1	6
			31,3%	5,0%	
	Вместе	n	16	20	36
			100%	100%	
$\chi^2 = 5,031; P = 0,081$					
Мужчины	Thr/Thr	n	10	8	18
			41,7%	40,0%	
	Thr/Ala	n	9	8	17
			37,5%	40,0%	
	Ala/Ala	n	5	4	9
			20,8%	20,0%	
	Вместе	n	24	20	44
			100%	100%	

$$\chi^2=0,029; p=0,986$$

В таблице 2 приведены результаты анализа частот отдельных фенотипов по полиморфизму Thr83Ala у лиц контрольной группы и у больных КА. Они свидетельствуют о том, что у пациентов с артериокальцинозом соотношение гомозигот по основному аллелю (Thr/Thr), гетерозигот (Thr/Ala) и гомозигот по минорному аллелю (Ala/Ala) составляет 40%, 47,5% и 12,5%, тогда как в контрольной группе соответствующие показатели составили 32,5%, 42,5% и 25%, соответственно. Различия в распределении различных вариантов генотипа между больными КА и здоровыми пациентами не выходили за пределы статистической значимости (рис. 2).

Анализ распределения генотипов в группах сравнения с учетом пола позволил выявить существенные различия. В целом соотношение двух вариантов гомозигот и

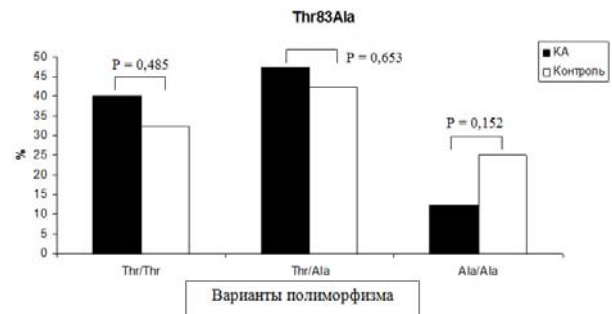


Рис. 2. Частота аллельных вариантов гена MGP по полиморфизму Thr83Ala у больных кальцификацией артерий и в контрольной группе. p – статистическая значимость отличия показателей по  $\chi^2$ -критерию Пирсона

гетерозигот (Thr/Thr: Thr/Ala: Ala/Ala) у женщин и мужчин с признаками и без признаков КА не отличалось (таблица 3). У пациентов основной группы оно составило 40%: 55%: 5% для женщин и 40%: 40%: 20% для мужчин, а у пациентов контрольной группы - 18,8%: 50%: 31,2% для женщин (p=0,081) и 41,7%: 37,5%: 20,8% для мужчин (p=0,986). Однако, легко заметить, что по этому показателю представители женского пола значительно ближе к уровню статистической значимости, чем мужчины.

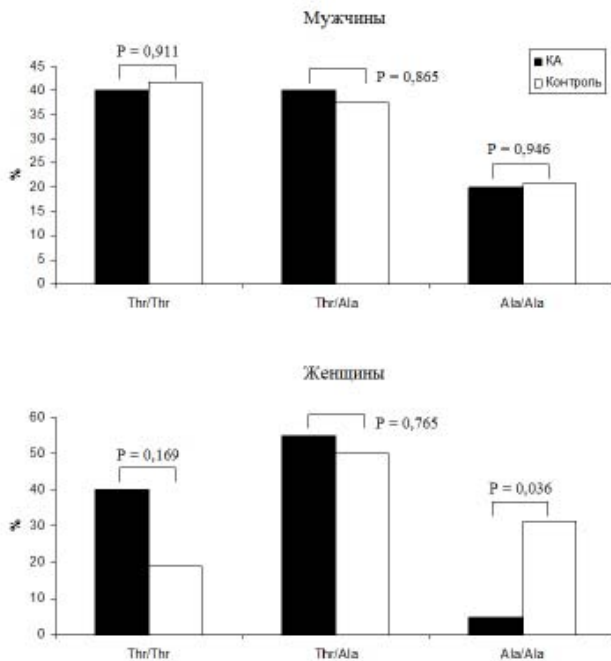


Рис. 3. Частота аллельных вариантов гена MGP по полиморфизму Thr83Ala у мужчин и женщин с кальцификацией артерий и контрольной группы

У женщин разница между больными КА и пациентами без признаков артериокальциноза обнаружилась при сравнении отдельных вариантов генотипа между со-

бой (рис. 3). Так, выяснилось, что в контроле частота гомозигот по минорному аллелю (Ala/Ala) существенно выше, чем у больных КА (31,3% против 5%, p=0,036).

С помощью метода логистической регрессии показано (таблица 4), что у женщин с генотипом Ala/Ala риск КА составляет 0,075, если сравнить с гомозиготами по основному аллелю (p=0,044). Это означает, что женщины пожилого и старческого возраста, гомозиготные по аллелю Ala, имеют риск КА в 10 раз ниже, чем гомозиготные по Thr/Thr.

Уменьшенный риск КА у женщин с генотипом Ala/Ala проявляется и при сравнении их с носителями Thr-аллеля (Thr/Thr + Thr/Ala) и отдельно гетерозиготами (Thr/Ala). В первом случае показатель OR равен 0,116, а во втором - 0,145. Однако, ввиду недостаточного количества наблюдений показатель статистической значимости p не достигал общепринятого уровня достоверности и составил, соответственно, 0,063 и 0,105.

Таким образом, есть основания утверждать, что у женщин носительство Ala-аллеля в гомозиготном состоянии является фактором, который предотвращает развитие артериокальциноза в пожилом и старческом возрасте.

Полученные нами результаты молекулярно-генетических исследований у больных с кальцификацией артерий нижних конечностей имеет смысл сравнить с данными, которые были получены при изучении связи Thr83Ala полиморфизма гена MGP с самыми распространенными осложнениями атеросклеротического процесса - острым коронарным синдромом (ОКС) и ишемическим атеротромботическим инсультом (ИАТИ). Данные для такого сравнения заимствованы из работ лаборатории молекулярно-генетических исследований Сумского государственного университета [2,5] и представлены в таблице 5.

Таблица 4. Результаты анализа ассоциации Thr83Ala полиморфизма гена MGP с кальцификацией артерий нижних конечностей у женщин и мужчин (метод логистической регрессии)

							95% ДИ для OR	
	Генотип	КР	СП	СВ	Р	OR	Нижний	Верхний
Всего	Thr/Ala	-0,096	0,501	0,037	0,847	0,908	0,340	2,424
	Ala/Ala	-0,901	0,663	1,847	0,174	0,406	0,111	1,490
Женщины	Thr/Ala	-0,662	0,821	0,651	0,420	0,516	0,103	2,578
	Ala/Ala	-2,590	1,288	4,046	0,044	0,075	0,006	0,936
Мужчины	Thr/Ala	0,105	0,679	0,024	0,877	1,111	0,294	4,205
	Ala/Ala	0	0,822	0	1	1	0,200	5,004

примечание: данные относительно гомозигот по основному аллелю (Thr/Thr). КР – коэффициент регрессии, СП – стандартная ошибка, СВ – статистика Вальда, Р – показатель статистической значимости, OR – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал



Таблица 5. Сравнительная характеристика распределения генотипов (в %) по Thr83Ala полиморфизму гена MGP у больных КА, острым коронарным синдромом [2] и ишемическим атеротромботическим инсультом [5]

	Генотип	Артериальная кальцификация		Острый коронарный синдром		Ишемический атеротромботический инсульт	
		Болезнь (n=40)	Контроль (n=40)	Болезнь (n=115)	Контроль (110)	Болезнь (170)	Контроль (124)
Thr83Ala	Thr/Thr	40,0	32,5	42,6	43,9	39,4	34,7
	Thr/Ala	47,5	42,5	43,5	45,9	48,8	53,2
	Ala/Ala	12,5	25,0	13,9	10,2	11,8	12,1

Приведенные данные указывают на то, что процент гомозигот по минорному аллелю (Ala/Ala) в контрольной группе у пациентов с КА более чем в два раза выше (25%) в сравнении с контрольными группами двух других исследований - 10,2% и 12,1%, соответственно. В то же время, процент таких гомозигот у больных КА (12,5%) отвечал приведенным выше данным для контроля в исследованиях с ОКС и ИАТИ.

Принимая во внимание то обстоятельство, что гомозиготное состояние минорного аллеля у женщин препятствует развитию КА, достаточно привлекательным является предположение о возрастном (физиологическом) происхождении артериокальциноза. Поскольку в нашей работе пациенты с сахарным диабетом, который является одной из главных причин КА, исключались как из основной, так и из контрольной групп, то наличие или отсутствие поражений артерий должно быть обусловлено какими-то другими факторами. Одним из таких факторов может быть наследственная предрасположенность, обусловленная в том числе Thr83Ala полиморфизмом гена MGP. По нашим данным, можно предположить, что женщины, гомозиготные по Ala-аллелю, являются «ненормальными», или «больными наоборот», поскольку их генетический фактор препятствует физиологическому старению артерий, присутствующему большинству людей в пожилом и старческом возрасте.

Замена треонина на аланин в 83-м положении молекулы MGP может сказываться на функциональных характеристиках белка и, в частности, на его антикальциногенных свойствах. Последние, как известно, по сей день крайне значимы для предотвращения кальцификации артерий, о чем свидетельствуют опыты с генетически нокаутированными MGP (-/-) мышами [10] и воспроизведение с помощью варфарина медиакальциноза аорты у крыс [12].

Выводы:

1. Отличия в распределении разных вариантов генотипа по Thr83Ala полиморфизму гена MGP между больными КА и здоровыми пациентами не выходят за границы статистической значимости.

2. При распределении генотипов в группах сравнения, разделенных по полу, установлено, что у женщин носительство Ala-аллеля в гомозиготном состоянии является фактором, который предотвращает развитие атеросклероза Менкеберга в пожилом и старческом возрасте.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Атаман Ю.А., Грек А.В., Ополонская Н.А. Исследование кальцификации сосудов нижних конечностей у лиц пожилого и старческого возраста. Актуальные проблемы современной медицины 2011; 4 (36): 8-12.
- Гарбузова В.Ю., Гур'янова В.Л., Пархоменко О.М. и др. Частота аллельных вариантов гена матричного Gla-протеина (MGP) у больных острым коронарным синдромом. Физиологический журнал 2011; 57 (3): 16-24.
- Ена Л.М., Артеменко В.О., Чаяло П.П. и др. Артериальная жесткость и сосудистое старение Практическая ангиология 2007; 2: 14-15.
- Талаева Т.В., Братусь В.В. Сосудистая кальцификация: реальность и гипотезы. Здоровье Украины 2014; 11(2): 56-60.
- Ataman A.V., Garbusova V.Y., Ataman Y.A. Investigation of the MGP promoter and exon 4 polymorphism in patients with ischemic stroke in the Ukrainian population. J. Cell. Mol. Biol. 2012; 10 (1):19-26.
- Cancela L., Hsieh C.-L., Francket U. Molecular structure, chromosome assignment, and promoter organization of the human matrix Gla protein gene. J. Biol. Chem. 1990; 265: 15040-15048.
- Doherty T.M., Fitzpatrick L.A., Inoue D. et al. Molecular, endocrine, and genetic mechanisms of arterial calcification. Endocrine Rev. 2004; 25: 629-672.
- Guzman R.J. Clinical, cellular and molecular aspects of arterial calcification. J. Vasc. Surg. 2007; 45 (Suppl A): 57-63.
- Hale J.E., Williamson M.K., Price P.A. Carboxyl-terminal proteolytic processing of matrix Gla protein. J. Biol. Chem. 1991; 266: 21145-21149.
- Luo G., Ducey P., McKee M.D. et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. Nature 1997; 386: 78-81.

11. Price P.A., Rice J.S., Williamson M.K. Conserved phosphorylation of serines in the Ser-X-Glu/Ser(P) sequences of the vitamin K-dependent matrix Gla protein from shark, lamb, rat, cow, and human. *Protein Sci.* 1994; 3: 822- 830.
12. Price P.A. Faus S.A., Williamson M.K. Warfarin causes rapid calcification of the elastic lamellae in rat arteries and heart valves. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998; 18: 1400-1407.
13. Price P.A., Faus S.A., Williamson M.K. Warfarin-induced artery calcification is accelerated by growth and vitamin D. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000; 20: 317-327.
14. Raggi P., Bellasi A. Clinical assessment of vascular calcification. *Adv. Chronic Kidney Dis.* 2007; 14 (1): 37-45.
15. Rice J.S., Williamson M.K., Price P.A. Isolation and sequence of the vitamin K-dependent matrix Gla protein from the calcified cartilage of the soupfin shark. *J. Bone Min. Res.* 1994; 9: 567-576.

## SUMMARY

### ANALYSIS OF THE ASSOCIATION BETWEEN THR83ALA POLYMORPHISM OF MATRIX GLA-PROTEIN GENE AND LOWER EXTREMITY ARTERIAL CALCIFICATION

<sup>1</sup>Ataman Yu., <sup>1</sup>Ermolenko T., <sup>2</sup>Grek A., <sup>1</sup>Zharkova A., <sup>3</sup>Ovechkin D.

*Sume State University, Medical Institute, <sup>1</sup>Department of Family and Social Medicine, <sup>2</sup>Department of Internal Medicine; <sup>3</sup>Department of Surgery and Pediatric Surgery with the course of Urology, Ukraine*

Lower extremity arterial calcification (AC) is a common pathological process that has independent significance in the pathogenesis of many cardiovascular diseases. There is evidence that development of AC associated with Thr83Ala polymorphism of matrix GLA-protein gene.

The objective of this study was to examine the association between Thr83Ala polymorphism of matrix Gla protein (MGP) gene and AC in male and female subjects of the Ukrainian population.

40 AC and 40 healthy controls were recruited to the study. MGP exon 4 Thr83Ala polymorphism (rs 4236) was examined using the polymerase chain reaction with subsequent restriction fragment length polymorphism analysis.

The obtained data show that the substitution of threonine by alanine at position 83 in a molecule of MGP can affect its functional characteristics and anticalcinogenic properties. The distribution of homozygous carriers of a major allelic variant, and heterozygous and homozygous minor allele variants of Thr83Ala polymorphism in patients with AC was 40,0%, 47,5%, and 12,5% respectively. The cor-

responding distribution of variants in the control group was 32,5%, 42,5% and 25,0% ( $p=0,352$  by  $\chi^2$  –test). In women who are carriers of Ala/Ala-variant, CA occurs more rarely than in men with the same genotype ( $p=0,036$  by  $\chi^2$  –test).

The substitution of threonine by alanine due to MGP exon 4 Thr83Ala polymorphism is related to a decrease in the likelihood of CA in female persons in the Ukrainian population.

**Keywords:** lower extremity arterial calcification, matrix Gla protein, gene polymorphism.

## РЕЗЮМЕ

### АНАЛИЗ СВЯЗИ THR83ALA ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА МАТРИКСНОГО GLA-ПРОТЕИНА С РАЗВИТИЕМ КАЛЬЦИФИКАЦИИ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

<sup>1</sup>Атаман Ю.А., <sup>1</sup>Ермоленко Т.С., <sup>2</sup>Грек А.В., <sup>1</sup>Жаркова А.В., <sup>3</sup>Овечкин Д.В.

*Сумской государственной университет, медицинский институт, <sup>1</sup>кафедра семейной и социальной медицины; <sup>2</sup>кафедра внутренней медицины, <sup>3</sup>кафедра хирургии с детской хирургией и курсом урологии, Украина*

Кальцификация артерий нижних конечностей является весьма распространенным патологическим процессом, который имеет самостоятельное значение в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Имеются данные, что с развитием кальциноза артерий связана мутация гена протеина MGP по Thr83Ala полиморфизму.

Целью исследования явился анализ взаимосвязи Thr83Ala полиморфизма гена матриксного Gla-протеина с развитием кальцификации артерий нижних конечностей.

В исследовании приняли участие 80 пациентов, 40 из них имели признаки кальциноза артерий нижних конечностей. Определение аллельного Thr83Ala полиморфизма гена белка MGP проведено методом полимеразной цепной реакции, установление наличия кальцификации артерий – рентгенологическим и доплерографическим методами.

Полученные данные свидетельствуют о том, что замена треонина на аланин в 83-м положении молекулы MGP может сказываться на функциональных свойствах белка, в частности, на его антикальциногенных свойствах. При распределении генотипов в группах сравнения, разделенных по полу, установлено, что у женщин носительство Ala-аллеля в гомозиготном состоянии является фактором, который предохраняет развитие артериального кальциноза в пожилом и старческом возрасте.

## რეზიუმე

მატრიქსულ Gla-პროტეინის გენის Thr83Ala პოლიმორფიზმის კავშირის ანალიზი ქვედა კიდურების არტერიების კალციფიკაციის განვითარებასთან

<sup>1</sup>ი.უ. ატამანი, <sup>1</sup>ტ. ერმოლენკო, <sup>2</sup>ა. გრეკი, <sup>1</sup>ა. ჟარკოვა, <sup>3</sup>დ. ოვეჩკინი

სუმის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, სამედიცინო ინსტიტუტი, <sup>1</sup>საოჯახო და სოციალური მედიცინის კათედრა; <sup>2</sup>შინაგანი მედიცინის კათედრა; <sup>3</sup>ქირურგიის კათედრა ბავშვთა ქირურგიის და უროლოგიის მიმართულებით, უკრაინა

ქვედა კიდურების არტერიების კალციფიკაცია გავრცელებული პათოლოგიური პროცესია, რომელიც ხშირად წარმოადგენს გულ-სისხლძარღვთა დაავადების გამომწვევ მიზეზს. ლიტერატურის მონაცემების მიხედვით, არტერიების კალციფიკაციის განვითარება კავშირშია Thr83Ala პოლიმორფიზმის MGP გენის პროტეინის მუტაციასთან.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა მატრიქსულ Gla-პროტეინის გენის Thr83Ala პოლიმორფიზმის ქვედა კიდურების არტერიების კალციფიკაციის განვითარებასთან კავშირის ანალიზი.

გამოკვლეულია 80 პაციენტი, მათ შორის 40-ს აღენიშნებოდა ქვედა კიდურების არტერიების კალციფიკაციის ნიშნები. MGP გენის პროტეინის ალელური Thr83Ala პოლიმორფიზმის განსაზღვრა ხდებოდა პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდით, არტერიების კალციფიკაციის არსებობა - რენტგენოლოგიური და დოპლეროგრაფიული მეთოდებით.

გამოვლინდა, რომ MGP მოლეკულის 83-ე განლაგებაში ტრეონინის ალანინით ჩანაცვლება გავლენას ახდენს პროტეინის ფუნქციურ თავისებურებაზე, კერძოდ, კიმის ანტიკალციფინოგენურ თვისებაზე. სქესობრივი ნიშნით განაწილებისას გამოვლინდა, რომ ქალებში ჰომოზიგოტურ მდგომარეობაში Ala-ალელის მტარებლობა წარმოადგენს ფაქტორს, რომელიც იცავს მათ არტერიული კალციფიკაციის განვითარებისაგან ხანშიშესულ და მოხუცებულ ასაკში.

## РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ SLC2A9 И ABCG2 ГЕНОВ В ВОЗНИКНОВЕНИИ ГИПЕРУРИКЕМИИ И ПОДАГРЫ (ОБЗОР)

Фадеева А.А., Приступа Л.Н., Погорелова О.С., Кириченко Н.Н., Дудченко И.А.

*Сумский государственный университет, Медицинский институт,  
кафедра внутренней медицины последипломного образования, Украина*

Генетические факторы играют важную роль в патогенезе подагры и регуляции уровней мочевой кислоты (МК) [1,17]. Наследуемость концентрации уратов сыворотки составляет 40-70% [29], предполагая, что генетические вариации могут влиять на уровни МК через регуляцию ее синтеза, реабсорбции и экскреции [7]. Подагра ассоциирована с сахарным диабетом, артериальной гипертензией [5], частота ее растет также ввиду роста показателей распространенности ожирения и инсулинорезистентности [30], однако, механизмы, объясняющие связь компонентов метаболического синдрома с гиперурикемией, до конца не определены [4].

МК синтезируется в печени, 70% ее выводится почками, а уровень в крови определяется балансом между абсорбцией и секрецией уратов через проксимальные каналцы почек [19]. Сниженная экскреция уратов является причиной гиперурикемии в 90% случаев [6].

На основе почечной экскреции уратов гиперурикемия классифицируется на тип гиперэкскреции уратов и тип гипоекскреции за счет повышенной реабсорбции [14].

Большинство генов, ассоциированных с уровнем МК или подагрой в полногеномном ассоциативном исследовании (genome-wide association study), кодируют протеины, которые вовлечены в систему почечного транспорта уратов, например, SLC2A9 (solute carrier family 2, member 9) и ABCG2 (ATP-binding cassette, family G) – хорошо известные гены уратных транспортеров, отвечающие за их реабсорбцию и экскрецию [13,14,27].

Целью исследования явился анализ современного состояния вопроса по определению роли полиморфизмов slc2a9 и abcg2 генов в возникновении гиперурикемии и подагры.

Проведен анализ ретроспективной и текущей научной информации по следующим вопросам:

1. *Структура и полиморфизм гена SLC2A9.* Ген SLC2A9 расположен на коротком плече 4-й хромосомы в 6.1 позиции, кодирует переносчик глюкозы и фруктозы – GLUT9, который является также высокоспецифическим транспортером уратов в клетках проксимальных почечных канальцев, непосредственно влияя на реабсорбцию МК [19].

GLUT-9 транспортер экспрессируется на гепатоцитах, хондроцитах, интестинальных клетках, лейкоцитах, эпителиальных клетках почек [3,22], однако, его функция в хондроцитах и лейкоцитах неизвестна. GLUT-9 существует в двух изоформах: 9a (расположен на базолатеральной мембране, транспортирует ураты из клеток проксимальных канальцев) и 9b (на апикальной мембране, транспортирует ураты в клетки проксимальных канальцев), может быть частично ингибирован урикозурическими агентами (пробенацид, бензбромарон, лозартан) [2,9].

Rule A.D. et al. [20] идентифицировали 63 полиморфизма по типу «замены единичного нуклеотида» (SNP) у лиц белой расы и 53 SNP у афроамериканцев. Наиболее статистически значимыми были rs11723439 и rs13113918. По данным других ученых [7,8] наиболее значимыми полиморфизмами, связанными с гиперурикемией и тяжелой подагрой, являются rs16890979 в европейской популяции и rs3733591 в китайской и японской популяциях; rs16890979 находится в 8-м экзоне гена, приводит к замене аминокислоты валина на изолейцин в 253-м положении, ассоциирован с уровнем креатинина и скоростью клубочковой фильтрации, чем можно объяснить роль МК в возникновении хронической болезни почек [23]. По данным Parsa A. et al. [17] каждая копия минорного Ile аллеля Val253Ile полиморфизма связана со значительным снижением уровней МК (до 0,44 мг/дл) и систолического артериального давления на 1.5-2.2 мм рт. ст. Влияние минорного аллеля T (rs11722228) SLC2A9 гена ассоциировано с гиперурикемией, главным образом, у женщин китайской популяции [9].

Brandstatter A. et al. [4], исследовав 4 полиморфизма SLC2A9 (rs6855911, rs7442295, rs6449213, rs12510549), пришли к выводу, что каждая копия минорного аллеля снижала уровень МК в среднем на 0,3 мг/дл, более сильная связь данных SNP с уровнем МК выявлена у женщин. Не выявлено связи полиморфизмов, в том числе и rs16890979, с компонентами метаболического синдрома, сахарным диабетом 2 типа, уровнем триглицеридов, соотношением альбумин-креатинин в моче [4,7,15,23]. Таким образом, общеизвестные факторы риска гиперурикемии не имеют связи с полиморфизмами SLC2A9 гена [20], хотя в ходе многих исследо-

ваний обнаружена сильная связь между уровнем МК и факторами кардиоваскулярного риска [4].

2. *Структура гена ABCG2.* Ген ABCG2 АТФ-связывающего кассетного транспортера (ABC) семейства G, локализован в локусе ММ138900 на 4q22 хромосоме, кодирует белок, ответственный за резистентность к раку молочной железы (Breast cancer resistance protein - BCRP), который при этом является транспортером уратов и различных дериватов пуринов, ксенобиотиков, порфиринов, предупреждая их аккумуляцию в эритроцитах, а также ассоциирован с транспортом аллопуринола и ответом на него. Этот белок имеет один АТФ-связывающий домен на конце NH2 и один COOH-терминал трансмембранных сегментов [26].

ABCG2 в наибольшем количестве экспрессируется в плаценте, сердце, яичниках и почках (на апикальной мембране проксимальных почечных канальцев), более низкие уровни – в печени, толстой и тонкой кишке, мозге. В опухолевых клеточных линиях экспрессия ABCG2 обнаруживается в молочной железе, толстой кишке, желудке, при миеломе, саркоме [19].

3. *Полиморфизм ABCG2 гена.* Секвенирование гена ABCG2 выявило более 80 различных вариаций природных последовательностей [21], некоторые из них приводят к функциональным изменениям белков. SNP rs2231142 в 5-м экзоне ABCG2 гена изучался в ходе многих исследований. Этот вариант встречается с низкой частотой у лиц афроамериканского (2-5%), европейского (11-14%), испанского (10%), ближневосточного (13%) происхождения, с высокой частотой – у китайцев (35%) и японцев (35%) [11,18]. rs2231142 вариант приводит к замене аминокислоты глутамина на лизин (Q141K), имея сильную связь с уровнем МК и подагрой у лиц белой расы и афроамериканцев [7,9,10]. Снижая АТФ-ную активность, rs2231142 полиморфизм ассоциирован с уменьшением транспортной функции BCRP на 53% [27,28]. Дополнительная копия минорного T-аллеля связана с повышением сывороточных уратов приблизительно на 0,3 мг/дл на каждую копию среди индивидов европейской популяции. Кроме того, T-аллель ассоциирован с более высокой степенью гиперурикемии у мужчин [9], тогда как rs16890979 SLC2A9 связан с более высоким уровнем МК у женщин [7].

Matsuo H. et al. [13,14] показали, что Q126X rs72552713 (Gln126Ter) – полиморфизм 4-го экзона ABCG2 гена – повышает риск подагры в японской популяции (индекс шансов 5,9) в большей степени, чем Q141K вариант rs2231142 (Gln141Lys). 10% из всех изучаемых пациентов с подагрой имели комбинацию генотипов Q126X и Q141K, что привело к снижению функции ABCG2 на 75% по сравнению с пациентами, которые были гомозиготны по основному аллелю С в обоих вариантах.

Среди аллелей этих полиморфизмов А аллель 141К связан с низким уровнем экспрессии ABCG2 и уменьшает АТФ-зависимый транспорт уратов по сравнению с геном дикого типа [7], Т аллель 126Х ухудшает экспрессию ABCG2, снижая его транспортную активность [12]. А аллель 12М ABCG2 гена продуцирует белок со значительно меньшей способностью транспортировать некоторые препараты [16].

Zhou D. et al. [32] провели анализ аллельных частот трех SNP (Q141К, V12М и Q126Х), который показал, что минорный А аллель Q141К обнаружен в 49,6% хромосом больных подагрой по сравнению с 30,9% контрольной группы; а минорный Т аллель Q126Х обнаружен в 4,7% хромосом больных подагрой против 1,7% хромосом группы контроля. 141К и 126Х были связаны с повышенным риском подагры, в то время как частота минорного аллеля А V12М значительно снижена у больных подагрой (18,3%) по сравнению с контролем (29%). Анализ гаплотипов SNP (V12М, Q126Х и Q141К) показал, что GCA и GTC гаплотипы более часто присутствуют у пациентов с подагрой, чем в контрольной группе и могут рассматриваться как гаплотипы риска подагры (отношение шансов 2,3 и 2,71, соответственно) [13].

Wen C.C. et al. [25] пришли к заключению, что Q141К вариант (rs2231142) может прямо модулировать BCRP-опосредованный транспорт аллопуринола и оксипуринола. Для определения механизма, по которому ABCG2 связан с ответом на аллопуринол, клетки трансфицировали rs2231142 (Q141К) вариантом, в результате чего они накапливали значительно больше аллопуринола и оксипуринола, снижая BCRP экспрессию на плазматической мембране. Аллель К BCRP - Q141К был связан с меньшим снижением уровня МК при лечении аллопуринолом, хотя действуя в качестве секреторного транспортера в почках и кишечнике, он должен был привести к снижению выведения и более высоким уровням препарата в плазме, а значит и к большему снижению МК. Так как плазменные уровни аллопуринола не измерялись, точный механизм, посредством которого Q141К вариант вызывает пониженную реакцию на аллопуринол, не может быть определен. Возможно, что аллопуринол и оксипуринол кроме ингибирования ксантиноксидазы могут выступать в качестве урикозурического препарата, увеличивая почечную экскрецию МК, так как мыши с экспериментальной гиперурикемией, обработанные аллопуринолом, имеют повышенную фракционную экскрецию МК [25]. Кроме того, исследования Anzai N. et al. [2] демонстрируют, что оксипуринол является мощным ингибитором SLC2A9, что приводит к уменьшению реабсорбции МК и увеличению ее почечной экскреции.

Согласно выводам Wen C.C. et al. [25] ни один из известных транспортеров МК не связаны с ответом на

аллопуринол, предполагая ключевую роль BCRP в транспорте лекарственного препарата.

Аллопуринол – аналог пуринов, который метаболизируется в оксипуринол, остается наиболее часто используемым и препаратом первой линии для снижения уровня уратов. Оба компонента ингибируют ксантиноксидазу [25]. Только 42% пациентов, принимающих аллопуринол, достигают рекомендованных уровней МК (менее 6 мг/дл или 0,36 ммоль/л). 21% пациентов, принимающих 300 мг/день аллопуринола, достигают оптимального уровня МК [7]. Безопасность использования аллопуринола в дозах более 300 мг/сутки не изучена, имеется необходимость коррекции дозы у пожилых и при наличии нарушений функции почек [1].

Так как ABCG2 дисфункция приходится на 80% больных подагрой, являясь основной ее причиной, исследования ABCG2 обеспечат новый подход к профилактике и лечению гиперурикемии [32].

**Выводы.** Механизмы взаимосвязи гиперурикемии с компонентами метаболического синдрома до конца не определены. В настоящее время изучаются гены, ответственные за регуляцию уровней МК. Известно, что SLC2A9 и ABCG2 гены, кодирующие ключевые транспортеры уратов, наиболее сильно ассоциированы с гиперурикемией и подагрой. Несмотря на то, что в ходе многих исследований обнаружена связь между уровнем МК и кардиоваскулярными факторами риска (инсулинорезистентностью, дислипидемией, артериальной гипертензией), выявлена ассоциация лишь между наиболее изученным Val253Ile полиморфизмом SLC2A9 гена и артериальной гипертензией, не выявлено связи полиморфизма SLC2A9 гена с другими компонентами метаболического синдрома, не изучалась связь с полиморфизмами ABCG2 гена. Учитывая важное значение полиморфизмов SLC2A9 и ABCG2 в развитии и течении гиперурикемии, следует отметить перспективность их изучения в развитии коморбидной патологии (артериальная гипертензия, сахарный диабет).

Актуальной является разработка новых методов лечения гиперурикемии, основанных на коррекции продукции и выведения МК. Менее половины пациентов, принимающих аллопуринол для лечения подагры, достигают рекомендованных уровней МК. Предполагается прямое влияние Q141К полиморфизма (rs2231142) ABCG2 гена на снижение транспорта аллопуринола, в результате чего достигается меньшее снижение уровня МК в ходе лечения аллопуринолом. Транспортеры уратов, кодируемые SLC2A9 и ABCG2 генами, представляют мишень для фармакологического воздействия с целью снизить реабсорбцию или усилить экскрецию МК, а генетические вариации почечных транспортеров могут объяснить необходимость индивидуального подхода к лечению гиперурикемии, в том числе бессимптомной, которая в

настоящее время признана мощным модифицируемым фактором риска сердечно-сосудистой заболеваемости.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Шуба Н.М., Несукай Е.Г., Свинцицкий А.С. Современные методы фармакотерапии гиперурикемии в лечении подагры и не только. Здоров'я України 2014; 6 (37): 10-11.
2. Anzai N., Ichida K., et al. Plasma urate level is directly regulated by a voltage-driven urate efflux transporter URATv1 (SLC2A9) in humans. J. Biol. Chem. 2008; 283: 26834–26838.
3. Augustin R., Carayannopoulos M. O., Dowd L. O. et al. Identification and characterization of human glucose transporter-like protein-9 (GLUT9): alternative splicing alters trafficking. J. Biol. Chem. 2004; 279: 16229–16236.
4. Brandstatter A., Kiechl S., Kollerits B. et al. The gender-specific association of the putative fructose transporter SLC2A9 variants with uric acid levels is modified by BMI. Diabetes Care 2008; 31: 1662–1667.
5. Choi H.K., De Vera M.A., Krishnan E. Gout and the risk of type 2 diabetes among men with a high cardiovascular risk profile. Rheumatology (Oxford). 2008; 47: 1567–1570.
6. Choi H.K., Mount D.B., Reginato AM. American College of Physicians & American Physiological Society Pathogenesis of gout. Ann. Intern. Med. 2005; 143: 499–516.
7. Dehghan A., Köttgen A., Yang Q. et al. Association of three genetic loci with uric acid concentration and risk of gout: a genome-wide association study. Lancet. 2008; 372: 1953–1961.
8. Hollis-Moffatt J.E., Xu X., Dalbeth N. et al. Role of the urate transporter *SLC2A9* gene in susceptibility to gout in New Zealand Maori, Pacific Island, and Caucasian case-control sample sets. Arthritis Rheum. 2009; 60: 3485–3492.
9. Kolz M., Johnson T., Sanna S. et al. Meta-analysis of 28,141 individuals identifies common variants within five new loci that influence uric acid concentrations. PLoS Genet. 2009; 5(6): 1-10.
10. Köttgen A., Albrecht E., Teumer A. et al. Genome-wide association analyses identify 18 new loci associated with serum urate concentrations. Nat. Genet. 2013; 45: 145–154.
11. Lepper E.R., Nooter K., et al. Mechanisms of resistance to anticancer drugs: role of the polymorphic ABC transporters ABCB1 and ABCG2. Pharmacogenomics 2005; 6: 115–138.
12. Matsuo H., Ichida K., Takada T. et al. Common dysfunctional variants in ABCG2 are a major cause of early-onset gout. Sci. Rep. 2014; 3.
13. Matsuo H., Takada T., Ichida K. et al. Common defects of ABCG2, a high-capacity urate exporter, cause gout: A function-based genetic analysis in a Japanese population. Sci. Transl. Med. 2009; 1(5): 5.
14. Matsuo H., Yamamoto K., Nakaoka H. et al. Genome-wide association study of clinically defined gout identifies multiple risk loci and its association with clinical subtypes. Ann. Rheum. Dis. 2015; 74(2): 1-8.
15. McArdle P.F., Parsa A., Chang Y.P. et al. Association of a common nonsynonymous variant in GLUT9 with serum uric acid levels in old order Amish. Arthritis Rheum. 2008; 58: 2874–2881.
16. Mizuarai S., Aozasa N., Kotani H. Single nucleotide polymorphisms result in impaired membrane localiza-

tion and reduced atpase activity in multidrug transporter ABCG2. Int. J. Cancer. 2004; 109: 238–246.

17. Parsa A., Brown E., Matthew R. W. et al. Genotype-based changes in serum uric acid affect blood pressure. Kidney Int. 2012; 81(5): 502-507.
18. Phipps-Green A.J., Hollis-Moffatt J. E., Dalbeth N. et al. A strong role for the ABCG2 gene in susceptibility to gout in New Zealand Pacific Island and Caucasian, but not Maori, case and control sample sets. Hum. Mol. Genet. 2010; 19: 4813–4819.
19. Reginato A.M., Mount D. B., Yang I. et al. The genetics of hyperuricaemia and gout. Nature Reviews Rheumatology 2012; 8, 10: 610-621.
20. Rule A.D., de Andrade M., Matsumoto M. et al. Association between SLC2A9 transporter gene variants and uric acid phenotypes in African American and white families. Rheumatology 2011; 50: 871–878.
21. Tamura A., Wakabayashi K., Onishi Y. et al. Re-evaluation and functional classification of non-synonymous single nucleotide polymorphisms of the human ATP-binding cassette transporter ABCG2. Cancer Sci. 2007; 98: 231–239.
22. Vitart V., Rudan I., Hayward C. et al. SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout. Nat. Genet. 2008; 40: 437–442.
23. Voruganti V.S., Franceschini N. et al. Replication of the effect of SLC2A9 genetic variation on serum uric acid levels in American Indians. Eur. J. Human Genetics. 2014; 22, 938–943.
24. Wang B., Miao Z., Liu S. et al. Genetic analysis of ABCG2 gene C421A polymorphism with gout disease in Chinese Han male population. Hum. Genet. 2010; 127(2): 245–246.
25. Wen C.C., Yee S.W., Liang X. et al. Genome-wide association study identifies ABCG2 (BCRP) as an allopurinol transporter and a determinant of drug response. Clin. Pharmacol. Therapy. 2015; 97(5): 518-525.
26. Woodward O.M. Köttgen A., Köttgen M. ABCG transporters and disease. FEBS J. 2011; 278(18): 3215-25.
27. Woodward O.M., Köttgen A., Coresh J. et al. Identification of a urate transporter, ABCG2, with a common functional polymorphism causing gout. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009; 106(25): 10338–10342.
28. Woodward O.M., Tukaye D.N. et al. Gout-causing Q141K mutation in ABCG2 leads to instability of the nucleotide-binding domain and can be corrected with small molecules. Proc. Nat. Acad. Sci. U S A. 2013; 110(13): 5223–5228.
29. Yang Q., Guo C.Y., Cupples L.A. et al. Genome-wide search for genes affecting serum uric acid levels: the Framingham Heart Study. Metabolism 2005; 54: 1435–1441.
30. Yoo H.G., Lee S., Chae H. et al. Prevalence of insulin resistance and metabolic syndrome in patients with gouty arthritis. Rheumatol. 2011; 31(4): 485-491.
31. Zhang L., Spencer K.L., Voruganti V.S. et al. Association of functional polymorphism rs2231142 (Q141K) in the ABCG2 gene with serum uric acid and gout in 4 US populations: The PAGE study. Am. J. Epidemiol. 2013; 177: 923–932.
32. Zhou D., Liu Y., Zhang X. et al. Functional polymorphisms of the ABCG2 Gene Are Associated with Gout Disease in the Chinese Han Male Population International Journal of Molecular Sciences 2014, 15(5), 9149-9159.

## SUMMARY

### ROLE OF SLC2A9 AND ABCG2 GENE POLYMORPHISMS IN ORIGIN OF HYPERURICEMIA AND GOUT

Fadieieva A., Prystupa L., Pogorelova O., Kirichenko N., Dudchenko I.

*Sumy State University, Medical institute,  
Internal Medicine Department Postgraduate Course, Sumy, Ukraine*

The article provides modern information about influence of the most common SLC2A9 and ABCG2 gene polymorphisms. These genes encode urate transporters (BCRP and GLUT9) that's why associated with uric acid level and gout.

The polymorphisms V253I, Q126X, Q141K of SLC2A9 and ABCG2 genes were characterized. GCA and GTC haplotypes of Q126X and Q141K variants can be predictors of gout. The relationship of these polymorphisms with

hyperuricaemia according to gender, metabolic syndrome components, with the response to allopurinol was analyzed. It has been established that Q141K polymorphism can directly modulate BCRP-mediated allopurinol and oxypurinol efflux, the K allele is associated with a lower reduction in serum uric acid in response to allopurinol treatment.

**Keywords:** hyperuricaemia, ABCG2, SLC2A9, gene polymorphism.

## РЕЗЮМЕ

### РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ SLC2A9 И ABCG2 ГЕНОВ В ВОЗНИКНОВЕНИИ ГИПЕРУРИКЕМИИ И ПОДАГРЫ (ОБЗОР)

Фадеева А.А., Приступа Л.Н., Погорелова О.С., Кириченко Н.Н., Дудченко И.А.

*Сумский государственный университет, Медицинский институт,  
кафедра внутренней медицины последипломного образования, Сумы, Украина*

В обзоре проанализирована современная научная литература о влиянии наиболее распространенных полиморфизмов SLC2A9 и ABCG2 генов, кодирующих протеины, которые вовлечены в систему почечного транспорта уратов и, таким образом, ассоциированы с уровнем мочевой кислоты или подагрой. Проведена характеристика полиморфизмов SLC2A9 и ABCG2 генов: V253I, Q126X, Q141K. Определено, что GCA и

GTC гаплотипы Q126X и Q141K полиморфизмов могут быть предикторами подагры.

Учитывая важное значение полиморфизмов SLC2A9 и ABCG2 в развитии и течении гиперурикемии, следует отметить перспективность их изучения в развитии коморбидной патологии (артериальная гипертензия, сахарный диабет).

## რეზიუმე

### SLC2A9 და ABCG2 გენების პოლიმორფიზმის როლი ჰიპერურიკემიის და პოდაგრის განვითარებაში (მიმოხილვა)

ა. ფადეევა, ლ. პრისტუპა, ო. პოგორელოვა, ნ. კირიჩენკო, ი. დუდჩენკო

*სუმის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, სამედიცინო ინსტიტუტი,  
დიპლომის შემდგომი განათლების შინაგანი მედიცინის კათედრა, უკრაინა*

მიმოხილვაში გაანალიზებულია თანამედროვე სამეცნიერო ლიტერატურა SLC2A9 და ABCG2 გენების გავრცელებული პოლიმორფიზმის შესახებ, რომლებიც ახდენენ გავლენას პროტეინების კოდირებაზე, ჩართული არიან თირკმელში ურატების ტრანსპორტირების სისტემაში და, ამგვარად, ასოცირდებიან შარდმუყავს დონესთან და პოდაგრასთან. მოცემულია შემომოყვანილი გენების პოლიმორფიზმის დახასიათება: V253I,

Q126X, Q141K. სავარაუდოა, რომ Q126X და Q141K პოლიმორფიზმების GCA და GTC ჰაპლოტიპები წარმოადგენენ პოდაგრის პრედიქტორებს. ჰიპერურიკემიის განვითარებაში და მიმდინარეობაში SLC2A9 და ABCG2 გენების პოლიმორფიზმების განსაკუთრებული მნიშვნელობა დღის წესრიგში აყენებს პერსპექტივაში მათი როლის შესწავლას კომორბიდულ პათოლოგიის (არტერიული ჰიპერტენზია, შაქრიანი დიაბეტი) განვითარებაში.

## THE STUDY OF THE IMMUNE CORRECTIVE PROPERTIES OF GREEK WALNUT (JUGLANS REGIA L.) SEPTA ON THE EXPERIMENTAL MODEL OF LEUKOPENIA

Dzidziguri D., Rukhadze M., Modebadze I., Bakuradze E., Kurtanidze M., Giqoshvili V.

*I. Javakhishvili Tbilisi State University, Faculty of Exact and Natural Sciences, Georgia*

Basic life-threatening complications that develop in cancer patients after radiotherapy and/or chemotherapy are followed by decreasing of organism's immune response [2,12]. Primarily leucopenia is manifested from negative effects of these therapies. Bone marrow suppression is revealed after several courses of therapies. Physiological renewal and maintenance of immunocompetent cells did not occur not only because of dying of bone marrow progenitor cells, but also may be a delay in their division after using of cytotoxic drugs. Hence the immune system restoration is reduced, which is still remains relevant problem in medicine.

For overcome this problem several factors (granulocyte and granulocyte - macrophage colony stimulating factors) are studied and used in clinics. This method of therapy is expensive and in addition, has some negative side, which is expressed in tumor growth stimulation [1,4,8].

Therefore, searching of natural compounds including of plant origin with high immune correction capacity is very actual [6]. Special interest is directed to the walnut (*Juglans regia* L.) and its different parts, e.g. preparations prepared from plant's leaves and other parts have the ability to act against cancer. It should be noted that the positive therapeutic effects of extracts made from walnut septa are described in folk medicine for a wide range of diseases [10].

Walnut is rich in phenolic compounds, especially flavonoids and naphthoquinones. The most important stages of separation and analysis of composition of different parts of walnut are extraction and further high-performance liquid chromatographic analysis [3,7,9]. Cloud-point extraction has been successfully utilized for different analytical purposes, e.g. the preconcentration of many metal ions, the separation of peripheral membrane proteins, extraction and/or preconcentration of organic compounds [5]. Chlorophylls and phenols were extracted into the surfactant-rich phase leaving the desired polyphenol oxidase in the aqueous phase [11].

The goal of the presented work was study of the therapeutic properties of extract of walnut septa and investigation of its composition.

**Material and methods.** Experiments were carried out on 120 white mice (25-27g). Animals were divided into three groups: 1. Control – intact animals; 2. I test group – animals with single intraperitoneally injection of Cyclophosphamide

(350mg/kg); 3. II test group – animals which were given perorally the extract of walnut septum (0.2ml) using the special probe twice a day after the single injection of Cyclophosphamide (cp).

*Preparation of walnut septum extract.* Water is added on the walnut septa in a volume of 2/1 (water/walnut septa) and is boiled on a water bath until the evaporation of half the volume of water.

*Determination of leucocytes general quantity in peripheral blood.* Blood sample (20 mkl) obtained from anesthetized animals' tail vein is moved to 400 mkl of 3% acetic acid solution and leaved it on 20 min at room temperature. The sample is transferred in to the counting chamber and leucocytes amount are counted using the light microscope (objective 20, ocular 10) with standard protocol.

*Preparation and staining of blood and bone marrow smear.* Eosine solution May Grunewald is used for fixation of peripheral blood and bone marrow smears (5 min). The smears are stained by Giemsa's azur-eosin-methylene blue during 30 min (Euroturbo, DELTALAB, S.L. PI Veneda 1-Pol. Ind. La Liana 08191 RUBI (Barcelona, Spain). After that smear are washed by tap water. The smears are investigated to the light microscope (objective 90, ocular 10).

*Conditions for cloud-point extraction.* In a test tube 2 mL of a 5% (w/v) aqueous solution of Triton X-114 is added to 1 mL of Greek walnut septa extract, prepared according of above mentioned procedure. The tube is placed in a temperature-controlled water bath with a positive temperature gradient of 1°C/4min. The phase separation was observed at 38°C. The extraction mixture was kept at this temperature for 10 min. After centrifugation at 3000g for 5 min the upper dilute aqueous phase was removed and transferred into a tube and it was used for HPLC analysis and UV-visible spectroscopic investigations immediately, as well as after liquid-liquid extraction procedure with chloroform.

*Apparatus and conditions.* Liquid chromatographic (HPLC) analyses were carried out with a micro-column liquid chromatograph "Milichrom-4" (Nauchpribor, Oryiol, Russia) equipped with a UV absorption variable wavelength (190-360 nm) detector and syringe-type pump. The chromatographic column was a Silasorb C<sub>18</sub> (5µm, Lachema, Brno, Czech Republic). Detection



of compounds was carried out at ambient temperature. The mobile phase was prepared on the basis of water and methanol with additives of formic acid (0.1% v/v). Since chromatograph "Milichrom" is equipped with only one pump, it was consecutively filled with following portions of mobile phases: 1) 800  $\mu$ L methanol, 2) 800  $\mu$ L methanol-water with a ratio 80:20 v/v, 3) 200  $\mu$ L methanol-water with a ratio 60:40 v/v, 4) 200  $\mu$ L methanol-water with a ratio 40:60 v/v, 5) 400  $\mu$ L methanol-water with a ratio 20:80 v/v. The elution was performed in the opposite direction from 5-th to first portions. Regeneration of the column was performed by 200  $\mu$ L methanol-water with a ratio 20:80 v/v. Flow-rate of the mobile phase was 50  $\mu$ L/min. Detection wavelengths were 240 and 280 nm. UV-vis absorption spectra were recorded in a UV-visible spectrophotometer Optizen POP using cells with 1 cm path length.

**Results and their discussion.** Fig. 1 shows the quantitative changes of leukocytes in control and test groups animals. Analysis of curves shows that, number of leukocytes in blood of mice is dramatically decreased on the 4th day after the single injection of Cyclophosphamide. The same curve shows that physiological renewal of cells is achieved on 8th day after injection (I test group). Different picture is visible in the II test group.

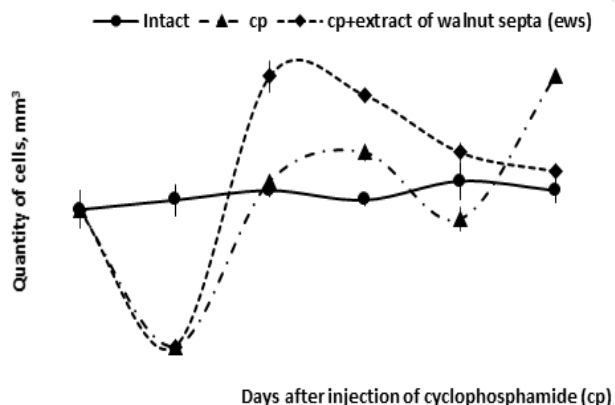


Fig. 1. The Influence of walnut septa extract on quantitative changes of mouse peripheral blood leukocytes after injection of cyclophosphamide

In particular, as shown, on the 8th day after the single injection of cyclophosphamide and administration of extract, the total number of white blood cells is about two times higher than the corresponding value of I group animals. At the same time number of leukocytes remains increased during the first two weeks and only after the three weeks the value of control group is achieved (Fig. 1). From obtained results follows that the aqueous extract from walnut septa accelerates the process of peripheral blood cells normalization.

Blood and bone marrow specimens stained by Gimza's dye

from these three groups of animals were used to determine the mechanism of action of walnut septa extract.

The comparative analyses of changes of percentage number of cells in control and test groups' animals were carried out on these spacemens. Visible changes of peripheral blood cells in both test groups are determined on the 8th day after the cyclophosphamide injection. Particularly the number of neutrophils is increased and quantity of lymphocytes is decreased in the I test group animals. The quantitative changes of these cells are more sharply revealed in mice from the II test group. It should be noted that the number of mononuclears is increased in animals from both test groups (Fig. 2).

Along with the quantitative changes in the cells of bone marrow was studied in control and test groups of animals. It was shown that walnut septa extract causes the quantitative changes of blast cells in the bone marrow. In particular the number of myelo- sand lymphoblasts is significantly increased on the fourth day after the cyclophosphamide injection (Fig. 3a and c). The number of metamielocytes is increased relatively late (8th day) (Fig. 3). From the obtained results follows that the walnut septa extract stimulate not only the proliferation of blast cells, but also the differentiation of myeloid cells.

High-performance liquid chromatographic analysis of walnut septa extract shows that they contain hydrophilic components with retention time 3.4 and 7.8 min respectively (Fig. 4, chromatogram 1). As expected the hydrophilic components are observed in the chromatograms of upper aqueous phase received via cloud point extraction procedure of walnut septa extract (Fig. 4, chromatogram 2). In addition, the same hydrophilic components are present at 280 nm (Fig. 4, chromatogram 3). This is confirmed by the ultraviolet-visible spectrum of both walnut septa extract (Figure 5, curve 1) and upper aqueous phase received via cloud-point extraction procedure of walnut septa extract (Fig. 5, curve 2). There are wide zone absorption in Fig. 5 (curve 1) and two absorption zones with maxima 244 and 296 nm in Fig. 5 (curve 2).

A small amount of relatively hydrophobic components with retention time approximately 25 and 40 min is also observed in chromatogram of walnut septum extract (Fig. 4, chromatogram 1), which become more concentrated in the result of extraction with chloroform of upper aqueous phase received via cloud-point extraction procedure of walnut septa extract (Fig. 4, chromatogram 4). However there are no relatively hydrophilic components with retention 3.4 and 7.8 min in the chromatogram of this extract (Fig. 4, chromatogram 4), which were observed in all the other chromatograms (Fig. 4, chromatograms 1-3). Lower surfactant-rich phase received after cloud-point procedure of walnut septum extract is under study.

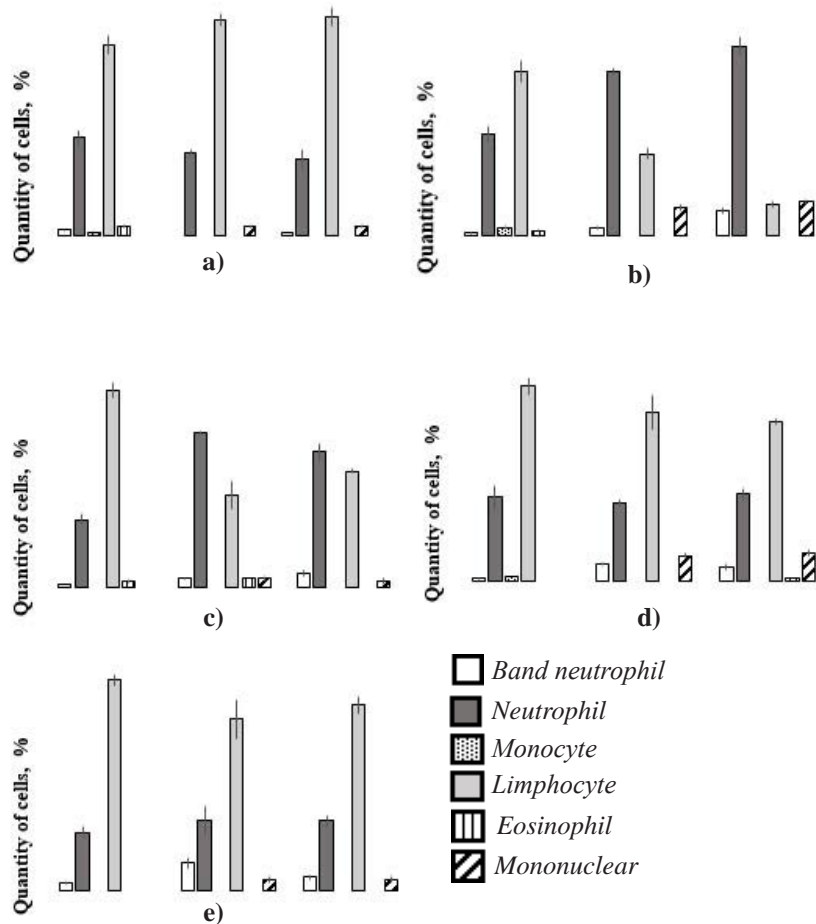


Fig. 2. The effect of walnut septa extract on the percentage of mouse peripheral blood leukocytes under normal condition and after injection of cyclophosphamide: a) 4th day after injection, b) 8th day after injection, c) 15th day after injection, d) 22th day after injection, e) 30th day after injection

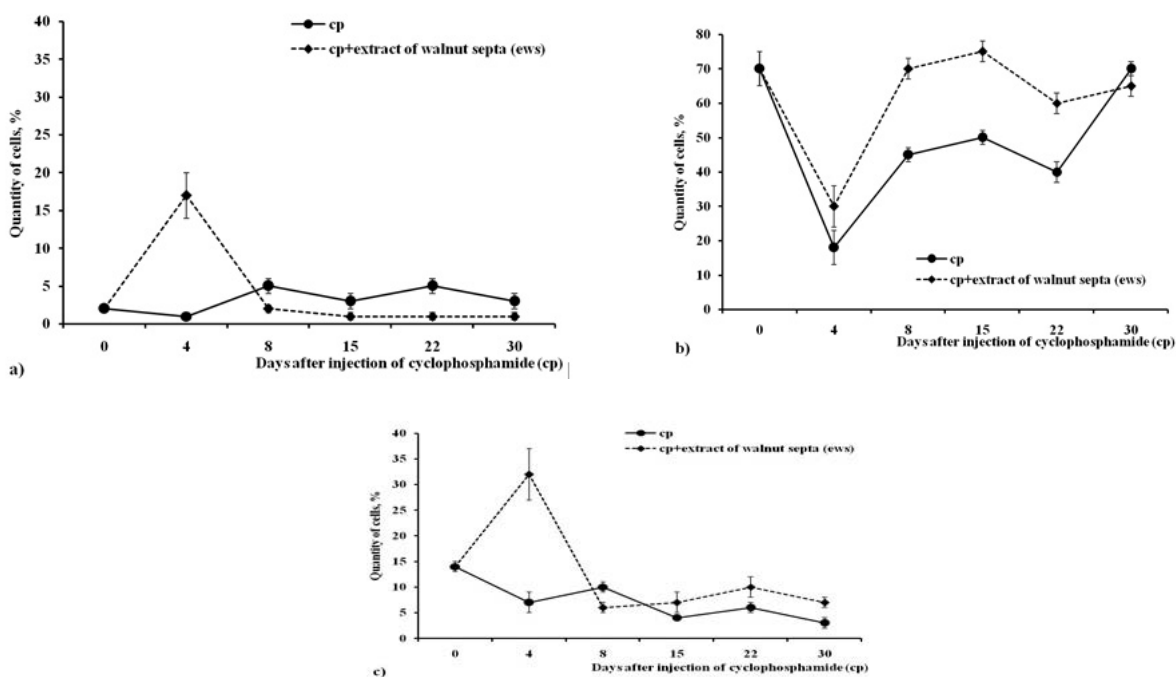


Fig. 3. The influence of walnut septum extract on quantitative changes of mouse bone marrow cells after injection of cyclophosphamide (a) Myeloblast, b) Metamyelocyte, c) Lymphoblast

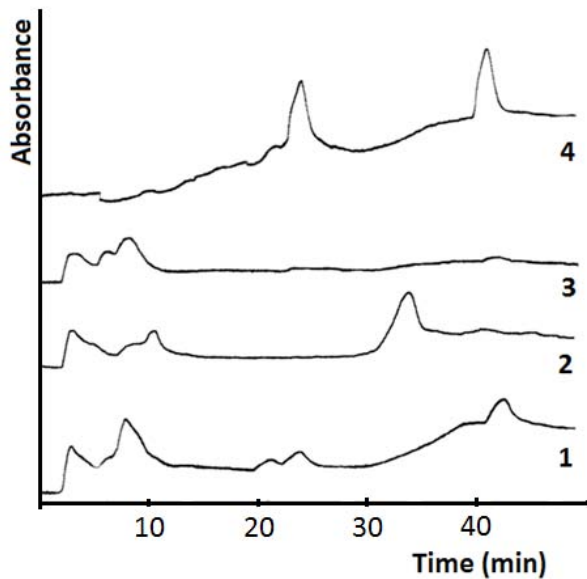


Fig. 4. Chromatograms of walnut septa water extract: 1)  $\lambda=240$  nm; 2) chromatogram of upper water solutions received after cloud-point procedure of of walnut septa extract,  $\lambda=240$  nm; 3)  $\lambda=280$  nm; 4) chromatogram of chloroform extract of upper water solutions received after cloud-point procedure of walnut septa extract,  $\lambda=240$  nm

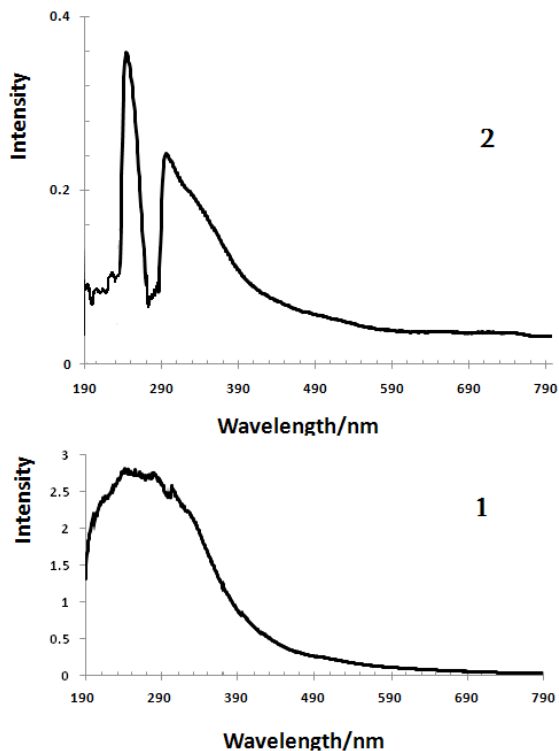


Fig. 5. UV-visible spectra of walnut septa extract (curve 1) and upper upper aqueous phase received via cloud-point extraction procedure of walnut septa extract (curve 2)

It may be concluded on the basis of carried out investigations that the Greek walnut septa extract has the correction

ability of suppressed myelopoiesis in white mice caused by injection of cyclophosphamide. The blood formula normalization process by the mentioned extract is provided by the fast increasing in number of immature (band neutrophil) and mature neutrophil in the peripheral blood.

It was found that walnut septum extract stimulates the division, differentiation and maturation of blast forms of myeloid as well as lymphoid lines in the bone marrow of mice with leukopenia. Cloud-point extraction and liquid-chromatographic analysis revealed the presence of hydrophilic and hydrophobic components in the walnuts septa extract.

## REFERENCES

1. Anderson PM., Marcovic SN. et. al. Aerosol granulocyte macrophage – colony stimulating factor: a low-toxicity, lung-specific biological therapy in patients with lung metastases. *Clin. Cancer Res.* 1999; 5: 2316-2323.
2. Bokemeyer C. et al. Hemopoetic growth factors and treatment of testicular cancer: biological interactions, routine use and does – intensive chemotherapy. *Ann. Hematol.* 1996; 72-19.
3. Cosmulescu S., Trandafir I. Variation of phenols content in walnut. *South Western Journal of Horticulture Biology and Environment* 2011; 2(1): 25-33.
4. Espinosa A.H. Beck, Lee C.H., Zhu S., Montgomery K.D., Marinelli R.J. et al. Coordinate expression of colony-stimulating factor-1 and colony-stimulating factor-1-related proteins is associated with poor prognosis in gynecological and nongynecological leiomyosarcoma. *Am J Pathol.* 2009; 174 (6): 2347–2356.
5. Hinze W.L., Pramauro E. A critical review of surfactant-mediated phase separations (cloud-point extractions): theory and applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 1993; 24(2): 133-177.
6. <http://zdorovieuspex.ru/peregorodki-greckix-orexov>. 2012.
7. Jakopic J., Veberic R., Štamparc F. Extraction of phenolic compounds from green walnut fruits in different solvents. *Acta Agriculturae Slovenica* 2009; 93(1); 11-15.
8. Jang Mei-Huei, Herber D.M., Jiang Xinnong, Nandi Sayan, Dai Xu-Ming, Zeller Geraldine, Stanley E.R., Kelley V.R. Distinct in vivo roles of colony-stimulating factor-1 isoforms in renal inflammation. *The Journal of Immunology* 2006; 177 (6): 4055–4063.
9. Jalili A., Sadeghzade A. Comparative phenolic profile of Persian walnut (*Juglansregia L.*) leaves cultivars grown in Iran. *African Journal of Biochemistry Research* 2012; 6(3): 33-38.
10. Joseph J.A., Shukitt-Hale B., Willis L.M. Grape juice, berries, and walnuts affect brain aging and behavior. *J Nutr.* 2009; 139(9):1813S-7S.
11. Sanchez-Ferrer A., Bru R., Garcia-Carmona F. Partial purification of a thylakoid-bound enzyme using temperature-induced phase partitioning. *Analytical Biochemistry* 1990; 184: 279-282.

12. Sheng Y. et al. Treatment of chemotherapy – induced leucopenia in a rat model with aqueous extract

from *Uncaria Tomentosa*. *Phytomedicine* 2000; 7(2): 137-43.

### SUMMARY

#### THE STUDY OF THE IMMUNE CORRECTIVE PROPERTIES OF GREEK WALNUT (JUGLANS REGIA L.) SEPTA ON THE EXPERIMENTAL MODEL OF LEUKOPENIA

**Dzidziguri D., Rukhadze M., Modebadze I., Bakuradze E., Kurtanidze M., Giqoshvili V.**

*I. Javakhishvili Tbilisi State University, Faculty of Exact and Natural Sciences, Georgia*

From the positive effects of the drugs prepared from various parts of walnut described for a wide variety of diseases, their antitumor effect is remarkable. This feature can be used for treatment of leukopenia caused by radiotherapy and/or chemotherapy. Therefore, to study the immunocorrective properties of Greek walnut, the walnut septa were selected, aqueous extract of which has been studied on experimental model of leukopenia in white mice caused by a single injection of cyclophosphamide.

The material of the study were the blood and bone marrow smears from intact and tested adult mice stained by Giemsa's dye. The quantity of leukocytes in peripheral blood were determined by the counting chamber under the light microscope with standard protocol. Cloud-point extraction, HPLC analysis and UV-visible spectrophotometry were used to study the composition of the walnut septa extract.

It has been established that the Greek walnut septa extract has the correction ability of suppressed myelopoiesis in white mice caused by injection of cyclophosphamide. The blood formula normalization process by the mentioned extract is provided by the fast increasing in number of immature (band neutrophil) and mature neutrophils in the peripheral blood.

It was shown that walnut septa extract stimulates the division, differentiation and maturation of blast forms of myeloid as well as lymphoid line in the bone marrow of mice with leukopenia. Cloud-point extraction and liquid-chromatographic analysis revealed the presence of hydrophilic and hydrophobic components in the walnuts septum extract.

**Keywords:** leukopenia, walnut, immunocorrection, cloud-point extraction, HPLC.

### РЕЗЮМЕ

#### ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОКОРРИГИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ПЕРЕГОРОДОК ГРЕЦКОГО ОРЕХА (JUGLANS REGIA L.) НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ЛЕЙКОПЕНИИ

**Дзидзигури Д.В., Рухадзе М.Д., Модебадзе И.Р., Бакурадзе Е.Д., Куртанидзе М.К., Гикошвили В.Р.**

*Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, факультет точных и естественных наук, Грузия*

Среди положительных эффектов препаратов, приготовленных из разных частей грецкого ореха, следует отметить их противоопухолевое действие. Отмеченное свойство можно применить для лечения лейкопении, вызванной воздействием лучевой и/или химиотерапии. С целью изучения иммунокорригирующих свойств грецкого ореха в качестве исследуемого материала выбраны перегородки ореха, действие водных экстрактов которых изучено на экспериментальной модели лейкопении, полученной после однократного введения циклофосфамида белым мышам.

В качестве исследуемого материала применялись окрашенные красителем Гимза мазки крови и костного мозга белых мышей. Количество лейкоцитов в периферической крови определялось с использованием камеры Горяева и светового микроскопа. Для изучения состава экстракта перегородок грецкого ореха применялись ме-

тоды экстракции в точке помутнения, высокоэффективной жидкостной хроматографии и ультрафиолетовой и видимой спектроскопии.

Установлено, что экстракт перегородок грецкого ореха обладает способностью коррекции супрессии миелопоэза, вызванной инъекцией циклофосфамида у белых мышей. Процесс нормализации лейкоцитарной формулы периферической крови достигается за счет быстрого роста количества незрелых (палочкоядерных) и зрелых (сегментоядерных) нейтрофилов. Выявлено, что экстракт перегородок грецкого ореха стимулирует деление бластных форм как миелоидного, так и лимфоидного рядов в костном мозге мышей, а также процессы их дифференцировки и созревания.

Содержание гидрофильных и гидрофобных компонентов в экстракте перегородок грецкого ореха уста-

новлено методами экстракции в точке помутнения и жидкостной хроматографии.

### რეზიუმე

ბერძნული კაკლის (*Juglans regia* L.) უღლების იმუნომაკორეგირებელი თვისებების შესწავლა ლეიკოპენიის ექსპერიმენტულ მოდელზე

დ. ძიძიგური, მ. რუხაძე, ი. მოდებაძე, ე. ბაკურაძე, მ. კურტანიძე, ვ. გიქოშვილი

თბილისის ი. ჯავახიშვილის სახ. სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ზუსტი და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი, საქართველო

ბერძნული კაკლის სხვადასხვა ნაწილიდან დამზადებული პრეპარატების დადებითი ეფექტებიდან, რომელიც დაავადებათა ფართო სპექტრისთვისაა აღწერილი, აღსანიშნავია სიმსივნის საწინააღმდეგო მოქმედება. აღნიშნული თვისება შესაძლებელია გამოყენებული იქნას სხივური და/ან ქიმიოთერაპიის შედეგად განვითარებული ლეიკოპენიის სამკურნალოდ. აქედან გამომდინარე, ბერძნული კაკლის იმუნომაკორეგირებელი თვისებების შესაფასებლად საკვლევ მასალად შერჩეული იქნა კაკლის უღლები, რომელთა წყლიანი ექსტრაქტის მოქმედება შესწავლილი იყო თეთრ თავგებში ციკლოფოსფამიდის ერთჯერადი ინექციის შედეგად განვითარებული ლეიკოპენიის ექსპერიმენტულ მოდელზე.

საკვლევ მასალად გამოყენებული იყო ინტაქტური და საცდელი ზრდასრული თეთრი არახაზოვანი თავგების გიმზას საღებავით შეღებილი სისხლისა და ძვლის ტვინის ნაცხები. პერიფერიულ სისხლში ლეიკოციტების რაოდენობა ისახდებოდა გორიანის კამერის და სინათლის მიკროსკოპის გამოყენებით. კაკლის უღლების ექსტრაქტის შედგენილობის შესასწავლად გამოყენებული იქნა შემღვრევის წერტილში ექსტრაქციის, მაღალეფექტური თხევად-ქრომატოგრაფიული და ულტრაიისფერ-ხილული სპექტროსკოპიული მეთოდები.

დადგენილია, რომ ბერძნული კაკლის უღლების ექსტრაქტს აქვს თეთრ თავგებში ციკლოფოსფამიდის ინექციით გამოწვეული მიელოპოეზის სუპრესიის კორექციის უნარი. აღნიშნული ექსტრაქტით ლეიკოციტური ფორმულის ნორმალიზაციის პროცესი მიიღწევა პერიფერიულ სისხლში მოუმწიფებელი (ჩხირბირთვიანი) და მომწიფებული (სეგმენტბირთვიანი) ნეიტროფილების რაოდენობის სწრაფი ზრდის ხარჯზე. გამოვლინდა, რომ კაკლის უღლების ექსტრაქტი ლეიკოპენიით დაავადებული თავგების ძვლის ტვინში ასტიმულირებს როგორც მიელოიდური, ასევე, ლიმფოიდური რივის ბლასტური ფორმების გაყოფას, აგრეთვე, მათი დიფერენცირების და მომწიფების პროცესებს. შემღვრევის წერტილში ექსტრაქციით და თხევად-ქრომატოგრაფიული ანალიზით დადგინდა ჰიდროფილური და ჰიდროფობური კომპონენტების შემცველობა კაკლის უღლების ექსტრაქტში.

## ACCURATE DIAGNOSIS OF THYROID NODULES: A REVIEW OF DIAGNOSTIC DILEMMAS ON THYROID FINE-NEEDLE ASPIRATION BIOPSIES

Barabadze E., Burkadze G., Munjishvili V.

*Davit Tvildiani Medical University, Tbilisi, Georgia*

Thyroid nodules are very common (about 5% of the general population) and are usually discovered during routine medical care. With the emergence of ultrasound, impalpable thyroid nodules can be detected in 20-67% of the general population [17]. Thyroid cancer represents about 5-24% of thyroid nodules and ~1-2% of all malignancies. FNA biopsy is well known method for the first step evaluation of thyroid nodules, it is the “gold standard” for diagnosis and surgical approach of nodular goiter. Despite the high sensitivity and specificity of the method there are grey zone in the diag-

nosis of thyroid nodules, mainly due to the heterogeneous group of Bethesda category AUS/FLUS. There are also some difficulties in diagnosis of PTC, especially FVPTC, even on histologic sections. Several immunohistochemical markers are of some value, but there are limitations, as evidenced by the lack of specificity of those markers discussed. A number of biomarkers involved in the pathogenesis of differentiated thyroid cancer have undergone intensive study, not only for their role in tumorigenesis, but for their potential utility as diagnostic and prognostic indicators and

therapeutic targets. The BRAF mutation analysis is very important in preoperative setting [26].

**Discussion:** Fine-needle aspiration (FNA) for cytologic evaluation of thyroid cancer was originally used by Martin and Ellis at New York Memorial Hospital for Cancer and Allied Diseases in 1930. However, this diagnostic procedure was subsequently found to have a limited value, and it was then discontinued at the above-mentioned institution. The thyroid FNA was not further developed and did not gain acceptance in the United States for nearly 50 years until the early 1980s when its diagnostic value was firmly demonstrated by Scandinavian investigators. The 1974 report by Crockford and Bain and the 1979 paper of Miller and Hamburger were apparently the first North American publications attesting to the value of thyroid FNA. This method of clinical investigation now is practiced worldwide and has become the cornerstone in the management of thyroid nodules (TN) [29].

Thyroid nodular lesions are a common clinical problem. In the United States, 4 to 7% of the adult population have a palpable TN. The incidence of thyroid cancer in a clinically solitary TN or in a multinodular goiter is equal and about 5% in non-endemic areas. TNs constitute the main indication for FNA, and the goal of this diagnostic procedure is to detect thyroid neoplasms for surgical resection and to identify non-neoplastic lesions that may be managed conservatively. This method of clinical investigation has reduced the number of diagnostic thyroid surgeries for TNs by 60-85% and the difference in rates of thyroid surgery reflect the cytodagnostic accuracy rates among different medical centers. The main contraindication to thyroid FNA is bleeding diathesis, as the formation of a large hematoma at the biopsy site may cause compression of the trachea and respiratory distress [29].

The Bethesda criteria for reporting thyroid cytopathology were developed by a committee at the National Cancer Institute meeting in 2007. These criteria were established in attempts to institute a uniform reporting system for thyroid FNA that would facilitate easier and more reliable interpreting and sharing of thyroid cytopathology, as well as improved communication between various healthcare providers involved in the care of patients with thyroid nodules. Each cytopathological category is risk stratified for malignancy and corresponds to specific recommendations for patient management.

Thyroid neoplasms are divided into three major categories depending on the cell types involved. 1 - Tumors exhibiting follicular cell differentiation which accounts for more than 95% of cases. 2 - Tumors exhibiting C-cell differentiation. 3 - Tumors exhibiting follicular and C-cell differentiation. PTC shows follicular cell differentiation and is the most common carcinoma in the thyroid gland. It occurs more commonly in the age group of 20-50 years

with female to male ratio of 4:1 and 50% cases have regional lymph node metastasis at the time of surgery and 10% cases show distant metastasis to lungs and bone [8]. Since 1970, when pioneer work on thyroid cytopathology formulated the first diagnostic criteria of papillary thyroid carcinoma (PTC). Fine needle aspiration cytology (FNAC) diagnosis has made a great progress [19,36] and has extended significantly in relation to newly described PTC variants [14,238]. Number of cytology features for diagnosis of PTC varies in different studies. Kini S.R. et al. [22] described six parameters for PTC: Papillary tissue fragments, monolayer sheets of follicular cells, INCI, NG, tissue fragments with or without a follicular pattern, and large multinucleated foreign body-type of giant cells in the absence of degenerative changes. According to Wu H.H. et al. [37] the most commonly cited cytology criteria for PTC were flat syncytial sheets, nuclear enlargement, fine chromatin, NG, INCI and some amount of colloid. Castro-Gomez L. et al. [9] described 15 cytology features of PTC in FNA smears of thyroid: Tridimensional fragments, papillae, anisonucleosis, nuclear bars (grooves), INCI, powdery chromatin, vacuolated cytoplasm, metaplastic cytoplasm, PB, autolysis, multinucleated giant cells, spindle cells, colloid, monolayer lamina, and macrophages. Kumar S. et al. [23] suggested cellular swirls in cytology smears are highly specific for PTC.

Despite these well-defined cytology features, diagnostic difficulties do exist in FNA smears while making decision in respect to PTC cases. Even when the FNA sample is adequate, none of the features described for PTC in various literatures are pathognomic and may be seen in other benign and malignant conditions.

According to the recent Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology (BSRTC), “atypia of undetermined significance/follicular lesion of undetermined significance” (AUS/FLUS) is a heterogeneous category that includes cases with ambiguous cytological findings that appear to be greater than what would be expected of a nonneoplastic process, yet the degree of cellular or architectural atypia is insufficient for an interpretation of “follicular neoplasm” or “suspicious for malignancy” [3]. Therefore, undetermined cytology is a sort of “grey zone” also for the clinicians, whose main goal is a correct therapeutic approach to thyroid lesions, that is, surgery, with its extension, or medical followup. Practically, most of these lesions are surgically removed, in total or subtotal thyroidectomy, although only a minority of them are malignant.

However, true malignancy incidence in undetermined lesions is not definitely known, because not all of them are histologically checked, and the literature reports largely heterogeneous data. In AUS, malignancy is reported in 25% of operated patients, but it is thought to be closer to 5-10% of the total [3]. Papillary carcinoma is by far the commonest tumor [34]. Malignancy incidence in FL is

even more variously reported than in AUS. Cancer ratio in all FL lesions (operated and nonoperated) is about 20% in several surveys [10], but other authors reported much lesser incidences of 0-7% [12].

Although FNAC has been used with success in the diagnosis of papillary, medullary, and anaplastic thyroid carcinomas, it is difficult to assess its value in follicular lesions. The main problem is the distinction between benign lesions, such as follicular adenoma or nodular adenomatous goiter, and follicular carcinoma or follicular variant of papillary carcinoma (FVPTC). Therefore, histological evaluation is necessary to demonstrate capsular/vascular invasion for follicular carcinoma and the subtle nuclear aspects in FVPTC [34].

One of the heaviest factors influencing this discrepancy is cellular atypia, particularly its definition and association with follicular patterned lesions. The role of atypia as an independent risk factor for malignancy has been matter of interest and debate. Although some authors report no correlation between atypia and malignancy [38], other studies show, conversely, that atypia alone or in association with a follicular patterned FNAC can be linked to a higher risk of malignancy [12,18]. Interestingly, most literature showing high malignancy rates in FL, actually reports substantial reduction when lesions with atypia are excluded [18]. Moreover, among the malignancies histologically proven in FL, FVPTC appears to be the commonest one, whereas follicular carcinoma and Hurthle cell carcinomas seem to be much rarer than usually reported both in FL and, generally, among all thyroid cancers [16]. It is well known that the cytological diagnosis of FVPTC is challenging, due to a paucity or lack of well-defined nuclear features of papillary carcinoma, leading, in samples containing few cellular groups, to a diagnosis of AUS or FL.

Cell-Block technology can resolve some problems, due to cystic lesions, can serve for better interpretation of cellular architecture and structures. Conventional FNAC for cystic thyroid nodules has a high rate of non-diagnostic and false negative results [35]. Cell-block may resolve this problem, as a large amount of the fluid was aspirated and centrifuged. Then, processing of the sediment as a cell-block was done. The few follicular cells that may appear within a large number of degenerated cells might easily rule out malignancy, and negate the misdiagnosis of inadequate sample, or false results. The few thin-walled cysts will collapse completely with needle evacuation [11]. Most cysts, however, have a partially solid component, and these cysts should be aspirated for residual tumor. Initially, the cystic fluid, if not excessively viscous, should all be aspirated and sent for cytopathologic evaluation. Ultrasound-guided FNAC can then be performed to sample the suspicious solid component. Ultrasound (US) investigation permits direct sampling of the wall and/or the solid portion of the cystic thyroid nodule, thereby increasing the possibility of

a representative sample [7]. However, due to difficulties both in obtaining adequate tissue sampling, and in accurately detecting enlargement of the solid portions of these nodules, surgery should be considered for persistent and recurrent complex cystic nodules for both diagnostic and therapeutic reasons [11]. Cell-block technology can avoid the problem of a report such as “no malignant cells seen” in a specimen that is hypocellular or even acellular, resulting in a false conclusion of a benign FNA biopsy specimen. With the exception of calcitonin immunostaining for medullary carcinoma, there are no reliable immunohistologic or molecular tests for distinguishing between benign and malignant nodules based on microscopic findings [21]. In regards to Hashimoto thyroiditis, cell-block was useful for finding the few degenerated follicular cells, due to good fixation, and also in detection of plasma cells which was pathognomonic for diagnosis of Hashimoto thyroiditis. In cases of branchial cleft cysts and thyroglossal cysts, cell-block was also very useful, as the epithelial cells and follicular cells become clearer, also due to good fixation of the cell-block. Moreover, cell-block was very helpful in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma and the carcinoma of undefined category; as the papillary configuration and nuclear features were more obvious. Regarding to what is called non-aspirated technique, the cellular material is more concentrated, less traumatized and less obscured by blood or distorted within blood clots in the non-aspiration smears. Cell-block may give a better result than this technique because of good fixation of the specimens as well as good interrelation between the cells. This also reduces the range of inadequacy. The inadequacy of smears was 15% but cell block reduced it to (5.8%) [20].

Many studies employ immunohistochemistry techniques as an attempt to search for markers involved in the genesis or specific characteristics of follicular patterned tumors. Among the immunocytochemistry (ICC) or immunohistochemistry (IHC) markers most employed to distinguish between benign and malignant lesions of the thyroid are: cytokeratin-19 (CK-19: a keratin member family responsible for the structural integrity of epithelial cells), galectin-3 (Gal-3: involved in the process of cell migration, adherence and apoptosis) and Hector Battifora mesothelial-1 (HBME-1: an unelucidated membrane antigen that exists in the microvilli of the mesothelioma cells and also in follicular thyroid tumor cells), CD56 or their associations [24]. However, their results and applications are still controversial since these molecules have not proved to have specificity and – more critically, to avoid an eventual diagnostic thyroidectomy – enough sensitivity in the differentiation of follicular lesions because of persistent variable rates of, respectively, false-positive and false-negative results [5].

Cytokeratin 19 is a low-molecular-weight cytokeratin found in a variety of simple or glandular epithelia, both normal and their neoplastic counterparts. In the thyroid gland, normal follicular epithelium usually has shown no detectable

CK19 expression [6,13,18] however, few reports [4,5,27] noted CK19 expression in normal thyroid tissue in a focal staining pattern, especially in inflamed tissue. Many studies reported a strong and diffuse staining pattern of CK19 in PTC. However, its expression in follicular cells of LTI [5] and follicular neoplasms (FA or FTC) was also demonstrated; therefore, positive CK19 staining lacks specificity for PTC or malignancy. Overexpression of CK19 is a good indicator for PTC; however, the sensitivity for follicular carcinoma is low. There are high rates of reactivity in benign thyroid lesions, especially in LTis. Compared with the diffuse, strong reactivity in PTC, most studies indicated focal reactivity in benign lesions. Cytokeratin 19 may have added value as part of a panel of immunomarkers in the diagnosis of PTC.

CD56 or neural cell adhesion molecule (NCAM) is a homophilic membrane glycoprotein. It is an adhesion molecule from the immunoglobulin (Ig) superfamily that is expressed normally on the surface of neurons, glia, skeletal muscle cells, and natural killer cells [32]. CD56 expression (both protein and mRNA) is also confirmed in thyroid follicular epithelial cells and adrenal glands. It is membranously stained in follicular epithelial cells. Reduction of its expression was previously reported in papillary cell carcinoma of thyroid (PTC) [39]. In this study, we showed a significant reduction of CD56 expression in PTC cases including FVPTC. It is important to remember that CD56 can be expressed in some of the tumor cells in PTC. These cells only stained weakly cytoplasmically (not membranously), and less than 10% of tumor cells were positive for this marker. However, we had cases of PTC that more than 10 percent of cells stained. Although all positive conventional PTC cells were stained weakly cytoplasmically, one case of FVPTC was stained membranously. Scarpino S et al. [33] in contrast to our results, reported that there was no significant differentiation regarding CD56 staining in follicular tumor and PTC but they accepted both cytoplasmic and membranous staining for CD56 and with any percent of distribution of tumor cells as positive. In a study by El Demellawy et al [15] both sensitivity and specificity of 100% for CD56 expression was shown in distinguishing PTC from other thyroid follicular lesions. Ozolins A. et al [36] showed that CD56 expression could be negative in follicular adenoma. They showed sensitivity of 100% but specificity of 82% for CD56 in PTC diagnosis. Park W. et al. [31] also showed sensitivity and specificity of 92.5% and 86.4%, respectively. Results of our study did not replicate sensitivity or specificity of 100%, yet it confirmed that CD56 is a single marker with high sensitivity and specificity. Abd El et al. [1] in their study used combined CD56 and claudin-1 expression in the differentiation between the FVPCs and other follicular nodules. The combined use of CD56 and claudin-1 (claudin-1+/CD56-) showed specificity (100%), positive predictive value (100%) and sensitivity (81.3%) in this differentiation. But, in single use of CD56, sensitivity and specificity were 81.3% and 89.4%, respec-

tively. Lee S. et al. [24] in a recent study on thyroid tumors with a prominent hyalinizing trabecular pattern showed, CD56 expression was negative in six out of 16 cases. They showed expression of CK19 or Galectin-3 (two markers for distinguishing of PTC from other thyroid lesions) in four out of six cases with negative CD56 expression and decided to categorize them as PTC. Whereas, in several studies including ours, CD56 sensitivity and specificity were not 100%, it may be better to use a combination of markers for clinical evaluation of patients.

Over the last decade, investigators have developed a clearer understanding of the genetic alterations underlying thyroid carcinogenesis. The *BRAF* V600E mutation plays a central role in the pathogenesis of PTC, prompting further investigation of *BRAF* as a diagnostic and prognostic tool. The presence of a *BRAF* mutation in an FNAB specimen has a >95% PPV for PTC, further increasing the sensitivity of an already accurate test. When available, *BRAFFNAB* testing facilitates optimal oncologic surgery performed at the initial operation. Furthermore, *BRAF*<sup>+</sup>PTC tends to be more aggressive, and the mutation should alert clinicians to categorize patients accordingly as high risk and consider postoperative adjuvant therapies and more frequent cancer surveillance. The presence of *BRAF* is less frequent in papillary microcarcinoma and may also be associated with a poorer prognosis. Finally, *BRAF* as a target for new therapies to treat high-risk patients with recurrent or metastatic disease who have exhausted conventional therapies holds exciting promise [25].

### Conclusions.

Fine needle aspiration (FNA) of the thyroid has now become a well-established method for initial evaluation of thyroid tumors, because of its high level of accuracy in predicting PTC. Histological and cytological diagnosis of PTC has always been one of the most problematic dilemmas in surgical pathology. There are limited studies that specifically address details of cytologic features associated with cytohistologic discrepancy. Although cytomorphological features associated with PTC have been well defined by various authors none of the features alone is considered diagnostic for PTC. The AUS/FLUS category of Bethesda System, belonged to the “Gray zone”, because of the heterogeneity in its use and the associated variable risk of malignancy. Immunohistochemistry is generally accepted as a useful ancillary technique in the diagnosis of this cases, but controversy exists regarding the best marker or combination of markers to distinguish each lesion from its mimics. Although no single immunohistochemical marker by itself is completely sensitive and specific for follicular thyroid lesions, the combination of CD56, HBME-1, Galectin-3 and CK19 attains high sensitivity and specificity in differentiating follicular derived thyroid lesions. In addition, cell-block is very helpful in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma and the carcinoma of undefined category; as the papillary configuration and nuclear features



were more obvious, also immunocytochemical markers are applicable for ancillary studies. Molecular analysis can be integrated into management algorithms for thyroid nodules and papillary thyroid cancer. The BRAF mutation detection, which is associated with papillary microcarcinomas and cancer, can be yield for preoperative diagnosis, as well as for prognostic marker and as therapeutic target for farther management. If we analyze this problem in terms of unity, we have gradually come to the correct diagnosis more easily and be able to overcome the current difficulties in the diagnosis of thyroid nodular pathologies.

## REFERENCES

1. Abd El Atti RM, Shash LS. Potential diagnostic utility of CD56 and claudin-1 in papillary thyroid carcinoma and solitary follicular thyroid nodules. *J Egypt Natl Canc Inst.* 2012;24:175–84.
2. Alexander EK. et al. Preoperative diagnosis of benign thyroid nodules with indeterminate cytology. *N Engl J Med.* 2012.
3. Ali SZ, Cibas ES. The Bethesda System for Reporting Thyroid Cytopathology. Definitions, Criteria and Explanatory Notes. Springer: New York, NY, USA; 2010.
4. Asa SL. The role of immunohistochemical markers in the diagnosis of follicular-patterned lesions of the thyroid. *Endocr Pathol.* 2005;16(4):295–309.
5. Barroeta JE et. al. Diagnostic value of differential expression of CK19, Galectin-3, HBME-1, ERK, RET, and p16 in benign and malignant follicular-derived lesions of the thyroid: an immunohistochemical tissue microarray analysis. *Endocr Pathol.* 2006; 17:225-234.
6. Baloch ZW. et.al. Differential expression of cytokeratins in follicular variant of papillary carcinoma: an immunohistochemical study and its diagnostic utility. *Hum Pathol.* 1999; 30(10):1166–1171.
7. Bellantone R. et al. Management of cystic or predominantly cystic thyroid nodules: the role of ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy. *Thyroid* 2004; 14: 43–47.
8. Bibbo M, Wilbur DC. *Comprehensive Cytopathology Thyroid.* 3<sup>rd</sup> ed. 2013 Saunders: Elsevier; 650.
9. Castro-Gomez L, Cordona-Ramirez S, Duarte-Torres R, Alonso de Ruiz P, Hurtado-Lopez LM. Cytologic criteria of cystic papillary carcinoma of the thyroid. *Acta Cytol.* 2003;47:590-4.
10. Cibas S, Benson CB. et al. Long-term assessment of a multidisciplinary approach to thyroid nodule diagnostic evaluation. *Cancer* 2007; 111(6): 508–516.
11. Choi KU, Kim JY, Park Y. et al. Recommendations for the management of cystic thyroid nodules. *Australian and New Zealand Journal of Surgery* 2005; 75: 537–541.
12. Dabelić N. et. al. Malignancy risk assessment in adenomatoid nodules and suspicious follicular lesions of the thyroid obtained by fine needle aspiration cytology. *Collegium Antropologicum* 2010; 34: 349–354.
13. de Matos PS. et.al. Usefulness of HBME-1, cytokeratin 19 and galectin-3 immunostaining in the diagnosis of thyroid malignancy. *Histopathology* 2005;47(4):391–401.
14. Duskova J, Tretinik P. Papillary thyroid carcinoma: An easy fine needle aspiration biopsy diagnosis? *Acta Cytol.* 2011;55:120-30.
15. El Demellawy D. et.al. Diagnostic utility of CD56 immunohistochemistry in papillary carcinoma of the thyroid. *Pathol Res Pract.* 2009; 205:303–9.
16. Faquin WC, Baloch ZW. Fine-Needle aspiration of follicular patterned lesions of the thyroid: diagnosis, management, and follow-up according to National Cancer Institute (NCI) recommendations. *Diagnostic Cytopathology* 2010; 38: 731–739.
17. Gharib H, Papini E. Thyroid nodules: Clinical importance, assessment, and treatment. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2007;36:707–35.
18. Goldstein RE, Nettekville JL, Burkey B, Johnson JE. Implications of follicular neoplasms, atypia, and lesions suspicious for malignancy diagnosed by fine-needle aspiration of thyroid nodules. *Annals of Surgery* 2002; 235(5): 656–664.
19. Harshan M, Crapanzano JP, Aslan DL, Vazquez MF, Saqi A. Papillary thyroid carcinoma with atypical histiocytoid cells on fine-needle aspiration. *Diagn Cytopathol.* 2009;37:244-50.
20. Hegazy RA. FNAC and Cell-block Study of Thyroid Lesions. *Universal Journal of Medical Science* 2013; 1(1): 1-8.
21. Hegedus L, Bonnema SJ, Bennedbaek FN Management of simple nodular goiter: current status and future perspectives. *Endocrine Reviews* 2003; 24: 102–132.
22. Kini SR, Miller JM, Hamburger JI, Smith MJ. Cytopathology of papillary carcinoma of the thyroid by fine needle aspiration. *Acta Cytol.* 1980; 24:511-21.
23. Kumar S, Singh N, Siddaraju N. Cellular swirls and similar structures on fine needle aspiration cytology as diagnostic clues to papillary thyroid carcinoma: A report of 4 cases. *Acta Cytol.* 2010;54:939-42.
24. Lee S, Hong S, Koo JS. Immunohistochemical subclassification of thyroid tumors with a prominent hyalinizing trabecular pattern. *APMIS.* 2011;119:529–36.
25. Melck AL. The Utility of BRAF testing in the management of papillary thyroid cancer. *Oncologist* 2010;15(12):1285–1293.
26. Mokhtari M. et. al. Absent CD56 expression in papillary thyroid carcinoma: A finding of potential diagnostic value in problematic cases. *J Res Med Sci.* 2013; 18(12): 1046–1050.
27. Murphy KM, Chen F, Clark DP. Identification of immunohistochemical biomarkers for papillary thyroid carcinoma using gene expression profiling. *Hum Pathol.* 2008; 39(3):420–426.
28. Nasr MR. et. al. Immunohistochemical markers in diagnosis of papillary thyroid carcinoma: utility of HBME1 combined with CK19 immunostaining. *Mod Pathol.* 2006;19(12):1631–163.
29. Nguyen G. et. al. Fine-needle aspiration of the thyroid: an overview *Cytojournal.* 2005; 2: 12.
30. Ozolins A. et al. Diagnostic utility of immunohistochemical panel in various thyroid pathologies. *Langenbecks*

Arch Surg. 2010; 395:885–91.

31. Park WY. et al. Diagnostic value of decreased expression of CD56 protein in papillary carcinoma of the thyroid gland. *Basic Appl Pathol.* 2009; 2:63–8.

32. Prag S. et al. NCAM regulates cell motility. *Journal of Cell Science* 2002; 115:283-292.

33. Scarpino S. et al. Papillary carcinoma of the thyroid: low expression of NCAM (CD56) is associated with down regulation of VEGF-D production by tumor cells. *J. Pathol.* 2007; 212(4):411-419.

34. Shi Y. et al. Thyroid fine-needle aspiration with atypia of undetermined significance: a necessary or optional category? *Cancer Cytopathology* 2009; 117(5): 298–304.

35. Smith MD, Serpell JW, Morgan JL. et al. Fine needle aspiration in the management of benign thyroid cysts. *Australian*

and New Zealand Journal of Surgery 2003; 73: 477–479.

36. Szporn AH, Yuan S, Wu M, Burstein DE. Cellular swirls in fine needle aspirates of papillary thyroid carcinoma: A new diagnostic criterion. *Mod Pathol.* 2006; 19: 1470-3.

37. Wu HH, Jones JN, Grzybicki DM, Elsheikh TM. Sensitive cytologic criteria for the identification of follicular variant of papillary thyroid carcinoma in fine-needle aspiration biopsy. *Diagn Cytopathol.* 2003;29:262-6.

38. Yang J, Schnadig V, Logrono R, Wasserman PG. Fine-needle aspiration of thyroid nodules: a study of 4703 patients with histologic and clinical correlations. *Cancer* 2007; 111(5): 306–315.

39. Zeromski J. et al. Expression of CD56/N-CAM antigen and some other adhesion molecules in various human endocrine glands. *Folia Histo Cytobiol.* 1998,36:119-125.

## SUMMARY

### ACCURATE DIAGNOSIS OF THYROID NODULES: A REVIEW OF DIAGNOSTIC DILEMMAS ON THYROID FINE-NEEDLE ASPIRATION BIOPSIES

Barabadze E., Burkadze G., Munjishvili V.

*Davit Tvildiani Medical University, Tbilisi, Georgia*

FNA biopsy is well known method for the first step evaluation of thyroid nodules, it is the “gold standard” for diagnosis and surgical approach of nodular goiter. Despite the high sensitivity and specificity of the method there are grey zone in the diagnosis of thyroid nodules, mainly due to the heterogeneous group of Bethesda category AUS/FLUS. There are also some difficulties in diagnosis of PTC, especially FVPTC, even on histologic sections. The limited studies exist that specifically address details of cytologic features associated with cytohistologic discrepancy. Cell-block is very helpful

in the diagnosis of papillary thyroid carcinoma and the carcinoma of undefined category; as the papillary configuration and nuclear features were more obvious, also immunocytochemical markers are applicable for ancillary studies. The BRAF mutation detection, which is associated with papillary microcarcinomas and cancer, can be yield for preoperative diagnosis, as well as for prognostic marker and as therapeutic target for farther management.

**Keywords:** FNA-biopsy, Cell-block, BRAF mutation.

## РЕЗЮМЕ

### ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ТРУДНОСТИ ТОНКОИГОЛЬНОЙ АСПИРАЦИОННОЙ БИОПСИИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ОБЗОР)

Барабадзе Е.Р., Буркадзе Г.М., Мунджишвили В.В.

*Медицинский университет им. Давида Твильдиани, Тбилиси, Грузия*

С целью постановки диагноза узлового зоба и выбора метода оперативного вмешательства на первом этапе диагностики «золотым стандартом» является тонкоигольная аспирационная биопсия. Однако, несмотря на высокую чувствительность и специфичность метода при определении узлов щитовидной железы существует «серая» зона в основной категории Bethesda, исходя из гетерогенной группы атипии неопределённого значения/фолликулярного поражения неопределённого значения. Существуют также сложности при постановке диагноза папиллярного рака щитовидной железы, особенно, в случае фолликулярного типа папиллярного рака щитовидной железы, даже в случаях

гистологических срезов; особо подчеркиваются детали цитологических характеристик, ассоциированных с цитогистологическим несоответствием. Для постановки диагноза папиллярного рака щитовидной железы весьма целесообразно использование блочно-клеточного метода. Так как папиллярная форма и ядерные особенности были весьма явными, использовались также и иммуноцитохимические маркеры. Выявление мутации гена BRAF, который ассоциируется с папиллярной микрокарциномой и раком, может быть использовано как для дооперационной диагностики в качестве прогностического маркера, так и последующего управления в терапевтических целях.

## რეზიუმე

ფარისებრი ჯირკვლის წვრილნემსიანი ასპირაციული ბიოფსიის დიაგნოსტიკური სირთულეები (ლიტერატურის მიმოხილვა)

ე. ბარაბაძე, გ. ბურკაძე, ვ. მუნჯიშვილი

დავით ტვილდიანის სახ. სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

კვანძოვანი ჩიყვის და მისი ქირურგიული მკურნალობის მეთოდის შერჩევისას დიაგნოსტიკის პირველ ეტაპზე გამოიყენება „ოქროს სტანდარტი“ - წვრილნემსიანი ასპირაციული ბიოფსიური მეთოდი. მისი მაღალი მგრძობელობისა და სპეციფიკურობის მიუხედავად, ფარისებრი ჯირკვლის კვანძების დიაგნოსტიკაში არსებობს “რუხი” ზონა, უმთავრესად - გამომდინარე Bethesda-ს კატეგორიის განუსაზღვრელი ატიპიის/განუსაზღვრელი მნიშვნელობის ფოლიკულების დაზიანების ჰეტეროგენური ჯგუფის არსებობიდან. გარკვეული სირთულეები არსებობს ფარისებრი ჯირკვლის პაპილური კიბოს დიაგნოსტიკაში, განსაკუთრებით - ფოლიკულური ტიპის პაპილური კიბოს ჰისტოლოგიური კვლევის დროსაც კი. ფარისებრი ჯირკვლის პაპილური კიბოს დიაგნოსტიკისათვის მიზანშეწონილია უჯრედული ბლოკის მეთოდის გამოყენება, რამეთუ იგი უკეთ ცხადყოფს ბირთვულ მახასიათებლებს და, ამასთან, იძლევა დამატებითი კვლევების საშუალებას (იმუნოციტოქიმიური მარკერები). BRAF-გენის მუტაციის გამოვლენა (რომელიც, ასევე, შეიძლება განისაზღვროს უჯრედული ბლოკით მიღებულ მასალაზე) ასოცირდება პაპილურ მიკროკარცინომასთან და კიბოსთან. დასახელებული მეთოდი შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას, როგორც ოპერაციამდელი დიაგნოსტიკისათვის, ასევე, პროგნოზული მარკერის სახით.

## УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ И МЕЖКЛЕТОЧНЫХ СВЯЗЕЙ В СТАТОЦИСТАХ НАЗЕМНОЙ ЛЕГОЧНОЙ УЛИТКИ HELIX LUCORUM

Горгиладзе Г.И., Букия Р.Д., Каландаришвили Э.Л., Тактакишвили А.Д.,  
Гелашвили Н.Ш., Давиташвили М.Т., Маджагалაძე Н.Б.

Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, Грузия

Одним из наиболее универсальных органов для восприятия гравитационного поля является статоцист, который имеется у всех типов беспозвоночных животных. Статоцисты представляют собой парные сферические замкнутые полости, заполненные жидкостью – статолимфой и содержащие статолит, или статоконии. У наземных легочных улиток полость статоциста выстлана сенсорным эпителием, состоящим из двух типов клеток: небольшое количество крупных, снабженных киноцилиями чувствительных клеток и значительно большее количество относительно мелких опорных или вставочных клеток, покрытых микроворсинками [2]. Статоцист является аналогом акустико-вестибулярной системы позвоночных животных. Его чувствительные клетки (гравирецепторы) реагируют как на изменения положения в пространстве, так и на вибрационные и звуковые стимулы [3-5,9,14,15]. Относительно простое строение рецепторного аппарата статоцистов брюхоногих моллюсков, небольшое число чувствительных

клеток и их крупные размеры делают его удобным объектом для различных электрофизиологических и морфологических исследований [5-7,10,11].

Последние годы один из видов наземных легочных улиток (*H.lucorum*) был использован в качестве объекта для изучения влияния невесомости на гравичувствительные образования статоциста. У улиток экспонированных в невесомости на АКА «Фотон» и ОС «Мир» продолжительностью от 0.5 до 5.5 мес. в послеполетном периоде были обнаружены изменения электрофизиологических показателей чувствительных клеток статоциста в виде снижения амплитуды мембранного потенциала, возрастания частоты фоновой импульсации, задержки адаптации в ответ на изменение положения тела в пространстве и смещения максимума реакции на 30° от гравитационной вертикали. Экспозиция улиток в невесомости сопровождалась вполне определенными изменениями морфологических параметров чувстви-

тельных клеток [4-6]. В статоцистах пресноводных улиток *L. stagnalis* с помощью конфокальной микроскопии были идентифицированы чувствительные клетки по различной реакции на фотостимулы [16]. Большое внимание уделено также изучению трансмиссивных субстратов и иммунореактивности чувствительных клеток статоциста у разных представителей легочных брюхоногих моллюсков [12,13,17,18].

В течение последних нескольких лет посредством световой, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии проводились исследования структурной организации статоциста наземных легочных улиток (*H. lucorum*). Установлено точное число чувствительных клеток, морфологические параметры и местонахождение каждой из них в статоцисте. Эпителиальная выстилка статоциста представляет собой пространственно-упорядоченный комплекс, состоящий из 13 клеточных ансамблей. В каждом из них одна чувствительная клетка окружена опорными клетками-сателлитами. Чувствительная клетка на переднем полюсе статоциста звездчатой формы, остальные 12 клеток полигональной формы образуют три пояса - по 4 клетки в каждом поясе по внутреннему периметру статоциста [1,6].

Целью настоящего исследования явилось изучение ультраструктуры чувствительных и опорных клеток, межклеточных связей в статоцистах легочной наземной улитки *Helix lucorum*.

**Материал и методы.** Эксперименты проводили на взрослых ( $13,0 \pm 0,04$  г) 66 особях (var. *taurica* Kryn.). Тело улитки извлекали из раковины, туловище с дорсальной стороны рассекали вдоль средней линии. Обнаженный при этом ганглионарный подплоточный комплекс вместе со статоцистами вырезали и фиксировали в 2% растворе глутаральдегида с последующей дофиксацией в 1% растворе четырехоксида осмия. По-

сле дегидратации препарат заключали в смесь эпона с араалдитом. Ультратонкие срезы заключенных в смолу статоцистов использовали для трансмиссионной электронной микроскопии (Hitachi H-300, Hitachi, Япония), а окрашенные толуидиновым синим срезы толщиной 1,5 мкм — для световой микроскопии («МИКМЕД-2», ЛОМО, Россия). В части опытов статоцисты после фиксации в глутаральдегиде и четырехоксида осмия и обезвоживания высушивали при критической точке в среде амилацетата и углекислоты, после чего вскрывали, напыляли золотом в установке ионного напыления и размещали на предметные столики сканирующего электронного микроскопа («CamScan», Великобритания).

**Результаты и их обсуждение.** Чувствительные клетки. В электронном микроскопе чувствительные клетки имеют определенным образом структурированную цитоплазму. Она состоит из трех слоев: 1. Эктоплазма: узкий, однородный, слабо электронно-плотный слой цитоплазмы на периферии клетки с немногочисленными мелкими гранулами, микрофиламентами и профилями основания киноцилий. 2. Гранулярный слой: более широкий, нежели эктоплазма, содержит множество клеточных органелл. Большое количество митохондрий разнообразной формы и с многочисленными кристами. Зоны комплекса Гольджи имеют вид плотно сомкнутых плоских параллельных цистерн, от дистальных концов которых отшнуровываются микропузырьки диаметром около 30 нм с электронно-плотным содержимым. Довольно часто эти микропузырьки обнаруживаются у апикальной поверхности клеточной мембраны. 3. Гиалоплазма: слабо электронно-плотный слой занимает значительную часть цитоплазмы. Здесь представлена гладкая и гранулярная эндоплазматическая сеть, различные мелкозернистые структуры, крупные гомогенные капли, а также гранулы умеренной и высокой электронной плотности. На границе между гранулярным и гиалиновым слоями цитоплазмы расположены особые элементы чувствительных клеток, так называемые миелиноподобные тельца или завитки.

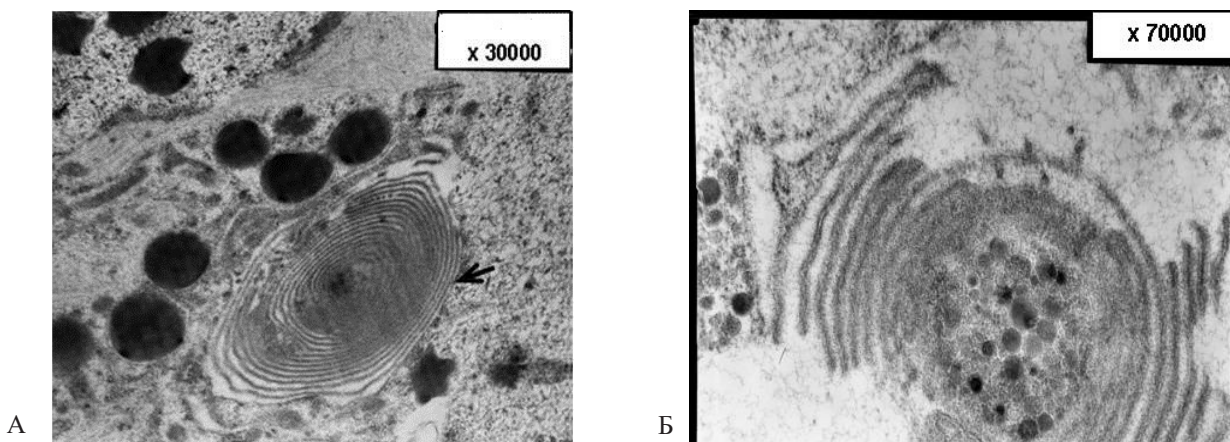


Рис. 1. Миелиноподобное тельце (завиток, указано стрелкой) и гранулы гликогена в цитоплазме чувствительной клетки эпителиальной выстилки статоциста *H. Lucorum* (А);

Б - при большем увеличении, расположенные в центре завитка зернистые, везикулярные и каплевидные образования различной электронной плотности. Трансмиссионный электронный микроскоп

Они образованы из плотно упакованных параллельно идущих мембран гладкой эндоплазматической сети и шероховатого ретикулума, спирально закрученных строго в одну сторону. Наружная стенка завитка, состоящая из 8-10 оборотов, образована шероховатой мембраной, тогда как внутренняя – гладкой мембраной. В центре завитка выявляются зернистые, везикулярные и каплевидные образования средней и высокой электронной плотности (рис. 1). Обычно завитки окружены митохондриями и многочисленными гранулами гликогена. В одной чувствительной клетке могут находиться несколько завитков. Они расположены на расстоянии 1-2 мкм друг от друга и связаны между собой. Вышеописанная картина дополняется присутствием в цитоплазме чувствительных клеток значительного количества мультивезикулярных телец. Эти овальной или округлой формы образования содержат от 20 до 50 везикул и ограничены элементарной мембраной. Некоторые из них находятся непосредственно под клеточной мембраной, другие вскрыты и изливают свое содержимое в полость стаатоциста.

Апикальная поверхность чувствительных клеток покрыта слоем гликокаликса. От нее отходят до 500 киноцилий. Последние расположены концентрическими кругами от центра клетки к ее периферии и в то же время несколько наклонены в том же направлении (рис. 2А). Каждая киноцилия растет из небольшого возвышения клеточной мембраны. Ее проксимальная часть свободно выступает в полость стаатоциста, а в ее дистальной части представлено базальное тельце. С одной стороны от базального тельца в несколько уплотненный поверхностный слой цитоплазмы отходит его ножка, с противоположной стороны и несколько ниже - его корешок. От корешка вглубь цитоплазмы тянутся микротрубочки толщиной не более 0,01 мкм с характерной поперечной исчерченностью. Киноцилии находятся друг от друга на расстоянии 0,9-2,25 мкм и состоят из 9 пар микротрубочек на периферии и одной

пары в центре. Длина киноцилий составляет 6-10 мкм, что лишь незначительно уступает высоте самих чувствительных клеток, а диаметр - около 0,25 мкм. На расстоянии 1-2 мкм от поверхности клетки киноцилия имеет суставоподобную структуру. Каждая киноцилия на расстоянии 0,06-0,16 мкм окружена 5-7 микровиллами длиной 0,65-1,0 мкм и диаметром 0,12-0,18 мкм (рис. 2Б). Микровиллы – простые выросты эктоплазмы, покрытые плазматической мембраной и, в отличие от киноцилий, лишены какой-либо характерной внутренней структуры. Если у киноцилий вершины несколько заужены, то у микровилл они имеют округлый вид. Довольно часто в основании микровилл выявляются мультивезикулярные тельца, пузырьки и электронноплотные гранулы.

*Опорные клетки.* Всё свободное от чувствительных клеток пространство внутренней поверхности стаатоциста заполнено опорными или вставочными клетками. С одной стороны, эти клетки служат опорой для чувствительных клеток, поскольку расположены между ними и базальной мембраной, с другой - они вставлены (в количестве от 1 до 3 клеток) между чувствительными клетками и по этой причине последние не имеют непосредственного контакта между собой (рис. 3А,Б). Цитоплазма опорных клеток довольно бедна органеллами, имеет слабо развитую эндоплазматическую сеть и аппарат Гольджи, содержит митохондрии с хорошо выраженным матриксом и кристами, крупные лизосомы, мультивезикулярные тельца, гранулы гликогена и небольшое количество вакуолей. В приграничной с плазматической мембраной зоне цитоплазмы встречаются пузырьки, возникшие, очевидно, в результате пиноцитоза. Ядра овальные или сильно вытянутые, с изрезанной поверхностью, с большим и малым диаметрами 9,1-14,7 мкм и 4,2-7,7 мкм, расположены в базальной части опорных клеток и содержат множество крупных хроматиновых глыбков, затрудняющих обнаружение в них ядрышек. Эта часть клеток сильно уплощена

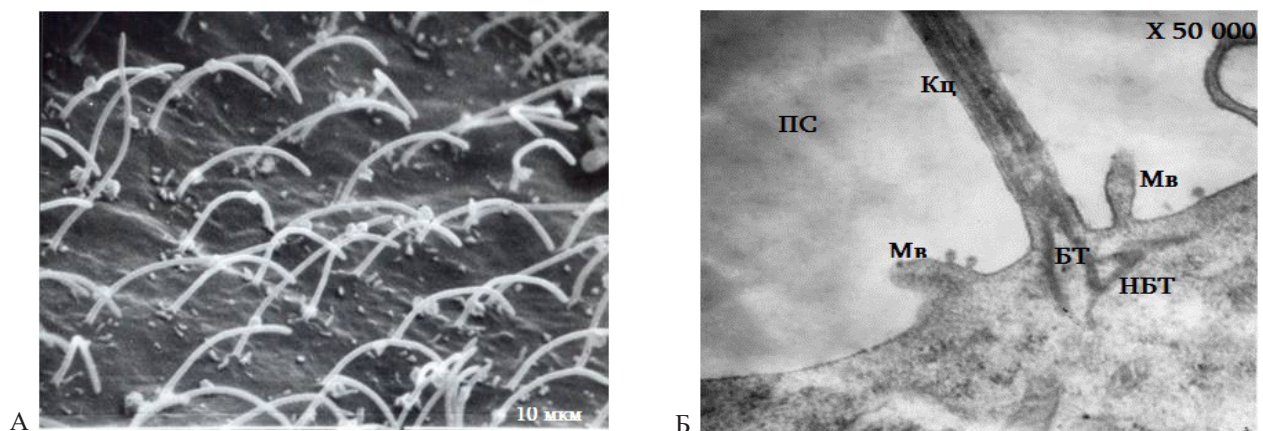


Рис. 2.А - Концентрическое расположение киноцилий на апикальной поверхности чувствительной клетки эпителиальной выстилки стаатоциста *H. Lissogit*). Сканирующий электронный микроскоп.  
Б - Фрагмент апикальной поверхности чувствительной клетки. ПС - полость стаатоциста; Кц - киноцилия; Мв - микрови́лла; БТ - базальное тельце; НБТ - ножка базального тельца. Трансмиссионный электронный микроскоп

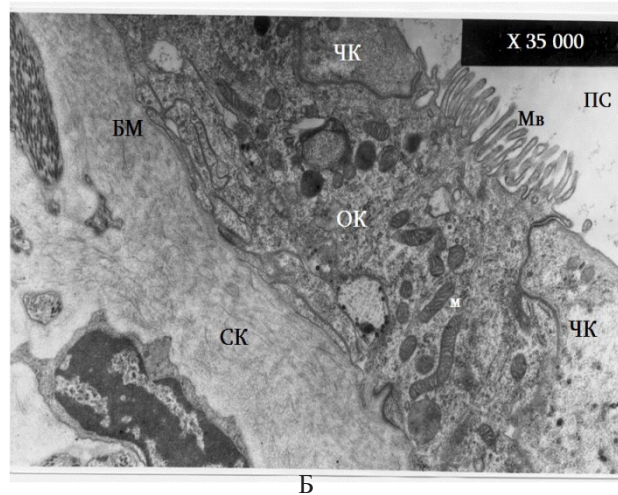
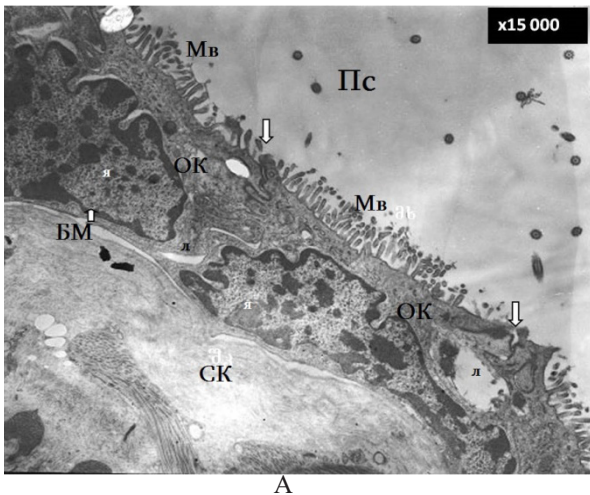


Рис. 3А. Три соседствующие между собой опорные клетки в эпителиальной выстилке статоциста *N. loricata*. В полости статоциста видны поперечные профили киноцилий. Границы между клетками указаны стрелками.

Б - Фрагмент эпителиальной выстилки статоциста. Стрелками указаны границы между опорной и двумя соседними чувствительными клетками. Пс - полость статоциста; ОК - опорная клетка; я - ядро опорной клетки; ЧК - чувствительная клетка; Мв - микровиллы; м - митохондрии;

БМ - базальная мембрана; СК - соединительнотканная капсула. Трансмиссионный электронный микроскоп

и имеет обширный контакт с одной стороны с подлежащей базальной мембраной статоциста, а с другой – с основанием чувствительных клеток. Граница между ними представлена пространством шириной 0,5-1,0 мкм. Она, как правило, хорошо выражена и обладает достаточно извилистым видом. От базальной части опорных клеток в ряде случаев прослеживается отхождение отростка. Апикальная часть опорных клеток занимает участки пространства, образованные по углам трех соседних чувствительных клеток. От нее отходят три постепенно суживающихся отростка, т.н. фаланги длиной до 25 мкм, образуя тонкие прослойки между чувствительными клетками. Каждый такой отросток может истончаться до 1 мкм и на расстоянии 0,15-0,2 мкм от его конца начинается новый отросток, принадлежащий другой опорной клетке.

На микрофотографиях внутренней выстилки статоциста, полученных посредством сканирующей электронной микроскопии, опорные клетки легко идентифицируются по обилию плотно расположенных микровилл длиной около 0,6 мкм и диаметром 0,17-0,19 мкм. Последние представляют собой трубчатые выросты эктоплазмы – микровиллы, покрытые плазматической мембраной. Часто микровиллы ветвятся и образуют анастомозы (рис. 4). По краям опорных клеток вместо микровилл имеются пальцевидные выпячивания цитоплазмы (рис. 5).

**Межклеточные связи.** Плазматические мембраны прилежащих клеток (чувствительной клетки с опорной или опорной с опорной), а также приграничные участки цитоплазмы характеризуются вполне определенными

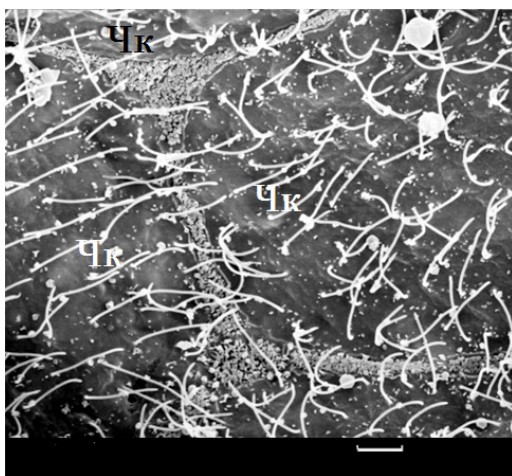


Рис. 4. Три соседствующие между собой опорные клетки в эпителиальной выстилке статоциста *N. loricata*. Границы между клетками указаны стрелками. Сканирующий электронный микроскоп. Масштаб 3 мкм

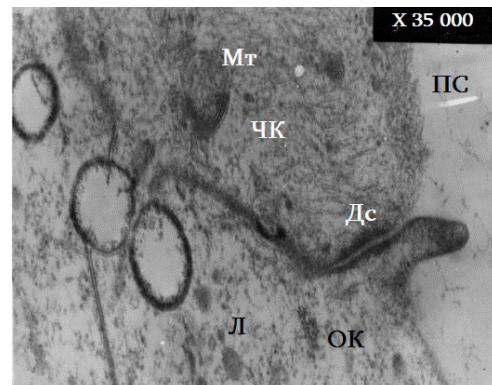


Рис. 5. Фрагмент эпителиальной выстилки статоциста *N. loricata*. Пс - полость статоциста; ЧК - чувствительная клетка; ОК - опорная клетка; Дс - десмосома; Мт - миелоноподобное тельце. Три пиноцитозные пузырька в цитоплазме опорной клетки. Стрелкой указано пальцевидное выпячивание цитоплазмы опорной клетки. Трансмиссионный электронный микроскоп

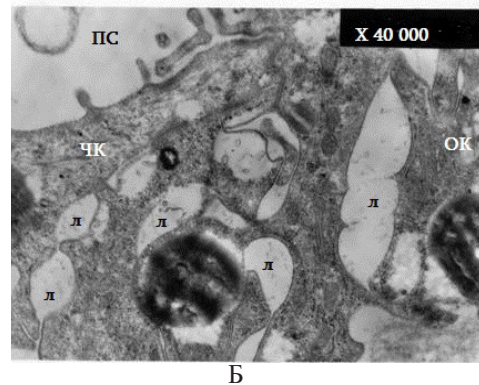
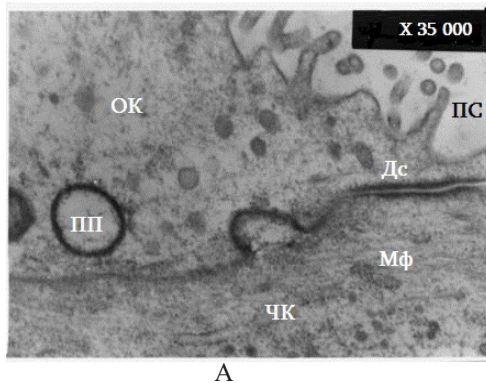


Рис. 6А. Фрагмент эпителиальной выстилки стадоциста *H. lucorum*.

ПС – полость стадоциста; ОК – опорная клетка; ЧК – чувствительная клетка; Дс – десмосома; ПП – пиноцитозный пузырек в цитоплазме чувствительной клетки. Стрелкой указан участок впячивания плазматической мембраны внутрь чувствительной клетки.

Б – Многочисленные лакуны (л) в эпителиальной выстилке стадоциста *H. lucorum*, соединенные между собой тонкими канальцами-протоками (указаны черными стрелками).

Одна лакуна содержит электронноплотное включение

структурными особенностями. Местами плазматические мембраны образуют специализированные контактные участки, аналогичные десмосомам в эпителиальных тканях. К внутреннему слою каждой мембраны прилегает электроноплотное образование толщиной около 2 мкм, куда сходятся так называемые эпителиальные нити.

Такие десмосомы длиной 0,4-1,0 мкм обычно образованы на прямых отрезках плазматических мембран несколько ниже свободной поверхности клеток (рис. 5). Другие десмосомы значительно более протяженные и извилистой формы, их межмембранное пространство пронизано многочисленными поперечными перегородками, соединяющими обе мембраны между собой. Это обстоятельство придает таким структурам сходство с веревочной лестницей и по этой причине они известны под названием перегородчатых или сотовых десмосом. Ниже десмосом плазматические мембраны соседствующих между собой клеток большей частью имеют складчатый вид из-за многочисленных выпячиваний и впячиваний, которые глубоко проникают друг в друга. На электроннограммах в ряде случаев удается обнаружить, что в участках впячивания плазматической мембраны внутрь клетки осуществляется захват содержимого межклеточного пространства и после смыкания мембран превращение ее в пиноцитозные пузырьки (рис. 5, 6А). Межклеточные пространства местами сильно расширяются, превращаясь в лакуны. Отдельные лакуны имеют в поперечнике 15 мкм, соединены между собой тонкими канальцами-протоками и нередко содержат мембраноподобные структуры различной формы и размеров (рис. 6Б). В результате образуется весьма разветвленная, сложной конфигурации система сообщающихся между собой межклеточных лакун, которые глубоко заходят внутрь клеток и в то же время имеют выход в полость стадоциста. Ультраструктура клеточных элементов стадоциста *H. lucorum* оказалась близкой с таковой у других видов легочных гастропод [2, 14, 19]. Однако, проведенное

нами подробное изучение ультраструктуры клеточных элементов эпителиальной выстилки стадоциста наземной легочной улитки *H. lucorum*, выявил целый ряд морфологических характеристик. Так, цитоплазма чувствительных клеток имеет определенную структуру, состоящую из трех слоев: эктоплазмы, гранулярного слоя и гиалоплазмы. Последний занимает значительную часть цитоплазмы. Особым структурным элементом чувствительных клеток являются миелиноподобные тельца (завитки), в центре которых расположены зернистые, везикулярные и каплевидные образования. Подобные структуры описаны в таких высокоактивных клетках головного мозга млекопитающих как клетки Пуркинье мозжечка и пирамидные клетки неокортекста [8]. В цитоплазме чувствительных клеток стадоциста *H. lucorum* выявляются участки, которые насыщены оптически плотными зернами гликогена. Приграничные зоны цитоплазмы прилежащих клеток характеризуются наличием специализированных контактных участков, аналогичных десмосомам в эпителиальных тканях; а также наличием перегородчатых или сотовых десмосом. В чувствительных клетках исследуемого объекта выявлены многочисленные лакуны, соединенные между собой тонкими канальцами-протоками, в результате чего образуется система сообщающихся между собой межклеточных лакун.

Особенности распределения чувствительных и опорных клеток в эпителиальной выстилке стадоциста, существование межклеточных связей, а также начало образования пиноцитозных пузырьков в чувствительных клетках и их окончательное структурирование в опорных, дает возможность предположить, что одна чувствительная клетка и ее сателлиты (опорные клетки) создавая клеточные ансамбли, действуют взаимосогласованно и представляют структурную единицу.

**Благодарность.** Работа выполнена в рамках проекта FR/334/7-272/13 Национального научного фонда им. Шота Руставели.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Букия Р.Д., Тактакишвили А.Д., Каландаришвили Э.Л., Горгиладзе Г.И. Морфологические особенности клеточных элементов статоциста наземной легочной улитки *Helix lucorum*. Известия АН Грузии, сер. Биол. А 2005; 31(6): 815-822.
2. Винников Я.А., Газенко О.Г., Титова Л.К. и др. Рецептор гравитации. Серия «Проблемы космической биологии». Т. XII. Л.: «Наука»; 1971: 523.
3. Горгиладзе Г.И. Структурные и функциональные характеристики статоциста улиток. В кн.: Орбитальная станция «Мир». Т. 2. М.: 2002; 366-382.
4. Горгиладзе Г.И., Козырев С.А., Носовский А.М. Влияние повышенной силы тяжести на электрофизиологические характеристики чувствительных клеток в статоцистах *Helix lucorum*. Доклады Академии наук 2009; 424(3): 415-418.
5. Горгиладзе Г.И., Шипов А.А., Хорн Э. Биологические эксперименты в невесомости.: функция равновесия. Авиакосм. и экол. мед. 2012; 46(5): 3-18.
6. Горгиладзе Г.И., Букия Р.Д., Каландаришвили Э.Л., Тактакишвили А.Д., Давиташвили М.Т., Гелашвили Н.Ш., Маджагаладзе Н.Б., Галкин В.А. Световая микроскопия клеточных элементов статоциста *Helix lucorum* (космический эксперимент на ОС «Мир»). Авиакосм. и экол. мед. 2013; 47(5): 6-12.
7. Зайцева О.В. Структурная организация сенсорной системы статоцистов переднежаберных моллюсков. Сенсорные системы 1999; 13(2): 99-109.
8. Кокко А.С. Пластинчатые тельца в клетках Пуркиньи в мозжечке кошки. Цитология 1972; XIV (4): 421-425.
9. Соколов В.А., Ковалев В.А. Статоцист брюхоногих моллюсков. Сенсорные системы. Л.: Наука; 1979; 136-149.
10. Balaban PM., Malyshev AY., Ierusalimsky VN., Aseev NA., Korshunova TA., et al. Structure and function of the snail statocyst system after orbital missions on Foton M-2 and M3. J Grav Physiol. 2008;15:273-276.
11. Balaban PM., Malyshev AY., Ierusalimsky VN., Aseyev N., Korshunova TA., Natasha I. Bravarenko NI., et al. Functional changes in the snail statocyst system elicited by microgravity. PLoS One. 2011; 6(3): e17710.
12. Braubach OR, Croll RP. Evidence that histamine acts as a neurotransmitter in statocyst hair cells in the snail, *Lymnaea stagnalis*. J Gravitational Physiol. 2004;11: 57-66.
13. Croll RP, Braubach O, Borycz J, Nason J, Evans C. Histamine is the putative neurotransmitter used by gravireceptor cells of the statocysts in molluscs. Grav Space Biol Bull. 2002;16: 57.
14. Dijkgraaf S., Hessels H.G.A. Über bau und funktion der statocyste bei der schnecke *Aplysia limacina*. Z. Vergl. Physiol. 1969; Bd. 62: 38-60.
15. Geuze J.J. Observations on the function and the structure of the statocysts of *Lymnaea stagnalis*. Netherl. J. Zool. 1968; Bd. 18(2): 155-204.
16. Ohsuga K. Kirovaka M, Kuwasawa K. Mosaic ar-

rangement of SCB(B-), FRMF amide-, and histamine-like immunoreactive sensory hair cells in the statocyst of the gastropod mollusc *Pleurobranchaea japonica*. Cell Tissue Res. 2000; 300: 165-72.

17. Sakakibara M., Aritaka T., Iizuka A., Suzuki H., Horikoshi T., Lukowiak K. Electrophysiological responses to light of neurons in the eye and statocyst of *Limnaea stagnalis*. J Neurophysiol. 2005; 93: 493-507.

18. Vallejo D, Habib MR, Delgado N, Vaasjo LO, Croll RP, Miller MW. Localization of tyrosine hydroxylase-like immunoreactivity in the nervous systems of *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria alexandrina*, intermediate hosts for schistosomiasis. J Comp Neurol. 2014; 522: 2532-2552.

19. Wolff H.G. Einige ergebnisse zur ultrastruktur der Statocysten von *Limax maximus*, *Limax flavus* und *Arion empiricorum* (Pulmonata). Z. Zellforsch. 1969; Bd. 100: 251-270.

## SUMMARY

### ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF CELLULAR ELEMENTS AND INTERCELLULAR CONNECTIONS IN STATOCYSTS OF TERRESTRIAL PULMONARY SNAIL *H. LUCORUM*

**Gorgiladze G., Bukia R., Kalandarishvili E., Taktakishvili A., Gelashvili N., Davitashvili M., Madjagaladze N.**

*Iv. Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia*

The organ of mollusc equilibrium - statocyst appears to be the analogue of acoustic-vestibular system in vertebrate animals. In terrestrial pulmonary snail the epithelial lining of statocyst cavity is created by two types of the cells - a small amount of large cells, provided with kinocilia of sensitive cells and considerably a large number of small supporting or inserted cells, covered with the microvilli. By means of transmission and scanning electron microscopy the ultrastructure and intercellular connections of these cells were studied. The sensitive cells have in a certain way structured cytoplasm, which consists of three layers: ectoplasm, granular layer and hyaloplasm. Myelin-like bodies having the granular, vesicular and drop-like formations in the centre appear to be the special structure of the cytoplasm. In the cytoplasm there are areas, saturated with electron dense glycogen granules. On the electronograms sometimes it is observed how the pinocytotic vesicles in the supporting cells are created from the diverticulum of plasmatic membrane of sensitive cells. The boundary areas of plasmatic membrane of adjacent cells (sensitive cells with supporting or supporting cells with the support) are also characterized by the presence of specialized contacts, which are analogous to desmosomes in the epithelial tissues, as well as by the existence of cellular desmosomes, interdigitations. Numerous lacunas have been revealed in the intercellular space, which are connected by the thin tubules and ducts resulting in the formation of a complicated



configuration of extensive system of communicating with each other lacunae, which have the exit in statocyst cavity.

**Keywords:** snail, statocyst, sensitive cells, supporting cells.

## РЕЗЮМЕ

### УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ И МЕЖКЛЕТОЧНЫХ СВЯЗЕЙ В СТАТОЦИСТАХ НАЗЕМНОЙ ЛЕГОЧНОЙ УЛИТКИ HELIX LUCORUM

Горгиладзе Г.И., Букия Р.Д., Каландаришвили Э.Л., Тактакишвили А.Д., Гелашвили Н.Ш., Давиашвили М.Т., Маджгаладзе Н.Б.

*Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, Грузия*

Орган равновесия моллюсков – статоцист является аналогом акустико-вестибулярной системы позвоночных животных. У наземных легочных улиток эпителиальная выстилка полости статоциста образована двумя типами клеток – небольшое количество крупных, снабженных киноцилиями чувствительных клеток и значительно большее количество относительно мелких опорных или вставочных клеток, покрытых микроворсинками. Посредством трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии были изучены ультраструктура и межклеточные связи этих клеток. Чувствительные клетки имеют определенным образом структурированную цитоплазму, состоящую из трех слоев: эктоплазма, гранулярный слой и гиалоплазма. Особенной структурой цитоплазмы являются миелоноподобные тельца (завитки) с расположенными в центре зернистыми, везикулярными и каплеобразными образованиями. В цитоплазме встречаются также участки, насыщенные электронноплотными гликогенными зернами. Выпячиванием плазматической мембраны чувствительных клеток образуются пиноцитозные пузырьки формирование которых уже происходит в опорных клетках. Приграничные зоны плазматических мембран прилежащих клеток (чувствительные клетки с опорными или опорные с опорными) характеризуются также наличием специализированных контактов, аналогичных десмосомам в эпителиальных тканях и наличием перегородчатых или сотовых десмосом, интердигитацию. В межклеточном пространстве выявлены многочисленные лакуны, соединенные между собой тонкими канальцами-протоками, в результате чего образуется сложной конфигурации разветвленная система сообщающихся между собой лакун, которые имеют выход в полость статоциста.

## რეზიუმე

სმელეთის ფილტვიანი ლოკოკინა *H.Lucorum*-ის სტატოცისტის უჯრედული ელემენტების და უჯრედშორისი კავშირების ულტრასტრუქტურული ორგანიზაცია

გ.გორგილაძე, რ. ბუკია, ე.კალანდარიშვილი, ა.თაკთაქიშვილი, ნ. გელაშვილი, მ. დავითაშვილი, ნ. მაჯგალაძე

ი. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო

მოდულულების წონასწორობის ორგანო - სტატოცისტი წარმოადგენს ხერხემლიანი ცხოველების აქუსტიკურ-ვესტიბულური სისტემის ანალოგს. სმელეთის ფილტვიან ლოკოკინებში სტატოცისტის ღრუს ამომფენი ეპითელიუმში წარმოქმნილია ორი ტიპის უჯრედებისაგან: მცირე რაოდენობის და დიდი ზომის, კინოცილიებით აღჭურვილი მგრძობიარე და მნიშვნელოვნად პატარა ზომის, შედარებით მრავალრიცხოვანი, მიკროხაოებით აღჭურვილი საყრდენი უჯრედებისაგან. ტრანსმისიული და მასკანირებელი ელექტრონული მიკროსკოპიის საშუალებით შესწავლილი იყო ამ უჯრედების და უჯრედშორისი კონტაქტების ულტრასტრუქტურა. მგრძობიარე უჯრედის ციტოპლაზმა შედგება სამი შრისაგან: ექტოპლაზმა, გრანულური შრე და ჰიალოპლაზმა. გრანულური და ჰიალინური შრეების საზღვარზე განლაგებულია მგრძობიარე უჯრედების სპეციფიკური ელემენტები - მიელინისებური სხეულაკები (ხვია), რომელთა ცენტრში შეინიშნება მარცვლოვანი, ვეზიკულური და წვეთისებური წარმონაქმნები. ციტოპლაზმაში გამოვლენილია, აგრეთვე, ელექტრონულად მკვრივი გლიკოგენური მარცვლებით გაჯერებული უბნები. ერთმანეთის მომიჯნავე უჯრედების პლაზმურ მემბრანებს (მგრძობიარე უჯრედის საყრდენ უჯრედთან ან საყრდენის საყრდენთან) შორის აღინიშნება სპეციალიზებული, ეპითელიური ქსოვილისათვის დამახასიათებელი დესმოსომური და ფიჭური კონტაქტები, ინტერდიგიტაციები, მგრძობიარე უჯრედის პლაზმური მემბრანის ჩაზნექვის გზით კი საყრდენ უჯრედებში შეინიშნება პინოციტოზური ბუშტუკების ფორმირება. მოსახლვრე უჯრედშორის სივრცეში გამოვლენილია თხელი არხებით ერთმანეთთან დაკავშირებული მრავალრიცხოვანი ლაკუნა, რომლებიც ქმნიან დაქსაქსულ და რთული კონფიგურაციის მქონე სისტემას, ღრმად შეჭრილს ციტოპლაზმაში და გასავალით სტატოცისტის ღრუში.

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЯЗЫКА КРЫСЫ В РАННИЙ ПЕРИОД ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НЕЕ МОНОМЕРА АКРИЛОВОЙ ПЛАСТМАССЫ

Давыденко В.Ю., Нидзельский М.Я., Старченко И.И., Давыденко А.Н., Кузнецов В.В.

*Высшее государственное учебное заведение Украины  
«Украинская медицинская стоматологическая академия», Полтава, Украина*

В клинике ортопедической стоматологии по сей день широко используются базисные материалы - производные акриловой и метакриловой кислот [1]. Это обусловлено их положительными свойствами и качеством: простотой технологией, низкой себестоимостью, доступностью. Однако, многими исследователями выявлены серьезные недостатки базисных полимеров, основным из них является присутствие свободного мономера, который оказывает отрицательное воздействие на ткани протезного ложа и организм в целом [3,7]. Доказано, что даже в незначительных количествах мономер вызывает воспаление слизистой оболочки, патологический рост клеток эпителия, иногда аллергические реакции локального и общего характера

При изготовлении полных съемных зубных протезов необходимо полноценное восстановление функции жевания, включая восстановление вкусовой чувствительности. Особенно важно правильное восстановление вкусовой чувствительности. Язык является органом, выполняющим достаточно широкий круг различных функций. Одна из них – это восприятие вкуса [2,9]. Для этого в слизистой оболочке находятся специфические вкусовые рецепторы – сосочки, которые могут изменять вкусовую чувствительность под влиянием различных факторов [4,6,10]. Язык наиболее тесно контактирует с базисом съемных протезов и ротовой жидкостью, в которую вместе со смывом поступает остаточный мономер. Исходя из вышеизложенного, представляется весьма актуальным изучение взаимодействия мономера акриловых пластмасс со слизистой оболочкой языка. Язык крыс может служить полноценной моделью, так как имеет значительное сходство со структурой языка человека, что и стало основой выбора этих животных для проведения эксперимента.

Цель исследования – изучить в эксперименте состояние слизистой оболочки языка у крыс и ее регенерацию после воздействия мономера базисной акриловой пластмассы «Фторакс».

**Материал и методы.** Экспериментальные исследования выполнены на лабораторных крысах линии Вистар в возрасте от 1 до 1,5 года, использовали 20 крыс, из них 5 составили контрольную группу (I группа). Другим животным проводили обработку слизистой оболочки языка 2% водным раствором мономера акриловой базисной пластмассы «Фторакс» дважды в день. Эв-

таназию животных (по 5 особей) проводили спустя 1 сутки (II группа), 3 суток (III группа) и на 7 сутки (IV группа). Все исследования проводились в соответствии с требованиями Токийской декларации гуманного отношения к животным Всемирной медицинской ассоциации и по общим этическим принципам работы с экспериментальными животными, одобренными Первым национальным конгрессом по биоэтике [5]. Экспериментальных животных подвергали эвтаназии методом передозировки наркоза согласно Директиве 86/609 ЕЕС и Договору Совета Европы ЕТз 123. После эвтаназии крысам удаляли язык, из которого потом брали фрагменты – корень, боковые и фронтальный участки языка, заливали жидким парафином посредством установки для заливки парафиновых блоков «Microm», срезы с парафиновых блоков окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятым методикам [8].

**Результаты и их обсуждение.** У животных второй экспериментальной группы после контакта слизистой языка с мономером акриловой пластмассы в течение суток, заметных отличий в структурной организации слизистой оболочки, в сравнении с контрольной группой, не наблюдалось. Патологические изменения были слабо выражены и имели стереотипные проявления в сравнении со слизистой оболочкой крыс до обработки её раствором мономера. Так, в субэпителиальных отделах собственной пластинки слизистой оболочки вдоль базальной мембраны было характерно некоторое увеличение лимфоцитов и клеточных элементов моноцитарно-макрофагального ряда (рис. 1).

Изредка описанные клеточные элементы в виде небольших групп располагались поблизости кровеносных микрососудов. Последние в большинстве наблюдений характеризовались паретическим расширением и избыточным содержанием форменных элементов. В отдельных микрососудах наблюдались явления сладжа и агрегации форменных элементов крови. Следует отметить, что описанные расстройства кровообращения были наиболее выраженными в слизистой боковых отделов тела языка (рис. 2). В отдельных наблюдениях в собственной оболочке, преимущественно в соединительной ткани сосочков, имело место явление повышенной гидратации основного вещества (рис. 1).

Базальная мембрана эпителиального покрова во всех изучаемых отделах слизистой оболочки практически

не отличалась от такового у животных контрольной группы, однако следует отметить некоторое увеличение внутриэпителиальных лимфоцитов, из которых отдельные визуализировались и среди эпителиоцитов шиповатого слоя. Заметные изменения наблюдались в клетках шиповатого слоя эпителия, в первую очередь, следует отметить появление прозрачных вакуолей, преимущественно в околядерном пространстве, заполненных цитоплазматической жидкостью.

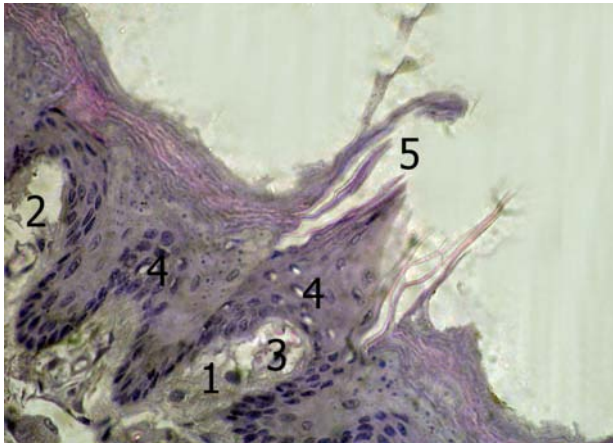


Рис. 1. Строение покровного эпителия слизистой оболочки кончика языка крысы (контакт с мономером пластмассы на протяжении 1 суток). 1 – лимфоциты в собственной пластинке слизистой оболочки; 2 – зоны повышенной гидратации соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки; 3 – кровеносный микрососуд; 4 – эпителиоциты шиповатого слоя с дистрофическими изменениями; 5 – нитевидный сосочек с явлениями кератолита. Микропрепарат. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 40<sup>x</sup>, ок. 7<sup>x</sup>

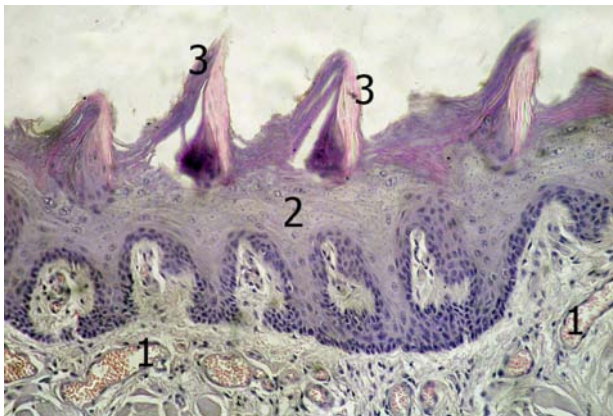


Рис. 2. Строение покровного эпителия слизистой оболочки боковой поверхности тела языка крысы (контакт с мономером пластмассы на протяжении 1 суток). 1 – кровеносные микрососуды с явлениями полнокровия; 2 – покровный эпителий; 3 – нитевидный сосочек с явлениями кератолита, деструктивными изменениями. Микропрепарат. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 20<sup>x</sup>, ок. 7<sup>x</sup>

Гидропическая дистрофия клеток шиповатого слоя довольно часто обнаруживается в покровном эпителии. Однако, в наших наблюдениях описанный процесс имел выраженный очаговый характер и наблюдался, как правило, в эпителиоцитах, покрывающих нитевидные сосочки, либо в клетках, расположенных в непосредственной близости от последних (рис. 1).

Некоторые изменения выявлялись непосредственно в нитевидных сосочках. Так, довольно часто имела место отслойка клеток рогового слоя от нижележащих с образованием субкорнеальных полостей – явления кератолита, при этом кератиновые массы обретали выраженный ламиллярный вид. Отдельные нитевидные сосочки имели атипичную форму, при этом наблюдались как истонченные, так и сосочки с утолщенной основой. Описанные процессы имели место не только в области верхушки языка, но и в нитевидных сосочках на боковых поверхностях тела и в области корня языка (рис. 1,2).

Аналогичные нарушения типичного строения можно отметить и в отдельных листовидных сосочках, расположенных, как было ранее отмечено, в прикорневых отделах на боковой поверхности тела языка. В последних, наряду с явлениями кератолита, выявлялось значительное количество шиповатых клеток с дистрофическими изменениями, отмечалась инфильтрация стромы лимфоцитами и клетками моноцитарно-макрофагального ряда (рис. 3).

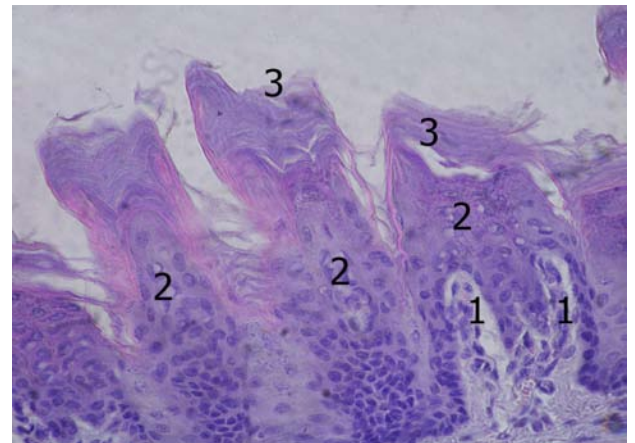


Рис. 3. Строение листовидных сосочков слизистой оболочки боковой поверхности тела языка крысы (контакт с мономером пластмассы на протяжении 1 суток). 1 – воспалительная инфильтрация в соединительнотканной основе; 2 – эпителиоциты шиповатого слоя с дистрофическими изменениями; 3 – явления кератолита. Микропрепарат. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 20<sup>x</sup>, ок. 7<sup>x</sup>

Изменения со стороны грибовидных и желобоватых сосочков были незначительны, аналогично вышеописанным, заключались в явлениях кератолита,

дисциркуляторных сдвигах в микрососудах соединительнотканной основы, появлении в последней групповых скоплений лимфоцитов и клеток моноцитарно-макрофагального ряда.

При контакте лингвальной слизистой с мономером акриловой пластмассы в течение 3 суток наблюдалось дальнейшее усугубление патологических сдвигов, которые в описываемой экспериментальной группе определяются как в эпителиоцитах и собственной пластинке слизистой, так и в мышечном слое. Так, в области боковых отделов тела языка и в области его корня в поверхностных отделах мышечной основы встречались очаговые клеточные инфильтраты непосредственно среди поперечнополосатых волокон, а также в разделяющих их прослойках соединительной ткани. Среди клеток описанных инфильтратов в значительном количестве визуализировались нейтрофильные лейкоциты, встречались также макрофаги и единичные лимфоциты. В непосредственной близости от таких инфильтратов обнаруживались паретически расширенные кровеносные сосуды, содержащие избыточное количество жидкой фракции крови. В отдельных случаях расширение сосудов сопровождалось краевым стоянием форменных элементов крови (рис. 4).

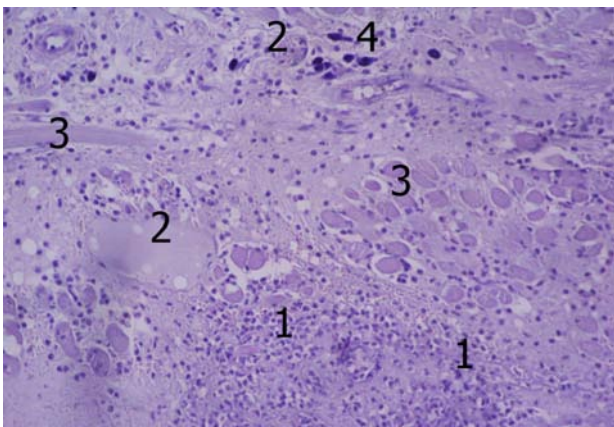


Рис. 4. Поверхностные отделы поперечнополосатых мышц языка (контакт с мономером пластмассы на протяжении 1 суток). 1 – воспалительная инфильтрация; 2 – кровеносные сосуды; 3 – мышечные волокна; 4 – тучные клетки. Микропрепарат. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 20<sup>x</sup>, ок. 7<sup>x</sup>

В периваскулярных пространствах довольно часто встречались тучные клетки, для которых характерны относительно крупные размеры и базофильные гранулы в цитоплазме, содержащие биологически активные вещества, являющиеся медиаторами воспалительных реакций (рис. 4). Все описанные патологические изменения свидетельствуют о развитии у данной экспериментальной группы животных экссудативного воспаления в поверхностных отделах мышц языка. Причину развития данного патологического процесса обнаруживали при детальном изучении состояния

слизистой оболочки. В последней периодически встречались мелкие участки, полностью лишённые эпителиального покрова (рис. 5).

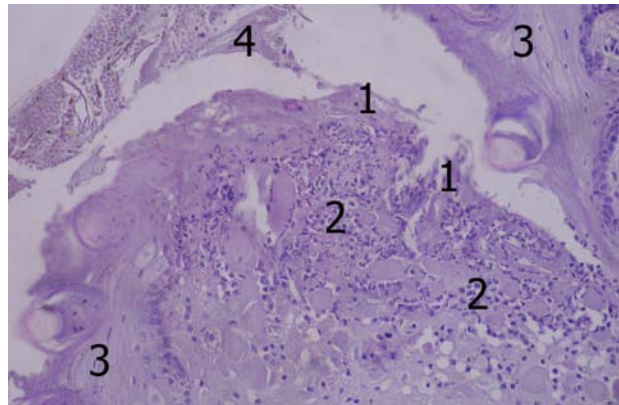


Рис. 5. Поверхностные отделы мышц языка (контакт с мономером пластмассы на протяжении 3 суток). 1 – зона эрозии; 2 – воспалительная инфильтрация; 3 – покровный эпителий утолщён за счёт клеток шиповатого слоя; 4 – десквамированные эпителиоциты. Микропрепарат. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 20<sup>x</sup>, ок. 7<sup>x</sup>

На таких участках в обнажённой собственной пластинке слизистой оболочки обнаруживались воспалительные инфильтраты, клеточный состав которых соответствовал таковому в поверхностных отделах мышц языка. В непосредственной близости от участков эрозий слизистой имели место утолщения покровного эпителия, преимущественно за счёт шиповатого слоя, чередующиеся с участками истончения и десквамации поверхностных слоёв покровного эпителия. В собственной пластинке, поблизости от эрозий наблюдались сосуды с явлениями гиперемии, а также тучные клетки, функциональное предназначение которых обсуждалось ранее.

Таким образом, при контакте мономера акриловой пластмассы со слизистой оболочкой языка на протяжении 3 суток в последней отмечалось развитие мелкоочаговых эрозий, вследствие чего создаются предпосылки для развития воспаления непосредственно в мышцах языка. Эрозивные поражения слизистой, как и воспалительные изменения в мышцах, обнаруживались преимущественно в области корня и боковых поверхностей языка, изредка в области кончика.

На участках слизистой, где не наблюдалось развитие эрозий, отмечались изменения, аналогичные описанным в предыдущей экспериментальной группе, однако в ряде случаев они имели более выраженный характер. Так, повсеместно значительно увеличилось количество шиповатых эпителиоцитов с дистрофическими изменениями. Довольно часто в таких клетках имело место развитие крайней степени гидропической дистрофии – баллонной дистрофии. Периодически встречались

зоны, характеризовавшиеся неравномерной толщиной эпителиального покрова, на которых участки утолщения эпителиального пласта чередовались с участками истончения. Постоянно встречались явления акантолиза. Заметно увеличивалось количество нитевидных сосочков, имевших атипичную форму; кроме того, периодически обнаруживались участки с значительным количеством нитевидных сосочков, имеющих выраженные деструктивные изменения и участки, в которых количество сосочков заметно уменьшалось. Характерно, что описанные изменения имели место на боковых поверхностях и в области корня языка. Как и в предыдущей экспериментальной группе, в листовидных сосочках преобладали явления кератолиза и дистрофии эпителиоцитов шиповатого слоя.

Изменения со стороны желобоватых сосочков проявлялись, в первую очередь, значительной воспалительной инфильтрацией в соединительнотканной основе, расширением и полнокровием сосудов. Вокруг последних довольно часто обнаруживались тучные клетки с явлениями дегрануляции (рис. 6).

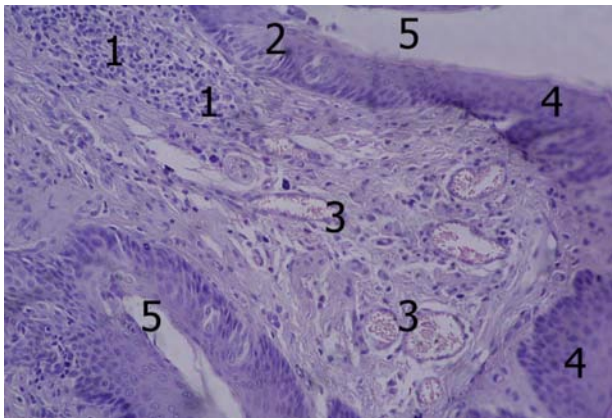


Рис. 6. Строение желобоватого сосочка языка (контакт с мономером пластмассы в течение 3 суток). 1 – воспалительная инфильтрация в рыхлой соединительнотканной основе сосочка; 2 – вкусовая почка; 3 – кровеносные сосуды полнокровны; 4 – многослойный покровный эпителий; 5 – желобок, окружающий сосочек. Микропрепарат. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 20<sup>x</sup>, ок. 7<sup>x</sup>

В группе животных, слизистая оболочка языка которых контактировала с мономером пластмассы в течение 7 суток, эрозии слизистой оболочки встречались несколько чаще, чем в предыдущей экспериментальной группе и, как и ранее, были локализованы преимущественно по боковым поверхностям и в области корня. Немногочисленные эрозии обнаруживались также и в области кончика языка. В отдельных случаях дефекты распространялись за пределы слизистой оболочки и переходили на подслизистую основу, а иногда и на мышцы языка, что свидетельствует о прогрессе деструктивных изменений и развитии на месте эрозий

глубоких дефектов – язв. Дно таких язв было заполнено некротическим детритом с обильной нейтрофильной инфильтрацией. По периферии язвенных дефектов в мышцах языка имела место очаговая воспалительная инфильтрация с преобладанием нейтрофильных лейкоцитов, встречались также макрофаги и немногочисленные лимфоциты. Отличительной особенностью эрозивных поражений слизистой оболочки в описываемой экспериментальной группе в большинстве случаев следует считать утолщение покровного эпителия по краю дефекта и наблюдаемые явления «наползания» последнего на эрозированные участки.

Вышеизложенное следует расценить как инициальную фазу реституции, которая, в свою очередь, свидетельствует о том, что патологический процесс принимает четко выраженное хроническое течение (рис. 7).

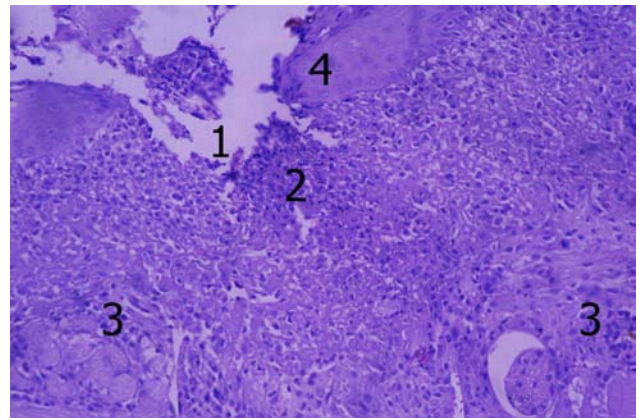


Рис. 7. Язвенный дефект слизистой оболочки боковой поверхности тела языка (контакт с мономером пластмассы на протяжении 7 суток). 1 – область язвенного дефекта; 2 – некротизированный детрит с нейтрофильной инфильтрацией; 3 – воспалительная инфильтрация среди мышечных волокон языка; 4 – покровный эпителий с явлениями пролиферации. Микропрепарат. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 20<sup>x</sup>, ок. 7<sup>x</sup>

На участках слизистой оболочки, где покровный эпителий был сохранён, следует отметить существенное утолщение его пласта, преимущественно за счёт клеток шиповатого слоя. При этом, эпителиоциты с явлениями гидропической дистрофии обнаруживались относительно редко. В тоже время, на описанных участках постоянно имело место избыточное образование роговых масс – явления гиперкератоза с акантолизом. Утолщение покровного эпителия является, скорее всего, приспособительным процессом, направленным на защиту подлежащих тканей языка от агрессивного действия мономера акриловой пластмассы (рис. 8).

В собственной пластинке слизистой оболочки под утолщённым покровным эпителием практически постоянно обнаруживались обильные клеточные инфильтраты, образованные преимущественно лимфоцитами,

макрофагами и плазматическими клетками. Подобный клеточный состав воспалительного инфильтрата, с одной стороны, является признаком хронического воспалительного процесса, с другой стороны свидетельствует об активизации на данном этапе клеточного и гуморального иммунитета; отдельные лимфоциты довольно часто обнаруживались среди эпителиоцитов базального и нижних рядов шиповатого слоя (рис. 8).

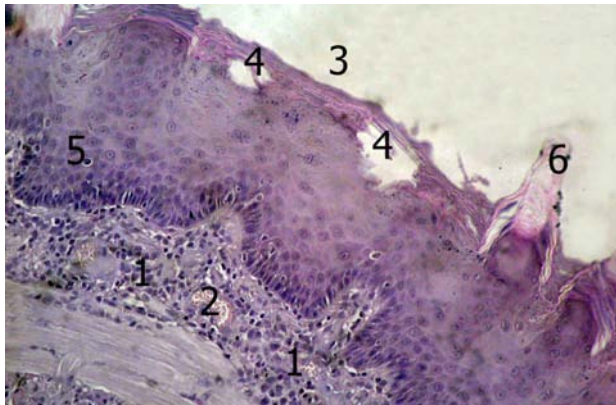


Рис. 8. Покровный эпителий слизистой оболочки корня языка (контакт с мономером пластмассы на протяжении 7 суток). 1 – воспалительная инфильтрация в собственной пластинке; 2 – кровеносные сосуды; 3 – сглаженный участок покровного эпителия, лишённый нитевидных сосочков; 4 – зоны акантолиза; 5 – интраэпителиальный лимфоцит; 6 – атрофированный нитевидный сосочек. Микропрепарат. Окраска гематоксилин-эозином. Об. 40<sup>х</sup>, ок. 7<sup>х</sup>

Наряду со значительным количеством нитевидных сосочков с деструктивными сдвигами и изменённой, атипичной формой, довольно часто встречались сосочки, размеры которых и, в первую очередь их высота, были значительно меньше в сравнении с контрольной группой и описанными ранее экспериментальными группами. Чаще, чем в предыдущей экспериментальной группе, встречались участки слизистой оболочки, на которой нитевидные сосочки отсутствовали на довольно обширных участках. Перечисленные выше изменения, касающиеся нитевидных сосочков, являются признаками атрофических изменений, которые более всего выражены на боковых поверхностях и в области корня, наименее – в области кончика языка.

Схожие процессы имеют место и в других типах сосочков, которые принимают участие во вкусовой рецепции. Так, в прикорневых отделах боковых поверхностей тела языка часто встречались листовидные сосочки с деструктивными изменениями; некоторые из них были уменьшены в размерах, местами плотность расположения данного вида сосочков заметно снижалась. Грибовидные сосочки и сосочки, окружённые желобком, также характеризовались некоторым уменьшением размеров. Как в желобоватых, так и в грибовидных сосочках зачастую наблюдалось уменьшение количества вкусовых почек.

**Вывод.** Исследования строения слизистой оболочки языка крыс в ранние сроки воздействия на неё мономера акриловой пластмассы показали, что патологические изменения слизистой оболочки наступают уже на 3-7 сутки, эти повреждения имеют деструктивно-воспалительный характер, что наиболее выражено в боковых отделах языка, где расположены вкусовые сосочки, и в последующем приводит к патологическим изменениям их структуры.

Вышеприведенные данные позволяют судить об отрицательном воздействии мономера акриловых пластмасс на структурную организацию вкусовых сосочков и об ухудшении вкусового восприятия.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Брель А.Л., Дмитриенко С.В., Котляревская О.О. Полимерные материалы в клинической стоматологии. Волгоград: 2006; 223.
2. Иорданишвили А.К., Филиппова Е.В., Либих Д.А. и др. Клинико-функциональное состояние слизистой оболочки полости рта и языка у людей старших возрастных групп. Институт стоматологии 2012; 4: 80-81.
3. Каливрадзиян Э.С., Позов Д.Т., Чиркова Н.В. и др. Изучение токсико-гигиенических свойств акрилового полимера, модифицированного наночастицами кремния. Современная ортопедическая стоматология 2011; 15: 18-19.
4. Маев И.В., Костина Н.В., Гаматаева Д.И. и др. Морфологическое изучение сосочков языка при моделировании гастроэзофагальной рефлюксной болезни. Институт стоматологии 2011; 3: 88-89.
5. Общие этические принципы работы с экспериментальными животными при проведении медицинских биологических исследований. Национальный конгресс з биоэтики. Київ: 17-20 вересня 2001р. Ж.АМН України 2001; 7(4): 814-816.
6. Рассолов В.Н., Семенова Г.И., Галахов Б.Б. и др. Гистоструктура, микрососудистое русло и биомеханика языка человека. Морфологические ведомости 2014; 4: 62-69.
7. Рубленко С.С., Кунгуров С.В., Золотухина В.М. и др. Влияние зубных протезов на слизистую оболочку полости рта (обзор литературы). Сиб. стоматол. вестн. 2007; 1: 18-21.
8. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника: руководство для врачей и лаборантов. М.: Медицина; 1996: 544.
9. Canaan T.J., Meehan S.C. Variations of structure and appearance of the oral mucosa. Dent. Clin. North. Am. 2005; 49(1): 1-14.
10. Hearnden V., Lomas H., Macneil S. Diffusion studies of nanometer polymersomes across tissue engineered human oral mucosa. Pharm. Res. 2009; 26(7): 1718-1728.

## SUMMARY

### MORPHOLOGICAL FEATURES OF RAT MUCOUS MEMBRANE OF THE TONGUE EARLY AFFECTED BY ACRYLIC RESIN MONOMER

Davydenko V., Nidzelskiy M., Starchenko I.,  
Davydenko A., Kuznetsov V.

*Higher State Educational Establishment of Ukraine  
"Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava,  
Ukraine*

Base materials, made on the basis of various derivatives of acrylic and methacrylic acids, have been widely used in prosthetic dentistry. Free monomer, affecting the tissues of prosthetic bed and the whole body, is always found in dentures. Therefore, study of the effect of acrylic resins' monomer on mucous membrane of the tongue is crucial. Rat tongue is very similar to human tongue, and this fact has become the basis for selecting these animals to be involved into the experiment.

The paper presents the findings related to the effect of "Ftoraks" base acrylic resin monomer on the state of rat mucous membrane of the tongue and its regeneration. The microscopy has found that the greatest changes in the mucous membrane of the tongue occur on day 3 and 7 day after applying the monomer and are of erosive and inflammatory nature. Regeneration of tongue epithelium slows down.

**Keywords:** tongue, lingual papillae, mucous membrane, epithelium, acrylic residual monomer.

## РЕЗЮМЕ

### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЯЗЫКА КРЫСЫ В РАННИЙ ПЕРИОД ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НЕЕ МОНОМЕРА АКРИЛОВОЙ ПЛАСТМАССЫ

Давыденко В.Ю., Нидзельский М.Я.,  
Старченко И.И., Давыденко А.Н., Кузнецов В.В.

*Высшее государственное учебное заведение Украины  
«Украинская медицинская стоматологическая академия», Полтава, Украина*

В клинике ортопедической стоматологии по сей день широко используются базисные материалы на основе различных производных акриловой и метакриловой кислот. В протезах всегда содержится свободный моно-

мер, который оказывает отрицательное влияние на ткани протезного ложа и организм, в целом. Поэтому актуально изучение влияние мономера акриловых пластмасс на слизистую оболочку языка. Язык крыс имеет значительное сходство с языком человека, что и стало основой выбора этих животных для проведения эксперимента.

В статье представлены результаты исследования влияние мономера базисной акриловой пластмассы «Фторакс» на состояние слизистой оболочки языка у крыс и ее регенерацию. Согласно данным микроскопии, наибольшие изменения в слизистой оболочке языка наступают на 3 и 7 сутки после нанесения мономера и носят эрозивно-воспалительный характер. Регенерация эпителия языка замедляется.

## რეზიუმე

ვირთავების ენის ლორწოვანი გარსის მორფოლოგიური თავისებურებანი მასზე აკრილის პლასტმასის მონომერის ზემოქმედების ადრეულ პერიოდში

ვ. დავიდენკო, მ. ნიდელსკი, ი. სტარჩენკო,  
ა. დავიდენკო, ვ. კუზნეცოვი

*უკრაინის სახელმწიფო უმაღლესი სასწავლო დაწესებულება „უკრაინის სამედიცინო სტომატოლოგიური აკადემია“ პოლტავა, უკრაინა*

დღეს ორთოპედიული სტომატოლოგიის კლინიკაში ფართოდ გამოიყენება აკრილის და მეტაკრილის მუკების სხვადასხვა წარმოებულის საფუძველზე შექმნილი საბაზო მასალები. პროთეზებში ყოველთვისაა თავისუფალი მონომერი, რომელიც უარყოფით გავლენას ახდენს საპროთეზო სარეცელის ქსოვილებზე და, ზოგადად, ორგანიზმზე. აქედან გამომდინარე, ენის ლორწოვანი გარსზე აკრილის პლასტმასის მონომერის ზემოქმედების კვლევა აქტუალურია. ვირთავების ენა მნიშვნელოვნად ჰგავს ადამიანის ენას, რამაც განაპირობა ექსპერიმენტის ჩატარება ამ ცხოველებზე.

სტატიაში წარმოდგენილია აკრილის საბაზისო პლასტმასის „ფტორაქს“-ის მონომერის გავლენის შეფასების შედეგები ენის ლორწოვანი გარსის მორფოლოგიასა და მის რეგენერაციაზე. მიკროსკოპიის მონაცემებით დადგენილია, რომ ენის ლორწოვანი გარსის ყველაზე დიდი ცვლილებები ვითარდება მონომერის წასმის მე-3 და მე-7 დღეს, ცვლილებები ეროზიულ - ანთებითი ხასიათისაა. ენის ეპითელიუმის რეგენერაცია ნელდება.

## КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ У ВЗРОСЛЫХ

<sup>1,2</sup>Семочкин С.В., <sup>2</sup>Толстых Т.Н., <sup>3</sup>Дудина Г.А., <sup>4</sup>Финк О.С.

<sup>1</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова;

<sup>2</sup>Городская клиническая больница №52; <sup>3</sup>Московский клинический научный центр;

<sup>4</sup>Российская детская клиническая больница, Москва, Российская Федерация

Миелодиспластические синдромы (МДС) являются гетерогенной группой гематологической патологии, возникающей на уровне стволовой гемопоэтической клетки и манифестирующей цитопениями в периферической крови. Морфологически МДС характеризуется признаками дисплазии одной или нескольких миелоидных клеточных линий в костном мозге [17]. Непреложным признаком МДС является клональная экспансия гемопоэтических клеток-предшественников, сопровождаемая риском трансформации в острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) - приблизительно у 30-40% больных [2]. В США в 2010 г. диагностировано около 10 тыс. новых случаев МДС, заболеваемость составила 3,4 случая на 100 тыс. населения [16]. В странах Европы заболеваемость практически соответствует таковой в США: Германия (4,1) [5], Швеция (3,6) [14] и Франция (3,2) на 100 тыс. населения [12]. Данные по эпидемиологии МДС в России отсутствуют.

За период 2001-2004 г.г. в США 3-летняя общая выживаемость (ОВ) больных МДС составила 35%, показатель относительной выживаемости, исключая из причин смерти все другие факторы, кроме МДС – 42% [15]. Полное излечение МДС для большинства пациентов пока невозможно. Единственной терапевтической опцией, обладающей курабельным потенциалом, является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), которая, однако, выполнима лишь у небольшой когорты больных [13]. Это связано преимущественно с пожилым возрастом больных, сопутствующей патологией, токсичностью самой процедуры трансплантации и часто с недоступностью совместимого донора в силу сопоставимого возраста ближайших родственников. Исходя из этого, целями лечения большинства больных МДС являются восстановление гематологических показателей, уменьшение тяжести клинических проявлений, снижение потребности в переливаниях компонентов крови, уменьшение риска трансформации в ОМЛ, увеличение ОВ и улучшение качества жизни [4]. За последние несколько лет произошел значительный прогресс в развитии лекарственных методов лечения МДС, не связанных с трансплантацией. Выбор терапии конкретного пациента определяется морфологическим вариантом заболевания, прогностической группой, возрастом и его общим состоянием [8]. Сведения по текущей диагностической и терапевтической практике в России представлены в литературе крайне ограниченно.

Настоящее исследование преследовало цель оценить регистрируемую заболеваемость, эффективность диагностики и лечения МДС у взрослых в г. Москве за один отдельно взятый контрольный год.

**Материал и методы.** Для оценки заболеваемости ретроспективно проанализированы данные всех пациентов старше 18 лет с впервые установленным в 2010 г. диагнозом МДС и зарегистрированных окружными гематологами г. Москвы и врачами гематологических отделений городских стационаров, включая Городскую клиническую больницу им. С.П. Боткина, №40, 52, 81 и Московский клинический научно-практический центр (раньше ГКБ №60). Уровень заболеваемости рассчитывали с учетом численности восприимчивого населения, полученного из данных Всероссийской переписи населения 2010 г., согласно которым в Москве проживало 9,8 миллиона человек (18 лет и старше) [1]. Уровень первичной заболеваемости рассчитывали, как число случаев МДС, впервые выявленных за один год (период наблюдения) x 100 тыс./ численность восприимчивого населения. В анализ включались пациенты, проживающие в Москве, и имеющие на момент верификации диагноза постоянный полис обязательного медицинского страхования (ОМС) в данном регионе.

Диагноз и вариант МДС устанавливали согласно классификации ВОЗ (4-ая редакция, 2008) [18]. Для определения прогностических групп использовали систему IPSS 1997 [9]. Эффективность лечения оценивали по частоте и глубине ответа, показателю 4-летней ОВ. Ответ на терапию оценивали в соответствии с критериями IWG 2006 [7].

При определении событий руководствовались нижеприведенными формулировками. Под ранней смертью подразумевали летальный исход в течение первых 60 дней терапии вне зависимости от вызвавшей ее причины. Учитывались следующие варианты ответа: частота общего ответа, как сумма полных (complete response, CR), частичных (partial response, PR) и костномозговых полных ответов (marrow CR, mCR); гематологического улучшения (hematologic improvement, HI); стабилизации (stable disease, SD) и прогрессии (progressive disease, PD). Пациента считали потерянным из-под наблюдения при отсутствии информации о нем более 12 месяцев. Анализ результатов лечения представлен по состоянию на 01.09.2014 г.



В зависимости от варианта первой линии терапии для целей анализа выделено 5 групп пациентов: I - получавшие препараты эритропоэтина (ЭП) – 69 пациентов; II - малые дозы цитарабина (МДЦ) - 20; III - гипометилирующие агенты (ГА) - 12; IV - симптоматическую (СТ) - 60 и V - паллиативную терапию (ПТ) – 38 пациентов. Два пациента пролечены леналидомидом по поводу 5q- синдрома. Ни один пациент не получил алло-ТГСК в первой линии терапии.

Эритропоэтины назначались в стартовой дозе 150 ед./кг 3 раза в неделю, либо в фиксированной дозе 40 000 ед. (эпоэтин альфа) или 30 000 ед. (эпоэтин бета) 1 раз в неделю подкожно. Если уровень гемоглобина повышался на 10 г/л за 2 недели или 20 г/л за 4 недели, то дозу препарата снижали на 25%. МДЦ применяли в дозе 10 мг/м<sup>2</sup> подкожно 2 раза в день с продолжительностью от 10 до 28 дней в соответствии с установками отдельных клиник. В группе ГА пять пациентов получали азацитидин в стандартной дозе 75 мг/м<sup>2</sup> один раз в день п/к в дни 1-7, семь – децитабин по схеме 20 мг/м<sup>2</sup> один раз в день в/в за 1 час в дни 1-5. Циклы терапии ГА повторяли каждые 28-35 дней. Леналидомид назначался в оригинальном режиме 25 мг/сутки р.о. 2 раза в неделю постоянно в течение 1,5-2 лет.

Статистическая обработка результатов выполнена с использованием компьютерной программы SPSS 22.0. Показатели выживаемости рассчитывали по методу Каплана–Майера [11]. Точкой отсчета для ОВ считался момент начала терапии, а под событием понимали смерть больного вследствие любой причины. Стандартную ошибку для показателей выживаемости рассчитывали по формуле Гринвуда. Значимость различий между кривыми выживаемости определяли с помощью теста log-rank [6]. Сравнительный анализ качественных признаков между группами проводили с помощью непараметрического критерия  $\chi^2$ . Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** В 2010 г. диагноз МДС впервые установлен в общей сложности 201 (муж. – 92, жен. – 109) пациенту с медианой возраста на момент верификации – 71,5 (разброс 23,9-93,7) года. Регистрируемая заболеваемость МДС в 2010 г. в муниципальных учреждениях г. Москвы составила 2,0 случая на 100 тыс. населения. Чаще МДС диагностировался у лиц старшей возрастной группы (рис. 1).

Максимальная заболеваемость имела место в когортах 75-79 (10,3), 80-84 (10,6) и старше 85 лет (9,8) случаев на 100 тыс. населения. Как у мужчин, так и у женщин риск возникновения МДС увеличивался с возрастом. В целом показатель заболеваемости у мужчин (2,1) сопоставим с таковым у женщин (2,0) случаев на 100 тыс. населения. Между тем, в старших возрастных группах показатель заболеваемости у мужчин был существенно выше, чем у женщин.

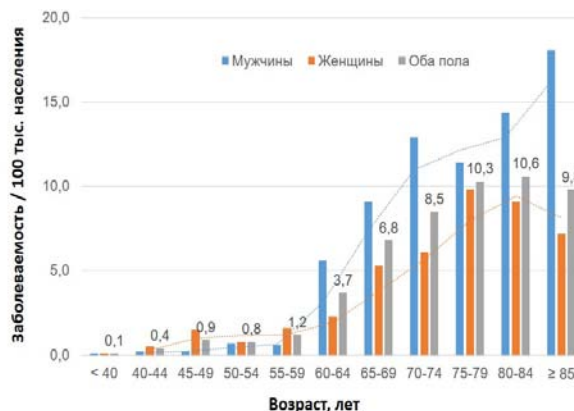


Рис. 1. Возрастные показатели заболеваемости МДС в г. Москве, Россия (2010 г.)

Инициальные биологические и клинические характеристики пациентов с МДС представлены в таблице 1.

В зависимости от морфологического варианта случаи распределились следующим образом: рефрактерная анемия (РА) – 33,8%, рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами (РАКС) – 8,4%, рефрактерная анемия с мультилинейной дисплазией (РЦМД) – 12,0%, рефрактерная анемия с избытком бластов 1 (РАИБ-1) – 12,9% и РАИБ-2 – 21,9%. В периферической крови в 94,5% случаях МДС наблюдалась анемия, в 43,8% – тромбоцитопения и в 56,2% – нейтропения. Цитогенетический вариант МДС был оценен у 38 (18,9%) пациентов, как благоприятный – у 28 (73,7%), промежуточный – у 6 (15,8%) и плохой – 4 (11,1%). Инициальные характеристики больных для отдельных терапевтических групп представлены в таблице 2.

Эритропоэтины, в основном, назначались в случае таких морфологических вариантов как РА – 35 (50,7%) и РАКС – 14 (20,3%) из 69 пациентов. Преимущественно низкого и промежуточного-1 риска по IPSS - 13 (92,9%) из 14 пациентов, которым было выполнено цитогенетическое исследование. В 10 (71,5%) случаях был верифицирован нормальный кариотип, в 3 (21,4%) – del(5q).

Симптоматическая терапия (СТ) в основном представляла собой заместительную трансфузионную терапию препаратами крови «по необходимости» пациентам с РА – 33 (55,0%) и РЦМД – 16 (26,7%). Симптоматическая терапия проводилась пациентам, не требующим цитостатического лечения. Риск по IPSS оценен у 8 больных, как низкий – у одного (12,5%), промежуточный-1 – у 4 (50,0%) и промежуточный-2 риск – у 3 (37,5%). Цитогенетический вариант верифицирован у 8 пациентов, как благоприятный – у 5 (62,5%), промежуточный – у 2 (25,0%) и неблагоприятный – у одного (12,5%).

Таблица 1. Инициальные характеристики пациентов с МДС

Параметры:	Абс.	%
Количество больных	201	100
Медиана возраста (разброс), лет	71,5 (23,9-93,7)	
Женский пол	109	54,2
Медиана уровня ЛДГ (разброс), ед./л	258 (96-2485)	
<b>Морфологические варианты МДС (ВОЗ, 2008)</b>		
5q-	7	3,5
РА	68	33,8
РАКС	17	8,4
РЦМД	24	12,0
РЦМД-КС	8	4,0
РАИБ-1	26	12,9
РАИБ-2	44	21,9
МДС-Н	7	3,5
<b>Гематологические проявления МДС (IPSS, 1997)</b>		
Анемия (Hb <100 г/л)	190	94,5
Тромбоцитопения (PLT <100 x10 <sup>9</sup> /л)	88	43,8
Нейтропения (АЧН <1,5 x10 <sup>9</sup> /л)	113	56,2
<b>Цитогенетический вариант МДС (IPSS, 1997)*</b>		
Благоприятный	28	73,7
Промежуточный	6	15,8
Плохой	4	10,5

примечания: \*благоприятный прогноз – нормальный кариотип, 5q-, 20q-, -Y;  
промежуточный – все другие отклонения; плохой – комплексные поломки (≥ 3), -7, 7q-

Таблица 2. Инициальная характеристики пациентов по терапевтическим группам

Параметры	Ранние варианты МДС						Продвинутые варианты МДС					
	ЭП		СТ		ЛЕН		МДЦ		ГА		ПТ	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
n =	69	100	60	100	2	100	20	100	12	100	38	100
<b>Возраст, лет</b>												
Медиана	71,0		72,9		–		72,1		61,7		72,3	
Разброс	23,9-84,2		24,2-93,7		39,8-51,8		64,6-85,4		46,1-84,1		41,8-87,4	
≥ 65	47	68,1	43	71,7	2	100,0	19	95,0	5	41,7	28	73,7
<b>Пол</b>												
Женский	34	49,3	35	58,3	2	100	8	40,0	9	75,0	21	55,3
<b>Морфологические варианты МДС (ВОЗ, 2008)</b>												
5q-	3	4,3	2	3,3	2	100	0	0,0	0	0,0	0	0,0
РА	35	50,7	33	55,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
РАКС	14	20,3	3	5,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
РЦМД	6	8,7	16	26,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	2	5,3
РЦМД-КС	6	8,7	2	3,3	0	0,0	4	20,0	0	0,0	0	0,0
РАИБ-1	2	2,9	0	0,0	0	0,0	16	80,0	3	25,0	17	44,7
РАИБ-2	1	1,5	0	0,0	0	0,0	0	0,0	9	75,0	18	47,4
МДС-Н	2	2,9	4	6,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,6

Группы риска (IPSS, 1997)												
n=	14	100	8	100	2	100	2	100	8	100,0	4	100
Низкий	7	50,0	1	12,5	1	50,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Промеж.-1	6	42,9	4	50,0	1	50,0	0	0,0	2	25,0	2	50,0
Промеж.-2	1	7,1	3	37,5	0	0,0	2	100,0	1	12,5	2	50,0
Высокий	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	5	62,5	0	0,0

примечания: ЭП – эритропозитины; СТ – симптоматическая терапия; ЛЕН – леналидомид;  
МДЦ – малые дозы цитарабина; ГА – гипометилирующие агенты; ПТ – паллиативная терапия

МДЦ назначались исключительно при морфологических вариантах, характеризующихся увеличением количества бластных клеток в пунктате костного мозга: РАИБ-1 – 4 (20,0%) и РАИБ-2 – 16 (80,0%). Риск по IPSS оценен у 2 больных, как промежуточный-2. Из них один имел нормальный кариотип, другой трисомию 8-й хромосомы.

Группа ГА была сопоставима с МДЦ по демографическим показателям и морфологическим вариантам: РАИБ-1 – 3 (25,0%) и РАИБ-2 – 9 (75,0%) пациентов. Статус по IPSS оценен у 8 пациентов: 5 (62,5%) были высокого риска, 2 (25,0%) – промежуточного-1 и 1 (12,5%) – промежуточного-2. По данным цитогенетического анализа 2 (25,0%) случая были с нормальных кариотипом, 3 (37,5%) - с del5q, 2 (25,0%) - с комплексным кариотипом и у одного (12,5%) выявлена t(1;17).

Паллиативную терапию (ПТ) проводили при непереносимости химиотерапевтического лечения ввиду преклонного возраста и/или совокупности тяжелых сопутствующих заболеваний.

Результаты лечения по терапевтическим группам представлены в таблице 3.

10 (5,0%) пациентов умерли в пределах первых 60 дней от постановки диагноза (ранняя летальность). В группе ЭП гематологическое улучшение продемонстрировано для 51 (73,9%) из 69 больных против 29 (48,3%) из 60 в группе СТ (p = 0,047), что реализовалось в достижении большей частоты трансфузионной независимости – 54 (78,3%) против 19 (31,7%), соответственно, (p = 0,035). Вероятность достижения общего ответа (PR + CR + mCR) для пациентов, получавших МДЦ, была сопоставимой с таковой для ГА: 9 (45%) из 20 против 5 (41,3%) из 12, соответственно, (p = 0,64). Однако, на ГА была выше вероятность достижения гематологического улучшения и трансфузионной независимости, чем на МДЦ. Кроме того, в группе МДЦ отмечена максимальная ранняя летальность – 4 (20%).

При медиане наблюдения за выжившими пациентами 46,1 мес. 4-летняя ОВ по всей группе документирована на уровне 34,8±3,4%, а медиана ОВ – 24,3 мес. ОВ пациентов в зависимости от группы терапии продемонстрирована на рис. 2.

Таблица 3. Ответ на терапию пациентов с МДС по группам

Параметры	Ранние варианты МДС						Продвинутые варианты МДС					
	ЭП		СТ		ЛЕН		МДЦ		ГА		ПТ	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
n=	69	100	60	100	2	100	20	100	12	100	38	100
Ранняя смерть	1	1,5	2	3,3	0	0,0	4	20,0	1	8,3	2	5,3
Частичный ответ (PR)	–	–	–	–	–	–	0	0,0	0	0,0	1	2,6
Полный ответ (CR/mCR)	–	–	–	–	–	–	9	45,0	4	33,0	0	0,0
Стабилизация (SD)	–	–	–	–	–	–	0	0,0	2	16,7	3	7,9
Прогрессия (PD)	26	37,7	41	68,3	0	0,0	7	35,0	5	41,7	32	84,2
Любое гематологическое улучшение (HI)	51	73,9	29	48,3	2	100	10	50,0	12	100	10	26,3
Трансфузионная независимость	54	78,3	19	31,7	2	100	9	45,0	12	100	3	7,9

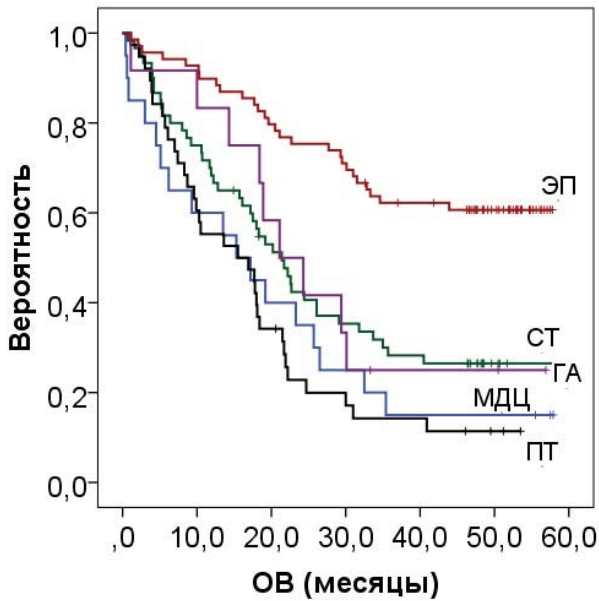


Рис. 2. Общая выживаемость пациентов с МДС в зависимости от терапии

Примечание: ЭП: 4-летняя ОВ  $60,7 \pm 5,9\%$  ( $n=69$ ; умерли 27), медиана ОВ – не достигнута; СТ: 4-летняя ОВ  $26,5 \pm 5,8\%$  ( $n=60$ ; умерли 43), медиана ОВ, медиана – 21,4 мес. ГА: 4-летняя ОВ  $25,0 \pm 12,5\%$  ( $n=12$ ; умерли 9), медиана ОВ – 21,1 мес.; МДЦ: 4-летняя ОВ  $15,0 \pm 8,0\%$  ( $n=20$ ; умерли 17), медиана ОВ – 15,3 мес.; ПТ: 4-летняя ОВ  $11,4 \pm 5,3\%$  ( $n=38$ ; умерли 33), медиана ОВ – 15,5 мес.

Препараты эритропоетина использовались преимущественно в группах МДС низкого и промежуточного-1 риска, чем обусловлена высокая ОВ –  $60,7 \pm 5,9\%$ . Гипометилирующие агенты и малые дозы цитарабина применялись при продвинутых морфологических вариантах МДС преимущественно промежуточного-2 и высокого риска по IPSS. Соответственно, 4-летняя ОВ составила  $25,0 \pm 12,5\%$  для ГА и  $15,0 \pm 8,0\%$  для МДЦ. Две пациентки, получавшие леналидомид по поводу 5q-синдрома, достигли гематологического ответа, трансфузионной независимости и полной цитогенетической

ремиссии, которая сохранялась на момент завершения данного исследования.

Для 38 пациентов с оцененным кариотипом наилучшая 4-летняя ОВ  $59,1 \pm 10,5\%$  получена в группе низкого и промежуточного-1 риска против  $26,7 \pm 11,4\%$  для промежуточного-2 и высокого риска IPSS ( $p=0,051$ ).

В зависимости от морфологического варианта наиболее высокая 4-летняя ОВ получена для 5q-синдрома –  $57,1 \pm 18,7\%$ , РА –  $50,8 \pm 6,1\%$  и РЦМД –  $45,8 \pm 10,2\%$ , а самая низкая для РАИБ-2 –  $5,7 \pm 3,7\%$  (таблица 4).

Изучение клинико-эпидемиологических показателей является одной из важных задач практической медицины, позволяющей планировать распределение ограниченных материальных ресурсов и улучшать качество лечения. Проведя анализ научной литературы, мы не обнаружили достоверных данных о заболеваемости, распространенности и смертности при МДС ни в Москве и других крупных городах, ни в России в целом. Фактически актуальные данные по эпидемиологии МДС публикуется только в США [16,17]. Даже в странах Европы доступные сведения касаются лишь 1990-х годов [5,12,14].

В сборниках официальной статистики МДС (шифр D46.0) среди онкологических заболеваний не регистрируется. По существу, представленный нами анализ является первым исследованием заболеваемости МДС в г. Москве. Всего в учреждениях здравоохранения города был зарегистрирован 201 впервые установленный случай МДС. В анализ включались пациенты, постоянно проживающие в Москве и имеющие на момент диагностики постоянный полис ОМС в данном регионе. Предполагаем, что по объему собранных данных, представленное исследование вносит существенный вклад в понимание клинико-эпидемиологической характеристики данного заболевания. К сожалению, учитывая, что данные были собраны ретроспективно, существует

Таблица 4. Общая выживаемость пациентов с МДС в зависимости от морфологического варианта (ВОЗ, 2008)

Варианты	n=	Живы	4-летняя ОВ ± ст.ош., %	Медиана ОВ, мес.
5q-	7	4	$57,1 \pm 18,7$	> 46
РА	68	35	$50,8 \pm 6,1$	35,7
РАКС	17	6	$35,3 \pm 11,6$	32,8
РЦМД	24	11	$45,8 \pm 10,2$	24,4
РЦМД-КС	8	2	$25,0 \pm 15,3$	27,7
РАИБ-1	26	9	$32,8 \pm 9,4$	24,7
РАИБ-2	44	3	$5,7 \pm 3,7$	15,3
МДС-Н	7	2	$28,6 \pm 17,1$	10,2
Всего	201	72	$34,8 \pm 3,4$	24,3

вероятность занижения показателей, а полученные в ходе проведенного нами анализа итоговые индексы заболеваемости могут иметь погрешности. С другой стороны, такие симптомы МДС, как усталость, бледность и кровоточивость слизистых, весьма неспецифичны, не исключена вероятность ложных диагнозов и потери части случаев на этапе «первичного звена». Кроме того, при обследовании больных уже в специализированных онкогематологических клиниках весьма ограничено используются молекулярные и цитогенетические исследования для подтверждения диагноза МДС – 38 (18,9%), что снижает вероятность установления правильного диагноза.

Уровень заболеваемости МДС в г. Москве за 2010 г. составил 2,0 случая на 100 тыс. населения, что значительно ниже, чем в других европейских странах. В частности, в 1992 г. в Дюссельдорфе (Германия) было диагностировано 222 новых случаев МДС при численности населения города 575 тыс. жителей. Показатель заболеваемости МДС составил 4,9 случаев на 100 тыс. населения в год у возрастной группы 50-69 лет и 22,8 случаев для больных от 70 лет и старше [5].

Полученные нами данные показали, что коэффициент заболеваемости МДС изменяется в зависимости от возраста, пола. Заболеваемость среди мужчин оказалась немного выше, чем у женщин. С возрастом риск возникновения МДС увеличивается. Максимальный уровень заболеваемости составляет 10,6 случая на 100 тыс. населения для больных в возрасте 80-84 года. После 85 лет заболеваемость несколько снижается, что связано, вероятней всего, с недостаточным вниманием к жалобам и ограниченной диагностикой МДС у данной группы.

Лечение МДС по сей день представляет сложную и до конца не решенную проблему. Возможности традиционной химиотерапии ограничены. Аллогенная ТГСК является методом выбора лишь для небольшой когорты пациентов, поскольку МДС чаще возникает в пожилом возрасте, когда переносимость интенсивного лечения крайне ограничена. Соотношение пользы и вреда не всегда складываются в пользу трансплантации, если принимать во внимание риск рецидива после данной терапии и опасность развития тяжелых посттрансплантационных реакций. Для пациентов с МДС низкого риска (низкий и промежуточный-1 риск по IPSS) одной из опций лечения рефрактерных анемий является назначение эритропоэз-стимулирующих агентов. Частота ответа на эритропоэтины при МДС ниже, чем при других гемобластозах и, в среднем, составляет 16-20% [10]. Предиктором хорошего ответа является низкий уровень эндогенного эритропоэтина ( $\leq 500$  мЕ/мл) и ограниченная потребность в трансфузиях эритроцитарной массы [3]. В нашем исследовании перед

назначением препаратов данной группы уровень эритропоэтина в крови не был оценен ни у одного пациента. Ключевым терапевтическим достижением последних лет стало открытие противоопухолевых эффектов леналидомида при МДС низкого риска с del(5q) и гипометилирующих агентов азацитидина и децитабина для МДС высокого риска [4,8]. Новые терапевтические опции, по данным нашего исследования, на практике используются крайне ограниченно – 14 (7,0%) случаев. Ни у одного пациента не была реализована алло-ТГСК.

Результаты нашей работы подтверждают высокую прогностическую значимость классификации IPSS в условиях практического здравоохранения для определения групп риска. Для пациентов низкого и промежуточного-1 риска 4-летняя ОВ составила  $59,1 \pm 10,5\%$ , против  $26,7 \pm 11,4\%$  для промежуточного-2 и высокого риска ( $p=0,051$ ).

**Выводы.** Регистрируемая заболеваемость МДС в учреждениях городского здравоохранения Москвы за 2010 г. составила 2,0 случая на 100 тыс. населения, что в 1,5-2,0 раза ниже, чем в США и странах Евросоюза. Причинами низкой выявляемости МДС являются ограниченные возможности использования молекулярных и генетических исследований. Текущие стандарты диагностики и оказания медицинской помощи, финансируемые в рамках ОМС не предусматривают их выполнения. Проведение стандартного кардиологического исследования и FISH к наиболее частым хромосомным aberrациям, характерным для МДС, всем пациентам с необъяснимыми цитопениями позволит существенно повысить качество диагностики. Низкая выживаемость пациентов с продвинутыми морфологическими вариантами МДС отчасти связана с ограниченным доступом к новым препаратам и аллогенной ТГСК.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Итоги Всероссийской переписи населения 2010 года «Распределение постоянного населения по возрасту и полу» [Электронный ресурс] // Территориальный орган Федеральной службы государственной статистики по городу Москве [Официальный сайт]. URL: [http://moscow.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat\\_ts/moscow/ru/statistics/population/](http://moscow.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_ts/moscow/ru/statistics/population/) (дата обращения: 06.02.2016).
2. Кохно А.В., Паровичникова Е.Н., Савченко В.Г. Миелодиспластический синдром. Клиническая геронтология. 2009; 15(3): 33-46.
3. Романенко Н.А., Грицаев С.В., Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Эффективность эритропоэз-стимулирующих препаратов при анемии у больных миелодиспластическим синдромом. Гематол. и трансфузиол. 2013; 58(4): 18-21.

4. Семочкин С.В., Толстых Т.Н., Румянцев А.Г. Миелодиспластические синдромы: терапевтические проблемы и решения. Онкогематология. 2012; 2: 57-67.
5. Aul C, Gattermann N, Schneider W. Age-related incidence and other epidemiological aspects of myelodysplastic syndromes. Br J Haematol. 1992; 82(2): 358-367.
6. Berty HP, Shi H, Lyons-Weiler J. Determining the statistical significance of survivorship prediction models. J Eval Clin Pract 2010; 16(1): 155-165.
7. Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, Lowenberg B, Wijermans PW, Nimer SD, et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. Blood. 2006; 108(2): 419-425.
8. Garcia-Manero G. Myelodysplastic syndromes: 2015 Update on diagnosis, risk-stratification and management. Am J Hematol. 2015; 90(9): 831-841.
9. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenau P, Morel P, Sanz G, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. Blood. 1997; 89(6): 2079-2088.
10. Hellström-Lindberg E, van de Loosdrecht A. Erythropoiesis stimulating agents and other growth factors in low-risk MDS. Best Pract Res Clin Haematol. 2013; 26(4): 401-410.
11. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. J Amer Statis Assn. 1958; 53(282): 457-481.
12. Maynadié M, Verret C, Moskovtchenko P, Mugneret F, Petrella T, Caillot D, et al. Epidemiological characteristics of myelodysplastic syndrome in a well-defined French population. Br J Cancer. 1996; 74(2): 288-290.
13. Odenike O, Onida F, Padron E. Myelodysplastic syndromes and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms: an update on risk stratification, molecular genetics, and therapeutic approaches including allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Am Soc Clin Oncol Educ Book. 2015: e398-412.
14. Radlund A, Thiede T, Hansen S, Carlsson M, Engquist L. Incidence of myelodysplastic syndromes in a Swedish population. Eur J Haematol. 1995; 54(3): 153-156.
15. Rollison DE, Howlader N, Smith MT, Strom SS, Merritt WD, Ries LA, et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs. Blood. 2008; 112(1): 45-52.
16. Sekeres MA. Epidemiology, natural history, and practice patterns of patients with myelodysplastic syndromes in 2010. J Natl Compr Canc Netw. 2011; 9(1): 57-63.
17. Troy JD, Atallah E, Geyer JT, Saber W. Myelodysplastic syndromes in the United States: an update for clinicians. Ann Med. 2014; 46(5): 283-289e.
18. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. Blood. 2009; 114(5): 937-951.

## SUMMARY

### CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MYELODYSPLASTIC SYNDROMES IN ADULTS

<sup>1,2</sup>Semochkin S., <sup>2</sup>Tolstykh T., <sup>3</sup>Dudina G., <sup>4</sup>Fink O.

<sup>1</sup>Pirogov Russian National Research Medical University; <sup>2</sup>City Clinical Hospital №52; <sup>3</sup>Moscow Clinical Research Center; <sup>4</sup>Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russian Federation

The myelodysplastic syndromes (MDS) are a distinct group of clonal disorders of hematopoietic stem or progenitor cells characterized by ineffective hematopoiesis and peripheral cytopenias. The data on the epidemiology of MDS in Russia are absent. The aim of the study was to evaluate the incidence of MDS in adults, to evaluate methods of diagnosis confirmation and choice of therapy in the system of Moscow Health Care. The observational study included adult patients with newly diagnosed MDS in 2010. Two hundred and one adult patients (male – 110, female – 118) were registered. Median age at diagnosis was 71.5 years (range, 23.9-93.7). The incidence rate of MDS was 2.0 cases per 100.000 persons per year in the general adult population. All patients divided into 5 groups depending on the type of first-line therapy: 69 patients treated with epoetin alfa or

beta; 20 – lowdose Ara-C; 12 – hypomethylating agents; 60 – symptomatic (red cell transfusion for low-risk MDS) and 38 – palliative care (elderly and weakened high-risk patients). Two patients with 5q- syndrome treated with lenalidomide. With a median follow-up for survivors 46 months 4-year overall survival (OS) for all patients was 34.8±13.4% (median 24.3 months). The incidence of MDS in Moscow, Russia is 1.5-2 times lower than in Europe and the United States. Current standards of survey under the mandatory health insurance does not provide for molecular and cytogenetic assays, which is one of the factors limiting the diagnostic potential.

**Keywords:** myelodysplastic syndromes; epidemiology; treatment.

## РЕЗЮМЕ

### КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ У ВЗРОСЛЫХ

<sup>1,2</sup>Семочкин С.В., <sup>2</sup>Толстых Т.Н., <sup>3</sup>Дудина Г.А.,  
<sup>4</sup>Финк О.С.

<sup>1</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова; <sup>2</sup>Городская клиническая больница №52; <sup>3</sup>Московский клинический научный центр; <sup>4</sup>Российская детская клиническая больница, Москва, Российская Федерация

Миелодиспластические синдромы (МДС) – гетерогенная группа патологии кроветворения, манифестирующая цитопениями. Данные по эпидемиологии МДС в России отсутствуют. Работа преследует цель оценить заболеваемость, методологию диагностики и терапии МДС у взрослых в условиях городского здравоохранения Москвы за один год. Исследование носит ретроспективный наблюдательный характер. Диагноз МДС в 2010 г. впервые установлен 201 (муж. – 92, жен. – 109) пациенту, являвшемуся постоянным жителем Москвы. Медиана возраста составила 71,5 (разброс 23,9-93,7) года. Регистрируемая заболеваемость документирована на уровне 2,0 случая на 100 тыс. населения. Цитогенетический вариант МДС оценен у 38 (18,9%) пациентов. В качестве I линии терапии препараты эритропоетина получали 69 пациентов, малые дозы цитарабина – 20, гипометилирующие агенты – 12, леналидомид – 2, симптоматическую – 60 и паллиативную терапию – 38 пациентов. При медиане наблюдения за выжившими пациентами 46 мес. 4-летняя общая выживаемость (ОВ) по всей группе составила 34,8±3,4%, медиана ОВ – 24,3 мес. В конечном счете, заболеваемость МДС в Москве оказалась в 1,5-2,0 раза ниже аналогичных показателей Европы и США. Текущие стандарты обследования в рамках обязательного медицинского страхования не предусматривают молекулярных и цитогенетических исследований, что является одним из факторов, ограничивающих диагностический потенциал.

## რეზიუმე

მიელოდისპლაზიური სინდრომის კლინიკო-ეპიდემიოლოგიური მახასიათებლები მოზრდილებში

<sup>1,2</sup>ს. სემოჩკინი, <sup>2</sup>ტ. ტოლსტიხი, <sup>3</sup>გ. დუდინა, <sup>4</sup>ო. ფინკ

<sup>1</sup>ნ.ი. პიროგოვის სახ. რუსეთის ნაციონალური კვლევითი უნივერსიტეტი, მოსკოვი; <sup>2</sup>№52 საქალაქო კლინიკური საავადმყოფო; <sup>3</sup>მოსკოვის სამეცნიერო კვლევითი ცენტრი; <sup>4</sup>რუსეთის ბავშვთა კლინიკური ცენტრი, მოსკოვი, რუსეთის ფედერაცია

მიელოდისპლაზიური სინდრომი (მდს) არის სისხლწარმოქმნის პათოლოგიის ჰეტეროგენული ჯგუფი, რომლის მანიფესტაცია წარმოდგენილია ციტოპენიით. მონაცემები მდს-ის ეპიდემიოლოგიის შესახებ რუსეთში არ არის შესწავლილი. კვლევის მიზანს წარმოადგენდა მიელოდისპლაზიური სინდრომის სიხშირის, მეთოდოლოგიის, დიაგნოსტიკის და მკურნალობის ეფექტურობის შეფასება მოზრდილებში.

კვლევა ჩატარდა ქ. მოსკოვში საქალაქო ჯანდაცვის პირობებში, კვლევის ხანგრძლივობა შეადგენდა 1 წელს და ატარებდა რეტროსპექტიულ დაკვირვებით ხასიათს. მდს-ს დიაგნოზი დასმული იყო პირველად 2010 წელს. იგი აღმოაჩნდა 201 (92 მამაკაცი, 109 ქალბატონი) პაციენტს, მოსკოვის მუდმივ მაცხოვრებლებს. ასაკის მედიანა შეადგენდა 71.5 (დიაპაზონი 23.9-93.7) წელს. ავადობის რეგისტრირებული სიხშირე წარმოადგენდა 2.0 შემთხვევას 100 ათას მოსახლეზე. მდს-ს ციტოგენეტიკური ვარიანტი შეფასებულია 38 (18.9%) პაციენტში. 1 ხაზის თერაპიის სახით ერთროპოეტინს დებულობდა 69 პაციენტი, ციტარაბინის მცირე დოზებს – 20, მაჰიპომეთილირებელ აგენტს – 12, ლენალიდომიდს – 2, სიმპტომურ – 60 და პალიატიურ თერაპიას - 38 პაციენტი. დაკვირვების მედიანა გადარჩენილ პაციენტებში შეადგინა 46 თვე. 4-წლიანი საერთო გადარჩენადობამ მთელ ჯგუფში შეადგინა 34,8-3,4%, საერთო გადარჩენადობის მედიანა - 24,3 თვე. მოსკოვში მდს-ს ავადობის მაჩვენებლები 1.5-2.5 ჯერ ნაკლებია ანალოგიურ მაჩვენებლებზე ევროპასა და აშშ-ში. მიმდინარე გამოკვლევების სტანდარტები საყოველთაო სამედიცინო დაზღვევის ფარგლებში არ ითვალისწინებს მოლეკულურ და ციტოლოგიურ კვლევებს, რაც ზღუდავს დიაგნოსტიკის პოტენციალს.