

# GEORGIAN MEDICAL NEWS

---

ISSN 1512-0112

No 10 (283) Октябрь 2018

---

ТБИЛИСИ - NEW YORK



ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Медицинские новости Грузии  
საქართველოს სამედიცინო სიახლენი

# GEORGIAN MEDICAL NEWS

No 10 (283) 2018

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

Издается в сотрудничестве и под патронажем  
Тбилисского государственного медицинского университета

გამოიცემა თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტთან  
თანამშრომლობითა და მისი პატრონაჟით

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ  
ТБИЛИСИ - НЬЮ-ЙОРК

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

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

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

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

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

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

### **ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА**

Николай Пирцхалаишвили

### **НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ**

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

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

### **НАУЧНО-РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ**

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

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

Website:

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

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

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

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

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

**Контактный адрес:** Грузия, 0177, Тбилиси, ул. Асатиани 7, III этаж, комната 313

тел.: 995(32) 254 24 91, 995(32) 222 54 18, 995(32) 253 70 58

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

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

© 2001. Ассоциация деловой прессы Грузии

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

## **GEORGIAN MEDICAL NEWS**

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

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

### **SCIENTIFIC EDITOR**

Lauri Managadze

### **EDITOR IN CHIEF**

Nino Mikaberidze

### **DEPUTY CHIEF EDITOR**

Nicholas Pirtskhalaishvili

### **SCIENTIFIC EDITORIAL COUNCIL**

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

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

### **SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD**

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

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

### **CONTACT ADDRESS IN TBILISI**

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

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

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

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

Phone: +1 (917) 327-7732

### **WEBSITE**

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

## К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ!

При направлении статьи в редакцию необходимо соблюдать следующие правила:

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

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

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

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

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

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

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

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

7. Фамилии отечественных авторов приводятся в оригинальной транскрипции.

8. При оформлении и направлении статей в журнал МНГ просим авторов соблюдать правила, изложенные в «Единых требованиях к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», принятых Международным комитетом редакторов медицинских журналов - <http://www.spinesurgery.ru/files/publish.pdf> и [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)

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

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

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

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

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

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

## REQUIREMENTS

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## ავტორთა 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. რენტგენოგრაფიების ფოტოასლები წარმოადგინეთ პოზიტიური გამოსახულებით **tiff** ფორმატში. მიკროფოტოსურათების წარწერებში საჭიროა მიუთითოთ ოკულარის ან ობიექტივის საშუალებით გადიდების ხარისხი, ანათალების შედეგების ან იმპრეგნაციის მეთოდი და აღნიშნოთ სურათის ზედა და ქვედა ნაწილები.

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

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

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

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

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

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

აღნიშნული წესების დარღვევის შემთხვევაში სტატიები არ განიხილება.



Содержание:

<b>Abdullaiev R., Oleynik G., Kremen V., Gryazin A., Timchenko E.</b> IMPROVEMENT OF THE DERMATENSION METHOD IN THE RECONSTRUCTIVE-RECOVERY SURGERY OF DEFECTS OF SOFT TISSUES OF VARIOUS ETIOLOGY.....	7
<b>Gasimov A., Aliev A., Zeynalov R.</b> DISORDERS OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER.....	10
<b>Goshchynsky V., Lugoviy O., Goshchynsky P., Lugoviy S., Lugoviy U.</b> VARIANTS OF ENDOVASCULAR REVASCLARIZATION OF LOWER LIMBS WITH CRITICAL ISCHEMIA DOE EXTENSIVE ATEROSCLEROSIS AND ASSESSMENT OF THEIR EFFECTIVENESS.....	15
<b>Татарчук Т.Ф., Ефименко О.А., Занько Е.В., Шавинская М.А.</b> СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНФОРМАТИВНОСТИ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ МЕТОДОВ В ИССЛЕДОВАНИИ ЭНДОМЕТРИЯ В ПОСТМЕНОПАУЗЕ.....	19
<b>Захаренко Н.Ф., Коваленко Н.В., Маноляк И.П.</b> КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ЭНДОМЕТРИОЗА У ЖЕНЩИН В ПЕРИМЕНОПАУЗЕ.....	26
<b>Flis P., Filonenko V., Tsyzh O.</b> THE ORTHODONTIC APPLIANCES FOR TREATMENT OF OPEN BITE PROPRIETARY CONSTRUCTION.....	30
<b>Гаврисюк В.К., Меренкова Е.А., Гуменюк Г.Л., Гуменюк Н.И., Дзюблик Я.О.</b> ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ МОНОТЕРАПИИ МЕТОТРЕКСАТОМ БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ ЛЕГКИХ.....	34
<b>Смагулова А.Ш., Ахмедьянова З.У.</b> ЛАЗЕРНАЯ КОРРЕКЦИЯ МИОПИЧЕСКОГО АСТИГМАТИЗМА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИЙ FEMTO LASIK И RELEX SMILE – ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ.....	39
<b>Сафарова С.С.</b> РОЛЬ ИНСУЛИНА В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ ТИПА 2.....	43
<b>Minukhina D., Babadzhani V., Minukhin D., Krasnoyarskiy A., Yevtushenko D.</b> AN ALGORITHM FOR PROGNOSIS OF RECURRENT MYOCARDIAL INFARCTION IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS FOLLOWING DETERMINATION OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION MARKERS.....	47
<b>Kakhniashvili T., Tabagari-Bregvadze N., Nikoleishvili L., Khuchua L., Kurashvili R.</b> CONNECTION BETWEEN SERUM VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR LEVELS AND SEVERITY OF MICROANGIOPATHY IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES AND OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA.....	51
<b>Kakhniashvili T., Tabagari-Bregvadze N., Dzvelaia Sh., Chikadze A., Kurashvili R.</b> SERUM VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR CONCENTRATION DECREASES IN CORRELATION WITH GLYCATED HEMOGLOBIN LEVELS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES.....	55
<b>Orlova I., Stanislavchuk M., Andruschko I., Bereziuk O.</b> ASSOCIATION OF DYSADIPOKINEMIA WITH TLR4 SERUM CONCENTRATION IN GOUT PATIENTS.....	59
<b>Бондаренко А.В., Гаврилов А.В., Кацапов Д.В., Бондаренко Е.В., Павлов В.В.</b> УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ТОКСОПЛАЗМОЗА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ.....	63
<b>Shypulin V., Neverovskyi A., Cherniavskiy V., Puzyrenko A.</b> VISCERAL GNATHOSTOMIASIS WITH SIMULTANEOUS DAMAGE TO THE UPPER AND LOWER PARTS OF THE GASTROINTESTINAL TRACT.....	66
<b>Гребеник М.В., Зелененькая Л.И., Зоря Л.В., Маслий С.М.</b> ИНФАРКТ МИОКАРДА СРЕДИ ЖЕНЩИН - ДАННЫЕ ЛОКАЛЬНОГО РЕГИСТРА: АНАЛИЗ ФАКТОРОВ РИСКА, ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ОСТРОГО ПЕРИОДА И ВЫЖИВАЕМОСТЬ.....	69
<b>Брижатый А.В., Агаман Ю.А., Брижатая И.А., Моисеенко И.О., Овечкин Д.В.</b> ОСОБЕННОСТИ СИНДРОМА РАННЕЙ РЕПОЛЯРИЗАЦИИ ЖЕЛУДЧОКОВ У ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ АТЛЕТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ ПРИЗНАКОВ ГИПЕРТРОФИИ СЕРДЦА.....	72
<b>Khukhlina O., Antoniv A., Kanovska L., Mandryk O., Smandych V.</b> EFFECTIVENESS OF NONALCOHOLIC STEATONEPATITIS CORRECTION ON THE BACKGROUND OF OBESITY WITH CONCOMITANT CHRONIC KIDNEY DISEASE.....	76
<b>Viun T., Pasieshvili L.</b> PATHOGENETIC LINKS OF THE COMBINED COURSE OF CHRONIC PANCREATITIS AND HYPERTENSIVE DISEASE AND THEIR ROLE IN THE FORMATION OF COMPLICATIONS.....	81
<b>Kalashnyk K., Riabokon Yu., Riabokon O.</b> CLINICAL-PATHOGENETICAL ROLE OF DYNAMICS OF CONCENTRATION OF INTERLEUKIN-6 DEPENDING ON POLYMORPHISM OF ITS GENE IN CONDUCTING ANTIVIRAL THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C.....	85

<b>Парфенов Ю.А., Василевская М.А., Парфенов С.А., Сапожников К.В., Коваленко А.Л., Заплутанов В.А.</b> ОБОСНОВАНИЕ ПОКАЗАНИЙ К ПРИМЕНЕНИЮ БОС-ТЕРАПИИ И ЦИТОФЛАВИНА В ЛЕЧЕНИИ НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ОСТЕОХОНДРОЗА СРЕДИ ПОЖИЛЫХ ПАЦИЕНТОВ.....	89
<b>Кварацхелия Г.Дж., Тикарадзе Э.Т., Булеишвили М.Л., Шарашенидзе Г.З., Ормоцадзе Г.Л., Саникидзе Т.В.</b> СТРУКТУРА И РИСК РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В СЕЛАХ ВЕРХНЕЙ ИМЕРЕТИ (ЗАПАДНАЯ ГРУЗИЯ) И ИХ РЕДОКС- И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ.....	97
<b>Ибраев С.А., Алекберов М.М., Жарылкасын Ж.Ж., Отаров Е.Ж., Тилемисов М.К.</b> АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ С ВРЕМЕННОЙ УТРАТОЙ ТРУДОСПОСБНОСТИ СРЕДИ РАБОТНИКОВ ХРИЗОТИЛОВОГО ПРОИЗВОДСТВА ПО ОБОГАЩЕНИЮ РУДНОГО МАТЕРИАЛА.....	104
<b>Arkhazava M., Kvachadze I., Tsagareli M., Mzhavanadze D., Chakhnashvili M.</b> THE RELATIONSHIP BETWEEN THERMAL PAIN SENSATION, FREE TESTOSTERONE, TRPV1, MOR LEVELS AND VARIOUS DEGREES OF HOSTILITY IN YOUNG HEALTHY MALES.....	109
<b>Bugadze L., Manjavidze N., Jorjoliani L.</b> ASTHMA CONTROL STATUS AND LUNG FUNCTION IN RELATION TO VITAMIN D LEVEL IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA.....	115
<b>Джинчарадзе Н.Г., Казахашвили Н.А., Сакварелидзе И.В.</b> ПРОБЛЕМЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ АНТЕНАТАЛЬНОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА БЕРЕМЕННЫМИ В СИСТЕМЕ ПЕРВИЧНОГО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГРУЗИИ.....	118
<b>Chokoshvili O., Vepkhvadze N., Davitaia T., Tevzadze L., Tsertsvadze T.</b> CHARACTERISTICS OF DIARRHEAL DISEASE COMPLICATED WITH HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME AMONG CHILDREN IN GEORGIA, 2009-2016 .....	123
<b>Mariamidze A., Gogishvili L., Khardzeishvili O., Javakhishvili T., Makaridze D., Jandieri K.</b> DISTRIBUTION AND DEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF DUCTAL INVASIVE BREAST CARCINOMA SUBTYPES IN GEORGIAN POPULATION .....	129
<b>Kmet T., Filipets N., Hrachova T., Bulyk T., Kushnir O.</b> CHANGES OF PROTEINURIA AND ACID-REGULATING KIDNEY FUNCTION IN MATURE RATS WITH SLOW AND RAPID ACETYLATION TYPE UNDER CONDITIONS OF SUBACUTE CADMIUM-NITRATE INTOXICATION....	133
<b>Гороховский В.Н., Ткаченко Е.К.</b> ЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРИ ОСТРОМ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОМ СТРЕССЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ.....	137
<b>Marakushyn D., Karmazina I., Isaeva I., Hloba N.</b> THE INFLUENCE OF SODIUM SALTS OF CARBOXYMETHYLATES OF OXYETHYLATED ISONONYLPHENOLS ON THE NEUTRALIZING FUNCTION OF THE LIVER IN A SUBACUTE TOXICOLOGICAL EXPERIMENT .....	140
<b>Delibashvili D., Dumbadze Z., Krynytska I., Marushchak M., Habor H., Holovatiuk L.</b> THE INFLUENCE OF MONOSODIUM GLUTAMATE ADMINISTRATION ON GENERATION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND APOPTOSIS OF BLOOD LEUKOCYTES IN RATS.....	144
<b>Kramar H., Stepaniuk H., Voloshchuk N., Taran I., Kovalenko S.</b> EXPERIMENTAL STUDY OF PAIN-RELIEVING MECHANISMS OF 4-[4-OXO-(4H)-QUINAZOLIN-3-YL]-BENZOIC ACID (PK-66 COMPOUND) .....	148
<b>Archvadze A., Kistauri A., Gongadze N., Makharadze T., Chirakadze K.</b> MEDICAL BASIS OF DIABETIC NEUROPATHY FORMATION (REVIEW).....	154
<b>Atanelov N., Arutinashvili N., Burjanadze G., Kuprava G., Koshoridze N.</b> ISOLATION OF FLAVONOID EXTRACT FROM GEORGIAN CITRUS SINENSIS PEEL AND ITS ANTIOXIDATIVE PROPERTIES.....	162
<b>Гаразджок М.С., Бачинский В.Т., Ванчуляк О.Я., Гаразджок А.И., Нечитайло Е.Ю.</b> ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДАВНОСТИ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ДВУХМЕРНОГО КАРТОГРАФИРОВАНИЯ РАСПРЕДЕЛЕНИЙ СТЕПЕНИ ВЗАИМНОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ ИЗОБРАЖЕНИЙ ПОЛИКРИСТАЛЛИЧЕСКИХ ПЛЕНОК СПИНОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ С МЕЛКОМАСШТАБНОЙ ПРОСТРАНСТВЕННО-ЧАСТОТНОЙ ФИЛЬТРАЦИЕЙ.....	166
<b>Pitskhelauri N.</b> CLINICAL ETHICS COMMITTEES: OVERVIEW OF THE EUROPEAN EXPERIENCE .....	171
<b>Слипченко С.А., Шишка А.Р., Булеца С.Б., Синегубов О.В., Грынько Р.В.</b> СОСТОЯНИЕ МЕЖДУНАРОДНОГО ПРАВОВОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ ПОСМЕРТНОГО ДОНОРСТВА: НА ПУТИ К УНИФИКАЦИИ (ОБЗОР).....	175
<b>Lysanets Yu., Bieliaieva O., Znamenska I., Nikolaieva N., Efendiieva S., Hutsol M.</b> PROBLEM-ORIENTED MEDICAL RECORD AS A CHALLENGE FOR NARRATOLOGICAL ANALYSIS.....	180

## IMPROVEMENT OF THE DERMATENSION METHOD IN THE RECONSTRUCTIVE-RECOVERY SURGERY OF DEFECTS OF SOFT TISSUES OF VARIOUS ETIOLOGY

Abdullaiev R., Oleynik G., Kremen V., Gryazin A., Timchenko E.

*Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine*

The problem of treating patients with loss of skin and with a complicated course of the wound process remains topical. One of the promising areas of surgery is the cultivation of the patient's own skin as full-length flaps (in vivo). This can be achieved through its dosed stretching – dermatension. Stretching can be achieved both by lowering the pressure and by increasing the pressure [2,3]. In our work, the method of dermatension was realized by special devices implanted subcutaneous-tissue expanders. Their controlled filling makes it possible to obtain an additional, high-grade plastic material in the vicinity of the defect, to be replaced [1].

The problem is that despite the relative technical simplicity of the dermatension method, its use is associated with a high percentage of complications. But of all the known most significant complications is decubitus of stretchable flap. This is due to the relatively high incidence of acute circulatory disturbances in stretch tissues due to vasoconstriction with excessive amounts of fluid administered [1,13].

At present, the main instrumental method for studying the circulatory state of a stretch flap is ultrasound [9]. The ultrasound method allows to determine the boundaries of the expander, the localization of the valve tube, the pathological accumulation of liquid outside the expander and the infiltration of soft tissues. The disadvantage of the method is the inability of the ultrasonic sensor to measure temperature fluctuations, speed and quality of blood circulation in the skin itself, which experiences the greatest tension and hypoxia when filling the dermatension balloon, especially if it is thin.

At present, there is such a method of instrumental diagnostics as infrared thermography (ICT). It is used to diagnose various diseases and pathological conditions, evaluate the course of the disease and monitor the effectiveness of treatment. Preparation of the patient for thermal imaging survey does not require special measures. The results of the survey are reflected in real-time and represent a dynamic image of the digital indicators of skin temperature. Pathological processes disrupt the normal temperature distribution on the surface of the body, so this type of diagnosis allows you to monitor changes in the primary examination and directly during the treatment [4-8,11,12].

Methods of ultrasound and ICT have such positive general properties as non-invasiveness, relative simplicity of examination, minimal risk and inconvenience for the patient, the possibility to conduct a survey at any time and do not require serious preparation for them.

Therefore, it is necessary to justify and develop criteria for the effectiveness of planning and implementation of dermatension at all its stages with instrumental control of the process using ultrasound and ICT in complex. This should ensure both the optimization of the process, the prevention of complications, and the increase in the effectiveness of treatment for those affected by wounds of various etiologies in general.

The aim of the work is to improve the method of dermatension

in reconstructive and recovery surgery of soft tissue defects of various genesis by planning and implementing dermatension at all its steps with instrumental control of the process using ultrasound and ICT in a complex.

**Material and methods.** The results of surgical treatment of 24 patients with wound defects of different etiology of the scalp are analyzed. Of these, 10 (41.7%) with posttraumatic alopecia, 4 (16.6%) – alopecia after radiation therapy, 10 (41.7%) with post-burn alopecia, which was used to obtain dermattenes for additional plastic material. On the basis of the burn center of the Kharkiv City Clinical Hospital of Emergency and Urgent Care named by prof. A.I.Meshchaninov for the period 2016-2018 years.

Among the patients were only men aged 30 to 60 years. The average age of operated patients was 45 years.

In the planning of dermatension, all patients underwent ultrasound and ICT (using the FLIR ONE Gen3 Pro thermal imager) to determine the state of the blood circulation of areas suitable for the installation of a tissue expander.

In the first stage of dermatension, after filling the implanted expander with 0.9% physiological NaCl solution to achieve hemostasis, ultrasound was carried out on the first day to measure the thickness of the dermal-hypodermic flap above the balloon and ICT, to determine the state of the blood circulation above its dome. 10 days after the implantation of the expander, the second stage of dermatension was started (filling the tissue expander with 0.9% NaCl solution). The parameters of the blood circulation of the dermatension flap were taken into account with the help of a thermal imager. The thickness of the skin-hypodermic flap above the balloon was monitored by ultrasound (Fig. 1).

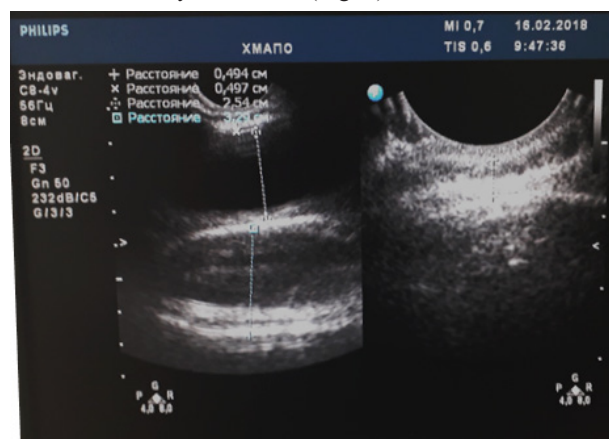


Fig. 1. Indicators of the thickness of the skin-hypodermic flap over the balloon by ultrasound

There were stopped injecting fluid to expander when the temperature in the center of the flap was reduced by more than 1°C (Fig. 2). With a further decrease in temperature, some of the liquid from the expander was evacuated.

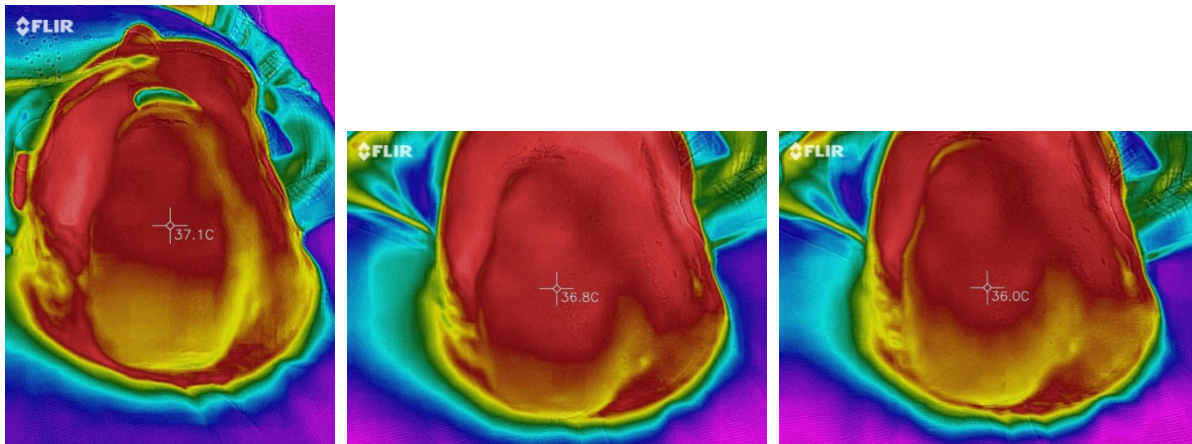


Fig. 2. Dynamics of changes in the temperature of the flap center when it is filled

**Results and their discussion.** All patients after hospitalization performed the first stage of dermatension (implantation of the tissue expander). Based on ultrasound and infrared thermography, the most favorable location of the tissue expander was determined. At the same time, its location was optimized both for the area of the best circulation and for the wound defect.

As is known, the reaction of tissues to dermatension is the formation of a connective tissue capsule around the tissue expander. The capsule is a powerful source of additional blood supply to stretchable flaps and carries a supporting function, preventing the reduction of flaps after the re-implantation [1]. In order to optimize the shape (configuration) of the capsule, ultrasound measurements were carried out for all areas to be stretched.

Expander filling (II stage of dermatension) was carried out according to the method of forced dermatension developed by us, with constant consideration of the indicators of ICT and ultrasound. The forced mode of dermatension allows in the shortest possible time to obtain an innervated, blood-supplying, full-layer, aesthetic-looking flap.

After restoring the temperature parameters of the stretch flap and completing the relaxation period after the II stage of dermatension, the patients underwent reconstructive and rehabilitative surgical interventions to eliminate wound defects of various genesis (stage III dermatension). After this step the relaxation period was 5 days. During this time, the post-operative rehabilitation in the skin leads to stress relaxation. The cosmetic effect of the reconstructive-reconstructive operation depends on this process [10]. In accordance with the size and direction of the obtained growth of the skin-fat flap, the processing of the wound defect was optimized, which was closed by the resulting plastic material. A thin rubber strip was introduced into the space under the flap for 1-2 days (it acted as a drain). Then dosed out hypothermia was performed and vascular therapy was prescribed. In the future, the area of surgical intervention was conducted in the usual way.

In the postoperative period after the II stage of dermatension, patients of critical operational-tactical, technical and infectious complications were not observed. All patients in the first day after the implantation of the expander restricted movement. After the third stage of dermatension (reconstructive-recovery surgery), four patients experienced partial impairment of the blood circulation of the distal sections of the displaced flap. After carrying out dosed out hypothermia and vascular therapy on the third day, circulatory disturbances were eliminated.

In one patient in Step II, dermatension was stopped due to a violation of the circulation of the flap after each filling, which

was associated with the consequences of radiation therapy. The results of ultrasound and ICT in the course of the operation planning (step I of dermatension), when filling the expander (step II of dermatension) and at the completion of dermatension (step III), according to the change in the thickness of the stretch flap and the formed connective tissue capsule, the dynamics of thermoreaction in the dermatenzine flap allow to estimate with a high probability the state of blood circulation (perfusion), which is undoubtedly important for the prevention of such serious complications as ischemia, decubitus, necrosis of the flap, which is stretched.

**Conclusions.** Combination of methods of ICT and ultrasound allows determining the most favorable conditions for the location of the tissue expander. When performing all three steps of dermatension, it was found that a combination of ICT and ultrasound methods makes it possible to assess the state of the blood circulation with a high probability, which is undoubtedly important for preventing such serious complications as ischemia, decubitus and necrosis of the flap, which is stretched. Application of ICT in conjunction with ultrasound provides additional information for improving the method of dermatension in reconstructive and reconstructive surgery of soft tissue defects of various etiologies.

## REFERENCES

1. Богосьян РА. Экспандерная дермотензия – новый метод хирургического замещения дефектов кожного покрова. Современные технологии в медицине – 2011;2:31-34.
2. Велигоцкий АН, Савицкий РВ, Довженко АН, Павлов СБ, Леонов АВ. Изменение пролиферативной активности тканей в ране при воздействии низкодозированного вакуума. Клиническая хирургия. 2016;6:65-67.
3. Велигоцкий АН, Савицкий РВ, Довженко АН, Павлов СБ, Леонов АВ. Изменение площади раневой поверхности при воздействии низкодозированного вакуума. Клиническая хирургия. 2016;7:40-42.
4. Венгер ЕФ. Применение термографии в Украине. Научно-практический журнал. 2015;6:5-15.
5. Ковальчук ИС, Дунаевский ВИ, Венгер ЕФ. Возможности дистанционной инфракрасной термографии в диагностике заболеваний молочных желез (доброкачественные изменения). Украинский медицинский журнал. 2013;3:165-169.
6. Короткова НЛ, Воловик МГ. Тепловизионная оценка возможности использования рубцовых тканей при планировании пластических операций на лице. Современные технологии в медицине. 2015;7(2):120-126.

7. Котовский ВИ, Мироненко СА, Дунаевский ВИ, Тимофеев ВИ. Термографическая диагностика в оценке состояния опорно-двигательного аппарата спортсменов. Физические процессы и поля технических и биологических объектов. XIII Международная научно-техническая конференция. 15 апреля 2014; Кременчук, Украина. Кременчук; 2014.
8. Розенфельд ЛГ, Богдан ТВ, Тимофеев ВИ, Венгер ЕФ [ др. Ранняя диагностика заболеваний сосудов нижних конечностей с применением инфракрасной термографии. Украинский медицинский журнал. 2011;2:28-30.
9. Трыкова ИА, Тимина ИЕ, Шаробаро ВИ, Чекмарёва ИА. Возможности ультразвуковой диагностики в лечении пациентов с рубцовыми деформациями кожных покровов. Медицинская визуализация. 2013;1:115-121.
10. Федоров АЕ. Математическая модель кожи человека и ее приложение к задачам биомеханики. Пермь: Пермский государственный технический университет; 2007. 16 с.
11. Шушарин АГ, Морозов ВВ, Половинка МП. Медицинское тепловидение – современные возможности метода. Современные проблемы науки и образования. 2011;4:1-18.
12. Brölmann FE, Eskes AM, Goslings JC. Randomized clinical trial of donor-site wound dressings after split-skin grafting. British Journal of Surgery. 2013;100(5):619-627.
13. Knobel RB. Thermoregulation and thermography in neonatal physiology and disease. Biological Research for Nursing. 2011;(13)3:274-282.

## SUMMARY

### IMPROVEMENT OF THE DERMATENSION METHOD IN THE RECONSTRUCTIVE-RECOVERY SURGERY OF DEFECTS OF SOFT TISSUES OF VARIOUS ETIOLOGY

**Abdullaev R., Oleynik G., Kremen V., Gryazin A., Timchenko E.**

*Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education, Ukraine*

The problem of treating patients with loss of the skin and with a complicated course of the wound process remains topical. The problem is that, despite the relative technical simplicity of the dermatension method, the most significant complication is the decubitus of the stretchable flap, which is associated with a relatively high incidence of acute blood circulatory disturbances in the stretch tissues due to vascular compression with an excessive amount of injected fluid.

The aim of the work is to improve the method of dermatension in reconstructive and recovery surgery of soft tissue defects of various genesis by planning and implementing dermatension at all its steps with instrumental control of the process using ultrasound and ICT in a complex.

The results of surgical treatment of patients with a wound defect of different etiology of the scalp with which dermatension was performed in order to obtain additional plastic material in the burn center of the Kharkov City Clinical Hospital of Emergency and Urgent Care. prof. A.I. Meshchaninov for the period 2016-2018. There were only men aged 30 to 60 years among the patients. The average age of the operated patients was 45 years. In the first stage of dermatension, after filling the implanted expander with NaCl 0.9% physiological solution to achieve hemostasis, ultrasound was performed on the first day to measure the thickness of the cutaneous flap above the balloon and ICT (using the FLIR ONE Gen3 Pro thermal imager), to

determine the state of the blood circulation above its dome. 10 days after the implantation of the expander, the second stage of dermatension was started (filling the tissue expander with 0.9% NaCl solution), taking into account the blood circulation parameters of the stretched flap with the help of a thermal imager and with constant monitoring of the thickness of the cutaneous flap over the balloon by ultrasound. There were stopped injecting fluid to the expander when the temperature in the center of the flap was reduced by more than 1°C. With a further decrease in temperature, some of the liquid from the expander was evacuated. The results of ultrasound and ICT in the course of the operation planning (step I of dermatension), when filling the expander (step II of dermatension) and at the completion of dermatension (step III), according to the change in the thickness of the stretch flap and the formed connective tissue capsule, the dynamics of thermoreaction in the dermatitis flap allow to assess the state of blood circulation (perfusion) with a high probability, which is undoubtedly important for the prevention of such serious complications as ischemia, decubitus, necrosis of the flap, which carries stretches.

**Keywords:** dermatension, skin flap, ultrasound, infrared thermography.

## РЕЗЮМЕ

### СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА ДЕРМАТЕНЗИИ В РЕКОНСТРУКТИВНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ХИРУРГИИ ДЕФЕКТОВ МЯГКИХ ТКАНЕЙ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

**Абдуллаев Р.Я., Олейник Г.А., Кремень В.А., Грязин А.Е., Тимченко Е.К.**

*Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина*

Целью исследования явилось усовершенствование метода дерматензии в реконструктивно-восстановительной хирургии дефектов мягких тканей различного генеза путем планирования и реализации дерматензии на всех ее этапах с инструментальным контролем процесса посредством ультразвукового исследования и инфракрасной термографии в комплексе.

Проанализированы результаты хирургического лечения пациентов с раневыми дефектами волосистой части головы различной этиологии. Всем пациентам проводилась дерматензия для получения дополнительного пластического материала. Лечение проводилось в ожоговом центре Харьковской городской клинической больницы скорой и неотложной медицинской помощи им. проф. А.И. Мещанинова за период 2016-2018 гг. Среди пациентов были только мужчины в возрасте от 30 до 60 лет. Средний возраст прооперированных пациентов составил 45 лет.

Результаты ультразвукового исследования и инфракрасной термографии, полученные в ходе планирования операции (I этап дерматензии), при наполнении экспандера (II этап дерматензии) и завершении дерматензии (III этап) позволяют с большой вероятностью оценить состояние кровообращения (перфузии). Они основаны на данных изменения толщины растягиваемого лоскута, образованной соединительнотканной капсулы и динамики терморреакции в дерматензионном лоскуте, что весьма значимо для предупреждения таких серьезных осложнений как ишемия, пролежни и некроз лоскута.

## რეზიუმე

დერმატენზიის მეთოდის სრულყოფა რბილი ქსოვილების სხვადასხვა ეტიოლოგიის დეფექტების რეკონსტრუქციულ-აღდგენით ქირურგიაში

რ. აბდულაევი, გ. ოლეინიკი, ვ. კრემენი, ა. გრიაზინი, ე. ტიმჩენკო

ხარკოვის დიპლომის შემდგომი განათლების სამედიცინო აკადემია, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა დერმატენზიის მეთოდის სრულყოფა რბილი ქსოვილების სხვადასხვა გენეზის დეფექტების რეკონსტრუქციულ-აღდგენით ქირურგიაში დერმატენზიის დაგეგმარებისა და რეალიზაციის გზით მის ყველა ეტაპზე პროცესის კომპლექსური ინსტრუმენტული კონტროლით. გაანალიზებულია თავის თმის ნაწილის სხვადასხვა ეტიოლოგიის ჭრილობით გამოწვეული დეფექტების ქირურგიული მკურნალობის შედეგები. ყველა პა-

ციენტს დამატებითი პლასტიკური მასალის მისაღებად ჩაუტარდა დერმატენზია. მკურნალობა ტარდებოდა ხარკოვის პროფ. ა. მეშჩანინოვის სახ. სასწრაფო და გადაუდებელი სამედიცინო დახმარების საქალაქო კლინიკური საავადმყოფოს დამწვრობის ცენტრში 2016-2018 წწ. პაციენტებს შორის იყვნენ მხოლოდ 30-60 წლის მამაკაცები, საშუალო ასაკი – 45 წელი.

მიღებული ულტრაბგერითი კვლევის და ინფრაწითელი ტერმოგრაფიის შედეგები ოპერაციის დაგეგმარებისას (დერმატენზიის პირველი ეტაპი), ექსპანდერის შევსებისას (დერმატენზიის მეორე ეტაპი) და დერმატენზიის დასრულებისას (III ეტაპი) იძლევა სისხლის მიმოქცევის (პერფუზიის) მდგომარეობის მაღალი ალბათობით შეფასების საშუალებას. შედეგები ეფუძნება მონაცემებს გაჭიმული ლოსკეტის სისქის ცვლილების, წარმოქმნილი შემაერთებელქსოვილოვანი კაფსულის და დერმატენზიულ ლოსკეტში თერმორეაქციის დინამიკის შესახებ. ეს უეჭველად მნიშვნელოვანია ისეთი სერიოზული გართულებების პრევენციისათვის, როგორცაა იშემია, ნაწილები და გაჭიმული ლოსკეტის ნეკროზი.

## DISORDERS OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER

Gasimov A., Aliev A., Zeynalov, R.

National Center of Oncology, Baku

Pathological states of an organism and various diseases are accompanied and in some cases cause disorders in energy metabolism, that manifest in all components of carbohydrate biochemistry [1,2]. Hypermetabolism of glucose is characteristic for the course of an oncological process [3,4]. At the same time takes place an acceleration of glucogenesis, declines the histic sensibility to insulin, minimize the reserves of glycogen and so on [5-7]. In patients with gastric cancer (GC) carbohydrate metabolism changes appears in pre-clinical period [8]. Detection and correction of mentioned disorders have the significant sense in favorable outcome specific and surgical treatment. But it is necessary to consider that disorders of fasting, and also energy metabolism during the operative involvement and during early and late postoperative periods can decline [9-14]. Because of this it is necessary to conduct pathogenetic correction also in different periods of treatment.

Object of the current research is to study carbohydrate metabolism state in patient with GC during the surgical treatment period, and the detection of factors that influence these kind of disorders.

**Material and methods.** The results of investigations of 270 patients with GC in abdominal oncology department of National Centre of Oncology of Azerbaijan Republic were analyzed. The rest of patients were males – 193 (71.48%). Majority of GC patients, exactly 240 patients, were in from 41 to 70 years age group, which was 88.69% of all patients. 239 patients underwent different surgical involvements. The state of carbohydrate metabolism was evaluated based on the study of the level of glucose in blood serum and urine at various stages of surgical treatment.

**Results and their discussion.** The initial biochemical study of patients' blood revealed hypoglycaemia in 25 (9.3%) patients, normal level of glucose in 178 (65.9%) patients, and hypergly-

cemia in 67 (24.8%) of them. In case of hypoglycemia the level of glucose in the blood was in the range of 2.4-3.1 mmol/l. Patients with elevated glycemia depending on its level were divided into below groups: with a low, moderate and severe degree of hyperglycemia. The first group includes patients with a glucose content in the blood in the range of 6.6-9.9 mmol/l. These turned out to be 25 (37.3%) patients. In the second group the number of patients was 29 (43.3%) (with glycemia in the range of 9.9-13.2 mmol/l). In 13 (19.4%) patients a severe degree of hyperglycemia - over 13.2 mmol/l was detected.

Among all patients included in the study 43 (15.9%) were suffering from diabetes mellitus, 25 – from type I, and 18 – from type II. 35 of them had diabetes in the anamnesis vitae. In 8 patients diabetes mellitus was first diagnosed during a preoperative investigation. The duration of diabetes mellitus anamnesis had no influence on the severity of disorders in carbohydrate metabolism. In particular among those with more than 10 years of anamnesis of diabetes mellitus (24 patients), hyperglycemia was observed in 16 (66.7%), 6 (25%) of whom had severe degree of disorders. And among patients with a shorter duration of this disease (19), in 13 (68.4%) was established an elevated initial blood glucose level, in 5 (26.3%) of whom severe degree of hyperglycemia was noted. Besides to diabetes mellitus in 32 patients another endocrine pathology due to mild hyperthyroidism was identified as a cause of the carbohydrate metabolism disorder.

In terms of preoperative examination of patients with GC suffering from concomitant diabetes mellitus the establishment of insulin level in the blood was included in order to identify insulin resistance patients. A similar condition was noted in 16 (37.2% among patients with diabetes mellitus and 5.9% among all patients included in the study) patients.

The amount of the glucose in blood among men and women with GC did not significantly differ from the initial data. Thus hypoglycemia was established in 16 (8.3%) and 9 (11.7%) respectively, normoglycemia – in 130 (67.3%) and 48 (62.4%), hyperglycemia – in 47 (24.4%) and 20 (25.9%) patients. In this regard, it was revealed that the sex factor of patients did not have a significant effect on the initial level of glucose in the blood plasma.

The pattern of changes in carbohydrate metabolism in relation to the clinical characteristics of the underlying pathology was analyzed. One of the investigated parameters was the localization of the cancer in different anatomical parts of the stomach. This parameter was investigated regardless of the presence or absence of a complicated clinical course. The analysis of the obtained data revealed that the occurrence frequency of changes in carbohydrate metabolism was approximately the same regardless of the different anatomical parts of the stomach.

The effect of the duration of oncological process on the character of changes in energy metabolism was investigated. In 42 (45.6%) patients with a diabetes history of more than one year changes in blood glucose level was established more than in other patients. The relationship between the metabolic disorders of carbohydrates and the clinical stages of the underlying disease was studied. It was revealed that in III clinical stage – in 51 (55.4%), and at IV – in 22 (23.9%) patients there were established changes in carbohydrate metabolism. The influence of the complicated clinical course of GC on the initial state of carbohydrate metabolism was studied. Complications of the cancer process were observed in 168 cases. Among them – stenosis of the cardioesophageal and the antral parts of the stomach (125 cases), various intensity of bleeding from the tumor (38 cases), damage of the structural integrity of the gastric wall as a result of tumor lysis (5 cases). Carbohydrate disorders observed in 62 (67.4%) patients with the stenosis of stomach, in 18 (19.6%) – with hemorrhages, and in 5 (18.4%) – with the perforations.

Summarizing all the above, it was found that, in the period before treatment along with other changes in the biochemical processes of the body in patients with GC the abnormalities in carbohydrate metabolism are observed often. Mostly they appear as an increase in the level of glucose in the blood. The study of factors that could affect the energy imbalance revealed the most

significant of them. It was found that the aggravation of changes in carbohydrate metabolism in patients with GC, in addition to endocrine pathologies, was also influenced by such parameters as the age of patients, anatomical localization of the tumor, the duration of the anamnesis, advanced stages of the oncological process, complicated clinical course of the underlying disease.

239 patients included in the study with a verified diagnosis of GC underwent different surgical involvements. We examined the effects on carbohydrate metabolism changes of such parameters of surgical operations as its duration and the oncologic extent of the interventions, the type of the operations (standard or combined). A significant part of the surgical interventions was accompanied by an intraoperative increase in the level of glucose in the blood – in 156 (65.3%) patients. It should be noted that the maximal levels were observed near the end or at the moment of completion of the operation. Among them a severe degree of hyperglycemia (blood glucose level more than 13.2 mmol/l) was established in 18 (7.5%) patients. Glucosuria of various degrees was noted in 62 (25.9%) observations. During surgical interventions traces of glucose in the urine (0.1-0.8 mmol/l) were found in 26 (10.9% of the total number of operated and 41.9% of patients with glucosuria) patients. Moderate glucosuria (0.8-20 mmol/l) is established in 19 (7.9% and 30.7% respectively) cases. Severe glucosuria (20-80 mmol/l) was noted in 17 patients (7.1% and 27.4% respectively). This category of patients needed an active intraoperative correction of the level of glucose in the blood serum by the injection of exogenous insulin. At the same time the insulin resistance factor was also taken into account. In particular, intraoperative control of insulin level in the blood revealed that in 27 (11.3%) operated patients in addition to hyperglycemia also hyperinsulinemia (over 25 microU/ml) was observed.

In significantly less cases the operation was accompanied by hypoglycemia. Only in 11 (4.6%) cases a blood glucose level a/w revealed below 3.3 mmol/l.

The average duration of performed operations was 139±23 minutes. If the intervention was lasting more than two hours, additional blood and urine samples were taken to determine the level of glucose. It was found that the increase in glycemia and glucosuria is directly dependents on the duration of the opera-

Table 1. Status of carbohydrate metabolism in patients with gastric cancer in the perioperative period

Carbohydrate metabolism status Perioperative period	Carbohydrate metabolism disorders		Norm		Low degree of hyperglycemia		Moderate degree of hyperglycemia		Severe degree of hyperglycemia	
	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Start of an operation	56 (11)	23,4 (4,6)	183	76,6	21	8,8	18	7,5	6	2,5
During of an operation	145 (3)	60,7 (1,3)	94	39,3	101	42,3	26	10,9	18	7,5
End of an operation	158 (2)	66,1 (0,8)	81	33,9	115	48,1	32	13,4	9	3,8

Table 2. Intraoperative disorders of carbohydrate metabolism

Duration of an operation	Hyperglycemia		Glucosuria	
	Abs.	%	Abs.	%
Up to 2 hours	34	43,6	8	10,3
Over 2 hours	122	75,8	54	33,5
Total	156	65,3	62	25,9

tion. Thus, among 78 patients whose surgical interventions lasted less than two hours hyperglycemia was noted in 34 (43.6%), and glucosuria – in 8 (10.3%) observations. At the same time, with the duration of the surgery for more than two hours (161 cases), in 122 (75.8%) patients an increase in the level of blood glucose was noted, and in urine – in 54 (33.5%) patients.

The relationship between the extension of performed surgical interventions and the changes in the level of glucose in the blood and urine was analyzed. In this aspect, the patients were divided into three categories. In the first one 88 patients were subjected to interventions in the standard extension (lymphadenectomy D0-D1), in the second - 109 which underwent standard-radical surgery (lymphadenectomy D2). The third group consisted of 42 patients who underwent the extended-radical interventions (lymphadenectomy D3). In the first group of patients dynamic intraoperative laboratory control revealed initial disorders of blood glucose level in 29 patients, mostly having hyperglycemia – in 21 (23.9%) patients. Only 3 patients had hypoglycaemia during the operation, and only 2 – at the end of surgery. During the surgery in 48 (54.5%) patients was observed hyperglycemia, and at the end of surgery this condition was established in 52 (59.1%) patients.

Among the studied patients who underwent interventions in the standard-radical extension, the beginning of the operation was accompanied by hyperglycemia in 15 (13.8%) cases. During the operation, an elevated blood glucose level was established in 59 (54.1%) patients. A similar condition at the end of such interventions was found in 65 (59.6%) patients.

The extended-radical interventions had a longer duration in the time aspect among all performed operations. This circumstance and the surgical extension were leading to the declining of changes in the parameters of the carbohydrate metabolism. Among the patients with hyperglycemia who underwent extended-radical surgery, the changes in blood glucose were as below: the initial hyperglycemia was noted in 9 (21.4%), during the operation - in 35 (83.3%), at the end - in 39 (92.9%) of patients. Despite the fact that among patients undergoing radical surgery, a decrease in blood glucose level at the beginning of the operation was detected in 3 patients, cases with hypoglycemia among them were not observed during and at the end of the interventions.

Among the operated patients with GC in 82 (34.3%) operative interventions were combined, during which one or more organs were resected or removed along with the stomach. The pancreas was most often resected in various extensions - in 73 (89.0%) patients. Exactly in the half of the observations (41 patients) at the beginning of the operation hyperglycemia was observed, and in all these cases intraoperative exploration revealed the involvement of the pancreas in the cancer process. During the intervention 77 (93.9%) patients had elevated blood glucose levels. The final intraoperative blood test showed that 69 (84.1%) patients had hyperglycemia, and 6 of them had a severe degree.

In 47 (57.3%) patients at the end of the interventions different degrees of glycosuria were established.

When the tumor was invading in the pancreas, the initial hyperglycemia was noted in 27 (32.9%) observations. A remarkable circumstance was that all patients who underwent pancreas resections had a decreased tolerance to glucose. The operation was accompanied by an increase in the level of the blood glucose in all 73 (100% and 89.0% respectively) cases, and in 5 cases a severe degree of hyperglycemia was noted. At the end of the interventions a similar condition was detected in 58 (79.5% and 70.7%, respectively) patients. Repeated urinalysis during operation in 42 (57.5%) patients revealed the glucosuria, and in 15 of them the level of glucose in urine exceeded 80mmol/l.

The control of the level of glycemia and glucosuria was continued in the early postoperative period. The sampling of the tests was routinely performed on the first, third and seventh days after the operation, and, if necessary, the laboratory control was more frequent.

In all 156 patients the hyperglycemia occurred at the end of the operation was preserved in various degrees during the early postoperative days. Among them glucosuria was detected in 67 (28.0%) patients. In the majority of the patients (36 (15.1%)) the traces of glucose in urine (0.1-0.8 mmol/l) was found.

In the subsequent postoperative course, the level of glycemia was significantly affected by the onset of enteral feeding, the nature of the food intake and the frequency of feeding, which are specific for patients who have lost the “main” organ of the digestive tube. In particular, after resections of the stomach, a full oral diet was usually started on the third, and after gastrectomy - on 4-5th postoperative days. Due to the fact that the majority of patients underwent surgical interventions in the extension of gastrectomy - 226 (94.6%), the factor of enteral nutrition in the correction of changes in carbohydrate metabolism in the early postoperative period was taken into account in this category of patients. Control of the level of glycemia on the third day after the surgery showed that on the background of correction of the glucose level in the blood, hyperglycemia was noted in 93 (38.9%) patients, and in the absolute majority - 86 (92.5%) patients, it was low or moderate degree. The remaining 7 patients had a glucose level in the blood exceeding 13.2mol/l. In this postoperative time interval glucosuria was detected in 33 (13.8%) patients.

Control analyzes of carbohydrate metabolism rates for the seventh postoperative day, in which patients are almost completely transferred to enteral feeding, revealed that hyperglycemia was noted in 56 (23.4%) patients. And a severe degree was diagnosed only in 4 patients. Glucosuria was noted in 19 cases (7.9%), of which in 7 cases it was within 20-80mmol/l. Control of insulinemia level showed that in 22 (9.2%) patients in the early postoperative period an increase of the insulin in the blood plasma above 25mkU/ml was observed.

Table 3. Intraoperative changes in carbohydrate metabolism in patients with gastric cancer, depending on the extension of the operation

Duration of the operation Extension of the operation	Beginning		During		At the end	
	Hyperglycemia	Hypoglycemia	Hyperglycemia	Hypoglycemia	Hyperglycemia	Hypoglycemia
Standard	21 (23,9%)	8 (9,1%)	48 (54,5%)	3 (3,4%)	52 (59,1%)	2 (2,3%)
Standard-radical	15 (13,8%)	2 (1,8%)	59 (54,1%)	0	65 (59,6%)	0
Extended-radical	9 (21,4%)	1 (2,4%)	35 (83,3%)	0	39 (92,9%)	0
Total	45 (18,8%)	11 (4,6%)	142 (59,4%)	3 (3,4%)	156 (65,3%)	2 (2,3%)



In this study, the existence of the relation between changes in carbohydrate metabolism and the course of the early postoperative period in which complications occurred in 61 (25.5%) patients was investigated. The incidence of postoperative pathologies was 38.9%. Some discrepancy between these data is due to the presence of more than one complication in some patients. It should be noted that the complications were due to both surgical and concomitant diseases. Concomitant diseases (13.4%) are mainly observed in the respiratory and cardiovascular systems. 178 (74.5%) patients had no complications in the early postoperative period. Surgical complications directly related to operating trauma (25.5%) were more frequent and more different. In our studies, there were various types of intestinal dysfunctions (paresis or diarrhea) (19 cases), lymphorrhea observed in excess of 5 days in a volume of at least 300ml/day (12), inflammation of the esophageal-intestinal anastomosis (5), leakage of the anastomosis (2), intra-abdominal abscesses (8), acute pancreatitis (5), acute intestinal obstruction as the result of an early peritoneal commissures (3) or thrombosis of mesenteric vessels with subsequent necrosis of the small intestine (1), intra-abdominal bleeding (3), extensive laparotomic wound infection with further secondary intention healing (3). In total, all concomitant pathologies occurred in 32 cases, and surgical complications occurred 61 times.

In this group of patients, the indicators of carbohydrate metabolism registered for the third postoperative day were taken as a guide. The reason for this was the fact that the majority of complications were observed during the first five days after surgical interventions. Among 61 patients in this study category, 23 (37.7%) had hyperglycemia, and 8 (13.1%) – glucosuria. It should be noted that among patients with uncomplicated postoperative period (178 patients) 70 (39.3%) and 25 (14.0%) patients respectively had similar changes. Further monitoring of the studied indicators at later postoperative time intervals revealed a change in the carbohydrate metabolism observed in the compared groups. In particular, whereas among uncomplicated patients hyperglycemia was detected in 37 (20.8%), and glucosuria in 13 (7.3%) patients, and in complicated clinical course in 19 (31.1%) and 6 (9, 8%) patients respectively. In the case of complications, insulin resistance was detected in 9 (14.8%) versus 16 (10.1%) uncomplicated patients, and over time - in 8 (13.1%) versus 14 (7.8%) respectively.

Analyzing the obtained data, it can be concluded that surgical interventions in patients with GC are a significant factor having a negative effect on carbohydrate metabolism. It was found that this effect is mainly manifested by an acute increase in the level of blood glucose and its detection in the urine of various degrees. In 65.3% of cases operations were accompanied by hyperglycemia, and in 25.9% of cases glucosuria was detected. During the operation in 18 patients were diagnosed severe hyperglycemia, and 17 had severe glucosuria. The duration of the intervention also had a significant influence on the carbohydrate metabolism. Thus, the duration of a surgical operation for more than two hours lead to an almost twofold increase in the incidence of cases of hyperglycemia, and tripled increase in glucosuria. As an important factor in the pathogenesis of intraoperative hyperglycemia was established the extension of surgical intervention performed in GC. It was revealed that hyperglycemia in patients subjected to standard and standard-radical operations occurs approximately at the same rate. In extended-radical surgery, surgical aggression has a more effect on the increase in blood glucose and its detection in the urine. The performance of multivisceral resections negatively affects the state of carbohydrate metabo-

lism. Resection in different variations of the pancreas - the mostly invaded organ by the primary tumor in locally advanced GC - leads to an acute intraoperative increase of the levels of glycemia and glucosuria that also lasts quite long during the early postoperative period. Surgical trauma and complicated clinical course of the early postoperative period negatively affects the indicators of the insulin resistance in patients. So, if among the patients undergoing surgical treatment, an elevated insulin level in the blood (above 25microU/ml) was detected along with hyperglycemia in 13 (5.4%) patients, then, despite the appropriate correction in the stages of inpatient treatment, similar changes were observed in 27 (11.3%) of them. In the early postoperative period the number of insulin-resistant patients was 22 (9.2%). In the case of complications 8 (13.1%) of similar cases were recorded, while in the uncomplicated postoperative period a similar condition was found in 14 (7.8%) patients. Dynamic control of laboratory parameters of carbohydrate metabolism in the postoperative period showed that intensive correction of blood glucose level along with enteral feeding led to a decrease in levels of hyperglycemia and glucosuria. Complicated postoperative period did not lead to an increase in the incidence of carbohydrate metabolism disorders, but had an effect on the longer retention of elevated levels of glucose in the blood and urine.

## REFERENCES

1. Мисникова И.В. Сахарный диабет и рак. // ПМЖ. 2016. №20, с.346-350.
2. Романцова Т.И. Основные принципы регуляции энергетического баланса // Consilium Medicum. 2014. Т.16, №4, 98-102.
3. Inzucchi SE, Rosenstock J. Counterpoint: Inpatient glucose management: a premature call to arms? // Diabetes Care. 2005;28:976-979.
4. Smith E., Morowitz H.J. Universality in intermediary metabolism. // PNAS. 2004. vol.101. N.36 p. 13168-73.
5. Garg S. K., Maurer H., Reed K., Selagamsetty R. Diabetes and cancer: two diseases with obesity as a common risk factor // Diabetes, Obesity and Metabolism. 2014. Vol. 16(2). P. 97-110.
6. Sekikawa A, Fukui H, Maruo T, et al. Diabetes mellitus increases the risk of early gastric cancer development. // European Journal of Cancer. Volume 50, Issue 12, August 2014, P. 2065-2071.
7. Yanai H. Diabetic ketoacidosis in a patient undergoing distal pancreatectomy. // Hepatobiliary & pancreatic diseases. 12/2010; 9(6):661.
8. Lin XJ, Wang CP, Liu XD, et al. Body mass index and risk of gastric cancer: a meta-analysis. // Jpn J Clin Oncol 2014; 44(9):783-91.
9. Cheng A.Y.Y. Perioperative glycemic control: What is the evidence? // Endocrinology: 2002, V2; No2:118-26.
10. Dock-Nascimento DB, de Aguilar-Nascimento JE, Linetzky Waitzberg D. Ingestion of glutamine and maltodextrin two hours preoperatively improves insulin sensitivity after surgery: a randomized, double blind, controlled trial. // Rev. Col. Bras. Cir. 2012; 39(6): 449-455.
11. An JY, Kim YM, Yun MA, et al. Improvement of type 2 diabetes mellitus after gastric cancer surgery: Short-term outcome analysis after gastrectomy. // World J Gastroenterol. 2013 December 28; 19(48): 9410-9417.
12. Lee W, Ahn S, Lee J, et al. Comparative Study of Diabetes Mellitus Resolution According to Reconstruction Type After Gastrectomy in Gastric Cancer Patients with Diabetes Mellitus. // Obesity Surgery;Aug 2012, 22(8): 123-8.

13. Bolton JS, Conway WC. Postgastroectomy Syndromes. // Surg Clin N Am. 2011, 91:1105-1122.  
14. Kim JW, Cheong JH, Hyung WJ, et al. Outcome after gastrectomy in gastric cancer patients with type 2 diabetes. // World J Gastroenterol. 2012; 18: 49-54.

## SUMMARY

### DISORDERS OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER

Gasimov A., Aliev A., Zeynalov, R.

National Center of Oncology, Baku

Object study carbohydrate metabolism state in patient with GC during the surgical treatment period, and the detection of factors that influence these kind of disorders.

The results of investigations of 270 patients with GC were analyzed. The rest of patients were males – 193 (71.48%). 239 patients underwent different surgical involvements. The state of carbohydrate metabolism was evaluated based on the study of the level of glucose in blood serum and urine at various stages of surgical treatment.

The results of carbohydrate metabolism in 270 patients with gastric cancer in the perioperative period are analyzed. Factors that have an effect on the changes in glucose and insulin levels in the blood and its appearance in the urine before the specific treatment, as well as at various periods of staying patients in the surgical department, was the duration of the anamnesis, advanced stages of the oncological process, complicated clinical course of the underlying disease.. It was established that surgical intervention itself, its extension, and also postoperative period have a direct negative effect on the disorders in carbohydrate metabolism. In 65.3% of cases operations were accompanied by hyperglycemia, and in 25.9% of cases glucosuria was detected. The duration of a surgical operation for more than two hours lead to an almost twofold increase in the incidence of cases of hyperglycemia, and tripled increase in glucosuria. Intensive correction of blood glucose level along with enteral feeding led to a decrease in levels of hyperglycemia and glucosuria. Complicated postoperative period did not lead to an increase in the incidence of carbohydrate metabolism disorders, but had an effect on the longer retention of elevated levels of glucose in the blood and urine.

**Keywords:** gastric cancer, carbohydrate metabolism, hyperglycemia, glucosuria.

## РЕЗЮМЕ

### НАРУШЕНИЯ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

Гасымов А.Г., Алиев А.Р., Зейналов, Р.С.

Национальный центр онкологии, Баку, Азербайджан

Цель исследования - изучение состояния углеводного обмена у больных раком желудка на стадии хирургического лечения и выявление факторов, влияющих на данного рода нарушения.

Обследованы 270 больных раком желудка, из них 193

(71,48%) были мужского пола. 239 больным выполнены оперативные вмешательства в различных объемах. Состояние углеводного обмена оценивалось на основании исследования уровня содержания глюкозы в сыворотке крови и моче на различных этапах хирургического лечения.

Проанализированы результаты показателей углеводного обмена у 270 больных раком желудка в периоперационном периоде. Факторами, влияющими на уровень содержания глюкозы и инсулина в крови и появление ее в моче до проведения специфического лечения, а также на различных этапах нахождения больных в хирургическом стационаре, являются: длительность анамнеза, более поздние стадии онкологического процесса, осложненное клиническое течение основного заболевания. Установлено, что непосредственно оперативное вмешательство, его объем и характер течения послеоперационного периода имеют негативное воздействие на нарушение углеводного обмена. В 65,3% наблюдений операции сопровождались гипергликемией, в 25,9% случаев констатирована глюкозурия. Продолжительность хирургической операции свыше двух часов способствовала почти двукратному увеличению частоты встречаемости случаев гипергликемии, а глюкозурия повышалась втрое. Интенсивная коррекция уровня содержания глюкозы в крови и восстановление энтерального питания приводили к активному динамическому снижению уровня гипергликемии и глюкозурии. Осложненное послеоперационное течение не способствовало повышению частоты нарушений углеводного обмена, однако оказывало влияние на более длительное сохранение повышенных показателей содержания глюкозы в крови и моче.

## რეზიუმე

ნახშირწყლოვანი ცვლის დარღვევები კუჭის კიბოთი დაავადებულ ადამიანებში

ა. გასიმოვი, ა. ალიევი, რ. ზეინალოვი

ონკოლოგიის ეროვნული ცენტრი, ბაქო, აზერბაიჯანი

კვლევის მიზანს შეადგენდა ნახშირწყლოვანი ცვლის დარღვევების შეფასება კუჭის კიბოთი დაავადებულ ადამიანებში ქირურგიული მკურნალობის ეტაპზე და ამ ტიპის დარღვევებზე მოქმედი ფაქტორების გამოვლენა.

გამოკვლეულია 270 პაციენტი კუჭის კიბოთი, მათგან 193 (71,48%) – მამაკაცი. 294 პაციენტს ჩატარდა სხვადასხვა მოცულობის ოპერაციული ჩარევა. ნახშირწყლოვანი ცვლის მდგომარეობა ფასდებოდა გლუკოზის შემცველობის კვლევით სისხლის შრატსა და შარდში ქირურგიული მკურნალობის სხვადასხვა ეტაპზე.

გაანალიზებულია კუჭის კიბოთი დაავადებული 270 ადამიანის ნახშირწყლოვანი ცვლის მახვევებლები პერიოპერაციულ პერიოდში. სისხლში გლუკოზისა და ინსულინის შემცველობასა და შარდში გლუკოზის გაჩენაზე მოქმედ ფაქტორებს ქირურგიულ მკურნალობამდე, ასევე, პაციენტის ქირურგიულ სტაციონარში ყოფნის სხვადასხვა ეტაპზე წარმოადგენს: ანამნეზის ხანგრძლივობა, ონკოლოგიური პროცესის გვიანი სტადია, ძირითადი დაავადების კლინიკური მიმდინარეობის გართულებები. დადგინდა, რომ უშუალოდ ოპერაციული ჩარევა, მისი მოცულობა და პოსტოპერაციული პერიოდის მიმდინარეობის ხასიათი უარყოფითად მოქმედებს ნახშირ-

წყლოვან ცვლაზე. შემთხვევათა 65,3%-ში ოპერაციები გართულდა პიპერგლიკემიით, 25,9%-ში კონსტატირდა გლუკოზურია. ორ საათზე მეტი ხანგრძლივობის ქირურგიული ოპერაცია განაპირობებდა პიპერგლიკემიის შემთხვევათა თითქმის ორჯერ ზრდას, გლუკოზურია კი იმატებდა სამჯერ. სისხლში გლუკოზის შემცველობის ინტენსიური კორექცია და ენტერული

კეების აღდგენა განაპირობებდა პიპერგლიკემიის და გლუკოზურიის დონის აქტიურ და ინტენსიურ კლებას. გართულებული პოსტოპერაციული მიმდინარეობა არ იწვევდა ნახშირწყლოვანი ცვლის დარღვევის სისშირის ზრდას, თუმცა განაპირობებდა სისხლსა და შარდში გლუკოზის მომატებული მაჩვენებლების უფრო მეტ ხანს შენარჩუნებას.

## VARIANTS OF ENDOVASCULAR REVASCULARIZATION OF LOWER LIMBS WITH CRITICAL ISCHEMIA DOE EXTENSIVE ATEROSCLEROSIS AND ASSESSMENT OF THEIR EFFECTIVENESS

Goshchynsky V., Lugoviy O., Goshchynsky P., Lugoviy S., Lugoviy U.

*Horbachevsky Ternopil State Medical University; Ternopil Town Municipal Hospital №2,  
Department of cardiovascular and X-ray-endovascular surgery, Ukraine*

The problem of treatment of critical ischemia of the lower extremities (CILE) remains unresolved. Experience of the vast majority of vascular surgeons regarding this problem, suggests that conservative therapy in the treatment of patients with CILE is ineffective [17,18]. In this regard, the use of bypass surgery may in the short term significantly improve limbs blood supply and improve the prognosis for its preservation [5,7,8,9]. However, there are certain technical and tactical limitations due to: a) high prevalence and extensive atherosclerotic lesions of the femoral-popliteal-distal segment; b) rapid progression of critical ischemia and subsequent necrosis or gangrene of the distal foot sections; c) occlusion of the tibial arteries, which excludes the use of bypass surgery; d) premorbid status, old age, which directly affects the revascularization options and the course of the postoperative period; e) diabetic foot syndrome, with predominant distal artery lesions. Use of revascularization for CILE, hybrid or endovascular surgery can be a solution [5,7,9,11].

It should be noted that the technical improvement of the endovascular operations and the corresponding tools allow to expand the indications for their implementation, especially in case of prolonged atherosclerotic lesions, and in some aspects vasoballoon angioplasty is out of competition when the issue concerns the restoration of arteries of the distal segment of the limb and the critical ischemia of the lower extremities [1,2,3,4,6,8,9,10,11].

The aim of the study - identify possible variants of endovascular revascularization in long and multistory occlusal-stenotic lesions of the femoral-popliteal-distal segment on the background of critical ischemia of the lower extremities and assess their efficacy.

**Material and methods.** A retrospective analysis of the results of endovascular operations on the arteries of the lower extremities was performed in 209 patients, of which 45 (21.5%) were patients with chronic ischemia of the 2nd stage, category 4, 138 (66.1%) of patients with ischemia of the lower extremities of the third stage, category 5 and 26 (12.4%) of patients with IV stage, category 6 (by classification Rutherford et al., 1997) [17], 187 men, 22 women. The average age of patients was  $63.7 \pm 9.3$  years. An ultrasound examination of arterial vessels was car-

ried out using Vivid 3 (General Electric, USA) with a 5-10 MHz sensor and a standard software package of the specified firm for the examination of the arterial system. Using duplex scan in the B-mode of the arteries of the aorto-femoral-popliteal-distal segment data was obtained about the thickness, shape, structure, diameter of the artery lumen at the level of the stenotic and post-stenotic area, the extent of the atherosclerotic lesion. Spiral computer angiography in 3D or aorto-arteriography, performed on the angiographic complex of Siemens Company, and were used to determine the site of localization of atherosclerotic occlusion and its extent. By analyzing the frequency and location of occlusive lesions, we found that, in the classification of TASC II, Type A was 79 (37.8%) of the patient, type B was detected in 59 (28.2%) patients, type C and D ascertained, respectively, in 38 (18.2%) and 33 (15.8%) cases. In 59 patients (28.2%), process of arterial occlusion in different segments of both lower extremities was detected. Based on the data of ultrasound and angiography, we found that the cause of critical ischemia was long and multistory occlusion. Thus, out of 209 patients in 97 (46.4%) patients, there was occlusion of the surface femoral artery up to 15 cm, from 15-20 cm in 25 (12.0%) cases and more than 20 cm in 87 (41.6%) patients (Table 1). In 69 (33.0%) patients, the distribution of the occlusive process on the popliteal and (or) tibia arteries was diagnosed. In 93 (44.5%) cases, we established the multistory occlusion of the arteries of the lower extremities with varying lengths of the atherosclerotic process (Fig. 1).

Thus, long and multi-level atherosclerotic occlusions require unconventional decisions during endovascular surgery interventions on the despite pros and cons keep the patient's and surgeon's hope for limb preservation.

Based on clinical and angiographic data, several variants of endovascular revascularization of the lower extremities were used (Table 2). Thus, in the occlusal process in different segments of the surface artery of the thigh up to 15 cm in 36 (17.2%) patients the vasoballoon segmentation of this segment followed by its stenting with a self-expanding stent of Terumo Misago (Japan) or a stent of Palmas Cordis (USA) was used.

Table 1. Division of patients by the location of the lesion

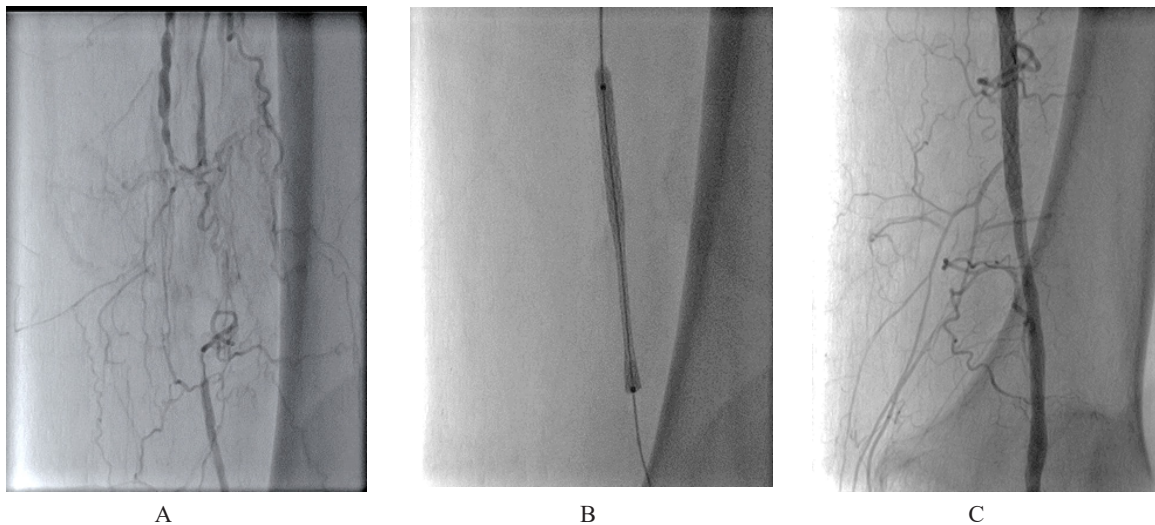
Atherosclerotic occlusion	Lesion location						Total
	PA	SFA+TA	SFA+ PA	FA	FA+SFA	FA+ SFA+ PA	
	20	48	50	27	43	21	209

PA – popliteal artery; SFA – superficial femoral artery; FA – femoral artery; TA – tibial arteries

Table 2. The types of interventions according to the localization of affection

Procedure type	The segment of affection						Total
	PA	SFA+TA	SFA+PA	FA	SFA	FA+SFA+PA	
Stenting	10	-	-	11	15	-	36
Balloon angioplasty + stenting	9	5	18	-	27	11	70
Balloon angioplasty	11	24	13	7	9	18	82
Re-Entry UTBACK subintimal angioplasty	-	-	4	-	-	7	11
SAFARI method	-	10	-	-	-	-	10
Total	30	39	35	18	51	36	209

PA – popliteal artery; SFA – superficial femoral artery; FA- femoral artery; TA– tibial arteries



Pic. 1. (A) arteriogram of the patient aged 61. Occlusion in the thigh-popliteal segment. (B) Vasoballoon angioplasty of the segment. (C) Stenting of the artery by means of self-expanding stent Terumo Misago (Japan)

In 66 (31.6%) patients with occlusion-stenotic process in the thigh-popliteal segment longer than 20 cm, the following variants were used: one stent or two end-to-end stents. The stenting of the artery was supplemented by vasoballoon dilatation of the segment over the stents, between stents or under stents.

In 69 patients (33.1%) with prolonged occlusions in the thigh-popliteal-distal segment, an intraluminal balloon angioplasty was used. For its execution, a conductive catheter was used to create a stop, which was located 1-2 cm above the occlusion and a 0,035 « microcatheter on a hydrophilic conductor. This allowed a guaranteed passage through the occlusion and stenosis of the arteries. After that, the microcatheter-conductor system was replaced with a typical Teflon 0,035» conductor. The advantages of this method were: the ability to remove it and perform an angiographic control to determine the position of the system, if necessary, and to determine the direction of the conductor's movement. The manipulation ended with the installation on the conductor of the balloon catheter, followed by its positioning. For vasoballoon division, as a rule, we used cylinders of different diameters, starting with a cylinder 1-2 cm smaller than the diameter of the artery, and ending with a cylinder of nominal diameter. At the same time, they conducted a slow and prolonged division (up to 5-10 minutes). In 17 patients there was a recoil-phenomenon, which required to prevent the early restenosis of stenting of the parotid artery area.

In 11 cases (5.3%) subintimal angioplasty was performed under the condition of Re-Entry Outback (Cordis, USA). Indica-

tions for its implementation were: a) prolonged occlusion; b) unsuccessful attempt of intraluminal recovery of blood flow; c) the presence of a large collateral branch that goes straight in the place of occlusion; d) absence of a «box» of the main vessel, if any, (when attempting to pass intraluminal leads constantly falls into the collateral branch); e) occlusion of the superficial femoral artery from the mouth; e) recanalization after the perforation of the vessel (the use of subintimal technique allows you to bypass the area of perforation and find a new course for passing occlusion); g) Calcified lesions (the attempt of an intraluminal defeat of such a dense defect leads to the fact that the conductor goes along the path of the least opposite - sub intimal space).

In 17 (8.1%) patients, balloon angioplasty was used using IN cylinders. PACT Admiral (Medtronic Inc. USA) with Free Pac coating containing urea and paclitaxel. In all cases, this method of angioplasty was used for vasoballoon division of the thigh-popliteal area. The method of SAFARI (subintimal arterial flossing with antegrade-retrograde intervention) was used in 10 (4.8%) patients. We used this method: a) in cases of damage to the popliteal artery with the transition to the tibial-peroneal trunk and the arteries of the shin; b) prolonged occlusion of the arteries of the leg; c) unsuccessful intraluminal passage of the tibial arteries. In these cases, ipsilateral antegrade access was used.

The evaluation of the results of endovascular surgical interventions was carried out at the discharge of the patient from the hospital, after 3 and 6 months after the operation. It was based on complaints of the patient, on the data of objective examina-

Table 3. Results of transcutaneous oximetry ( $TcpO_2$ ) before and after 14 and 60 days after endovascular procedures

$TcpO_2$	n=209			
	Before the procedure	14 days after	30 days after	60 days after
I degree - ( $tcpO_2 > 30$ mmHg.)	-	21	39	66
II degree - ( $tcpO_2 20-30$ mmHg.)	129	158	159	138
III degree - ( $tcpO_2 < 20$ mmHg.)	80	30	11	5

tion and ultrasound dopplerography of the arteries with the measurement of the ankle and shoulder index (KPI). Also, in order to assess the state of the microcirculatory bed, a study of partial pressure of oxygen in the surface soft tissues of the lower limb (transcutaneous oximetry) was performed. To measure  $tcpO_2$ , a transcutaneous oximeter from RADIMETER (Denmark) was used. To obtain  $tcpO_2$  Clark's sensor was installed on the foot in the area of the first interdigital gap and in the heel area. We used the following criteria to assess the degree of conservation of microcirculation [14,18]: I degree of microcirculation disorders (compensated tissue metabolism) –  $tcpO_2 > 30$  mmHg; II degree of microcirculation disorders (subcompensated tissue metabolism) –  $tcpO_2 = 20-30$  mmHg; III Degree of Microcirculation Disorders (decompensated tissue metabolism)  $tcpO_2 < 20$  mm Hg. Changes in clinical status were assessed on the Rutherford scale (1997) [17]: 0 - unchanged (no change in degree of ischemia and no increase in KPI); +1 - minimal improvement (increase in KPI by more than 0.1, but no clinical improvement, or, conversely, clinical improvement without increase in KPI by more than 0.1) +2 - moderate improvement (improvement of at least 1 degree of ischemia, KPI did not normalize, but increased by more than 0.1), +3 - a significant improvement; - 1 - slight deterioration; - 2-degree deterioration; - 3 - significant deterioration. Kaplan-Meier method was used to assess the patency of arteries after surgery, survival and limb preservation. In case of suspected reocclusion or the occurrence of new occlusive-stenotic lesions an angiographic examination was performed. The stenosis was followed by repeated narrowing of the artery by more than 60% of diameter or reduction of the peak systolic blood flow velocity below the narrowed area is greater than 200 cm/sec.

**Results and their discussion.** After analyzing the results of restorative operations, we noted that clinical success in the first 6 months was achieved in 171 (81.8%) patients. Among them, a significant improvement in the limb was reported in 94 (45.0%) patients, moderate improvement was noted in 73 (34.9%) patients, unchanged in 26 (12.4%) cases, and a moderate deterioration at 16 (7.7%) patients.

At 14-th day after the restoration of blood supply, as below (Table 3), a natural increase in the values of  $tcpO_2$  in the vast majority of patients (179 - 85.0%). In the further dynamic observation, the maximum increase in  $tcpO_2$  have occurred on 1-2 month. Such fluctuations of the  $tcpO_2$  levels after endovascular surgery can be explained by the presence of postoperative edema of the foot and shin that disappear over time, as well as the probable adaptation of the microcirculation to the restored blood flow.

Reperfusion tissue injury and, as a result, local inflammation may be an additional factor in the delayed growth of oxygen tension. Cumulative vascular passage after endovascular operations was: 1-st month - 94.5%, 2-nd month - 92.3%, 6 month - 87.4%, one year later - 78.1%, in 2 years - 69.8%. According to our observations, the highest frequency of restenosis and reocclusion occurs in the first 6 months. All patients had a successful repeated endovascular reconstruction of the lesion area. Cumulative limb preservation after endovascular surgery was: 1 month

- 100%, 2 months - 94.3%, 6 months - 90.6%, in 2 years - 84.1%.

**Conclusions.** 1. The technical improvement of the endovascular operations and the corresponding tools allows to expand the indications for their usage in treating the critical ischemia and not to be limited by the extent of atherosclerotic lesions according to the recommendations of TASC II, which guarantees the preservation of the limb from amputation.

## REFERENCES

1. Adam DJ, Beard JD, Cleveland T, et al; BASIL trial participants. Bypass versus angioplasty in severe ischaemia of the leg (BASIL): multicenter, randomized controlled trial // *Lancet*. 2005; 366:1925–1934.
2. Armstrong E.J. Bishu K., Waldo S.W. Endovascular Treatment of Infrapopliteal Peripheral Artery Disease// *Curr Cardiol Rep*.2016; 18(4): P.38.
3. Biancari F. Juvonen T. Angiosome-targeted Lower Limb Revascularization for Is-chemic Foot Wounds: Systematic Review and Meta-analysis // *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2014; 47 (5): 517-522.
4. Bradbury A. W., Adam D. J., Bell J. [et al.] Bypass versus Angioplasty in Severe Ischaemia of the Leg (BASIL) trial: A description of the severity and extent of disease using the Bollinger angiogram scoring method and the TransAtlantic Inter—Society Consensus II classification// *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*. 2010; 51: 32-42.
5. Comparison of long-term outcome after endovascular therapy versus bypass surgery in claudication patients with Trans-Atlantic Inter-Society Consensus-II C and D femoropopliteal disease // *Circ J*.2014; 78 (2): 457–464.
6. David P. S., Timothy M. S. Critical limb ischemia: medical and surgical management // *Vascular Medicine*. 2008; 13: 281–291.
7. Emad Hussein. Infragenicular PAOD in the Southern Mediterranean: towards an optimal endovascular strategy // *Phlebology*. 2017; 24 (1): 16.
8. Endovascular interventions for TransAtlantic InterSociety Consensus II C and D femoropopliteal lesions // *Chin. Med. J. (Engl)*. 2013; 126 (3): 415–420.
9. Final Results of the BASIL Trial (Bypass Versus Angioplasty in Severe Ischaemia of the Leg) Edited by Andrew W Bradbury // *Journal of Vascular Surgery*.2010; 51 (5): 58.
10. Goodney PP, Travis LL, Nallamothu BK, et al. Variation in the use of lower extremity vascular procedures for critical limb ischemia // *Circ .Cardiovasc. Qual. Outcomes*. 2012; 5: 94–102.
11. Huang Z.S. Schneider D.B. Endovascular intervention for tibial artery occlusive disease in patients with critical limb ischemia *Semin. Vasc. Surg.*2014; 27(1): 38-58.
12. Huang T.Y. Huang T.S., Wang Y.C. Direct Revascularization With the Angiosome Concept for Lower Limb Ischemia: A Systematic Review and Meta-Analysis // *Medicine (Baltimore)* .2015; 94(34): 1427.
13. Lambert M. A., Belch J. J. F. Medical management of critical limb ischaemia: where do we stand today? (Review) // *J. Intern. Med*. 2013; 274: 295–307.

14. Lo T, Sample R, Moore P, Gold P. Prediction of wound healing outcome using skin perfusion pressure and transcutaneous oximetry // *Wounds* 2009; 21:310–316.
15. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, et al. TASC II Working Group. Inter-society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II) // *J Vasc Surg* 2007; 45:S5–S67.
16. Ricco J. Interest in angiosome revascularization for the healing of arterial trophic problems in patients with femoral-peroneal. *Phlebology*. 2017; 24 (1):17.
17. Rutherford R.B. Baker J.D., Ernst C. Recommended standards for reports dealing with lower extremity ischemia: revised version. *J. Vase Surg.* 1997; 26: 517-538.
18. Ueno H., Fukumoto S., Koyama, H. Regions of Arterial Stenosis and Clinical Factors determining transcutaneous Oxygen Tension in Patients with Peripheral Arterial Disease // *Atheroscler Thromb.* 2010; 17(8):858–869.
19. Varela C, Acin F, De Haro J, et al. Influence of surgical or endovascular distal revascularization of the lower limbs on ischemic ulcer healing // *Journal of cardiovascular Surgery.* 2011; 52(3): 381-389.
20. Vinit N., Varu MD, Melissa E., Hogg MD, Melina R., Kibbe MD et al. Critical limb ischemia // *Journal of Vascular Surgery.* 2010; 51 (1): 230-241.

## SUMMARY

### VARIANTS OF ENDOVASCULAR REVASCU-LARIZATION OF LOWER LIMBS WITH CRITICAL ISCHEMIA AND EXTENSIVE ATEROSCLEROSIS AND ASSESSMENT OF THEIR EFFECTIVENESS

Goshchynsky V., Lugoviy O., Goshchynsky P., Lugoviy S., Lugoviy U.

*Horbachevsky Ternopil State Medical University; Ternopil Town Municipal Hospital №2, Department of cardiovascular and X-ray-endovascular surgery, Ukraine*

A retrospective analysis of the results of endovascular operations on the arteries of the lower extremities was performed in 209 patients, of which 45 (21.5%) were patients with chronic ischemia of the 2nd stage, category 4, 138 (66.1%) of patients with ischemia of the lower extremities of the third stage, category 5 and 26 (12.4%) of patients with IV stage, category 6 (by classification Rutherford et al., 1997) 17, 187 men, 22 women. The average age of patients was 63.7±9.3 years. Based on clinical and angiographic data, several variants of endovascular revascularization of the lower extremities were used: the vasoballoon segmentation followed by its stenting with a self-expanding stent of Terumo Misago (Japan) or a stent of Palmas Cordis (USA), one stent or two end-to-end stents (the stenting of the artery was supplemented by vasoballoon dilatation of the segment over the stents, between stents or under stents), subintimal angioplasty was performed under the condition of Re-Entry Outback (Cordis, USA), balloon angioplasty was used using IN cylinders. PACT Admiral (Medtronic Inc. USA) with Free Pac coating containing urea and paclitaxel, the method of SAFARI (Subintimal Arterial Flossing with Antegrade-Retrograde Intervention).

After analyzing the results of restorative operations, we noted that clinical success in the first 6 months was achieved in 171

(81.8%) patients. Among them, a significant improvement in the limb was reported in 94 (45.0%) patients, moderate improvement was noted in 73 (34.9%) patients, unchanged in 26 (12.4%) cases, and a moderate deterioration at 16 (7.7%) patients. Cumulative vascular passage after endovascular operations was: 1-st month - 94.5%, 2-nd month - 92.3%, 6 month - 87.4%, one year later - 78.1%, in 2 years - 69.8%. According to our observations, the highest frequency of restenosis and reocclusion occurs in the first 6 months. All patients had a successful repeated endovascular reconstruction of the lesion area. Cumulative limb preservation after endovascular surgery was: 1 month - 100%, 2 months - 94.3%, 6 months - 90.6%, in 2 years - 84.1%.

**Keywords:** the critical ischemia, endovascular revascularization.

## РЕЗЮМЕ

### ВАРИАНТЫ ЭНДОВАСКУЛЯРНОЙ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ПРИ ПРОТЯЖНЫХ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЯХ В УСЛОВИЯХ КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ И ОЦЕНКА ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ

Гощинский В.Б., Луговой О.Б., Гощинский П.В., Луговой С.О., Луговой Ю.О.

*Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского; Тернопольская городская клиническая больница №2, отделение кардиохирургии и рентген-эндоваскулярной хирургии, Украина*

Проведен ретроспективный анализ результатов эндоваскулярных операций на артериях нижних конечностей у 209 больных, среди них 45 (21,5%) пациентов с критической ишемией II степени, категория 4, 138 (66,1%) больных с ишемией нижних конечностей III степени, категория 5 и 26 (12,4%) пациентов с IV степенью, категория 6 (классификация Rutherford et al., 1997). Мужчин – 187, женщин - 22. Средний возраст больных – 63,7±9,3 лет. Руководствуясь клиническими и ангиографическими данными применены следующие варианты эндоваскулярных операций: вазобаллонная дилатация сегмента окклюзии с последующим его стентированием, вазобаллонная дилатация с использованием одного либо двух стентов «конец в конец», субинтимальная ангиопластика устройством Re-Entry Outback (Cordis, США), баллонная ангиопластика с использованием баллонов IN. PACT Admiral (Medtronic Inc., США) с покрытием Free Pac, которое содержит мочевины и паклитаксел, метод SAFARI (Subintimal Arterial Flossing with Antegrade-Retrograde Intervention).

Анализ результатов эндоваскулярных операций выявил, что клинический успех достигнут в первые 6 месяцев у 171 (81,8%) больного, в том числе значительное улучшение наступило у 94 (45,0%) пациентов, умеренное - у 73 (34,9%), без изменений - 26 (12,4%) случаев и умеренное ухудшение - у 16 (7,7%) пациентов. Кумулятивная проходимость сосудов после эндоваскулярных операций выявлена: спустя 1 месяц – у 94,5%, через 2 месяца – 92,3%, 6 месяцев – 87,4%, спустя год – у 78,1%, 2 года – 69,8%. Кумулятивное сохранение конечности после эндоваскулярных операций: спустя 1 месяц отмечалось в 100% случаев, 2 месяца спустя – 94,3%, 6 месяцев – 90,6%, спустя 2 года – 84,1%.

## რეზიუმე

ქვედა კიდურების ენდოვასკულური რევასკულარიზაციის ვარიანტები საწველი ათეროსკლეროტიული დაზიანების დროს კრიტიკული იშემიის პირობებში და მათი ეფექტურობის შეფასება

ვ. გოშინსკი, ო. ლუგოვი, პ. გოშინსკი, ს. ლუგოვი, იუ. ლუგოვი

ი. გორბახევსკის სახ. ტერნოპოლის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; ტერნოპოლის მუნიციპალური საავადმყოფო №2, კარდიოქირურგიის და რენტგენ-ენდოვასკულური ქირურგიის განყოფილება, უკრაინა

რეტროსპექტულად გაანალიზდა 209 ავადმყოფის ქვედა კიდურების არტერიებზე შესრულებული ენდოვასკულური ოპერაციების შედეგები. 45 (21.5%) მათ შორის აღენიშნებოდა II ხარისხის კრიტიკული იშემია, კატეგორია 4; 138 (66.1%) ავადმყოფს - ქვედა კიდურების III ხარისხის იშემია, კატეგორია 5; 26 (12.4%) - IV ხარისხის იშემია, კატეგორია 6 (Rutherford-ის კლასიფიკაცია). ავადმყოფებს შორის იყო 187 მამაკაცი, 22 ქალი, საშუალო ასაკი 63.7±9.3 წ. კლინიკური და ანგიოგრაფიული მანევრებლების გათ-

ვალისწინებით შესრულებული იყო ენდოვასკულური ოპერაციების შემდეგი ვარიანტები: ოკლუზიის სემინტის ვაზობალონური დალატაცია, მისი შემდგომი სტენტირებით; ვაზობალონური დილატაცია ერთი ან ორი სტენტის "ბოლო-ბოლოში" გამოყენებით; სუბინტიმალური ანგიოპლასტიკა Re-Entry Outback (Cordis, აშშ) დანადგარით, ბალონური ანგიოპლასტიკა IN. PACT Admiral (Medtronic Inc., აშშ) Free Pac საფარით, რომელიც შეიცავს შარდმეხვას და პაკლიტაქსელს, SAFARI-ს (Subintimal Arterial Flossing with Antegrade-Retrograde Intervention) მეთოდს.

ენდოვასკულური ოპერაციების შედეგების ანალიზმა გამოავლინა, რომ კლინიკური წარმატება პირველი 6 თვის განმავლობაში მიღწეულია 171 (81,8%) შემთხვევაში, მათ შორის მნიშვნელოვანი გაუმჯობესება 94 (45.0%) პაციენტთან, ზომიერი გაუმჯობესება - 73 (34.9%), გაუარესება - 16 (7.7%), ცვლილებების გარეშე დარჩა 26 (12.4%) პაციენტის მდგომარეობა. სისხლძარღვების კუმულატიური გამავლობა ენდოვასკულური ოპერაციების შემდგომ აღმოჩნდა ერთი თვის შემდეგ 94,5%, 2 თვის შემდეგ - 92.3%, 6 თვის შემდეგ - 87,4%, 1 წლის შემდეგ - 78,1%, 2 წლის შემდეგ - 68,6%, რაც შეეხება ენდოვასკულური ოპერაციების შემდეგ კიდურის კუმულატიურ შენარჩუნებას: 1 თვის შემდეგ იყო 100%, 2 თვის შემდეგ - 94,3%, 6 თვის შემდეგ - 90,6%, 2 წლის შემდგომ - 84,1% შემთხვევაში.

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНФОРМАТИВНОСТИ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ МЕТОДОВ В ИССЛЕДОВАНИИ ЭНДОМЕТРИЯ В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

Татарчук Т.Ф., Ефименко О.А., Занько Е.В., Щавинская М.А.

Государственное учреждение «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии им. акад. Е.М. Лукьяновой НАМН Украины», Киев, Украина

Малигнизация гиперпролиферативных заболеваний эндометрия считается основной причиной рака эндометрия в постменопаузе, поэтому ранняя диагностика гиперпролиферативных заболеваний эндометрия и, соответственно, своевременное применение лечебно-диагностических мероприятий считается залогом профилактики рака эндометрия у данной категории женщин [1,2,4,6,8]. Наиболее часто для ранней диагностики патологии эндометрия используется метод ультразвукового сканирования. Однако, учитывая частоту ложноположительного результата ультразвукового исследования у данной категории женщин, количество необоснованных инвазивных вмешательств в постменопаузе увеличивается. Исходя из вышеизложенного, в рекомендациях Американского и Европейского обществ акушеров-гинекологов рутинное ультразвуковое исследование, как единственный критерий диагностики у женщин без симптоматики менопаузального кровотечения, не рекомендуется [7]. С другой стороны, неуклонный рост частоты случаев рака эндометрия в постменопаузе диктует необходимость разработки скрининговых программ диагностики патологии эндометрия. Поэтому, чрезвычайно актуальным на сегодняшний день является исследование новых ультразвуковых критериев для оценки состояния эндометрия у

женщин в постменопаузе. По сей день большое внимание уделяется применению трехмерных ультразвуковых методик, появление которых позволило расширить возможности эхографии. Благодаря использованию 3D реконструкции появилась возможность оценки эндометрия в трех плоскостях в реальном времени. Кроме того, применение дополнительных возможностей 3D доплерометрии - индекса васкуляризации, индекса кровотока, их соотношения и объема эндометрия, позволяет лучше осуществить дифференциальную диагностику доброкачественной и злокачественной патологии эндометрия, а также дифференцировать гиперпролиферативную патологию эндометрия от атрофии [5,6]. Большинство исследований по ультразвуковой диагностике состояния полости матки базируются на небольших выборках, а их результаты иногда противоречат друг другу [3,5,8-13]. Вполне вероятно, что несоответствие результатов обследований обусловлено использованием авторами различных терминов при описании одних и тех же структур и патологий. Для решения этой проблемы в 2008 г. в Чикаго на Всемирном конгрессе ультразвука в акушерстве и гинекологии сформирована Международная группа анализа опухолей эндометрия IETA (International endometrial tumor analysis group), основной целью которой было согласование

терминов и определений для описания эндометрия и полости матки при эхографии, доплерометрии и соногистерографии [4,6].

Целью исследования явилось усовершенствование диагностического подхода к оценке состояния эндометрия путем ультразвуковой диагностики эндометрия с учетом критериев IETA в сочетании с трехмерными доплерометрическими индексами, расчетом объема эндометрия, а также режима 3D-реконструкции у пациенток в постменопаузе.

**Материал и методы.** На первом этапе обследовано 800 женщин в постменопаузе в возрасте 50-70 лет, которые не применяли менопаузальной гормональной терапии и антиэстрогенных препаратов на фоне аменореи более 1 года. Из них 20 (2,5%) обратились с жалобами на кровянистые выделения в постменопаузе, остальные обследованы в ходе профилактических осмотров.

Пациенткам проведено гинекологическое и выполнено 2D ультразвуковое обследование органов малого таза на ультразвуковом аппарате Nemio XG («Toshiba», производство Японии) с использованием мультимодального трансвагинального трансдьюсера с частотой 5,0-7,5 МГц. Оценка эндометрия осуществлялась по критериям IETA. Учитывая полученные эхографические и доплерометрические данные, отобраны 114 пациенток с нарушением структуры эндометрия и/или увеличением толщины М-Эхо >4 мм и 23 пациентки с серозометрой. Группу контроля составили 30 пациенток с толщиной эндометрия <4 мм без его структурных изменений.

На втором этапе отобраным женщинам проводилось комбинированное трехмерное комплексное ультразвуковое обследование с доплерометрией на аппарате Voluson E8 BT15, оборудованным объемным эндовагинальным датчиком (6-12 МГц). Этот метод позволяет определить количество и распределение сосудистого компонента в заданном объеме.

Трехмерные доплерометрические индексы включают: индекс васкуляризации (vascularization index - VI), который отображает насыщенность ткани сосудами, определяется в %; индекс кровотока (flow index - FI) отображает среднюю интенсивность кровотока в заданной скорости и определяется целым числом от 0 до 100, и соотношение васкуляризация-кровоток (vascularization-flow index - VFI), которое характеризует как васкуляризацию, так и кровоток и выражается целым числом, 0-100.

После проведенного ультразвукового исследования пациенткам со структурными изменениями эндометрия проведена гистероскопия с последующим морфологическим исследованием забранного материала; у пациенток группы контроля образцы эндометрия взяты путем пайпель - биопсии.

Распределение обследованных женщин на группы осуществлено на основании результатов морфологического исследования эндометрия: I группа – 83 женщины с полипом эндометрия, II группа – 8 женщин с гиперплазией эндометрия без атипии; III группа – 7 женщин с гиперплазией эндометрия с атипией; IV группа – 12 женщин с кистозной атрофией и синехиями полости матки; V группу составили 22 женщины с атрофическим эндометрием на фоне серозометры; VI (контрольную) группу – 30 женщин с атрофическим эндометрием.

Следует отметить, что кроме доброкачественных изменений эндометрия в 5 случаях морфологически подтвержден рак эндометрия, из них в 4 случаях - рак эндометрия I типа и один случай – рак II типа.

Исходя из цели исследования, во всех группах выполне-

на ретроспективная оценка эхографических и доплерометрических показателей и проведен сравнительный анализ информативности двухмерной эхографии и ее комбинации с трехмерными доплерометрическими индексами и объемом эндометрия.

Полученные статистические данные обработаны с использованием программы «Statistica for Windows» v13.0, StatSoft Inc. (США). Статистически значимая разница между показателями в группах исследования изучена для относительных чисел при нормальном распределении с помощью параметрической статистики критерия Стьюдента, а при неравномерном распределении в группах исследования использовали метод непараметрической статистики U-критерия Манна-Уитни. Достоверность абсолютных величин исследовали согласно методу Фишера. Разницу между величинами считали статистически значимой при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Ретроспективный анализ результатов ультразвукового исследования эндометрия с учетом критериев IETA и морфологических особенностей эндометрия продемонстрировал ряд особенностей в группах исследования (таблица 1). Толщина эндометрия более 4 мм определена у 80 (96,4%) пациенток I группы, 7 (78,5%) - II группы и у всех 7 (100%) женщин III группы, что достоверно больше в сравнении с V и VI группами, в которых увеличение толщины эндометрия более 4 мм не обнаружено ( $p_{1-3,1-4,2-3,2-4} < 0,05$ ). Следует отметить, что в IV группе показатель частоты диагностики толщины эндометрия выше 4 мм составил 25% и был меньше в сравнении с I и III группами, однако больше в сравнении с V и VI группами, что касается II группы, статистического различия не выявлено. Указанные случаи в IV группе диагностированы у пациенток с кистозной атрофией эндометрия.

Различий в толщине эндометрия статистически не выявлено в I, II и III группах, в которых средние значения составили  $9,2 \pm 1,13$  мм,  $11,8 \pm 3,25$  мм и  $13,6 \pm 3,22$  мм, соответственно, однако были выше в сравнении с показателями V ( $2,3 \pm 1,64$  мм) и VI ( $2,1 \pm 1,15$  мм) групп исследования ( $p_{1-4,1-5,2-4,2-5,3-4,3-5} < 0,05$ ). Среднее значение толщины эндометрия в IV группе пациенток составило  $5,4 \pm 1,69$  мм, что не отличалось от показателей I, II, V, VI групп, однако было меньше, чем в III группе.

При сравнении экзогенности эндометрия установлено, что во всех группах исследования экзогенность была повышена, однако без достоверного различия в группах исследования: в I группе частота гиперэхогенного эндометрия составила 72 (86,7%), гипозохогенного - 2 (2,4%) и изоэхогенного - 9 (10,9%). Во II группе выявленные особенности экзогенности эндометрия были следующими: у 5 (62,5%) женщин эндометрий был гиперэхогенным, у 2 (25%) гипозохогенным и у одной пациентки изоэхогенным, что составило 12,5%. III группа исследования характеризовалась наличием преимущественно гиперэхогенного эндометрия, частота которого составила 4 (57,1%), гипозохогенного - 2 (28,6%) и 1 (14,3%) изоэхогенного. В IV группе гиперэхогенный эндометрий диагностирован у 7 (58,3%) пациенток, гипозохогенный у 1 (8,3%) пациентки и изоэхогенный - у 4 (33,3%). В V группе эндометрий повышенной экзогенности обнаружен у 19 (86,5%) женщин, у 1 (4,5%) пациентки - гипозохогенный и у 2 (9%) - изоэхогенный. В VI (контрольной) группе гиперэхогенный эндометрий обнаружен у 21 (70%) женщины, гипозохогенной - у 2 (6,7%) и у 7 (23,3%) пациенток - изоэхогенный. Анализ особенностей структуры эндометрия в исследуемых группах выявил, что структура эндометрия была гетерогенной достоверно чаще в I, II, III и IV группах



в сравнении с V и VI: в I группе ее частота составила 62 (74,7%), во II группе 6 (75%), в III группе - 6 (85,7%) и в IV группе - 27 (91,7%), в V группе - 10 (4,5%), а в VI группе пациенток с гетерогенным эндометрием не выявлено ( $p_{1-5,1-6,2-5,2-6,3-5,3-6,4-5,4-6} < 0,05$ ).

Обязательным критерием в оценке эндометрия (IETA) является определение кистозного компонента в его структуре. Следует отметить, что в VI группе кистозный компонент вообще не обнаружен, в V группе кистозные включения не диагностированы у 21 пациентки, что составило 95,4% всех женщин данной группы исследования, тогда как в I группе кистозный компонент отсутствовал у 16 (19,3%) пациенток, а во II и III группах по одной пациентке - 12,5% и 14,3%, соответственно ( $p_{1-3,1-4,1-5,1-6,2-3,2-4,2-5,2-6} < 0,05$ ). При этом в I группе контур кистозных включений был ровным у 65 (78,3%) женщин, в 2 (2,4%) случаях - зазубренным, что не отличалось от данных II и III групп, в которых кистозный компонент с ровным контуром диагностирован в 6 (75%) и 4 (57,1%) случаях, а с зазубренным - у 1 (12,5%) и 2 (28,6%) женщин, соответственно. Следует отметить, что в IV группе исследования во всех случаях кистозный компонент имел ровный контур.

Сравнение особенностей внешнего контура эндометрия в группах исследования статистически значимых различий не выявило, в основном у всех пациенток исследуемых групп внешний контур эндометрия был ровным и однородным.

Результаты оценки линии смыкания эндометрия в исследуемых группах отличались: в I группе у 74 (89,1%) женщин она была прервана, что достоверно больше в сравнении со II группой, в которой данный показатель составил 1 (12,5%), и с IV группой, где ее частота составила 5 (41,6%), в III, V и VI группах прерванная линия смыкания не диагностировалась ( $p_{1-2,1-3,1-4,1-5,1-6} < 0,05$ ).

Анализ доплерометрических показателей в группах исследования выявил: минимальный кровоток у 80 (96,4%) пациенток I группы, что больше в сравнении с II и III группами, в которых этот показатель составил 12,5% и 14,3% случаев, соответственно ( $p_{1-2,1-3} < 0,05$ ) (таблицы 3,4). Соответственно умеренный и выраженный кровоток во II и III группах исследования выявлен чаще в сравнении с I группой - 1 (1,2%) случай. Во II группе умеренный кровоток диагностирован у 6 (75%) пациенток, в III группе - у 5 (71,4%) ( $p_{1-2,1-3} < 0,05$ ). Выраженный кровоток определен лишь во II и III группах, 12,5% и 14,3%, соответственно. Следует отметить, что в IV, V, VI группах исследования локусы энергетического доплера отсутствовали, что означает отсутствие васкуляризации атрофического эндометрия. Кровоток также не отмечался у 2 (2,4%) женщин I группы. Среднее значение кровотока в I группе составило  $2,1 \pm 0,24$  балла, во II группе -  $2,88 \pm 0,12$  балла, в III группе -  $3,1 \pm 0,42$  балла.

При детальной оценке сосудистого рисунка в группах исследования выявлено, что у пациенток I группы обнаружен один доминантный сосуд без разветвлений - 62 (74,7%), что больше в сравнении со II группой исследования - 1 (12,5%) случай, в III группе данный тип сосудистого изображения не выявлен ( $p < 0,05$ ). Единичный доминантный сосуд с разветвлениями обнаружен почти с одинаковой частотой в I, II и в III группах - в 20,5%, 12,5% и в 14,3% случаев, соответственно ( $p > 0,05$ ). Несколько доминантных сосудов фокусного и мультифокусного происхождения достоверно чаще обнаружены во II и III группах в сравнении с I группой, соответственно 2,4%, 75% и 85,7% ( $p_{1-2,1-3} < 0,05$ ). Сравнитель-

ная оценка трехмерных доплерометрических индексов в группах исследования выявила отсутствие статистического различия в средних значениях индекса васкуляризации, индекса кровотока и их соотношения в I, II и III группах:

- индекс васкуляризации (VI) в I группе составил  $2,3 \pm 1,1\%$ , во II группе -  $3,48 \pm 1,2\%$ , в III группе -  $5,3 \pm 2,1\%$  (таблица 2);

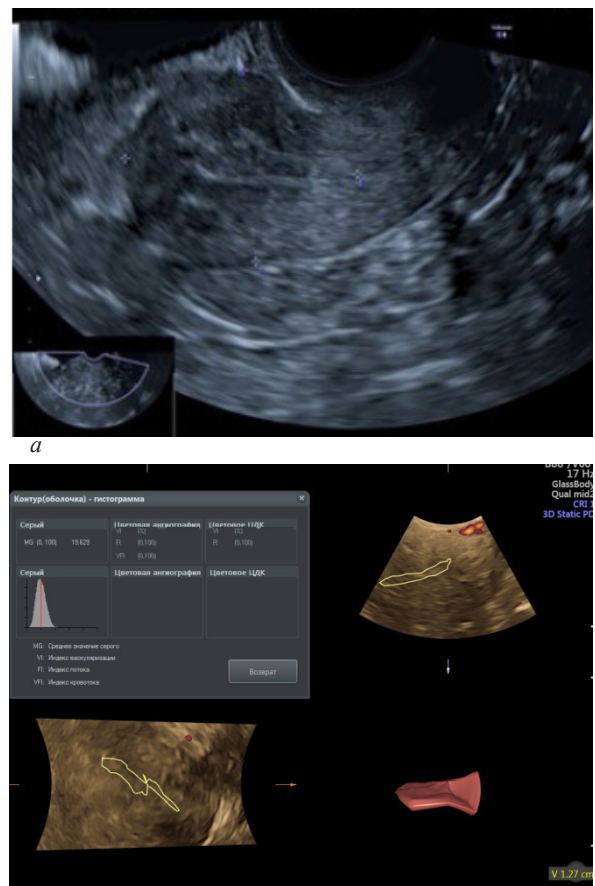
- индекс кровотока (FI) в I группе составил  $7,3 \pm 2,4$ , во II группе -  $12,21 \pm 3,8$ , в III группе -  $19 \pm 2,3$ ;

- соотношение индекса васкуляризации к кровотоку в I группе составило  $0,32 \pm 0,12$ , во II группе -  $0,42 \pm 0,01$ , в III группе -  $0,62 \pm 0,012$ .

Следует отметить, что как при оценке двухмерного энергетического доплера, так и при трехмерном исследовании в IV, V и VI группах кровотоков не выявлен.

Анализ объема эндометрия в исследуемых группах показал, что во II группе его показатель составил  $6,8 \pm 2,4$  см<sup>3</sup> и не отличался от III группы ( $7,4 \pm 3,4$  см<sup>3</sup>), однако был достоверно выше в сравнении с IV ( $1,6 \pm 1,3$  см<sup>3</sup>), V ( $1,4 \pm 0,87$  см<sup>3</sup>) и VI группами ( $1,3 \pm 0,98$  см<sup>3</sup>) ( $p_{1-3,4,5,6} < 0,05$ ). Среднее значение объема эндометрия III группы было выше не только в сравнении с IV, V и в VI группами, но и с I группой ( $2,3 \pm 0,52$  см<sup>3</sup>). Средние значения объема эндометрия в I и IV, V и VI группах не отличались.

Данные трехмерных доплерометрических индексов и объема эндометрия при атрофическом эндометрии и гиперпролиферативных процессах представлены на рисунках 1а,б и 2 а,б.



б

Рис. 1. а) атрофический эндометрий при эхографии; б) доплерометрические индексы и объем эндометрия при атрофическом эндометрии

Таблица 1. Эхографические особенности эндометрия в группах исследования согласно IETA, абс. ч. (%)

Параметры	I группа (n=83)	II группа (n=8)	III группа (n=7)	IV группа (n=12)	V группа (n=22)	VI группа (n=30)
Толщина М-echo>4 мм	да	7(78,5%)	7(100)	3(25%) <sup>abc</sup>	0	0
	нет	3(3,6%)	1(12,5)	0	8(75%) <sup>abc</sup>	24(100%) <sup>abc</sup>
Эхогенность	гиперэхогенная	72(86,7%)	5(62,5%)	4(57,1%)	7(58,3%)	21(70%)
	гипоэхогенная	2(2,4%)	2(25%)	2(28,6)	1(8,3%)	2(6,7%)
	изоэхогенная	9(10,9%)	1(12,5%)	1(14,3%)	4(33,3%)	7(23,3%)
Структура	гомогенная	21(25,3%)	2(25%)	1(14,3%)	1(8,3%)	30(100%) <sup>abc,d</sup>
	гетерогенная	62(74,7%)	6(75%)	6(85,7%)	11(91,7%)	0
	с ровным контуром	65(78,3%)	6(75%)	4(57,1%)	8(66,7%)	1(4,5%) <sup>abc,d</sup>
	с зазубренным контуром	2(2,4%)	1(12,5%)	1(14,3%)	0	1(4,5%)
Кистозный компонент	отсутствует	16(19,3%)	1(12,5%)	2(28,6%)	4(33,3%)	24(100%) <sup>abc,d</sup>
	присутствует	67(80,7%)	7(87,5%)	6(85,7%)	8(66,7%)	24(100%)
Границы эндометрия	ровные	80(96,4%)	7(87,5%)	6(85,7%)	8(66,7%)	22(100%)
	неровные	3(3,6%)	1(12,5%)	1(14,3%)	1(33,3%)	0
	гомогенные	81(97,6%)	7(87,5%)	6(85,7%)	12(100%)	23(95,8%)
	гетерогенные	2(2,4%)	1(12,5%)	1(14,3%)	0	1(4,5%)
Линия смыкания	ровная	1(1,2%)	2(25%)	2(28,6%)	1(8,3%)	0
	неровная	3(3,6%)	3(37,5%)	3(42,8%)	2(16,6%)	0
	прерванная	74(89,1%)	1(12,5%) <sup>a</sup>	0	5(41,6%) <sup>a</sup>	0
Неопределенная	1(1,2%)	1(12,5%)	1(14,3%)	2(16,6%)	0	0
	отсутствует	4(4,8%)	1(12,5%)	1(14,3%)	2(16,6%)	22(100%) <sup>abc,d,e</sup>

примечание: a-разница достоверна относительно показателя I группы ( $p<0,05$ ); b-разница достоверна относительно показателя II группы ( $p<0,05$ ); c-разница достоверна относительно показателя III группы ( $p<0,05$ ); d-разница достоверна относительно показателя IV группы ( $p<0,05$ ); e-разница достоверна относительно показателя V группы ( $p<0,05$ )

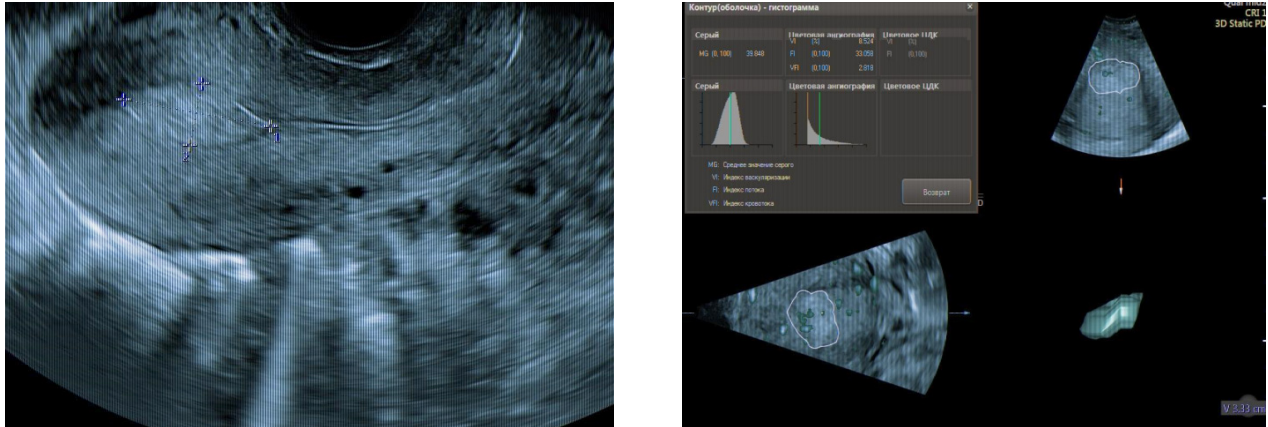


Рис. 2. а) полип эндометрия при эхографии; б) доплерометрические индексы и объем эндометрия при полипе эндометрия

Таблица 2. Особенности трехмерных доплерометрических индексов и объема эндометрия,  $M \pm t$

Показатели	I группа (n=83)	II группа (n=8)	III группа (n=7)	IV группа (n=12)	V группа (n=22)	VI группа (n=30)
VI (%)	2,3±1,1 <sup>в,с,д</sup>	3,48±1,2 <sup>в,с,д</sup>	5,3±2,1 <sup>в,с,д</sup>	0	0	0
FI (0-100)	7,3±2,4 <sup>в,с,д</sup>	12,21±3,8 <sup>в,с,д</sup>	19,0±2,3 <sup>в,с,д</sup>	0	0	0
VFI (0-100)	0,32±0,12 <sup>в,с,д</sup>	0,42±0,01 <sup>в,с,д</sup>	0,62±0,012 <sup>в,с,д</sup>	0	0	0
Объем (см <sup>3</sup> )	2,3±0,52 <sup>а,в,с,д</sup>	6,8±2,4 <sup>в,с,д</sup>	7,4±3,4 <sup>в,с,д</sup>	1,6±1,3	1,4±0,87	1,3±0,98

примечание: а - разница достоверна относительно показателя III группы; в - разница достоверна относительно показателя IV группы; с - разница достоверна относительно показателя V группы; д - разница достоверна относительно показателя VI группы

Таблица 3. Структура положительных и отрицательных результатов при диагностике патологии эндометрия, полученных при двухмерном УЗИ и его комбинации с трехмерными методиками

Патология эндометрия (морфологически)	2D УЗИ				Комбинация 2D з 3D УЗИ			
	+		-		+		-	
	ИП а	ЛП б	ЛО с	ИО д	ИП а	ЛП б	ЛО с	ИО д
Всего (n=162)	83	11	15	53	95	3	3	61

Согласно дизайну исследования, выполнен сравнительный анализ двухмерной эхографии и ее комбинации с трехмерными доплерометрическими индексами и 3D реконструкцией.

Доброкачественные гиперпластические изменения эндометрия обнаружены в 98 образцах биопсийного материала эндометрия, в остальных 64 образцах патологических отклонений не обнаружено. При ультразвуковом исследовании органов малого таза с использованием двухмерной методики гиперпролиферативная патология эндометрия заподозрена в 94 случаях, из них морфологически подтверждены 83 (88,2%). При использовании 3D реконструкции, трехмерных доплерометрических индексов и объема, патология эндометрия заподозрена в 98 случаях, а морфологически подтверждена в 95 образцах биопсийного материала, что составило 96,9% и было достоверно больше в сравнении с данными, полученными посредством двухмерной методики ( $p < 0,05$ ).

Ложноположительный (ЛП) результат 2D УЗИ определен в 11 случаях: 3 случая синехий и 8 случаев кистозной атрофии расценено как гиперпролиферативная патология эндометрия (таблица 3). Ложноотрицательный (ЛО) ре-

зультат установлен в 15 случаях, в частности, 10 полипов эндометрия диагностированы как синехии, 5 гиперплазий эндометрия - как атрофия эндометрия кистозного типа. В результате комбинации 2D УЗИ с трехмерными функциями ЛП и ЛО результаты обнаружены в 3 случаях.

Сравнение информативности двухмерного ультразвукового исследования и его комбинации с трехмерными методиками позволило установить, что чувствительность УЗИ с использованием только двухмерных методик составила 84%, тогда как комбинация ее с 3D реконструкцией и трехмерными доплерометрическими индексами и объемом составила 96%, т.е. чувствительность метода больше на 12% (таблица 4). Специфичность трансвагинального сканирования в диагностике патологии эндометрия в постменопаузе в 2D режиме составила 82%, тогда как 3D возможности повысили специфичность на 13% и она составила 95%. Существенные различия наблюдались и при сравнении прогностической ценности положительного и отрицательного результатов двухмерной и трехмерной методики: прогностическая ценность положительного результата для двухмерной методики составила 88% в сравнении с ее комбинацией с трехмерной методикой – 96%. Прогностическая ценность отрицательно-

Таблица 4. Сравнительный анализ информативности 2D ультразвукового исследования и его комбинации с 3D в выявлении патологии эндометрия

Показатели	Формула расчета	2D %	2D+3D %
чувствительность метода	$a/(a+c)$	84	96
специфичность	$d/(b+d)$	82	95
прогностическая ценность положительного результата	$a/(a+b)$	88	96
прогностическая ценность отрицательного результата	$d/(c+d)$	77	95
предтестовая вероятность (распространенность/преваленс)	$(a+c)/(a+b+c+d)$	60	60
отношение правдоподобности положительного результата	чувствительность/(1- специфичность)	1,03	1,02
отношение правдоподобности отрицательного результата	(1- чувствительность)/специфичность	1,01	1
предтестовые шансы	распространенность/ 1-распространенность	1,01	1,01
точность диагностического метода	$a+d/(a+b+c+d)$	83	96
соотношение шансов (Сш)	$ad/bc$	26,6	965
диагностическая эффективность, (в разы)	$Сш2D+3D/Сш2D$	В 36,2	

го результата для двухмерной методики составила 77%, тогда как для комбинированного исследования 95%. Следует отметить, что применение 3D реконструкции, а также трехмерных индексов и объема повышают диагностическую эффективность трансвагинального сканирования в обычном двухмерном режиме в 36,2 раза (таблица 4).

**Выводы.** Полученные результаты исследования свидетельствуют о достаточно большой распространенности гиперпролиферативной патологии эндометрия в постменопаузе, а также ее преимущественно бессимптомное течение, что диктует необходимость применения ультразвукового метода исследования у данной категории пациенток.

Трехмерная эхография с определением доплерометрических индексов и объема эндометрия является высокоинформативной в диагностике патологии эндометрия, широкое практическое применение которой на предоперационном этапе позволяет повышать качество диагностики и определять четкие критерии для проведения гистероскопии у женщин в постменопаузе.

Основным критерием в определении гиперпролиферативных изменений эндометрия в постменопаузе является наличие в нем васкуляризации. Согласно результатам проведенного исследования очевидно, что атрофический эндометрий, включая его кистозную форму, а также синехии полости матки аваскуляльны, тогда как при полипах и гиперплазии происходит не только васкуляризация патологического процесса, но и ее увеличение с появлением процессов малигнизации.

Толщина эндометрия не является абсолютным критерием в определении патологического процесса в эндометрии, анализ полученных данных показал отсутствие статистически значимого различия между средними показателями толщины эндометрия при полипе и гиперплазии эндометрия без атипии в сравнении с кистозной формой атрофии эндометрия.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Запорожан В.Н. Современная диагностика и лечение гиперпластических процессов эндометрия / В.Н.Запорожан, Т. Ф. Татарчук, В. Г. Дубинина, В. Г. Косей. // Репродуктивная Эндокринология. – 2012. – №1. – С. 5–12.
2. Татарчук Т. Ф. Гиперпластические процессы эндометрия:

- что нового? / Т. Ф. Татарчук, Л. В. Калугина, Т. Н. Тутченко. // Репродуктивная Эндокринология. – 2015. – №5. – С. 7–13.
3. Angioni S. Detection of benign intracavitary lesions in postmenopausal women with abnormal uterine bleeding: a prospective comparative study on outpatient hysteroscopy and blind biopsy / S. Angioni, A. Loddo. // Journal Of Minimally Invasive Gynecology. – 2008. – №15. – С. 87–91.
  4. Leone F, Definitions and measurements to describe the sonographic features of the endometrium and intrauterine lesions: a consensus opinion from the international endometrial tumor analysis (IETA) Group / F. P. Leone, D. Timmerman, T. Bourne. // Ultrasound Obstet Gynecol. – 2010. – №35. – С. 103–112.
  5. Kucur S. Role of endometrial power doppler ultrasound using the international endometrial tumor analysis group classification in predicting intrauterine pathology / S. Kucur, O. Temizkan, A. Atis. // Arch Gynecol Obstet. – 2013. – №288. – С. 649–654.
  6. Madkour N. An ultrasound risk-scoring model for prediction of endometrial cancer in postmenopausal women (Using IETA Terminology) / Nadia M. Madkour. // Middle East Fertility Society Journal. – 2017. – №22. – С. 201–205.
  7. Management of endometrial hyperplasia green-top guideline No. 67. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists/ British Society for Gynaecological Endoscopy; February 2016.
  8. Mansour G. M. Endometrial volume as predictor of malignancy in women with postmenopausal bleeding / G. M. Mansour, M. A. El-Kady. // International Journal Of Gynecology And Obstetrics. – 2007. – №99. – С. 206–210.
  9. Razik M. A. Transvaginal and color doppler ultrasound assessment of endometrial pathology ipau.
  10. Petel V. Endometrial Thickness as Measured by Transvaginal Ultrasound and the Corresponding Histopathologic Diagnosis in Women With Postmenopausal Bleeding/ V. Patel, E. J. Wilkinson, S. Chamala. // International Journal of Gynecological Pathology. – 2017. – №4. С 348–355
  11. Stachowiak G. 2D/3D ultrasonography for endometrial evaluation in a cohort of 118 postmenopausal women with abnormal uterine bleedings / G. Stachowiak, A. Zajac, M. Pertynska-Marczewska. // Ginekologia Polska. – 2016. – №87. – С. 787–792.
  12. Woodfield C. The usefulness of ultrasound imaging in gynecologic oncology / Courtney A. Woodfield. // Pet Clin, Article In Press. – 2017. – С. 1–2
  13. Zarch M. To What Extent Doppler Transvaginal Sonography

can be Reliable in Pre and Postmenopausal Women with Abnormal Uterine Bleeding?/ M. V.ZarchI, M. Haghghi, F. Behnamfar, S. Rabbani.// J Res Med Dent Sci. – 2017, № 5(4). C 62-65.

## SUMMARY

### COMPARISON OF ULTRASOUND INVESTIGATION METHODS IN POSTMENOPAUSE

Tatarchuk T., Yefimenko O., Zanko O., Schavinskaya M.

*Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named E.M. Lukanova of the NAS of Ukraine*

The aim of the study is to improve the diagnostic approach in assessing the state of the endometrium with the help of ultrasonic endometrial diagnostics in accordance with the IETA criteria in combination with three-dimensional Doppler indices, calculating the volume of the endometrium, and the 3D reconstruction in postmenopausal women.

167 postmenopausal women underwent a 2D pelvic ultrasound examination and a combined three-dimensional complex pelvic ultrasound examination that included calculation of the volume of the endometrium, three-dimensional dopplerometric indices (vascularization index, blood flow index and vascularization ratio), and 3D-reconstruction mode. In the second stage, the patients underwent hysteroscopy/endometrial biopsy with morphological evaluation of tissue samples, which retrospectively performed analysis of echographic and dopplerometric criteria in patients with benign changes in the endometrium and their comparison with atrophic endometrium. In addition, a comparative analysis of the 2D ultrasound method and its combination with a complex 3D study was carried out.

Most of the echographic criteria between the groups of hyperproliferative pathology and endometrial atrophy had statistical differences, but there were no significant differences in comparison with the group of synechia of the uterine cavity and cystic atrophy. While the analysis of Dopplerometric criteria both in the two-dimensional mode and with its combination with trimer techniques demonstrated a statistical difference between the indices in the groups of the endometrial hyperpliphylal pathology and the endometrium atrophy, including its cystic form, and also the synechia of the uterine cavity.

Based on the results of the comparative analysis of the ultrasound modes, the combination of 2D study with a complex 3D study increases the sensitivity of the method by 12%, and the specificity by 13%.

Three-dimensional echography with the determination of dopplerometric indices and volume of endometrium and 3D reconstruction is highly accurate in the diagnosis of endometrial pathology, its wide practical application at the preoperative stage will allow to improve the quality of diagnostics and to formulate clear criteria for hysteroscopy in postmenopausal women. The results of the study show that the thickness of the endometrium is not an absolute criterion in determining the pathology of the endometrium. The main criterion in the diagnosis of hyperproliferative changes in the endometrium in postmenopause is the presence in it of vascularization.

**Keywords:** ultrasonic endometrial diagnostics, three-dimensional Doppler indices, pathology of endometrium, postmenopau.

## РЕЗЮМЕ

### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНФОРМАТИВНОСТИ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ МЕТОДОВ В ИССЛЕДОВАНИИ ЭНДОМЕТРИЯ В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

Татарчук Т.Ф., Ефименко О.А., Занько Е.В., Щавинская М.А.

*Государственное учреждение «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии им. акад. Е.М. Лукьяновой НАМН Украины», Киев, Украина*

Целью исследования явилось усовершенствование диагностического подхода к оценке состояния эндометрия путем ультразвуковой диагностики эндометрия с учетом критериев IETA в сочетании с трехмерными доплерометрическими индексами, расчетом объема эндометрия, а также режима 3D-реконструкции у пациенток в постменопаузе.

162 женщинам в постменопаузе поэтапно выполнено 2D ультразвуковое обследование органов малого таза и комбинированное трехмерное комплексное ультразвуковое обследование, включающее расчет объема эндометрия, трехмерных доплерометрических индексов (индекс васкуляризации, индекс кровотока и соотношение васкуляризация-кровоток) и режим 3D-реконструкции.

Результаты сравнительного анализа режимов ультразвукового исследования показали преимущество комбинации 2D исследования с комплексным 3D исследованием: чувствительность метода больше на 12%, специфичность - на 13%.

Таким образом, следует заключить, что трехмерная эхография с определением доплерометрических индексов и объема эндометрия и 3D реконструкция являются высокоинформативными методами в диагностике патологии эндометрия, широкое практическое применение которых на предоперационном этапе позволяет повысить качество диагностики и определить четкие критерии проведения гистероскопии у женщин в постменопаузе. Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что толщина эндометрия не является абсолютным критерием в определении патологии эндометрия. Основным критерием в диагностике гиперпролиферативных изменений эндометрия в постменопаузе является наличие в нем васкуляризации.

## რეზიუმე

ულტრაბგერითი მეთოდების ინფორმაციულობის შედარებითი დახასიათება ენდომეტრიუმის კვლევის დროს პოსტმენოპაუზის პერიოდში

ტ. ტატარჩუკი, ო. ეფიმენკო, ე. ზანკო, მ. შჩავინსკაია

უკრაინის სამედიცინო მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის ე. ლუკიანოვას სახ. პედიატრიის, მეანობა და გინეკოლოგიის ინსტიტუტი, კიევი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ენდომეტრიუმის მდგომარეობის შეფასების სადიაგნოსტიკო მიდგომების სრულყოფა ულტრაბგერითი გამოკვლევის გამოყენებით IETA-ს კრიტერიუმების, სამგანზომილებიანი დოპლერომეტრიული ინდექსების და ენდომეტრიუმის მოცულობის გამოთვლის შერწყმით, ასევე, 3D-რეკონსტრუქციის რეჟიმში პოსტმენოპაუზის ასაკის ქალებში.

162 ქალს პოსტმენოპაუზის მდგომარეობაში ეტაპობრივად ჩაუტარდა მცირე მენჯის დრუს ორგანოების 2D-ულტრაბგერითი კვლევა და კომბინირებული სამგანზომილებიანი ულტრაბგერითი კვლევა, რომელიც გულისხმობს ენდომეტრიუმის მოცულობის, სამგანზომილებიანი დოპლერომეტრიული ინდექსების (ვასკულარიზაციის ინდექსი, სისხლის ნაკადის ინდექსი და ვასკულარიზაცია-სისხლნაკადის თანაფარდობა) გამოთვლას და 3D-რეკონსტრუქციის რეჟიმს.

აღნიშნული კვლევის რეჟიმების შედარებითი ანალიზის შედეგებმა გამოავლინა 2D კვლევის 3D კომპლექსურ კვლევასთან კომბინირებული რეჟიმის გამოყენების უპირატესობა, რომლის მგრძობიანობა მეტია 12%-ით, სპეციფიკურობა კი – 13%-ით.

ამრიგად, სამგანზომილებიანი ექოგრაფია დოპლეროგრაფიული ინდექსების და ენდომეტრიუმის მოცულობის განსაზღვრით და 3D-რეკონსტრუქცია წარმოადგენს მაღალინფორმაციულ მეთოდს ენდომეტრიუმის პათოლოგიის დიაგნოსტიკისათვის; მათი ფართო გამოყენება ოპერაციამდელ ეტაპზე ხელს შეუწყობს დიაგნოსტიკის ხარისხის ამაღლებას და პოსტეროსკოპიის ჩატარების მკაფიო კრიტერიუმების ჩამოყალიბებას პოსტმენოპაუზის ასაკის ქალებში. ჩატარებული კვლევის შედეგები მოწმობს, რომ ენდომეტრიუმის სისქე არ წარმოადგენს აბსოლუტურ კრიტერიუმს ენდომეტრიუმის პათოლოგიის განსაზღვრისათვის.

ენდომეტრიუმის ჰიპერპროლიფერაციული ცვლილებების დიაგნოსტიკის ძირითად კრიტერიუმს პოსტმენოპაუზის პერიოდში წარმოადგენს მასში ვასკულარიზაციის არსებობა.

ენდომეტრიუმის ჰიპერპროლიფერაციული ცვლილებების დიაგნოსტიკის ძირითად კრიტერიუმს პოსტმენოპაუზის პერიოდში წარმოადგენს მასში ვასკულარიზაციის არსებობა.

## КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ЭНДОМЕТРИОЗА У ЖЕНЩИН В ПЕРИМENOПАЗЕ

<sup>1</sup>Захаренко Н.Ф., <sup>2</sup>Коваленко Н.В., <sup>1</sup>Манояк И.П.

*<sup>1</sup>Государственное учреждение «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии им. акад. Е.М. Лукьяновой НАМН Украины», отделение эндокринной гинекологии; <sup>2</sup>Городская клиническая больница № 9, отделение гинекологии, Киев, Украина*

Удельный вес эндометриоза среди женщин перименопаузального возраста составляет почти 50% [6,7]. Проблема климактерического синдрома у пациенток с эндометриозом является чрезвычайно актуальной. Менопауза у таких пациенток наступает раньше, чем в популяции, нередко в 36-38 лет, что связано со снижением овариального резерва вследствие частых оперативных вмешательств на репродуктивных органах, а процессы дезадаптации нейроциркуляторной регуляции наблюдаются еще в репродуктивном периоде [1,2].

Публикации, в которых проанализированы случаи эндометриоза у женщин в перименопаузе немногочисленны. Согласно литературным данным, эндометриозные очаги выявляются в 2-5% случаев у женщин в климактерическом периоде [5,6], причиной чему, в основном, является несвоевременность диагностики эндометриоза еще до наступления менопаузы и влияние экстраовариальной продукции эстрогенов, особенно у женщин с метаболическим синдромом, и как следствие заместительной гормональной терапии [3].

Клинические проявления эндометриоза чрезвычайно разнообразны [8,10]. Сложные симптомокомплексы характеризуются прежде всего нарушением менструального цикла и болевым синдромом [4]. У женщин в период перименопаузы часто наблюдается подобная клиническая картина. [11].

Целью исследования явилось изучение различных клинических проявлений эндометриоза в зависимости от наличия или отсутствия климактерических симптомов и разработка адекватной тактики ведения больных.

**Материал и методы.** Обследовано 106 пациенток с эндометриозом и климактерическим синдромом (I группа) и 64 женщины с эндометриозом без симптомов климактерического синдрома (II группа). Группу сравнения составили 70 женщин без эндометриоза и симптомов климактерического синдрома, возраст женщин 39-55 лет.

Диагноз эндометриоза устанавливался на основании УЗ, МРТ исследований, лапароскопии, а в случае удаления пораженных эндометриозом тканей - посредством гистологического исследования.

Проводили анализ жалоб, определяли характер менструальной функции и выраженность болевых проявлений у пациенток I и II групп.

Посредством специально разработанной анкеты осуществляли тщательный сбор анамнеза, по результатам компьютерной обработки которых оценивались особенности клинического течения климактерического синдрома на фоне эндометриоза.

Для оценки степени выраженности болевого синдрома использовали визуально-аналоговую шкалу (ВАШ). В исследовании применяли метод многомерной семантической дескрипции с использованием Мак-Гилловского опросника, который состоит из 78 слов-дескрипторов боли, введенных в 20 подгрупп по принципу смыслового значения и образующих три главные шкалы (группы): сенсорную, аффективную и эвалюативную. Подсчет сводится к определению количества (суммы) выбранных слов, так называемого индекса числа избранных дескрипторов и рангового индекса боли, являясь суммой рангов (порядковых номеров) дескрипторов. Заданные параметры определяли по опроснику в целом и подгруппам отдельно для уточнения характерных признаков боли и психологических особенностей опрашиваемых женщин.

Проводился анализ менструального календаря всех женщин за 90 дней. Объем менструальных кровопотерь оценивали методом визуальной оценки, предложенным Янсенем. Женщины заполняли специальную визуальную таблицу с подсчетом количества использованных прокладок или тампонов в разные дни менструации. При наличии маточных кровотечений определяли их среднюю продолжительность и объем кровопотери.

**Результаты и их обсуждение.** Анализ по группам показал, что удельный вес основных симптомов эндометриоза во II группе был выше, чем у пациенток I группы, в частности женщины II группы отмечали болевой синдром в 48 (75,0%) случаях, пред- и постменструальное кровомазание – в 46 (71,88%), гиперполименорею - в 44 (68,75%) случаях, тогда как пациентки I группы – в 63 (59,43%), 51 (48,11%) и 53 (53,77%) случаях, соответственно ( $p < 0,05$ ). Масталгии во II группе выявлены в 36 (56,25%) случаях, предменструальный синдром - в 36 (56,25%), что превышает аналогичные показатели у пациенток I группы - 31 (29,25%) и 32 (30,19%) случая, соответственно ( $p < 0,05$ ). Жалобы на запоры и проявления гипогликемии в обеих группах наблюдались почти с одинаковой частотой и составили 37 (57,81%) и 33 (51,5%) случая во II группе и 62 (58,49%) и 60 (56,6%) – в I группе, соответственно. Частота жалоб на хроническую усталость - 87 (82,08%) случаев, дизурические расстройства - 29 (27,36%) и диспареунию - 45 (42,45%) оказалась выше в I группе в сравнении с соответствующими показателями во II группе - 31 (48,44%), 9 (14,06%), 24 (37,5%) женщины, соответственно ( $p < 0,05$ ). Показатели головной боли - 71 (66,98%) случаев, депрессии

- 65 (61,32%) и тревожности - 63 (59,43%) среди пациенток I группы также статистически достоверно превышали соответствующие показатели во II группе – 25 (39,5%), 24 (37,5%), 31 (48,44%), соответственно ( $p < 0,05$ ).

Особенности клинических проявлений эндометриоза в обследованных группах женщин представлены в таблице 1. В исследуемых группах отмечен достаточно высокий удельный вес жалоб на альгодисменорею, при этом в I группе показатель статистически ниже - 63 (59,43%), чем во II группе - 47 (73,44%),  $p < 0,05$ .

Подобная тенденция наблюдалась и относительно хронической межменструальной боли: 45,31% пациенток II группы с эндометриозом отмечали хроническую межменструальную боль, что достоверно выше в сравнении с пациентками I группы, где только 13,21% женщин имели вышеуказанную жалобу ( $p < 0,05$ ). Процент пациенток с жалобами на циклическую экстрагенитальную боль, в том числе болезненную перистальтику и дизурические расстройства, также меньше в I группе - 29 (27,36%) в сравнении с пациентками II группы - 19 (29,69%) случаев, однако достоверная разница не наблюдалась. Результаты анализа характера, регулярности и цикличности боли представлены в таблице 2.

Таблица 1. Особенности клинических проявлений эндометриоза в обследованных группах женщин, абс. (%)

Проявления эндометриоза	Группы женщин	
	I (n=106)	II (n=64)
Гиперполименорея	57 (53,77)	44 (68,75)*
Пред- и постменструальные кровомазания	51 (48,11)	46 (71,88)*
Болевой синдром	63 (59,43)	48 (75,0)*
Мастодиния и масталгия	31 (29,25)	23 (35,94)
Предменструальный синдром	32 (30,19)	36 (56,25)*
Дизурические расстройства	29 (27,36)	9 (14,06)*
Хроническая усталость	87 (82,08)	31 (48,44)*
Диспареуния	45 (42,45)	24 (37,5)
Запоры	62 (58,49)	37 (57,81)
Головная боль	71 (66,98)	25 (39,06)*
Гипогликемические состояния	60 (56,6)	33 (51,5)
Депрессия	65 (61,32)	24 (37,5)*
Чувство тревоги	63 (59,43)	31 (48,44)

примечание: \* – разница достоверна относительно показателя в I группе ( $p < 0,05$ )

Таблица 2. Характеристика наличия болевого синдрома у пациенток с эндометриозом, абс. (%)

Болевой синдром	Группы женщин	
	I (n=106)	II (n=64)
Альгодисменорея	63 (59,43)	47 (73,44)*
Диспареуния	45 (42,45)	23 (35,94)
Циклическая экстрагенитальная боль, в т.ч. -болезненная перистальтика -болезненное мочеиспускание	29 (27,36)	19 (29,69)
Межменструальная хроническая генитальная боль	14 (13,21)	29 (45,31)*
Атипичная нерегулярная боль	31 (29,25)	13 (20,31)
Всего пациенток с болевым синдромом	63 (59,43)	48 (75,0)*
Всего пациенток без болевого синдрома	43 (40,57)	16 (25,0)*

примечание: \* – разница достоверна относительно показателя в I группе ( $p < 0,05$ )

Среди пациенток с эндометриозом и климактерическим синдромом (I группа) выявлен высокий удельный вес женщин с атипичной локализацией боли (ухо, пупок, затылок, боль за грудиной) - 29,25% случаев в сравнении с пациентками II группы, у которых аналогичный показатель зарегистрирован в 20,31% случаев. Достоверно выше удельный вес диспареунии наблюдался в I группе женщин - 42,45% против 35,94% пациенток II группы ( $p < 0,05$ ). Такие изменения в структуре болевого синдрома следует объяснить началом атрофических изменений слизистых оболочек у больных с климактерическими расстройствами и высоким уровнем психоэмоционального напряжения (тревожность, депрессивность), которые выступают основными триггерами срыва адаптации и развития патологической симптоматики.

По данным визуально-аналоговой шкалы, которую пациентки заполняли самостоятельно в течение трех менструальных циклов, показатель интенсивности болевого синдрома у пациенток II группы достоверно выше и составил  $78,5 \pm 3,2$  мм против  $59,3 \pm 3,3$  мм у пациенток I группы. При этом средний показатель числа избранных дескрипторов, т.е. количество слов, которыми пациентки описывали свою боль, в I группе был выше в сравнении с женщинами II группы, соответственно,  $19,15 \pm 2,2$  и  $13,06 \pm 1,2$  баллов (при максимуме 20 баллов,  $p < 0,05$ ).

Показатель индекса количества выбранных дескрипторов по сенсорной шкале был также выше у женщин I группы и составил  $12,4 \pm 1,6$  баллов против  $7,1 \pm 2,1$  баллов во II группе ( $p < 0,05$ ), что подтверждено данными анализа жалоб пациенток с климактерическими расстройствами при эндометриозе. Больные эндометриозом четко определяли свои болевые ощущения, а пациентки с климактерическими расстройствами трудно находили адекватные определения. Необходимо подчеркнуть, что средний ранговый индекс боли по сенсорной шкале, отражающий суммарную балльную оценку слов-дескрипторов, был примерно одинаковым и составил 35 баллов во II группе и 38 - в I группе.

Средние показатели рангового индекса боли по сенсорной шкале Мак-Гилловского опросника в группах женщин с эндометриозом представлены на рис.

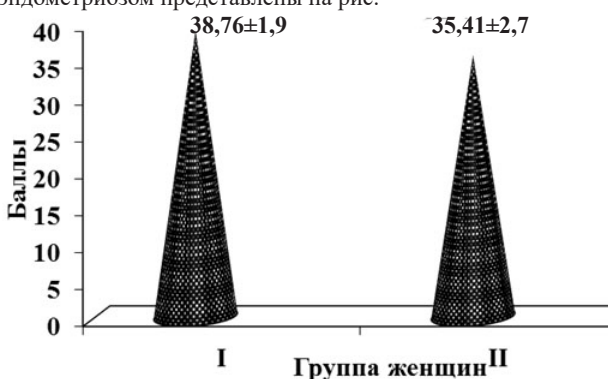


Рис. Средние показатели рангового индекса боли по сенсорной шкале по Мак-Гилловскому опроснику в группах женщин с эндометриозом,  $M \pm m$

У пациенток I и II групп средние показатели количества выбранных дескрипторов по Мак-Гилловскому опроснику по афферентной шкале были практически одинаковыми и составили  $6,7 \pm 1,1$  баллов в I и  $5,3 \pm 0,9$  баллов во II группе. При этом средние показатели рангового индекса боли по аф-

ферентной шкале у пациенток I группы были статистически достоверно выше ( $17,9 \pm 2,3$  баллов), чем аналогичный показатель во II группе ( $11,4 \pm 1,6$  баллов),  $p < 0,05$ .

Вышеизложенное еще раз подтверждает, что климактерический синдром является прежде всего психоэмоциональным и вегетативным кризисом, который в сочетании с тяжелым преморбидным фоном, в частности эндометриозом значительно в большей степени оказывает влияние на общее состояние как физического, так и психического здоровья, в том числе и на социальную активность.

Анализ регулярности и характера менструального цикла у женщин обследуемых групп выявил, что у пациенток II группы наблюдается регулярный менструальный цикл - 50 (78,13%) случаев, тогда как в I группе нарушения цикла отмечали около 70 (66,04%) пациенток.

Анализ продолжительности менструального цикла у женщин исследуемых групп показал сокращение цикла во II группе ( $25,9 \pm 1,2$  дней) и удлинение у пациенток I группы ( $33,2 \pm 1,2$  дня)  $p < 0,05$ .

У всех пациенток с эндометриозом во II группе выделения имели затяжной характер -  $7,8 \pm 1,3$  дней. Среди женщин I группы аналогичный показатель был достоверно меньше и составил  $4,9 \pm 1,2$  дня ( $p < 0,05$ ). Подобная тенденция наблюдалась и в отношении объема менструальных кровопотерь (в баллах), который определялся посредством визуальной оценки согласно данным шкалы Янсена. У женщин I группы показатели объема кровопотери были достоверно ниже, чем у пациенток II группы с эндометриозом ( $85,4 \pm 14,3$  балла и  $131,7 \pm 12,4$  балла, соответственно).

Следует отметить, что гиперполименорея, характерная для пациенток с эндометриозом, с дебютом климактерических расстройств уменьшается. Кроме того, у женщин с ранними климактерическими расстройствами и эндометриозом отмечено сокращение продолжительности менструации и удлинение цикла.

Проведенные исследования показали, что основные проявления эндометриоза - гиперполименорея и болевой синдром, с началом климактерического синдрома проявляют тенденцию к угасанию. Анализ Мак-Гилловского опросника боли продемонстрировал, что с наступлением климакса у больных эндометриозом на первое место выходят психоэмоциональные расстройства. Это еще раз подтверждает, что климактерический синдром является психоэмоциональным и вегетативным кризисом, который в сочетании с тяжелым преморбидным фоном, в частности эндометриозом, значительно в большей степени оказывает влияние на общее состояние как физического, так и психического здоровья.

В связи с вышеизложенным, коррекция психоэмоционального состояния пациенток, а также их вегетостабилизация в перименопаузе является первостепенной при выборе тактики их дальнейшего наблюдения и лечения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Левкович М.А., Ермолова Н.В., Аванесова Т.Г., Маркарян И.В. Современные взгляды на патогенез генитального эндометриоза: роль гормональных, иммунологических, генетических факторов // Таврический медико-биологический вестник. - 2017. - Т. 20., № 2-2. - С. 185-189.
2. Иловайская И.А. Прекращение менструальной функции в репродуктивном возрасте и преждевременное старение // Gynecology endocrinology. - 2015. - No.1 (102). - С.52-54.
3. Шишкова В.Н. Основные проблемы старения и ограни-



- ченные возможности заместительной гормональной терапии у женщин / Шишкова В.Н. // Consilium Medicum. - 2016. - Т. 18. № 9. - С. 151-158.
4. Юренива С.В., Ермакова Е.И. Менопаузальные расстройства у женщин: патогенез, клиника, диагностика, лечение, профилактика // MedicaMente. - 2017. - Том. 3, №2. - С.32-38.
5. Berlanda N., Somigliana E., Frattaruolo M.P., Buggio L., Dridi D., Vercellini. Surgery versus hormonal therapy for deep endometriosis: is it a choice of the physician? // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. - 2017. - Vol. 209. - P.67-71.
6. Inceboz U. Endometriosis after menopause womens/ U. Inceboz // Health (Lond). - 2015. - 11(5). - P.711-715.
7. Gemmel L.C., Webster K.E., Kirtley S. et al. The management of menopause in women with a his endometriosis: a systematic review // Human Reproduction Update. - 2017.- Vol.23, No.4.- pp.481-500.
8. Buruck G., Wendsche J., Melzer M., Strobel A., Dörfel D. Acute psychosocial stress and emotion regulation skills modulate empathic reactions to pain in others // Front Psychol. - 2014. - Vol. 5. - P.517.
9. De Zambotti M., Trinder J., Colrain I.M., Baker F.C. Menstrual cycle-related variation in autonomic nervous system functioning in women in the early menopausal transition with and without in somnia disorder // Psycho neuroendocrinology. - 2017. - Vol.75. - P. 44-51.
10. Gartoulla P; Worsley R; Bell RJ; Davis SR. Moderate to severe vasomotor and sexual symptoms remain problematic for women aged 60 to 65 years. // Menopause. - 2015. - Vol. 22(7). - P.694-701.
11. Hickey M., Schoenaker D.A., Joffe H., Mishra G.D. Depressive symptoms across the menopause transition: findings from a large population-based cohort study // Menopause. - 2016. - Vol. 23(12). - P.1287-1293.

## SUMMARY

### CLINICAL FEATURES OF ENDOMETRIOSIS IN WOMEN IN PERIMENOPAUSE

<sup>1</sup>Zakharenko N., <sup>2</sup>Kovalenko N., <sup>1</sup>Manoliak I.

<sup>1</sup>Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named E.M. Lukyanova of the NAS of Ukraine, Department of Endocrine Gynecology; <sup>2</sup>State Clinical Hospital N9, Department of Gynecology, Kiev, Ukraine

The aim of the research is the assessment of the features of the course of endometriosis in women in perimenopause.

The examined group of patients consisted of 106 women with endometriosis and climacteric syndrome and 64 women with endometriosis without climacteric syndrome. The comparison group consisted of 70 women without endometriosis and symptoms of climacteric syndrome. The age of the examined women was from 39 to 55 years. We analyzed the leading complaints, the menstrual function and the severity of the pain manifestations in the examined patients.

The results of the studies have shown that the main manifestations of endometriosis, such as hyperpolimenorrhoea and pain syndrome, tend to fade with the onset of climacteric syndrome. The psycho-emotional disorders are on the first place in patients with endometriosis in perimenopause.

**Keywords:** endometriosis, perimenopause, climacteric syndrome.

## РЕЗЮМЕ

### КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ЭНДОМЕТРИОЗА У ЖЕНЩИН В ПЕРИМЕНОПАУЗЕ

<sup>1</sup>Захаренко Н.Ф., <sup>2</sup>Коваленко Н.В., <sup>1</sup>Маноляк И.П.

<sup>1</sup>Государственное учреждение «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии им. акад. Е.М. Лукьяновой НАМН Украины», отделение эндокринной гинекологии; <sup>2</sup>Городская клиническая больница № 9, отделение гинекологии, Киев, Украина

В статье рассматриваются особенности течения эндометриоза у женщин в перименопаузе.

Обследовано 106 пациенток с эндометриозом и климактерическим синдромом, 64 женщины с эндометриозом без симптомов климактерического синдрома. Группу сравнения составили 70 женщин без эндометриоза и симптомов климактерического синдрома. Возраст обследованных женщин составил 39-55 лет. У обследованных пациенток проанализированы жалобы, характер менструальной функции и выраженность болевых проявлений.

Результаты проведенных исследований показали, что основные проявления эндометриоза - гиперполименорея и болевой синдром, с началом климактерического синдрома проявляют тенденцию к угасанию. Первое место с наступлением климакса у больных эндометриозом занимают психоземotionalные расстройства.

## რეზიუმე

ენდომეტრიოზის მიმდინარეობის კლინიკური თავისებურებები პერიმენოპაუზის მქონე ქალებში

<sup>1</sup>ნ. ზახარენკო, <sup>2</sup>ნ. კოვალენკო, <sup>1</sup>ი. მანოლიაკი

<sup>1</sup>უკრაინის სამედიცინო მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის ე. ლუკიანოვას სახ. პედიატრიის, მუანობა და გინეკოლოგიის ინსტიტუტი, ენდოკრინული გინეკოლოგიის დეპარტამენტი; <sup>2</sup>ქალაქის კლინიკური საავადმყოფო №9, გინეკოლოგიის განყოფილება, კიევი, უკრაინა

სტატიაში განხილულია ენდომეტრიოზის მიმდინარეობის კლინიკური თავისებურებები პერიმენოპაუზის მქონე ქალებში.

გამოკვლეულია 106 პაციენტი ენდომეტრიოზით და კლიმაქტერული სინდრომით, 64 პაციენტი ენდომეტრიოზით კლიმაქტერული სინდრომის გარეშე.

გამოსაკვლევი ქალების ასაკი მერყეობდა 39-დან 55 წლებს შორის. გაანალიზებულია წამყვანი ჩივილები, მენსტრუალური ფუნქციის თავისებურებები და ტკივილის სიმპტომის არსებობა.

კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ ენდომეტრიოზის ძირითად გამოვლინებებს - ჰიპერპოლიმენორეა და ტკივილი, კლიმაქტერული პერიოდის დაწყებისას ახასიათებს ტენდენცია კლებისკენ. პირველ ადგილს იკავებს ფსიქოემოციური დარღვევები.

## THE ORTHODONTIC APPLIANCES FOR TREATMENT OF OPEN BITE PROPRIETARY CONSTRUCTION

Flis P., Filonenko V., Tsyzh O.

*O.O. Bogomolets National Medical University, Kiev, Ukraine*

According to own statistical studies in schools of the Ukraine, the prevalence of abnormalities and deformities of dentognathic apparatus reaches 88,54%. Vertical pathologies were found in 41,99% of the examined patients, including open bite in 3,04%, deep bite in 38,95% [1,2].

Abnormalities and deformations of the dentognathic apparatus, such as: anomalies of individual teeth, anomalies of dentition, incorrect placement of jaws, anomalies of the jaws position relative to the base of the cranium are found in all age groups. They all differ primarily in the etiological component and in the clinical manifestation. Under the influence of various factors there are functional and morphological deviations. Impaired function block normalization form. Changes in face configuration and deformation of tooth rows are largely dependent on dysfunctions (chewing, swallowing, breathing and speech), face type, genetic peculiarities of development [3-8]. The purpose of orthodontic treatment – create a functional-morphological optimum and aesthetic harmony of the maxillofacial area. In orthodontic practice, removable orthodontic appliances are used to treat abnormalities and deformations of the dentognathic apparatus, specially open bite during the period of occlusive bite, the components of which are plastic bases; elements of mechanical action - orthodontic screws or expanding springs, vestibular arches, incandescent springs, ligatures; functional guiding elements - sloping and skimming planes, occlusive side plates; elements of functional action - shields, limiting grates, labels, vestibular mantels and more [4-6,9-14].

Close to the ones proposed by us are known from the level of orthodontic technique: Andresen-Haupl's appliance, bionator Balters II type, Schwarz's appliance with occlusive side plates, open Clamt activator, Choroshilkina-Tokarevich appliance [2,4-6,9,10,13,14].

The choice of an orthodontic appliance for the treatment of open bite depends on the type of pathology, degree of severity, age of the patient and the period of formation of the dentognathic apparatus [11]. Early treatment of orthodontic disorders of the dentognathic apparatus is the dominant concept in the treatment methods, since orthodontic pathology grows together and simultaneously with the child [2,5,12,13].

Given the high prevalence and variety of clinical manifestation of orthodontic pathology, the issue of creating new orthodontic structures or modification of existing appliances is relevant to date.

Aim - to create easy-to-use therapeutical-prophylaxis orthodontic appliances that can be used to treat open bite and teeth abnormalities certain, with retrusion of upper front teeth which have increased efficiency and versatility.

**Material and methods.** For the manufacture of the proposed orthodontic appliances, we receive anatomical impression from the patient's upper and lower jaws and fix the individual constructive bite, cast the plaster models and plaster them into the articulator in the position of the constructive bite, with the help of a chemical pencil we denote the borders of the appliance, bend the metal elements of the appliances then fixed it and a screw to the metal fastening models of jaws, simulate a plastic basis from self-correcting plastic, polymerize a appliances in

pneumopolimerizator and process it and make sagittal cut symmetrical basis.

**Results and their discussion.** Orthodontic appliance by P. Flis - V. Filonenko for the treatment of open bite (Ukraine's declarative patent No. 69548 for the utility model A61C7 / 00) contains a double-jaw plastic base, on the upper jaw - from the canine to the last molar, in the anterior third of the palate is absent, on the lower jaw - from the oral shields connected in the frontal area; universal orthodontic screw; multiple inclined plane; occlusive side plates; vestibular arc (d - 0,6-0,8 mm); Rudolf Loops (tongue valve, d - 0.8-1mm); holding clamps (Fig. 1, 2).

On the upper jaw the basis goes from the line that connects the palatine surfaces of the canine to the line connecting the distal surfaces of the last molars, in the anterior third of the palate is absent. On the lower jaw, the anterior margin of the oral shields connected in the frontal area passes along the cutting edge of the lower frontal teeth, not covering it, the back - on the distal surface of the last lower molars, the lower - in the hyoid area. Creates more space for the tongue, thereby improving its position at the expense of freedom of movement.



1



2

Fig. 1, 2. Orthodontic appliance by P. Flis - V. Filonenko

To eliminate the displacement of the lower jaw, occlusal side plates is modeled with reflections of the tubercles and fissure of the upper and lower side teeth to a higher physiological rest. A high construction of occlusive side plates (4-6 mm) causes additional stress on the lateral teeth and causes forces that contribute to their intrusions [15].

To prevent excessive eruption of the second molars, the treatment period in alternating bite, recommended to extend the base occlusal surfaces to the area of the second molars before their eruption.

The mechanism of action in the proposed appliance is to extend the dentition; growth stimulation of apical bases of jaws; displacement of the upper frontal teeth orally; dentoalveolar height correction (dentoalveolar elongation in the frontal area and dentoalveolar shortening in lateral areas); teeth position change in three mutually perpendicular directions with the help of multiple inclined planes; normalizing the position of the tongue, preventing excessive pressure of the tongue on the anterior teeth, preventing tongue laying between the upper and lower frontal teeth, helping to properly position the tongue during swallowing (Fig. 3). In many cases, there is a need for a combined change in the shape of the dental arches both in the transversal and in the sagittal directions, so the apparatus has an expanding screw in the distal part of the palate. The use of universal orthodontic screws allows for even extension of dental rows, since they operate with precisely metered strength (load). Such appliances can be easily activated both by parents and by the patient themselves. The absence of a plastic base in the anterior third of the palate does not prevent dentalveolar elongation and allows you to change the inclination of the upper frontal teeth orally by their protrusion.



Fig.3. Orthodontic appliance by P. Flis - V. Filonenko intraoral

Clinical experience of using the orthodontic appliance by P.Flis - V. Filonenko pointed out the disadvantages in the patients with retrusion or normal torque of upper frontal teeth, undesirable oral displacement of the upper frontal teeth under the influence of pressure of the vestibular brace and upper lip on the front teeth orally. The location of a two-jaw plastic base on the upper jaw from the arch to the last molar does not prevent rapid dentoalveolar elongation, but does not take into account the need to change the inclination of the frontal teeth of the upper jaw in the vestibular direction.

The stated goal is achieved by introducing into the structure a lingual arc placed from the palatine side of the upper frontal teeth and a lip bumper located at a distance of 2-4 mm from the alveolar sprout of the upper jaw in the frontal section of the oral cavity (Ukraine's declarative patent No. 115089 for the utility model A61C7 / 00).

The mechanism of action in the proposed appliance is to extend the dentition; growth stimulation of jaws apical bases; dental alveolar height correction (dental alveolar elongation in the frontal area and dental alveolar shortening in lateral areas); change the position of the teeth in three mutually perpendicular directions with the help of multiple inclined planes; tongue normalization, warning of excessive tongue pressure on the anterior teeth, preventing tongue laying between the upper and lower frontal teeth, helping to properly position the tongue during swallowing, lingual arc allows you to move the upper front teeth forward and / or prevent them from displacing orally, the lip bumper creates additional resistance for the upper lip in order to eliminate its pressure on the upper frontal teeth, whose action is aimed at changing the dynamic equilibrium between the muscles (Fig.4-6) [16].



4



5

Fig. 4, 5. Orthodontic appliance by P. Flis - O. Tsyzh - V. Filonenko



Fig. 6. Orthodontic appliance by P. Flis - O. Tsyzh - V. Filonenko intraoral



7



8

Fig. 7, 8. Photo of patient Y. before and after treatment



9



10

Fig. 9, 10. Photo of patient X. before and after treatment

The position of the teeth depends on the equinox of adjacent soft tissues. Eliminating tongue, lips and cheeks dysfunction is the first step in the treatment. The use of protective bumpers in the area of pathological muscle strength eliminates the harmful effect of soft tissues and accelerates their adaptation, which is the basis of treatment result stability.

In order to eliminate the pressure of the upper lip on the upper front teeth use a lip bumper, which creates an additional resistance to the upper lip, which will accelerate the displacement of the frontal segment of the upper jaw in the vestibular direction. The action of the lip bumper is aimed at changing the dynamic equilibrium between the muscles. Lip bumper should have space between alveolar process and maxillary apical base about 2-4mm. It is made of thick orthodontic wire with a plastic roller to prevent irritating action on the soft tissues of the upper lip.

Lingual arches placed from the palatine side of the frontal teeth allow you to move the incisors of the upper jaw forward and / or prevent them from displacing orally.

According to classification of F. Horoshilkina and Y. Maligin proposed removable orthodontic appliances combined by principle and method of action, reciprocal by type of support, block by type of design. Age measurement for application: second period of transition and first period of permanent occlusion.

**Conclusions.** These appliances transmit the action of active elements to the teeth and dental arch, directly, as well as through chewing and mimic muscles affect to the dentognathic apparatus, adjust the position of the teeth and the mutual placement of the jaws of the patient by improving the aesthetics of the face. (Fig. 7-10).

Orthodontic appliances P.Flis - V.Filonenko and P.Flis - O. Tsyzh - V.Filonenko are expediently used for the treatment and prevention of development dentognathic anomalies and deformations, especially in open bite and anomalies of the individual teeth position. Conducted clinical studies indicate the expediency of widespread introduction of appliances in orthodontic practice.

## REFERENCES

1. Фліс П.С. Частота і розповсюдженість аномалій та деформацій зубощелепногоапарату в періодзмінного прикусу / П.С.Фліс, В.В.Філоненко, Н.М.Дорошенко // Український стоматологічний альманах. – 2016. – № 1 (том 1). – С. 75-78.
2. Flis P., Filonenko V., Doroshenko N. Algorithm for treatment of patients with mesial occlusion using proprietary orthodontic devise / P. Flis, V. Filonenko, N. Doroshenko // Georgian Medical News – № 10 (271) – 2017, P. 18 - 23.
3. Куроедова В.Д. Зрозуміла ортодонція. / В.Д. Куроедова, М.І. Дмитренко, О.М. Макарова, О.А. Стасюк – Полтава, 2016. – 88 с.
4. Ортодонтия: учебное пособие / [Куцевляк В.И., Самсонов А.В., Скляр С.А. и др.]; под ред. В. И. Куцевляка. – Харьков: издательство “Кроус”, 2006. – 325 с.
5. Flis P.S. Orthodontics: Textbook / P.S. Flis, M.A. Omelchuk, N.V. Rashchenko [et al.]. – Kyiv: Medicine, 2008. – 336p.
6. Хорошилкина Ф.Я. Ортодонтия. Дефекты зубов, зубных рядов, аномалии прикуса, морфофункциональные нарушения в челюстно-лицевой области и их комплексное лечение / Ф.Я. Хорошилкина. – М.: МИА, 2006. – 395 с.
7. Raiman Jan V. High-end Kieferorthopädie in Hannover / Raiman Jan V. – Hannover, 2006. – 234p.
8. Proffit William R. Contemporary orthodontics. / Proffit W.R., Fields Henry W., Sarver David M. – Mosby, Elsevier Health Sciences, 2013. – 768 p.
9. Головкин Н.В. Ортодонтичні апарати / Н.В. Головкин. – Вінниця: Нова книга, 2006. – 215 с.
10. Атлас ортодонтических аппаратов / [Куроедова В.Д., Ждан В.Н., Галич Л.Б. и др.]. – Полтава: Дивосвіт, 2011. – 154 с.
11. Маилян П.Д. Разработка каркасно-пружинных конструкций ортодонтических аппаратов и анализ эффективности лечения ими зубочелюстных аномалий / П.Д. Маилян. – Коломенская межрайонная типография, 1998. – 180 с.

12. Кларк У.Дж. Ортодонтическое лечение парными блоками (Twin Block Functional Therapy). / Кларк У.Дж. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 384 с.
13. Orthodontics. Dentognathic Anomalies and Deformations: textbook / Flis P.S., Leonenko G.P., Filonenko V.V., Doroshenko N.M.; Edited by Professor P.S. Flis. – Kyiv: AUS Medicine Publishing, 2015. – 176 p.
14. Фліс П.С. Технологія виготовлення ортодонтичних та ортопедичних конструкцій у дитячому віці. Підручник / П.С. Фліс, А.З. Власенко, А.О. Чупіна. – К.: ВСВ «Медицина», 2013. – 256 с.
15. Патент 69548 на корисну модель А61С7/00. Ортодонтичний апарат П.С.Фліса - В.В. Філоненка для лікування відкритого прикусу. / П.С. Фліс, В.В. Філоненко; заявл. 16.02.12; опубл.25.04.12, Бюл. №8.
16. Патент 115089 на корисну модель А61С7/00. Ортодонтичний апарат П.С.Фліса, О.О. Циж, В.В. Філоненка для лікування відкритого прикусу при ретрузії верхніх фронтальних зубів. / П.С. Фліс, В.В. Філоненко, О.О. Циж; заявл. 20.02.17; опубл. 27.03.17, Бюл. № 6.

## SUMMARY

### THE ORTHODONTIC APPLIANCES FOR TREATMENT OF OPEN BITE PROPRIETARY CONSTRUCTION

Flis P., Filonenko V., Tsyzh O.

*O.O. Bogomolets National Medical University, Kiev, Ukraine*

In orthodontic practice, removable orthodontic devices are used to treat anomalies and deformations of the dentoalveolar apparatus during the period of the transition occlusion. The creation of new orthodontic appliances or the modification of existing appliances is actual today.

The aim is to create easy-to-use therapeutical-prophylaxis orthodontic appliances that can be used to treat open bite and anomalies of the individual teeth position.

The mechanism of action of the proposed appliance by P. Flis - V. Filonenko for the treatment of open bite (Ukraine's declarative patent No. 69548 for the utility model A61C7 / 00) is to expand the dentition; stimulation of growth of the apical bases of the jaws by moving the upper frontal teeth orally; correction of the tooth-alveolar height; normalization of the position of tongue. The clinical experience of the use of the orthodontic apparatus by P. Flis - V. Filonenko pointed to the drawbacks of its use in the case of retrusion or normal torque of upper frontal teeth. This goal is achieved by introducing into the design a lingual arc and lip bumper (Ukraine's declarative patent No. 115089 for the utility model A61C7 / 00).

Orthodontic appliances of P. Flis - V. Filonenko and P. Flis - O.Tsyzh - V. Filonenko are advisable to use for the treatment and prevention of dentoalveolar anomalies and deformations, in particular, open bite and anomalies of individual teeth position. Conducted clinical studies indicate the feasibility of widespread introduction of appliances in orthodontic practice.

**Keywords:** anomalies and deformations of dentognathic apparatus Orthodontic appliances of P. Flis - V. Filonenko and P. Flis - O.Tsyzh - V. Filonenko, mechanism of action of orthodontic appliance, retrusion, protrusion.

## РЕЗЮМЕ

### ОРТОДОНТИЧЕСКИЕ АППАРАТЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОТКРЫТОГО ПРИКУСА СОБСТВЕННОЙ КОНСТРУКЦИИ

Флис П.С., Филоненко В.В., Циж О.А.

*Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, Киев, Украина*

В ортодонтической практике для лечения аномалий и деформаций зубочелюстного аппарата в период сменного прикуса используются съемные ортодонтические аппараты. Создание новых ортодонтических конструкций или модификация уже существующих аппаратов по сей день являются актуальной проблемой.

Цель исследования - создание легких в применении лечебно-профилактических ортодонтических аппаратов, которые можно использовать для лечения открытого прикуса и аномалий положения отдельных зубов.

Механизм действия предложенного аппарата П.С. Флиса - В.В. Филоненко (патент Украины на полезную модель №69548 от 25.04.12 г.) заключается в расширении зубных рядов, стимуляции роста апикальных базисов челюстей, перемещении верхних фронтальных зубов орально, коррекции зубоальвеолярной высоты, нормализации положения языка. Клинический опыт использования ортодонтического аппарата П. Флиса-В. Филоненко указал на недостатки его использования при ретрузии или нормальном торке верхних фронтальных зубов. Указанная цель достигается путем введения в конструкцию лингвальной дуги и губного бампера (патент Украины на полезную модель № 115089 от 23.07.17 г.). Ортодонтические аппараты П. Флиса - В. Филоненко и П. Флиса - О. Циж - В. Филоненко целесообразно использовать для лечения и профилактики развития зубочелюстных аномалий и деформаций, в частности открытого прикуса и аномалий положения отдельных зубов. Проведенные клинические исследования указывают на целесообразность широкого внедрения аппаратов в ортодонтическую практику.

## რეზიუმე

ღია თანკბილვის სამკურნალო საკუთარი კონსტრუქციის ორთოდონტიული აპარატები

პ. ფლის, ვ. ფილონენკო, ო. ციჟ

ა. ბოგომოლცის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, კიევი, უკრაინა

ორთოდონტიულ პრაქტიკაში ცვლადი თანკბილვის პერიოდში ყბა-კბილთა აპარატის ანომალიების და დეფორმაციების სამკურნალოდ გამოიყენება მოსახსნელი ორთოდონტიული აპარატები. ახალი ორთოდონტიული კონსტრუქციების შექმნის ან უკვე არსებული აპარატების მოდიფიკაციის საკითხი სადღეისოდ საკმაოდ აქტუალურია.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ღია თანკბილვის და ცალკეული კბილების მდებარეობის ანომალიების სამკურნალოდ ადვილად გამოსაყენებელი სამედიცინო

ნო-პროფილაქტიკური ორთოდონტიული აპარატების შექმნა.

პ. ფლისის-ვ. ფილონენკოს მიერ შემოთავაზებული აპარატის მოქმედების მექანიზმი (25.04.12 წ. სასარგებლო მოდელის უკრაინის პატენტი № 69548) მდგომარეობს შემდეგში: კბილთა რიგების გაფართოება, ყბათა აპიკალური ბაზისების ზრდის სტიმულირება, ხედა ფრონტალური კბილების გადაადგილება ორა-ლურად, კბილ-ალვეოლური სიმაღლის კორექცია, ენის მდგომარეობის ნორმალიზაცია. პ. ფლისის-ვ. ფილონენკოს ორთოდონტიული აპარატის გამოყენების კლინიკურმა გამოცდილებამ აჩვენა მისი გამოყენების ნაკლოვანება ხედა ფრონტალური კბილების რეტრუზიისა და ნორმა-

ლური ტორკის დროს. აღნიშნული მიზნის მიღწევა შესაძლებელია კონსტრუქციაში ლინგვალური რკალის და ტუნის ბამპერის შეყვანის გზით (23.07.17 წ. სასარგებლო მოდელის უკრაინის პატენტი № 115089). პ. ფლისის-ვ. ფილონენკოს და პ.ფლისის-ო. ციჟის-ვ. ფილონენკოს ორთოდონტიული აპარატების გამოყენება მიზანშეწონილია ყბა-კბილთა ანომალიების და დეფორმაციების სამკურნალოდ და მათი განვითარების ფროფილაქტიკის მიზნით, კერძოდ, ღია თანკბილვის და ცალკეული კბილების მდებარეობის ანომალიების მკურნალობისთვის. ჩატარებული კლინიკური გამოკვლევები მიუთითებს აპარატების ფართო დანერგვის მიზანშეწონილობაზე ორთოდონტიულ პრაქტიკაში.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ МОНОТЕРАПИИ МЕТОТРЕКСАТОМ БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ ЛЕГКИХ

Гаврисюк В.К., Меренкова Е.А., Гуменюк Г.Л., Гуменюк Н.И., Дзюблик Я.О.

Государственное учреждение «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины», Киев, Украина

На протяжении многих лет основными препаратами для лечения саркоидоза остаются глюкокортикостероиды (ГКС) [3,16]. Их эффективность доказана в нескольких рандомизированных исследованиях [9,10]. В среднем, около 50% больных саркоидозом принимают лечение с использованием ГКС [8,11].

При неэффективности ГКС-терапии наличие противопоказаний к глюкокортикостероидам, а также развитие серьезных нежелательных явлений на фоне ГКС-терапии показано назначение препаратов второй линии, основное место среди них занимают иммуносупрессанты – метотрексат (МТХ), азатиоприн и лефлуномид [5].

Исследование по оценке опыта применения МТХ среди мировых экспертов в области саркоидоза, проведенное с помощью онлайн-опросника, показало, что 80% врачей считает препарат приоритетным вариантом второй линии [4,13].

Метотрексат является антагонистом фолиевой кислоты, ингибируя фермент дигидрофолатредуктазу, который необходим для синтеза ДНК. Наиболее эффективно он действует на активно пролиферирующие ткани, такие как злокачественные клетки, костный мозг, клетки плода, эпителий кожи, слизистой оболочки ротовой полости и кишечника, а также клетки мочевого пузыря [12,21]. Основными показаниями для его назначения являются неопластические заболевания. Кроме того, доказана эффективность метотрексата в лечении больных такими системными заболеваниями, как ревматоидный артрит, гранулематоз Вегенера, различные аутоиммунные болезни и саркоидоз [7,9].

Метотрексат обладает также иммуносупрессивным свойством, которое обусловлено его способностью подавлять деление лимфоцитов. Низкие дозы препарата ингибируют синтез цитокинов альвеолярными макрофагами и подавляют пролиферацию фибробластов, проявляя тем самым противовоспалительное действие [1,5], которое отличается от механизма действия стероидов при воспалении [2]. К сожалению, доказательства по применению МТХ при саркоидозе ограничены и рекомендаций на основе доказательной медицины по его применению в клинической практике недостаточно.

Цель исследования – изучить безопасность и эффективность монотерапии метотрексатом у больных саркоидозом органов дыхания при наличии противопоказаний и развитии серьезных нежелательных явлений на фоне терапии глюкокортикостероидами.

**Материал и методы.** Обследованы 33 пациента с саркоидозом органов дыхания II стадии – 20 женщин и 13 мужчин в возрасте от 23 до 67 лет.

У 27 больных терапия метотрексатом применялась в качестве стартовой в связи с наличием противопоказаний к назначению ГКС – гипертонической болезни в сочетании с ожирением (n=11), сахарного диабета типа 2 (n=10), ожирения II–III степени – индекс массы тела >35 (n=5), язвенной болезни желудка (n=1). В 6 случаях метотрексат был назначен вследствие серьезного побочного действия предшествующей ГКС-терапии – остеопороза, что является противопоказанием для дальнейшего применения ГКС.

Всем больным проводились обще-клинические методы обследования, компьютерная томография органов грудной полости, спирометрия. Обследования проводили перед началом терапии, спустя 3 (визит 2 – V2) и 6 (визит 3 – V3) месяцев лечебного периода.

**Результаты и их обсуждение.** Клинические признаки саркоидоза наблюдались у 26 пациентов, в 7 случаях диагноз установлен после проведения профилактического рентгенологического обследования. Одышка во время проведения привычной физической нагрузки отмечалась у 20 больных, сухой или малопродуктивный кашель – у 12, общая слабость – у 22, артралгии – у 5, субфебрильная температура тела – у 3 больных.

Диагноз заболевания установлен на основании наличия у больных высокоспецифичных симптомов при проведении КТ: двусторонняя прикорневая лимфаденопатия наблюдалась во всех случаях, увеличение медиастинальных лимфатических узлов паратрахеальной группы справа и в области аорто-пульмонального окна отмечалась у 18 пациентов, ретикуло-узелковый и узелковый паттерны поражения паренхимы легких с перилимфатическим распределением узелков наблюдались у 32 больных.

Таблица 1. Результаты терапии метотрексатом больных с противопоказаниями к ГКС-терапии (n=33)

Результаты лечения	V2 (3 мес. терапии) в сравнении с V1	V3 (6 мес. терапии) в сравнении с V2
Клиническое излечение с нормализацией КТ-данных	–	10
Регрессия	26	14
Стабилизация	6	6
Прогрессирование	1	3

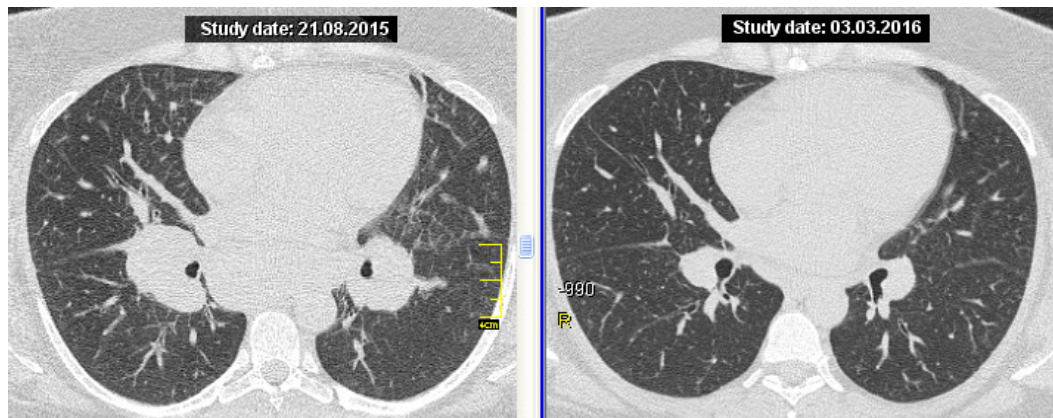


Рис. Больная С., 31 год, КТ (аксиальные срезы): саркоидоз органов дыхания II стадии. Слева – до лечения: двусторонняя прикорневая лимфаденопатия, ретикулярно-узловый паттерн поражения паренхимы. Справа – спустя 6 мес. после лечения метотрексатом: выраженная регрессия лимфаденопатии, исчезновение ретикулярных изменений в паренхиме, уменьшение плотности узелковой диссеминации

Атипичные КТ-проявления саркоидоза выявлены в 10 случаях: участки консолидации – у 6 пациентов, легочные узлы – у 3, диффузное снижение прозрачности паренхимы по типу матового стекла – у 1. Вместе с тем атипичные КТ-признаки во всех случаях сочетались с классическими высокоспецифичными симптомами и в связи с этим не требовали применения дополнительных методов исследования.

Уровень ионизированного кальция в крови составил, в среднем,  $1,28 \pm 0,02$  ммоль/л, при этом гиперкальциемия ( $1,32$  ммоль/л и выше) наблюдалась в 7 (21,2%) случаях.

По данным бодиплетизмографии средняя величина общей емкости легких (TLC) составила  $85,9 \pm 3,4\%$ , остаточного объема (RV) –  $77,9 \pm 10,9\%$ . Уменьшение TLC  $<80\%$  должной величины наблюдалось у 10 (30,3%) пациентов, уменьшение RV  $<80\%$  – у 12 (36,4%). Таким образом, в среднем, у каждого третьего больного отмечались рестриктивные нарушения вентиляционной функции легких.

Жизненная емкость легких (VC) составила, в среднем,  $92,8 \pm 2,7\%$ , форсированная жизненная емкость (FVC) –  $90,5 \pm 2,9\%$ , объем форсированного выдоха за первую секунду ( $FEV_1$ ) –  $87,3 \pm 3,2\%$ , индекс Генслера ( $FEV_1/FVC$ ) –  $81,4 \pm 1,8\%$ . Следует отметить, что у 5 (15,2%) пациентов показатели FVC и  $FEV_1$  были меньше 80%, однако это не свидетельствует о нарушении бронхиальной проходимости, поскольку индекс Генслера у всех пациентов превышал 70%. Снижение FVC и  $FEV_1$ , по всей вероятности, является следствием уменьшения статического показателя – TLC.

Показатель диффузионной способности легких (DLCO) составил, в среднем,  $75,6 \pm 2,3\%$ , при этом в 5 (15,2%) случаях DLCO был меньше 70%.

Всем пациентам назначен метотрексат в дозе 10 мг 1 раз в неделю. Для снижения вероятности побочных эффектов применяли фолиевую кислоту в дозе 5 мг в неделю. Перед началом терапии и ежемесячно в процессе терапии прово-

дили общий анализ крови, определяли концентрацию АСТ, АЛТ, общий и прямой билирубин, креатинин.

Результаты лечения оценивали с учетом клинических и функциональных данных, по результатам компьютерной томографии, которую проводили перед началом терапии, спустя 3 (визит 2 – V2) и 6 (визит 3 – V3) месяцев лечебного периода. На каждом визите проводили клиническое обследование, спирометрию, контролировали развитие возможных побочных эффектов терапии. В таблице 1 представлены результаты лечения.

Спустя 3 месяца терапии метотрексатом у большинства пациентов - 26 (78,8%) наблюдались признаки регрессии саркоидоза, в 6 случаях отмечена стабилизация процесса, у 1 пациента наблюдалось прогрессирование – увеличение распространенности и плотности узелковой диссеминации в паренхиме. Лечение больных со стабилизацией продолжено в прежнем режиме, у больного с прогрессированием доза метотрексата увеличена до 15 мг/нед.

Спустя 6 месяцев лечения у 10 (30,3%) пациентов достигнуто клиническое излечение с исчезновением КТ-признаков двусторонней прикорневой и медиастинальной лимфаденопатии, узелковой диссеминации в паренхиме легких. Нормализация КТ-данных означает исчезновение скоплений саркоидных гранулем в виде узелков, узлов и консолидаций, однако у большинства больных гранулемы сохранялись в легких на ультраструктурном уровне, недоступном для визуализации радиологом [17]. Прекращение терапии на этом этапе часто приводит к рецидивам саркоидоза. В связи с этим терапия больных с клиническим излечением продолжена еще в течение 6 месяцев, при этом доза метотрексата оставалась прежней (10 мг/нед.). Рис. демонстрирует случай регрессии саркоидоза после 6-месячного курса лечения метотрексатом.

У 14 (42,4%) пациентов спустя 6 месяцев терапии в сравнении с предыдущим визитом (V2) отмечались признаки регрессии, лечение этих больных продолжено в прежнем режиме.

Таблица 2. Динамика показателей функции внешнего дыхания после 6-месячной терапии метотрексатом больных с противопоказаниями к ГКС-терапии ( $M \pm m$ ,  $n=33$ )

Показатель	До лечения	Спустя 6 мес. после лечения	t
VC (% к должн.)	92,8 ± 2,7	101,2 ± 2,7	2,20*
FVC (% к должн.)	90,5 ± 2,9	102,0 ± 3,4	2,58*
FEV <sub>1</sub> (% к должн.)	87,3 ± 3,2	96,9 ± 4,3	1,79
FEV <sub>1</sub> /FVC (%)	81,4 ± 1,8	80,4 ± 2,1	0,36
DLCO (% к должн.)	75,6 ± 2,3	80,8 ± 1,6	1,86

примечание: \* – различия показателей достоверны ( $p < 0,05$ )

В 6 случаях на V3 наблюдалась стабилизация процесса, в связи с чем доза метотрексата увеличена до 15 мг/нед.

У 3 пациентов с прогрессированием саркоидоза наряду с увеличением дозы метотрексата дополнительно назначен препарат первой линии пентоксифиллин в максимальной дозе (1200 мг/сут).

В таблице 2 представлена динамика показателей спирометрии и DLCO спустя 6 месяцев лечения метотрексатом.

Из таблицы 2 следует, что после лечения наблюдалось достоверное увеличение VC, что свидетельствует об уменьшении рестриктивных расстройств легочной вентиляции. Достоверное возрастание FVC является следствием изменения VC и не имеет отношения к динамике состояния бронхиальной проходимости, поскольку изменений индекса FEV<sub>1</sub>/FVC в процессе лечения не наблюдалось. У большинства больных отмечалось улучшение диффузионной способности легких, однако изменение показателя DLCO статистически недостоверно ( $t=1,86$ ).

Суммируя результаты исследований, следует заключить, что применение метотрексата в лечении больных саркоидозом с противопоказаниями к назначению или серьезными побочными эффектами ГКС-терапии, было эффективным (достижение клинического излечения или регрессии процесса) у 24 (72,7%) из 33 обследованных больных.

Побочные действия метотрексата при дозе 10 мг/нед наблюдались у 10 (30,3%) из 33 пациентов.

Серьезные побочные действия метотрексата, потребовавшие отмены препарата (лекарственно-индуцированный пневмонит) или временной отмены с последующим продолжением лечения с использованием метотрексата в половинной дозе (более чем четырехкратное повышение уровня АЛТ в крови) наблюдалось у 2 (6,1%) пациентов.

Желудочно-кишечные расстройства в начале лечебного периода отмечались в 2 (6,1%) случаях и купированы путем распределения дозы препарата на два приема по 5 мг 2 раза в неделю.

У 6 пациентов небольшое повышение уровня АЛТ – 4 (12,1%) случая и незначительная тромбоцитопения - 2 (6,1%) случая не требовали изменений режима терапии.

Результаты исследования позволяют заключить, что иммуносупрессивная терапия больных саркоидозом органов дыхания с использованием метотрексата в дозе 10 мг/нед характеризуется удовлетворительной переносимостью.

Экспертами Всемирной ассоциации саркоидоза и других гранулематозных поражений (WASOG) проведен анализ данных литературы об эффективности метотрексата в ограниченных сериях наблюдений и разработаны общие рекомендации по его применению [20]. Доказательств в поддержку МТХ как стероидсохраняющего или альтернативного средства недостаточно. Проведено только одно рандомизированное исследование эффективности метотрексата

на небольшой группе больных ( $n=24$ ) [6]. Исследование показало, что пациенты с саркоидозом без предварительного лечения, которые принимали МТХ 10 мг еженедельно, требовали значительно более низких доз ГКС, чем пациенты, которые принимали плацебо. Целью данного исследования являлось изучить эффективность монотерапии метотрексатом у больных саркоидозом органов дыхания. В результате установлено, что при применении метотрексата в лечении больных саркоидозом, имеющих противопоказания к проведению ГКС-терапии, наблюдается восстановление пневматизации или значительная регрессия по данным КТ органов грудной полости у 72,7% больных.

V.M. Vucinic [18] исследовал пациентов с хронической формой легочного и внелегочного саркоидоза ( $n=91$ ). Все пациенты до лечения метотрексатом получали кортикостероиды. В результате автор отметил улучшение объема форсированного выдоха за 1 сек у 80% и в диффузионной способности легких у 65% больных саркоидозом, которые применяли МТХ в течение 6 месяцев. Аналогичные результаты получены и в нашем исследовании: у большинства больных (64% пациентов) отмечалось улучшение диффузионной способности легких, однако изменение показателя DLCO статистически недостоверно ( $t=1,86$ ).

В 1995 г. E.E. Lower и R.P. Vaughman [7] проведено рандомизированное исследование по изучению эффективности и безопасности метотрексата у больных саркоидозом, которые имели стойкие симптомы и стремились избежать или уменьшить терапию кортикостероидами. Терапия метотрексатом проводилась в течение двух лет: перорально, один раз в неделю. Дозировка была скорректирована на основании количества лейкоцитов у пациента. По данным исследования, у 33 из 50 (66%) пациентов отмечалось улучшение жизненной емкости легких (VC) более чем на 15%. В нашей работе у 50% пациентов после лечения наблюдалось достоверное увеличение VC. Основными токсическими эффектами, выявленными у 150 пациентов после двух лет терапии метотрексатом, были печеночные (6 пациентов), лейкопения, требующая госпитализации (1 пациент) и кашель (1 пациент). Поражение печени потребовало отмены препарата. По данным исследования R.P. Vaughman [6] не было никакой разницы в токсичности между метотрексатом и плацебо. В результате проведенного нами исследования побочные действия метотрексата в дозе 10 мг/нед наблюдались у 10 (30,3%) из 33 пациентов. Отмена препарата потребовалась только в одном случае после развития лекарственно-индуцированного пневмонита. Возможно, более высокий уровень побочных эффектов в работе R.P. Vaughman и E.E. Lower связан с более длительным периодом наблюдения [7].

Недостатками нашего исследования является небольшая группа пациентов и короткий период наблюдения. Положи-



тельной стороной работы была однородность группы: все пациенты были больные саркоидозом легких II стадии, не принимали другой терапии до начала исследования.

**Заключение.** Применение метотрексата в лечении больных саркоидозом, имеющих противопоказания к проведению ГКС-терапии, было эффективно в 72,7% (достижение клинического излечения или регрессии процесса) и характеризуется удовлетворительной переносимостью.

Полученные результаты дают основание считать метотрексат препаратом выбора в лечении больных саркоидозом легких с противопоказаниями к назначению или серьезными побочными действиями ГКС.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Bargagli E., Olivieri C., Rottoli P. Cytokine modulators in the treatment of sarcoidosis // *Rheumatol Int.* 2011. Vol. 12. P. 1539–1544.
2. Barnes P. J. Corticosteroid resistance in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2013. Vol. 131. P. 636–645.
3. Baughman R.P., Drent M. The Treatment of Pulmonary Sarcoidosis // *Pulmonary sarcoidosis: A Guide for the practicing clinician* / M. A. Judson. Humana Press, brand of Springer, 2014 P. 41–64.
4. Baughman R.P., Nunes H. Therapy for sarcoidosis: evidence-based recommendations // *Expert Rev. Clin. Immunol.* 2012. Vol. 8. P. 95–103.
5. Baughman R.P., Culver D. A., Judson M. A. A concise review of pulmonary sarcoidosis // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011. Vol. 183 (5). P. 573–581.
6. Baughman R.P., Winget D. B., Lower E. E. Methotrexate is steroid sparing in acute sarcoidosis: results of a double blind, randomized trial // *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.* 2000. Vol. 17. P. 60–66.
7. Baughman R.P., Lower E. E. A clinical approach to the use of methotrexate for sarcoidosis // *Thorax.* 1999. Vol. 54. P. 742–746.
8. Baughman R.P., Grutters J. C. New treatment strategies for pulmonary sarcoidosis: antimetabolites, biological drugs, and other treatment approaches // *Lancet Respir Med.* 2015. Vol. 105. P. 813–822.
9. Baughman R.P., Lower E. Novel therapies for sarcoidosis // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2007. Vol. 28 (1). P. 128–133.
10. Baughman R.P., Lower E. Medical therapy of sarcoidosis // *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2014. Vol. 35(3). P. 391–406.
11. Established and experimental medical therapy of pulmonary sarcoidosis / R.P. Baughman et al. // *Eur. Respir. J.* 2013. Vol. 41. P. 1424–1438.
12. Meyer K., Biearach J. Immunosuppressive therapy for autoimmune lung diseases. *Immunol Allergy Clin N Am.* 2012. Vol. 32. P. 633–669.
13. Methotrexate vs azathioprine in second-line therapy of sarcoidosis / A.D. Vorselaars et al. // *Chest.* 2013. Vol. 144. P. 805–811.
14. Multinational evidence-based World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders recommendations for the use of methotrexate in sarcoidosis: integrating systematic literature research and expert opinion of sarcoidologists worldwide / J. P. Cremers et al. // *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2013. Vol. 19. P. 545–561.
15. Refractory pulmonary sarcoidosis – proposal of a definition and recommendations for the diagnostic and therapeutic approach / P. Korsten et al. // *Clin Pulm Med.* 2016. Vol. 23 (2).

P. 67–73.

16. Schutt A. C., Bullington A. C., Judson M. A. Pharmacotherapy for pulmonary sarcoidosis: a Delphi consensus study // *Respir. Med.* 2010. Vol. 104 (5). P. 717–723.
17. Veltkamp M., Grutters J. C. The pulmonary manifestations of sarcoidosis // *Pulmonary sarcoidosis: A Guide for the practicing clinician* / M. A. Judson. Humana Press, brand of Springer, 2014. P. 19–40.
18. Vucinic V. M. What is the future of methotrexate in sarcoidosis? A study and review // *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2002. Vol. 8. P. 470–476.
19. White E., Lynch J. III. Sarcoidosis Involving Multiple System: Diagnostic and Therapeutic Challenges // *Chest.* 2001. Vol. 119(5). P. 1593–1597.
20. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги «Саркоїдоз»: Наказ МОЗ України № 634 від 08.09.2014. Київ. 42 с.
21. Фармакологія : учебник для студентов высших учебных заведений / И. С. Чекман и др. Винница : Нова книга, 2013. 792 с.

## SUMMARY

### EFFECTIVENESS AND SAFETY OF METHOTREXATE MONOTHERAPY IN PATIENTS WITH PULMONARY SARCOIDOSIS

Gavrysyuk V., Merenkova E., Gumeniuk G., Gumeniuk M., Dziublyk Y.

*State Institution "National Institute of Phthisiology and Pulmonology them. F. G. Yanovsky NAMS of Ukraine", Kiev, Ukraine*

Immunosuppressants are traditionally administered in sarcoidosis patients with contraindications for the use of glucocorticosteroids (GCS), or in those with serious adverse reactions on GCS, as well as in the cases of GCS-therapy resistance.

Aim - to study the effectiveness and safety of methotrexate monotherapy in pulmonary sarcoidosis patients with either GCS contraindication or adverse reactions.

We examined 33 patients with st. II pulmonary sarcoidosis, 20 men and 13 women, 23-67 years of age. In all cases a general physical examination; chest computed tomography and spirometry were performed. Oral methotrexate 10 mg once per week was administered to all patients. Blood tests, including total blood count with platelet count, blood chemistry (ALT, AST, bilirubin, creatinin) were done before the start of the therapy and monthly afterwards.

Methotrexate monotherapy appeared to be effective in 24 (72,7%) study patients (clinical cure or regression of lung lesions). Adverse reactions were registered in 10 (30,3%) patients. In 1 case treatment was stopped because of the serious adverse event.

As it was confirmed by our study results, methotrexate should be considered a medication of choice in pulmonary sarcoidosis patients with contraindications for use or adverse reactions to GCS. A research of combination therapy of methotrexate with first-line drugs should be continued.

**Keywords:** pulmonary sarcoidosis, treatment of sarcoidosis, immunosuppressive therapy, methotrexate.

## РЕЗЮМЕ

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ МОНОТЕРАПИИ МЕТОТРЕКСАТОМ БОЛЬНЫХ САРКОИДОЗОМ ЛЕГКИХ

Гаврисюк В.К., Меренкова Е.А., Гуменюк Г.Л.,  
Гуменюк Н.И., Дзюблик Я.О.

Государственное учреждение «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины», Киев, Украина

Пациентам с противопоказаниями к назначению глюкокортикостероидов (ГКС) или серьезными побочными явлениями на фоне лечения ГКС, а также больным с резистентностью к ГКС-терапии назначают иммуносупрессанты.

Цель исследования – изучить безопасность и эффективность монотерапии метотрексатом у больных саркоидозом органов дыхания при наличии противопоказаний и развитии серьезных нежелательных явлений на фоне терапии глюкокортикостероидами.

Обследованы 33 пациента с саркоидозом органов дыхания II стадии – 20 женщин и 13 мужчин в возрасте от 23 до 67 лет. Всем больным проводились общеклинические методы обследования, компьютерная томография органов грудной полости, спирометрия. Метотрексат назначался в дозе 10 мг в неделю, перорально. Перед началом терапии и ежемесячно в процессе терапии проводили общий анализ крови с определением количества тромбоцитов, концентрации АСТ, АЛТ, уровня билирубина и креатинина.

У больных с противопоказаниями к назначению или серьезными побочными действиями ГКС монотерапия метотрексатом была эффективной у 24 (72,7%) из 33 обследованных больных (достижение клинического излечения или регрессии процесса). Побочные явления метотрексата наблюдались у 10 (30,3%) из 33 пациентов и в 1 случае лечение было прекращено ввиду серьезного побочного действия препарата.

Полученные результаты дают основание считать метотрексат препаратом выбора в лечении больных саркоидозом легких с противопоказаниями к назначению или серьезными побочными действиями ГКС.

## რეზიუმე

ფილტვის სარკოიდოზით ავადმყოფების მეტოტრექსატით მონოთერაპიის ეფექტურობა და უსაფრთხოება

ვ. გავრისიუკი, ე. მერენკოვა, გ. გუმენიუკი,  
ნ. გუმენიუკი, ია. დზიუბლიკი

სახელმწიფო დაწესებულება "უკრაინის სამედიცინო მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის ა. იანოვსკის სახ. ფტიზიატრიისა და პულმონოლოგიის ეროვნული ინსტიტუტი," კიევი, უკრაინა

პაციენტებს, რომლებსაც აქვთ წინააღმდეგევენება, გვერდითი მოვლენები ან რეზისტენტობა გლუკოკორტიკოსტეროიდებით (გკს) მკურნალობის შემთხვევაში მიზანშეწონილია დაენიშნოს იმუნოსუპრესანტი.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სასუნთქი ორგანოების სარკოიდოზით ავადმყოფების გლუკოკორტიკოსტეროიდებით მკურნალობის არასასურველი სერიოზული გამოვლინებების ანალიზი და მეტოტრექსატის გამოყენების უსაფრთხოების და ეფექტურობის შეფასება.

გამოკვლეულია სასუნთქი ორგანოების სარკოიდოზით დაავადებული 33 პაციენტი: 20 ქალი და 13 მამაკაცი 23-67 წ. ასაკში. ყველა ავადმყოფს ჩაუტარდა გამოკვლევა საყოველთაოდ მიღებული კლინიკური მეთოდების გამოყენებით, გულმკერდის კომპიუტერული ტომოგრაფია, სპირომეტრია და დაენიშნა მეტოტრექსატი დოზით 10 მგ კვირაში, პერორალურად. მკურნალობის დაწყებამდე და მკურნალობის პროცესში ავადმყოფებს უტარდებოდა სისხლის საერთო ანალიზი თრომბოციტების რაოდენობის, ასტ, ალტ, ბილირუბინის და კრეატინინის განსაზღვრით. ავადმყოფებში უკუჩვენებით გკს-ის მიმართ ან გვერდითი მოვლენების განვითარების შემთხვევაში მეტოტრექსატით მონოთერაპიის ჩატარება იყო ეფექტური (კლინიკური განკურნება ან პროცესის რეგრესი) 24 შემთხვევაში 33-დან, რაც შეადგენს 72,7%. მეტოტრექსატის მიმართ გვერდითი მოვლენები აღინიშნა 10 (30,3%) შემთხვევაში, ერთ შემთხვევაში მკურნალობა შეწყვეტილი იყო სერიოზული გვერდითი მოვლენების განვითარების გამო.

მიღებული შედეგები საფუძველს იძლევა მეტოტრექსატი ჩაითვალოს არჩევის პრეპარატად ფილტვების სარკოიდოზით ავადმყოფებში, თუ მათ გააჩნიათ სერიოზული გვერდითი მოვლენები გკს-ის მიმართ.

## ЛАЗЕРНАЯ КОРРЕКЦИЯ МИОПИЧЕСКОГО АСТИГМАТИЗМА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИЙ FEMTO LASIK И RELEX SMILE – ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ

<sup>1,2</sup>Смагулова А.Ш., <sup>2</sup>Ахмедьянова З.У.

<sup>1</sup>Корпоративный фонд «University Medical Center»; <sup>2</sup>АО «Медицинский университет Астана», Республика Казахстан

Использование лазерных технологий полностью изменило подходы к лечению нарушений рефракции, подняв его на качественно новый уровень. Высокая степень эффективности и безопасности, отсутствие болевых ощущений и необходимости в дополнительной терапии являются комплексом позитивных факторов, позволяющих судить о лазерной коррекции нарушений рефракции как эталоне лечения хронических заболеваний глаза.

В течение относительно недолгой истории этот метод лечения подвергся существенному развитию [2]. В сравнении с первыми подходами, новые методы менее инвазивны и более безопасны. Стандартом лечения в настоящее время следует считать технологию Femto LASIK [11], однако некоторые методы составляют ей конкуренцию. Одним из таких является технология ReLEx SMILE [1]. Сравнительные исследования этих методов по сей день являются актуальными, поскольку оба имеют свои преимущества и недостатки [9].

Цель исследования – сравнительный анализ эффективности и безопасности технологий Femto LASIK и ReLEx SMILE в коррекции миопического астигматизма.

**Материал и методы.** Исследование проведено в отделе малоинвазивной и офтальмохирургии АО «Республиканский диагностический центр» (г. Астана) в период 2014–2016 гг.

Проанализированы результаты 1212 вмешательств, в т.ч. 721 (59,5%) с использованием технологии ReLEx SMILE и 491 (40,5%) – Femto LASIK. Выделены две группы – астигматизм до 2 дптр (n=667) и 2-5 дптр (n=545). Возраст пациентов – 20–73 года, средний возраст – 38,6±3,5 года.

Критерии включения в исследование: наличие миопического астигматизма (миопия от -2 до -12 дптр, астигматизм до 5 дптр); информированное согласие на проведение лазерной коррекции зрения и участие в исследовании. Критерии исключения: минимальная центральная толщина роговицы (менее 500 мк); острые и хронические воспалительные заболевания глаза; глаукома; катаракта; перенесенные ранее коррекции нарушений рефракции.

Осуществлялась визиометрия и определение рефракции в сроки 3, 6, 9, 12 месяцев после операции.

В качестве осложнений регистрировались случаи разви-

тия синдрома сухого глаза, кератиты, децентрация оптической зоны лазерной абляции, недокоррекция и гиперкоррекция нарушений рефракции, смещение лоскута роговицы, врастание эпителия под лоскут и эктазия.

Определение статистической значимости различий осуществлялось путем использования методики Манна-Уитни для сравнения групп, критерия Вилкоксона – для динамики показателя в рамках одной и той же группы. Для сравнения представленных частотных показателей применяли критерий  $\chi^2$  Пирсона либо (при числе наблюдений менее 10) – двусторонний точный критерий Фишера [6]. Пограничным уровнем значимости различий для опровержения нулевой гипотезы принимали  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Данные сравнительного анализа динамики остроты зрения без коррекции в зависимости от технологии лазерной коррекции представлены в таблице 1.

В исходном периоде существенных различий между группами по показателю остроты зрения без коррекции не наблюдалось. Они были практически идентичными в результате адекватного наличия сходных показаний к проведению вмешательства с использованием обеих технологий.

У пациентов с астигматизмом <2 дптр в группе применения Femto LASIK в ранние сроки после вмешательства средний показатель остроты зрения был выше, чем при ReLEx SMILE, хотя величина и значимость различий были невысокими (на 8,3%,  $p=0,045$ ). При всех дальнейших определениях в данной группе существенных различий в показателях визиометрии не выявлено, более того, спустя 6 месяцев после коррекции различия полностью нивелировались.

Среди пациентов с астигматизмом 2-5 дптр различий по исходным показателям остроты зрения также не выявлено. Следует отметить, что различия у этой категории пациентов прослеживались не только в ранние сроки, но и при последующих определениях. Так, спустя 1 неделю различие в показателях составило 12,7% ( $p=0,04$ ), значимыми они были также спустя 3 месяца (11,9%,  $p=0,042$ ) и 9 месяцев (8,9%,  $p=0,048$ ). При последнем определении спустя 12 месяцев исследуемый показатель различий между группами не выявил (таблица 2).

Таблица 1. Показатели визиометрии в течение 12 месяцев наблюдения

Срок обследования	Астигматизм <2 дптр		Астигматизм 2-5 дптр	
	Femto LASIK, n=277	ReLEx SMILE, n=390	Femto LASIK, n=214	ReLEx SMILE, n=331
Исход	0,22±0,01	0,20±0,01	0,09±0,01	0,10±0,01
1 неделя	0,91±0,02	0,84±0,02*	0,80±0,03	0,71±0,02*
1 месяц	0,91±0,03	0,89±0,03	0,82±0,03	0,74±0,02
3 месяца	0,92±0,02	0,90±0,01	0,84±0,02	0,75±0,03*
6 месяцев	0,92±0,03	0,92±0,02	0,87±0,03	0,81±0,03
9 месяцев	0,94±0,04	0,93±0,03	0,86±0,04	0,79±0,02*
12 месяцев	0,93±0,02	0,93±0,02	0,85±0,03	0,81±0,03

примечание - \* - различия между группами имеют статистическую значимость

Таблица 2. Показатели рефрактометрии в течение 12 месяцев наблюдения

Срок обследования	Астигматизм <2 дптр		Астигматизм 2-5 дптр	
	Femto LASIK, n=277	ReLEx SMILE, n=390	Femto LASIK, n=214	ReLEx SMILE, n=331
Исход	-4,07±0,09	-4,01±0,10	-4,49±0,13	-4,35±0,17
1 неделя	0,05±0,01	0±0,01*	0,02±0,01	-0,09±0,01*
1 месяц	0,01±0,01	-0,01±0,01	0±0,01	-0,11±0,01*
3 месяца	-0,04±0,01	-0,05±0,02	-0,05±0,01	-0,14±0,01*
6 месяцев	-0,03±0,01	-0,05±0,02	-0,09±0,02	-0,13±0,01
9 месяцев	-0,07±0,01	-0,08±0,01	-0,11±0,01	-0,15±0,01*
12 месяцев	-0,08±0,02	-0,08±0,01	-0,12±0,01	-0,15±0,02

примечание - \* - различия между группами имеют статистическую значимость

Таблица 3. Показатели частоты осложнений по общей группе в зависимости от коррекции

Осложнение	Femto LASIK, n=455		ReLEx SMILE, n=703		χ <sup>2</sup>
	абс.	%	абс.	%	
Кератит	2	0,4	1	0,1	-
Синдром сухого глаза	32	6,5	10	1,4	23,22
Децентрация оптической зоны лазерной абляции	11	2,2	22	3,1	0,69
Недокоррекция	4	0,8	12	1,7	-
Гиперкоррекция	29	5,9	3	0,4	34,52
Смещение лоскута	9	1,8	0	0,0	13,41
Врастание эпителия под лоскут (или КЭП)	6	1,2	1	0,1	-
Эктазия	2	0,4	1	0,1	-
Всего	95	19,3	50	6,9	43,34

Таблица 4. Показатели частоты осложнений по группе миопии с астигматизмом с учетом степени астигматизма и коррекции

Осложнение	Астигматизм <2 дптр				Астигматизм 2-5 дптр			
	Femto LASIK, n=277		ReLEx SMILE, n=390		Femto LASIK, n=214		ReLEx SMILE, n=331	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Кератит	1	0,4	0	0,0	1	0,5	1	0,3
Синдром сухого глаза	17	6,1	6	1,5	15	7,0	4	1,2
Децентрация оптической зоны лазерной абляции	5	1,8	8	2,1	7	3,3	14	4,2
Недокоррекция	1	0,4	4	1,0	3	1,4	8	2,4
Гиперкоррекция	17	6,1	2	0,5	12	5,6	1	0,3
Смещение лоскута	5	1,8	0	0,0	4	1,9	0	0,0
Врастание эпителия под лоскут (или КЭП)	3	1,1	1	0,3	3	1,4	0	0,0
Эктазия	1	0,4	1	0,3	1	0,5	0	0,0
Всего	50	18,1	22	5,6	46	21,5	28	8,5

Анализ результатов рефрактометрии существенных различий между группами в исходном периоде не выявил. У всех пациентов кроме астигматизма наблюдалась миопия средней степени, что определило уровень исследованного показателя.

В группе пациентов с астигматизмом <2 дптр значимые различия по данному показателю наблюдались только спустя 1 неделю, за счет того, что при использовании техноло-

гии Femto LASIK в ряд случаев наблюдалась гиперкоррекция, обусловившая наличие минимальной гиперметропии. При последующих обследованиях в обеих группах наблюдалась тенденция к восстановлению умеренно миопической рефракции, не имеющая различий в динамике и по итоговому показателю.

У пациентов с астигматизмом 2-5 дптр спустя 1 неделю после операции также наблюдалась минимальная тенден-

ция к гиперметропии, тогда как при ReLEx SMILE сохранялась умеренная миопия. Различия по средним показателям достоверны ( $p=0,01$ ). Достоверность различий сохранялась и в процессе дальнейшего наблюдения (спустя 1, 3 и 9 месяцев), при котором наблюдалась тенденция к восстановлению миопической рефракции до степени легкой близорукости с минимальным уровнем асферичности роговицы. В таблице 3 представлены данные о частоте осложнений при миопии в сочетании с астигматизмом.

Значимые различия выявлены по частоте синдрома сухого глаза (в 4,7 раза,  $\chi^2=23,22$ ,  $p=0,001$ ), гиперкоррекции – в 14,3 раза ( $\chi^2=34,52$ ,  $p<0,001$ ) в пользу методики ReLEx SMILE. Незначимые различия в пользу Femto LASIK, как и в ранее описанной группе, наблюдались по недокоррекции и децентрации оптической зоны лазерной абляции. Показатели частоты осложнений при применении Femto LASIK в сравнении с ReLEx SMILE превышали 2,81 раза ( $\chi^2=43,34$ ,  $p<0,001$ ).

В данной группе распределение с учетом степени нарушения рефракции произведено по выраженности астигматизма (таблица 4).

В группе с астигматизмом до 2 дптр превышение общей частоты осложнений при применении Femto LASIK составило 3,2 раза ( $\chi^2=25,90$ ,  $p<0,001$ ). Существенными оказались различия по числу синдрома сухого глаза (6,1% против 1,5%,  $\chi^2=10,29$ ,  $p=0,02$ ) и гиперкоррекции (6,1% и 0,5%,  $\chi^2=18,51$ ,  $p=0,01$ ). Смещение лоскута наблюдалось только при использовании Femto LASIK, врастание эпителия под лоскут происходило в этой подгруппе в 4 раза чаще. В обеих группах отмечено по 1 случаю эктазии.

В группе астигматизма 2-5 дптр различия по общей частоте осложнений составили 2,6 раза ( $\chi^2=19,45$ ,  $p=0,002$ ). Прослеживалось также превышение частоты синдрома сухого глаза ( $\chi^2=13,27$ ,  $p=0,008$ ) и гиперкоррекции ( $p=0,006$ ) в группе Femto LASIK в сравнении с ReLEx SMILE. Единственный случай эктазии выявлен в группе Femto LASIK.

Методика Femto LASIK долгое время считалась «золотым стандартом» лечения миопических нарушений рефракции. Она обеспечивает быструю и безопасную коррекцию миопии низкой и средней степени, причем ее клиническая эффективность и безопасность доказаны во большинстве серьезных исследований [5,7,10,12,16]. Разработанный метод Femto LASIK, как и тенденция развития лазерной офтальмологии, направлен на снижение инвазивности вмешательства.

Следующей ступенью в развитии данного подхода является методика ReLEx SMILE [13-15]. Достигнутое в результате ее разработки уменьшение длины участка повреждения роговицы является весьма значительным, поскольку существенно снижает вероятность развития осложнений, в частности эктазии. В литературе [8] дискутируется значимость снижения этого риска. Следует учитывать вероятность других неблагоприятных эффектов лазерной операции. В проведенном исследовании выявлена несколько более высокая эффективность методики Femto LASIK, особенно у пациентов с более значительными нарушениями рефракции. При наличии миопии средней степени и астигматизма <2 дптр, т.е. практически не имеющего клинического значения, однако влияющего на тактику лазерной коррекции, функциональные результаты обеих методик оказались практически равными и не выявили тенденции к изменению при наблюдении в течение 1 года. Несколько иная картина характеризует динамику исследованных показателей у пациентов с

астигматизмом средней степени. У них выявлены несколько худшие результаты в группе использования технологии ReLEx SMILE.

Сходные, однако не вполне соответствующие нашим результатам, получены зарубежными авторами [1,3,4,9]. Предполагаем, что представленные данные способствуют дальнейшему совершенствованию лазерного лечения нарушений рефракции за счет уточнения показаний к тем или иным видам лазерных операций.

**Заключение.** 1. У больных миопическим астигматизмом проведение лазерной коррекции нарушения рефракции с использованием технологии ReLEx SMILE дает аналогичные Femto LASIK результаты при наличии сочетания миопии средней степени и легкой степени астигматизма. При астигматизме средней степени наблюдается снижение клинических результатов ReLEx SMILE, которые, тем не менее, остаются вполне удовлетворительными.

2. Применение методики ReLEx SMILE обеспечивает значительное снижение числа осложнений лазерной коррекции аномалий рефракции как при легком астигматизме, так и при более выраженных нарушениях данного типа.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ağca A., Demirok A., Yıldırım Y., Demircan A., Yaşa D., Yeşilkaya C., Perente İ., Taşkapılı M. Refractive lenticule extraction (ReLEx) through a small incision (SMILE) for correction of myopia and myopic astigmatism: current perspectives. *Clin Ophthalmol.* 2016. 10: 1905-1912.
2. Aristidou A., Taniguchi E.V., Tsatsos M., Muller R., McAlinden C., Pineda R., Paschalis E.I. The evolution of corneal and refractive surgery with the femtosecond laser. *Eye Vis (Lond).* 2015. 2: 12.
3. Cartwright N.E., Tyrer J.R., Jaycock P.D., Marshall J. Effects of variation in depth and side cut angulations in LASIK and thin-flap LASIK using a femtosecond laser: a biomechanical study. *J Refract Surg.* 2012. 28(6): 419-425.
4. Demirok A., Ozgurhan E.B., Ağca A., Kara N., Bozkurt E., Cankaya K.I., Yilmaz O.F. Corneal sensation after corneal refractive surgery with small incision lenticule extraction. *Optom Vis Sci.* 2013. 90(10): 1040-1047.
5. Ghoreishi M., Naderi Beni A., Naderi Beni Z. Visual outcomes of Femto-LASIK for correction of residual refractive error after corneal graft. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2013. 251(11): 2601-2608.
6. Glantz S.A. *Primer of Biostatistics.* McGRAW-HILL. Health Professions Division. 1999.
7. Hashemi H., Ghaffari R., Mirafteb M., Asgari S. Femtosecond laser-assisted LASIK versus PRK for high myopia: comparison of 18-month visual acuity and quality. *Int Ophthalmol.* 2017. 37(4): 995-1001.
8. Ivarsen A., Asp S., Hjortdal J. Safety and complications of more than 1500 small-incision lenticule extraction procedures. *Ophthalmology.* 2014. 121(4): 822-828.
9. Jin Y., Wang Y., Xu L., Zuo T., Li H., Dou R., Zhang J. Comparison of the Optical Quality between Small Incision Lenticule Extraction and Femtosecond Laser LASIK. *J Ophthalmol.* 2016. 2016: 2507973.
10. Liu Y.C., Teo E.P., Lwin N.C., Yam G.H., Mehta J.S. Early corneal wound healing and inflammatory responses after SMILE: comparison of the effects of different refractive corrections and surgical experiences. *Journal of Refractive Surgery.* 2016. 32(5): 346-353.

11. Pahlitzsch T., Pahlitzsch M.L., Sumarni U., Pahlitzsch M. LenSx® femto-LASIK, FEMTO LDV Z4® femto-LASIK, and PRK : Comparison of refractive results and an analysis of complications. *Ophthalmologie*. 2017. 30: 98-104.
12. Pietilä J., Huhtala A., Mäkinen P., Uusitalo H. Laser in situ keratomileusis enhancements with the Ziemer FEMTO LDV femtosecond laser following previous LASIK treatments. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2013. 251(2): 597-602.
13. Sekundo W., Kunert K. S., Blum M. Small incision corneal refractive surgery using the small incision lenticule extraction (SMILE) procedure for the correction of myopia and myopic astigmatism: results of a 6 month prospective study. *British Journal of Ophthalmology*. 2011. 95(3): 335-339.
14. Shah R., Shah S., Sengupta S. Results of small incision lenticule extraction: all-in-one femtosecond laser refractive surgery. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 2011. 37(1): 127-137.
15. Vestergaard A., Ivarsen A. R., Asp S., Hjortdal J.Ø. Small-incision lenticule extraction for moderate to high myopia: predictability, safety, and patient satisfaction. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*. 2012. 38(11): 2003-2010.
16. Wang Y., Li J., Liu Y., Xie L. Intraocular straylight after thin-flap LASIK with a femtosecond laser versus a mechanical microkeratome. *Journal of Refractive Surgery*. 2013. 29(8): 534-539.

## SUMMARY

### LASER CORRECTION OF MYOPIC ASTIGMATISM USING FEMTO LASIK AND RELEX SMILE TECHNOLOGIES - EFFICIENCY AND SAFETY

<sup>1,2</sup>Smagulova A., <sup>2</sup>Ahmedyanova Z.

<sup>1</sup>Corporate Foundation «University Medical Center»; <sup>2</sup>JSC «Medical University of Astana», Republic of Kazakhstan, Georgia

The purpose of the study is a comparative analysis of the efficacy and safety of the Femto LASIK and ReLex SMILE technologies in correcting myopic astigmatism.

Materials and methods: The study included 1212 results of interventions in patients with myopic astigmatism, incl. 721 (59.5%) using ReLex SMILE technology and 491 (40.5%) Femto LASIK technology. Visionometry and refraction investigation were performed at the time of 3, 6, 9, 12 months after the operation, as well as an analysis of the incidence of complications.

Results of the study: As a result of the study, it was determined that in patients with myopic astigmatism, laser correction of refractive error using ReLex SMILE technology gives similar results to Femto LASIK in the presence of a combination of moderate myopia and mild astigmatism. With medium-level astigmatism, the clinical results of Femto LASIK decrease (the difference in this category of patients after 1 week was 12.7% (p=0.04), they were also significant after 3 months (11.9%, p=0.042) and 9 months (8.9%, p=0.048)), which, nevertheless, remain quite satisfactory.

The use of the ReLex SMILE technique provides a significant reduction in the number of complications of laser correction of refractive errors, with both light astigmatism (3.2 times) and more pronounced violations (2.6 times). Significant differences were revealed in the frequency of dry eye syndrome (4.7 times,  $\chi^2=23.22$ , p=0.001), hypercorrection 14.3 times ( $\chi^2 = 34.52$ , p < 0.001) in favor of the ReLex SMILE technique.

**Keywords:** myopic astigmatism; laser correction; Femto LASIK; ReLex SMILE.

## РЕЗЮМЕ

### ЛАЗЕРНАЯ КОРРЕКЦИЯ МИОПИЧЕСКОГО АСТИГМАТИЗМА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИЙ FEMTO LASIK И RELEX SMILE – ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ

<sup>1,2</sup>Смагулова А.Ш., <sup>2</sup>Ахмедьянова З.У.

<sup>1</sup>Корпоративный фонд «University Medical Center»; <sup>2</sup>АО «Медицинский университет Астана», Республика Казахстан

Цель исследования – сравнительный анализ эффективности и безопасности технологий Femto LASIK и ReLex SMILE при коррекции миопического астигматизма.

Проанализированы результаты 1212 вмешательств у пациентов с миопическим астигматизмом, в т.ч. 721 (59,5%) с использованием технологии ReLex SMILE и 491 (40,5%) – Femto LASIK. Осуществлялась визиометрия и определение рефракции в сроках 3, 6, 9, 12 месяцев после операции, а также анализ частоты осложнений.

В результате исследования определено, что у больных с миопическим астигматизмом проведение лазерной коррекции нарушения рефракции с использованием технологии ReLex SMILE дает аналогичные Femto LASIK результаты при наличии сочетания миопии средней степени и легкой степени астигматизма. При астигматизме средней степени наблюдается снижение клинических результатов Femto LASIK (различия в этой категории пациентов спустя 1 неделю составили 12,7% (p=0,04), значимыми они были также спустя 3 (11,9%, p=0,042) и 9 месяцев (8,9%, p=0,048)), которые, тем не менее, остаются вполне удовлетворительными.

Применение методики ReLex SMILE обеспечивает значительное снижение числа осложнений лазерной коррекции аномалий рефракции как при легком астигматизме (в 3,2 раза), так и при более выраженных нарушениях (в 2,6 раза). Значимые различия выявлены по частоте синдрома сухого глаза - в 4,7 раза ( $\chi^2=23,22$ , p=0,001), гиперкоррекции – в 14,3 раза ( $\chi^2=34,52$ , p<0,001) в пользу методики ReLex SMILE.

## სრეზიუმე

მიოპიური ასტეგმატიზმის ღაზერული კორექცია Femto LASIK-ის და ReLex SMILE ტექნოლოგიების გამოყენებით - ეფექტურობა და უსაფრთხოება

<sup>1,2</sup>ა. სამაგულოვა, <sup>2</sup>ზ. ახმედიაანოვა

<sup>1</sup>კორპორაციული ფონდი "University Medical Center"; <sup>2</sup>აკციონერული საზოგადოება "ასტანას სამედიცინო უნივერსიტეტი", ყაზახეთის რესპუბლიკა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა Femto LASIK-ის და ReLex SMILE ტექნოლოგიების შედარებითი შეფასება მიოპიური ასტეგმატიზმის კორექციის საკითხში.

კვლევა მოიცავს მიოპიური ასტეგმატიზმისპაციენტების მკურნალობის 1212 შემთხვევის შედეგებს, მათ რიცხვში 721 (59,5%) ReLex SMILE-ით და 491 (40,5%) - Femto LASIK-ით. ჩაატარებული იყო ვიზომეტრია და

რეფრაქციის განსაზღვრა ოპერაციის შაბარებიდან 3,6,9,12 თვის შემდეგ, აგრეთვე, გართულებათა სისშირის და მიზეზის ანალიზი.

კვლევის მსვლელობაში გამოვლინდა, რომ თუ თანხლებათა წარმოდგენილი საშუალო ხარისხის მიოპია მსუბუქი ხარისხის ასტიგმატიზმთან, ასეთ შემთხვევაში ორივე ზემომოყვანილი ტექნოლოგიის გამოყენება მიოპიური ასტიგმატიზმის დროს იძლევა ერთნაირ შედეგებს. საშუალო ხარისხის ასტიგმატიზმის დროს აღინიშნება Femto LASIK-ის კლინიკური შედეგების მაჩვენებლების დაქვეითება. განსხვავებამ ამ კატეგორიის პაციენტებში ერთი კვირის შემდეგ შეადგინა

12,7% ( $p=0,04$ ), ასევე მნიშვნელოვანი იყო ეს დაქვეითება 3 თვის შემდეგ - 11,9% ( $p=0,42$ ) და 9 თვის შემდეგ - 8,9% ( $p=0,048$ ). ყველა არის დამაკმაყოფილებელი.

Femto LASIK-ის და ReLEx SMILE მეთოდების გამოყენება უზრუნველყოფა რეფრაქციის ანომალიების ლაზერული კორექციის გართულებათა რიცხვის მნიშვნელოვან შემცირებას, როგორც მსუბუქი ასტიგმატიზმის (3,2-ჯერ), ასევე გამოზატული დარღვევების დროს (2,6-ჯერ). მნიშვნელოვანი გასხვავება გამოვლინდა მშრალი თვალის სინდრომის სისშირეში - 4,7-ჯერ ( $\chi^2=23,22$ ,  $p=0,001$ ), ჰიპერკორექციის შემთხვევაში - ( $\chi^2=34,52$ ,  $p<0,001$ ) ReLEx SMILE მეთოდის სასარგებლოდ.

## РОЛЬ ИНСУЛИНА В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ ТИПА 2

Сафарова С.С.

*Азербайджанский медицинский университет, кафедра внутренних болезней III, Баку, Азербайджан*

Многочисленные доказательства подтверждают связь между сахарным диабетом типа 2 (СД2) и повышенным риском низкотравматических переломов на фоне высокой минеральной плотности костной ткани (МПК). Нарушение обменных процессов в костной ткани у больных сахарным диабетом, по всей вероятности, вызвано непосредственным воздействием дефицита инсулина или/и гипергликемией на кость, накоплением конечных продуктов гликирования в костном органическом матриксе, нарушающих синтез костного коллагена, производством воспалительных цитокинов, адипокинов и их повреждающим воздействием на клетки кости и нарушением нервно-мышечной регуляции [1].

Поскольку риск перелома в 1,5-2 раза выше в сравнении со здоровой популяцией и не зависит от снижения минеральной плотности кости, ухудшение качества костной ткани может быть основной причиной ее хрупкости. Данные свидетельствуют, что ряд показателей являются более информативными в плане прогнозирования риска низкотравматических переломов, наблюдаемых у пациентов с диабетом, и измерение МПК, по существу, не отражает реальной тенденции развития нарушений ремоделирования кости у пациентов с диабетом типа 2. Вышеизложенное определяет необходимость разработки усовершенствованных методов оценки свойств кости для уточнения стратификационных критериев риска.

Цель исследования - выявление взаимосвязей между минеральным, органическим компонентом кости и риском развития переломов под воздействием метаболических изменений, связанных с сахарным диабетом типа 2.

**Материал и методы.** Проведено поперечное исследование 137 пациентов с СД2 (женщин - 85, мужчин - 52), у которых ранее не диагностированы расстройства костного метаболизма и остеопороз. Возраст обследованных пациентов составил 40-70 лет ( $58,4\pm 0,9$  лет), длительность диабета -  $8,1\pm 0,7$  лет. У всех обследуемых собирали анамнез, вычисляли индекс массы тела (ИМТ) в  $\text{кг}/\text{м}^2$  ( $30,0\pm 0,3$   $\text{кг}/\text{м}^2$ ), однократно определяли среднее значение гликозилированного гемоглобина (HbA1c) крови -  $7,5\pm 0,2\%$ . Контрольную группу составили 82 пациента (48 женщин и 34 мужчин,  $55,9\pm 0,9$  лет) без СД в анамнезе.

Критерии исключения: лица, ранее лечившиеся по поводу остеопороза или имевшие в анамнезе перелом, заболевания эндокринной системы, печени и почек недиабетической природы, диабетическую нефропатию IV-V стадии.

Всем пациентам проводили двухэнергетическую рентгеновскую абсорбциометрию (Dual-energy X-ray Absorptiometry - DXA) (Денситометр DXA, HOLOGIC, модель Discovery QDR 4500A, USA) поясничного отдела позвоночника (L1-L4) и области проксимального отдела и шейки бедренной кости. МПК по ВОЗ критериям, применяемым в диагностике, расценивался как остеопороз (Т-критерий  $\leq 2.5$  SD), остеопения (Т-критерий от -1 до -2,5 SD) и нормальный (Т-критерий  $> -1$ ).

Параметры фосфорно-кальциевого обмена оценивались по концентрации ионизированного кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ) по методу комплекса крезолфталейна и неорганического фосфора (P) методом уменьшения фосфоромолибдата в сыворотке крови с помощью биохимического анализатора «COBAS INTEGRA 400/700/800» (Швейцария). Оценку уровня инсулина, С-пептида, паратиреоидного гормона (PTH), кальцитонина (CT) и витамина  $\text{D}_3$  в крови проводили ферментосвязывающим абсорбентным методом (ELISA) с использованием тест-набора фирмы «Cis Bio International». Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) высчитывали по формуле СКД-ЕРІ. Для оценки резистентности к инсулину рассчитывался индекс HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) [2]. О состоянии формирования костной ткани судили по активности общей щелочной фосфатазы (ALP) и содержанию аминотерминального пропептида проколлагена I типа (PINP) в сыворотке крови, а об уровне резорбции костной ткани - по содержанию С-терминального телопептида (b-CTx). Исследование костных маркеров проводили на автоматическом электро-хемиллюминесцентном анализаторе «COBAS e41» (Швейцария) с использованием реагентов «Roche Diagnostics» (Германия).

Анализ полученных данных проводили с использованием методов вариационно-математической статистики программы «BioStat Pro 6.2.2.0». Статистическую значимость разли-

Таблица. Характеристика пациентов с СД2 и контрольной группы, среднее  $\pm$  ошибка среднего ( $M \pm m$ ) и 95%ДИ

Показатели	СД 2 типа, n= 137	Контрольная группа, n= 82
мужчин/женщин	52/85	39/43
<b>Клинико-anamnestические данные</b>		
Возраст, лет	58,4 $\pm$ 0,56 (57,3-59,6)	55,9 $\pm$ 0,87 (54,2-57,7)
Длительность диабета, лет	8,1 $\pm$ 0,42 (7,2-8,9)	-
Рост, см	163,3 $\pm$ 0,64 (162,1-164,6)	165,8 $\pm$ 0,74 (164,4-167,3)
Масса тела, кг	80,1 $\pm$ 0,97 (78,2-82,1)	79,3 $\pm$ 1,26 (76,8-81,8)
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	30,02 $\pm$ 0,31 (29,4-30,6)	28,7 $\pm$ 0,37 (27,9-29,5)
<b>Лабораторные данные</b>		
НbA1c, %	7,5 $\pm$ 0,16 (7,2-7,8)	4,9 $\pm$ 0,06 (4,7-5,0)
tCa, мг/дл	9,4 $\pm$ 0,05 (9,3-9,5)	9,5 $\pm$ 0,05 (9,4-9,6)
Ca <sup>2+</sup> , ммоль/л	1,07 $\pm$ 0,01 (1,04-1,08)	1,13 $\pm$ 0,01 (1,11-1,15)
P неорг., ммоль/л	5,0 $\pm$ 0,08 (4,8-5,2)	5,1 $\pm$ 0,09 (4,9-5,2)
СКФ, мл/мин на 1,73 м <sup>2</sup>	88,5 $\pm$ 1,52 (85,4-91,5)	95,2 $\pm$ 1,71 (91,8-98,6)
PTH, пг/мл	51,7 $\pm$ 1,44 (48,8-54,6)	45,1 $\pm$ 2,33 (40,2-49,8)
витамин D <sub>3</sub> , нг/мл	25,1 $\pm$ 1,08 (22,9-27,2)	30,41 $\pm$ 1,72 (26,95-33,86)
C-пептид	4,3 $\pm$ 0,26 (3,7-4,8)	3,5 $\pm$ 0,15 (3,1-3,8)
НОМА-IR	8,6 $\pm$ 0,52 (7,5-9,6)	2,8 $\pm$ 0,18 (2,4-3,1)
ALP, МЕ/л	122,2 $\pm$ 3,01 (116,2-128,1)	123,5 $\pm$ 4,88 (113,8-133,2)
P1NP, нг/мл	42,08 $\pm$ 1,15 (39,8-44,3)	47,09 $\pm$ 2,14 (42,82-51,35)
$\beta$ -CrossLaps, пг/мл	0,495 $\pm$ 0,02 (0,456-0,533)	0,424 $\pm$ 0,02 (0,383-0,466)
<b>Инструментальные данные</b>		
T-критерий МПК (LI-LIV)	-1,08 $\pm$ 0,12 (-1,3; -0,8)	-0,73 $\pm$ 0,19 (-1,1; -0,3)
Z-критерий МПК (LI-LIV)	-0,03 $\pm$ 0,14 (-0,3; 0,2)	0,27 $\pm$ 0,18 (-0,08; 0,6)
T-критерий МПК (ШБ)	-1,12 $\pm$ 0,12 (-1,3; -0,8)	-0,64 $\pm$ 0,18 (-1,0; -0,2)
Z-критерий МПК (ШБ)	0,02 $\pm$ 0,12 (-0,2; 0,3)	0,22 $\pm$ 0,17 (-0,1; 0,5)

чий параметров определяли по критерию U Манна-Уитни. Значения считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Для исследования зависимостей между параметрами применяли корреляционный анализ по Спирмену ( $r$ ).

**Результаты и их обсуждение.** В таблице 1 представлена характеристика включенных в исследование пациентов.

По данным анализа результатов исследования динамика инсулинемии у пациентов с СД2 характеризовалась увеличением инсулинового ответа (НОМА IR – 8,6 $\pm$ 0,52). Средние значения сывороточного HbA1c были в пределах нормы: для всей группы обследованных пациентов – 7,5 $\pm$ 0,16% (7,2-7,8). У пациентов с СД2 уровень PTH в сыворотке был связан с показателем резистентности к инсулину – индексом НОМА-IR, на что указывает коэффициент ранговой корреляции  $r = -0,273$ ,  $p = 0,01$ . PTH может влиять на высвобождение инсулина поджелудочной железой, действуя на метаболизм инсулина и глюкозы. Так, при повышении концентрации PTH наблюдается увеличение уровня глюкозы в плазме [3]. По-видимому, возникает реципрокная взаимосвязь между секрецией PTH и влиянием на метаболизм глюкозы и кальция, что проявляется их модулирующим действием на секрецию инсулина и глюкагона. В условиях гипокальциемии секреция PTH усиливается, что, в свою очередь, увеличивает уровень кальция в сыворотке крови, вследствие чего увеличивается секреция инсулина клетками поджелудочной

железы. Установлено, что гиперкальцемия и увеличение концентрации межклеточных Ca<sup>2+</sup> играют значимую роль в секреции инсулина клетками поджелудочной железы [4]. Таким образом, PTH действует как агонист инсулина. Взаимосвязь между кальций-регулирующими гормонами, островковым аппаратом поджелудочной железы и гомеостазом кальция и глюкозы происходит с помощью механизмов обратной связи [5].

При СД типа 2 значения P1NP статистически значимо не отличались от значений группы контроля ( $p > 0,05$ ). Однако, выявлена тенденция к статистически достоверному повышению значений P1NP у мужчин с длительностью течения СД2 менее 10 лет в сравнении с женщинами данной группы ( $p < 0,05$ ), что согласуется с данными ряда авторов и предположительно связано с резистентностью к инсулину [4-6]. Так, развивающаяся на фоне гиперинсулинемии резистентность к инсулину, в том числе и остеобласт-специфических рецепторов к инсулину, ведет к нарушению дифференциации остеобластов и уменьшению образования трабекулярной кости. Другим фактором, отрицательно влияющим на ремоделирование кости, является снижение притока крови к костной ткани [7].

Корреляционный анализ в изучаемых группах выявил более высокий ИМТ у лиц с низким значением сывороточного b-СТх, что описано ранее и в ряде других исследований [8]. У пациентов с СД2 значимые корреляции



наблюдались между b-СТх и значением ИМТ ( $r=-0,163$ ,  $p=0,04$ ), концентрацией инсулина ( $r=-0,210$ ,  $p=0,02$ ), С-пептидом ( $r=-0,402$ ,  $p=0,001$ ) и индексом НОМА-IR ( $r=-0,191$ ,  $p=0,04$ ). Также, у больных СД2 с длительностью заболевания до 10 лет уровень P1NP был слабо, однако статистически достоверно связан с индексом НОМА-IR, коэффициентом ранговой корреляции  $r=0,217$ ,  $p=0,05$ . Биохимические маркеры костного ремоделирования при ожирении ниже, чем у лиц с нормальным весом [9], однако разница в значениях маркеров резорбции несколько больше, чем таковая маркеров формирования. Это приводит к более высокому риску перелома кости при ожирении, связанному с тем, что провоспалительные цитокины из висцерального жира, такие как интерлейкин-6 (IL-6) и фактор некроза опухоли альфа (TNF- $\alpha$ ), увеличивают резорбцию кости, поэтому могут оказывать отрицательное воздействие на МПК [10].

Полученные результаты показали, что уровень HbA1c у пациентов с диабетом имеет отрицательную корреляцию с маркером формирования кости P1NP ( $r=-0,254$ ,  $p=0,01$ ). Отрицательная связь P1NP с HbA1c свидетельствует, что образование костной ткани нарушается высоким уровнем глюкозы в крови; соответственно, лица с СД при неудовлетворительном гликемическом контроле имеют больший риск низкотравматических переломов [11]. Исследования выявили, что значения P1NP связаны с толерантностью к глюкозе и секрецией инсулина, хотя механизмы до конца не выяснены [10].

У пациентов с СД2 выявлена корреляция между изменением Т-критерия, измеренного в области поясничного отдела позвоночника и С-пептидом:  $r=0,346$ ,  $p=0,02$ . Кроме того, выявлена положительная связь между индексом массы тела и минеральной плотностью кости, особенно ясно выраженная при длительности основного заболевания менее 10 лет. Так, при СД2 между изменением Т-критерия, измеренного в области шейки бедренной кости и ИМТ выявлена достоверная зависимость:  $r=0,310$ ,  $p=0,02$ ; а также, с индексом НОМА-IR:  $r=0,293$ ,  $p=0,04$ . У мужчин с СД2 выявлена значимая связь между Т-критерием, измеренным в области L1-L4 и ИМТ:  $r=0,314$ ,  $p=0,04$ . Наличие положительной связи между ИМТ и минеральной плотностью кости подтверждают и данные других авторов [12], это свидетельствует о том, что МПК, определяемое с помощью DXA, выше у лиц с ожирением, так как более высокий ИМТ и толщина мягких тканей обуславливают ошибку в измерениях DXA [9]. Однако, при СД2 не выявлено корреляции по показателю ИМТ и Т-критерию МПК, измеренному в области шейки бедренной кости, что свидетельствует о разной чувствительности различных участков к метаболическим изменениям, поскольку кортикальная и губчатая кость могут по-разному реагировать на инсулин, глюкозу, ИМТ и паратиреоидный гормон [8]. Кроме того, избыточный вес связан с замедленной потерей массы костной ткани в менопаузе [11], что согласуется с тенденцией к положительному балансу кости у женщин при ожирении.

Меньшие значения МПК, измеренного в области L1-L4, и снижение метаболизма костной ткани по результатам анализа костных маркеров, проявляющихся торможением процессов формирования кости - P1NP, могут быть вызваны инсулинорезистентностью на ранних стадиях СД2 ( $r=0,255$ ,  $p=0,02$ ) и инсулинопенией при длительном течении СД2, а также гипергликемией [12]. Однако, в связи

с тем, что состояние гликемического профиля является весьма динамическим показателем, корреляционная связь между уровнем HbA1c и снижением Т-критерия МПК не выявлена, что согласуется с результатами других авторов [9]. Сопоставление данных Т-критерия поясничного отдела позвоночника с уровнем b-СТХ у пациентов с СД2 выявило достоверную связь между этими показателями ( $r=-0,231$ ,  $p=0,02$ ). В результате исследования выявлена связь Z-критерия поясничного отдела позвоночника с уровнем b-СТХ у пациентов с СД2 ( $r=-0,227$ ,  $p=0,02$ ). У женщин с СД2 в менопаузе значимой зависимости по указанным параметрам не выявлено. Однако, в подгруппе женщин постменопаузального периода с СД2 выявлена достоверная зависимость по изучаемым параметрам ( $r=-0,302$ ,  $p=0,04$ ), что указывает на необходимость учитывать физиологическое снижение минеральной плотности костной ткани после 45 лет. Также, в подгруппе женщин выявлена корреляция этих значений по Z-критерию ( $r=-0,365$ ,  $p=0,01$ ), подчеркивающая связь между данными показателями, а значит и связь с остеопорозом в исследуемой группе.

Проведенное исследование является попыткой указать на значение сывороточного инсулина как возможного маркера ремоделирования кости у больных СД2. Значимым является также тот факт, что маркеры костного ремоделирования рассмотрены как наиболее информативные маркеры оценки сложного влияния инсулина на метаболизм кости в современной клинической практике, независимо от типа нарушений его секреции (имеется ввиду стадия гиперинсулинемии /инсулинорезистентности или относительной секреторной недостаточности при СД2) [11]. У больных сахарным диабетом типа 2 изменения минеральной плотности костной ткани, выявленные только в 16% случаев, соответствовали остеопорозу, однако значительно чаще отмечалась остеопения. При сахарном диабете уровень маркеров резорбции кости более высокий, чем среди лиц без СД, однако механизм, лежащий в основе этого процесса, недостаточно изучен [12].

**Выводы.** В результате проведенного исследования выявлено, что повышенная резистентность к инсулину и/или гиперинсулинемия, по всей вероятности, влияют на анаболический ответ костной ткани, нарушая прочность кости. Выявлено, что ожирение и гиперинсулинемия не могут быть факторами, защищающими кость, что подтверждает данные, указывающие на значимость измерения маркеров костного ремоделирования в сочетании с минеральной плотностью кости при оценке и прогнозировании риска переломов. Необходимо проведение дальнейших исследований с целью выявления патофизиологических механизмов, с помощью которых резистентность к инсулину может отрицательно влиять на костный метаболизм.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Farr J. N., Khosla S. Determinants of bone strength and quality in diabetes mellitus in humans. *Bone*. 2016; 82: 28–34.
2. Kahn S.E. The relative contributions of insulin resistance and  $\beta$ -cell dysfunction to the pathophysiology of type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2005; 48: 3-19.
3. Premaor MO, Comim FV, Compston JE. Obesity and fractures. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014; 58: 470–477.
4. Moisa S.S., Nozdrachev A.D. Calcitonin and parathyroid are glucoregulating hormones. *J Mol Genet Med*, 2014, S1:024.

5. Chang, E., Donkin, S. S., & Teegarden, D. (2009). Parathyroid hormone suppresses insulin signaling in adipocytes. *Molecular and cellular endocrinology*, 307(1-2), 77-82.
6. Hewston P., Deshpande N. Falls and balance impairments in older adults with type 2 diabetes: thinking beyond diabetic peripheral neuropathy. *Can. J. Diabetes*. 2016; 40: 6-9.
7. Riddle RC, Clemens TL. Insulin, osteoblasts, and energy metabolism: why bone counts calories. *J Clin Invest*. 2014; 124: 1465-1467.
8. Manavalan, J. S. et al. Circulating osteogenic precursor cells in type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2012; 97: 3240-3250.
9. Pramojanee S. N., Phimphilai M., Chattipakorn N., and Chattipakorn S. C. Possible roles of insulin signaling in osteoblasts. *Endocrine Research*. 2014; 39 (4): 144-151.
10. Bredella MA, Gill CM, Gerweck AV, Landa MG, Kumar V, Daley SM, et al. Ectopic and serum lipid levels are positively associated with bone marrow fat in obesity. *Radiology*. 2013; 269: 534-541.
11. Russell M, Mendes N, Miller KK, Rosen CJ, Lee H, Klibanski A, et al. Visceral fat is a negative predictor of bone density measures in obese adolescent girls. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; 95: 1247-1255.
12. Starup-Linde, J., Vestergaard, P. Biochemical bone turnover markers in diabetes mellitus — a systematic review. *Bone*. 2016; 82: 69-78.

## SUMMARY

### THE ROLE OF INSULIN IN THE ASSESSMENT OF BONE HEALTH IN TYPE 2 DIABETES

Safarova S.

*Azerbaijan Medical University, Department of Internal Diseases III, Baku, Azerbaijan*

The purpose of this study was to identify complex relationships between the mineral, organic component of bone and the risk of fractures under the influence of metabolic changes associated with type 2 diabetes.

A cross-sectional study of patients diagnosed with T2DM (n=96) was conducted; control group, consisted of 82 individuals. All patients were studied calcitropic hormones, serum bone remodeling markers and bone mineral density with (DXA).

In the course of this study, there was a correlation between serum insulin levels, bone metabolism markers and bone mass density determined by lumbar DXA in patients with type 2 diabetes. This allows us to believe that the presence of type 2 diabetes mellitus aggravates the disturbances of bone remodeling, thereby contributing to the development of osteoporosis.

This study found that increased insulin resistance and/or hyperinsulinemia may affect the anabolic response of bone tissue, adversely affecting bone strength. Study suggests that obesity and hyperinsulinemia not be bone-protective factors, which complements the growing body of evidence that points to the importance of measuring bone remodeling markers in combination with bone mineral density in assessing and predicting the risk of fractures. Further studies are needed to determine the pathophysiological mechanisms by which insulin resistance can adversely affect bone metabolism.

**Keywords:** diabetes mellitus, insulin, bone remodeling.

## РЕЗЮМЕ

### РОЛЬ ИНСУЛИНА В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ ТИПА 2

Сафарова С.С.

*Азербайджанский медицинский университет, кафедра внутренних болезней III, Баку, Азербайджан*

Цель данного исследования - выявление взаимосвязи между минеральным, органическим компонентом кости и риском развития переломов под влиянием метаболических изменений, связанных с диабетом типа 2.

Проведено поперечное исследование пациентов с сахарным диабетом типа (СД2) (n=137); группа контроля состояла из 82 лиц. У всех пациентов изучены кальцитропные гормоны, сывороточные маркеры костного ремоделирования и минеральная плотность кости с помощью двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DXA).

В ходе исследования выявлена корреляция между уровнем сывороточного инсулина, маркерами костного метаболизма и плотностью костной массы, определяемой при поясничной DXA у пациентов с СД2. Это позволяет предполагать, что наличие сахарного диабета типа 2 в анамнезе усугубляет нарушения костного ремоделирования, способствуя развитию остеопороза.

В ходе данного исследования выявлено, что повышенная резистентность к инсулину и/или гиперинсулинемия могут влиять на анаболический ответ костной ткани, нарушая ее прочность. Данное исследование свидетельствует о том, что ожирение и гиперинсулинемия не являются факторами, защищающими кость, что указывает на значимость измерения маркеров костного ремоделирования в сочетании с минеральной плотностью кости при оценке и прогнозировании риска переломов. Необходимо проведение дальнейших исследований с целью выявления патофизиологических механизмов, с помощью которых резистентность к инсулину может отрицательно влиять на костный метаболизм.

## რეზიუმე

ინსულინის როლი ძვლის ჯანმრთელობის შეფასებაში ავადმყოფებში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით

ს. საფაროვა

*აზერბაიჯანის სამედიცინო უნივერსიტეტი, შინაგან დაავადებათა დეპარტამენტი III*

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ძვლის მინერალური, ორგანული კომპონენტისა და მოტეხილობის რისკებს შორის კომპლექსური ურთიერთობების იდენტიფიცირება მეტაბოლური ცვლილებების გავლენით შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის პირობებში.

T2DM (n=96) დიაგნოზირებული პაციენტების ჯვარედინალური კვლევა; საკონტროლო ჯგუფი შედგებოდა 82 პირისგან. ყველა პაციენტი შეისწავლა კალციტროპული ჰორმონები, შრატის ძვლის რემოდელირების მარკერები და ძვლის მინერალური სიმკვრივე [DXA].

ამ კვლევის დროს იყო შრატის ინსულინის დონის კორელაცია, ძვლის მეტაბოლიზმის მარკერები და ძვლის მასის სიმკვრივე თირკმლის DXA-ის მიერ 2 ტი-

პის დიაბეტის მქონე პაციენტებში. ეს საშუალებას გვაძლევს დავრწმუნდეთ, რომ 2 ტიპის დიაბეტის არსებობა აძლიერებს ძვლის რემოდელირების დარღვევებს, რაც ხელს უწყობს ოსტეოპოროზის განვითარებას.

ეს კვლევამ აჩვენა, რომ გაზრდილი ინსულინის რეზისტენტობა და/ან ჰიპერინსულინემია შეიძლება გავლენა იქონიოს ძვლის ქსოვილის ანაბოლურ რეაქციაში, რაც ძლიერ ზეგავლენას ახდენს ძვლის ძალაზე. შესწავლა გვიჩვენებს, რომ სიმსუქნე და ჰიპერინსულინემია

არ არის ძვლის დამცავი ფაქტორები, რაც ავსებს მტკიცებულების მზარდი ორგანოს, რომელიც აღნიშნავს ძვლოვანი რემოდელირების მარკერების გაზომვის მნიშვნელობას ძვლების მინერალური სიმკვრივის კომბინაციაში მოტეხილობების რისკის შეფასების და პროგნოზირებისას. შემდგომი კვლევები საჭიროა პათოფიზიოლოგიური მექანიზმების დადგენისთვის, რომლის საშუალებითაც ინსულინის წინააღმდეგობა შეიძლება უარყოფითად იმოქმედოს ძვლის მეტაბოლიზმზე.

## AN ALGORITHM FOR PROGNOSIS OF RECURRENT MYOCARDIAL INFARCTION IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS FOLLOWING DETERMINATION OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION MARKERS

Minukhina D., Babadzhani V., Minukhin D., Krasnoyaruszhkiy A., Yevtushenko D.

*Kharkiv National Medical University, Ukraine*

Acute myocardial infarction (AMI), as one of the most common forms of ischemic heart disease (IHD), continues to occupy one of the leading places among causes of mortality. Diabetes mellitus (DM) is one of the risk factors for AMI, which can complicate the course of AMI [9].

Some indices of endothelial dysfunction, which have a key role in the development of adverse cardiovascular events, are associated with high risk of cardiovascular complications, which determines the relevance of the study of the relationship between markers of endothelial dysfunction as predictors of their occurrence [8]. Diabetes mellitus is one of the most dangerous risk factors for AMI, which can complicate its course [4]. Endothelial vasodilator system dysfunction, which is accompanied by lower levels of nitric oxide (NO), is a typical sign in patients at risk for coronary artery disease, so coronary vasodilator dysfunction may involve prolonged progression of atherosclerosis and cardiovascular events [1,5]. A recent meta-analysis by Xuan C. et al., which included 4713 participants, demonstrated that an increase in the level of asymmetric dimethylarginine (ADMA), which is a competitive nitrogen oxide inhibitor, is associated with an increased risk of IHD [12]. The high risk of vascular catastrophes is a motive for the study of pathogenic mechanisms of thrombotic formation in type 2 diabetes. Type 1 plasminogen activator inhibitor (PAI-1) is known to be a member of the superfamily of serine protease inhibitors and the main fibrinolysis inhibitor in the plasminogen activator system [3]. A high concentration of PAI-1 plays a key role in the pathogenesis of arterial and venous thrombosis and contributes to thrombotic events [10]. There is evidence that this marker is used as a predictor of mortality due to cardiovascular failure [2].

The purpose of this study was to elaborate a mathematical model for prediction of the development of recurrent myocardial infarction in patients who had acute myocardial infarction with concomitant type 2 diabetes mellitus.

**Material and methods.** The study included 73 patients with AMI and concomitant type 2 DM (among them 43 men and 30 women, mean age  $62.73 \pm 1.39$  years). Control group comprised 20 practically healthy persons (including 10 men and 10 women, mean age  $60.85 \pm 1.37$  years).

The patients were divided into clusters using hierarchi-

cal cluster analysis: Cluster 1 (20 patients, mean age  $62.0 \pm 2.4$  years), Cluster 2 (53 patients, mean age  $63.0 \pm 1.7$  years).

AMI was diagnosed according to the Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 455 as of 02.07.2014 "Unified clinical protocol for emergency, primary, secondary (specialized) and tertiary (highly specialized) medical care and medical rehabilitation of patients with acute coronary syndrome with ST segment elevation, based on clinical, electrocardiographic and biochemical criteria" [11].

Quantitative PAI-1 content was determined by immunoassay method using a commercial test system manufactured by Technoclone PAI-1 ELISA Kit (Austria) on the 1<sup>st</sup> day of myocardial infarction. Biochemical study included determination of total cholesterol (TC) and high-density lipoprotein (HDL), low (LDL) and very low density (VLDL), carried out by peroxidase method using "Cholesterol Liquicolor" reagent kit manufactured by "Human" (Germany) in blood serum stabilized by heparin. The level of triglycerides (TG) was determined by enzymatic colorimetric method using "Triglycerides GPO" reagent kit manufactured by "Human" (Germany). Determination of glycosylated hemoglobin was carried out by high-speed chromatography using automatic analyzer Adams A1c according to the generally accepted method. Determination of blood insulin levels was performed using a commercial test system manufactured by DRG Instruments GmbH (Germany).

All the patients underwent one- and two-dimensional echocardiography (EchoCG) using ultrasound device "Radmir" T1228A (Kharkiv, Ukraine).

Statistical processing of the results of the study was conducted using Statistica 6.0 software. The relationship between the signs was determined by calculating the nonparametric Pearson  $\chi^2$  criterion. The results were considered significant at  $p < 0.05$ . Correlation analysis (correspondent analysis) was used to visualize the relationship between the event (recurrent infarction) and markers (PAI-1, ADMA, creatinine phosphokinase, end-diastolic value (EDV)), which allows us to provide frequency tables in the form of distances between variables in a space of lower dimension, reflecting the level of interconnection between the indices: the closer the arrangement of signs to each other, the closer the connection [6].

**Results and heir discussion.** At the first stage of the study the patients were distributed to the clusters according to the severity of the disease (Table 1). Cluster 2 patients, in comparison with Cluster 1, had significantly higher indices of atherogenic fractions of lipid (total cholesterol, low density lipoprotein cholesterol, very low density lipoprotein cholesterol), carbohydrate metabolism (glucose, glycosylated hemoglobin, insulin), levels of markers of endothelial dysfunction and thrombi formation (ADMA, PAI-1), creatinine phosphokinase and much lower

ejection fraction, indicating progression of atherogenic changes in vascular intima and severe degree of insulin resistance in these patients ( $p < 0.05$ ).

In addition, the percentage of patients with recurrent infarction in Cluster 2 was 77.3% (41/53), while in Cluster 1 only 15% (3/20). Therefore, Cluster 2 can also be called a high-risk group for recurrent myocardial infarction (and other complications), which, of course, is associated with the severity of the course of type 2 diabetes mellitus (Table 2).

Table 1. Levels of PAI-1, ADMA and indices of carbohydrate, lipid metabolism in patients with acute myocardial infarction with type 2 diabetes mellitus according to clusters,  $M \pm m$

Index	M±m		
	Control group (n <sub>0</sub> =20)	Cluster 1 (n <sub>1</sub> =20)	Cluster 2 (n <sub>2</sub> =53)
Age, years.	60.9±1.4	62.0±2.4	63.0±1.7
ADMA, memol/l	0.465±0.048	0.822±0.074*	1.12±0.03*#
glucose, mmol/l	4.38±0.07	9.34±0.42*	13.93±0.32*#
insulin, mcIU/ml	17.35±1.15	52.61±2.86*	76.26±0.36*#
glycosylated hemoglobin, %	5.17±0.06	8.91±0.22*	12.68±0.29*#
End-systolic diameter, mm	2.4±0.02	4.07±0.14*	4.83±0.06*#
End-dyastolic diameter, mm	3.7±0.02	5.15±0.13*	6.1±0.07*#
End-systolic value, ml	21.5±0.3	77.7±4.2*	110.3±2.5*#
End-dyastolic value, ml	60.6±0.4	145.5±6.3*	177.7±4.7*#
ejection fraction, %	65.6±0.3	51.8±1.2*	39.5±1.2*#
triglycerides, mmol/l	1.87±0.13	1.98±0.14	2.95±0.11*#
TC, mmol/l	4.55±0.12	4.96±0.15*	6.92±0.12*#
LDL cholesterol, mmol/l	2.51±0.17	3.62±0.17*	4.75±0.12*#
VLDL cholesterol, mmol/l	1.36±0.03	1.05±0.06*	2.11±0.08*#
HDL cholesterol, mmol/l	2.46±0.08	1.37±0.06*	0.97±0.04*#
PAI-1, ng/ml	18.64±1.05	46.61±3.19*	69.56±0.33*#
creatinine phosphokinase, U/l	8.83±0.5	245.3±5.4*	319.3±4.9*#

\* - statistically significant ( $p < 0.05$ ) difference from the control group;

# - statistically significant ( $p < 0.05$ ) difference from Cluster 1 (Mann-Whitney criterion)

Table 2. Comparative analysis of cardiovascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus

Index	Cluster 1 (n <sub>1</sub> =20)	Cluster 2 (n <sub>2</sub> =53)	Total number of patients (n=73)
gender: M –	14	29	43
F –	6	24	30
Recurrent myocardial infarction	3 (7%)	40 (93%)	43
Pulmonary edema	0	14 (100%)	14
PATE	0	8 (100%)	8
Atrial fibrillation	1 (14.3%)	6 (85.7%)	7
Ventricular extrasystole	2 (33.3%)	4 (66.7%)	6
Atrioventricular block	0	2 (100%)	2
Ischemic stroke	0	2 (100)	2
Aortic aneurysm	0	1 (100%)	1
Death	0	6 (100%)	6

Thus, the very fact of the patient's affiliation with Cluster 2 indicates (predicts) recurrent infarction with a 75% probability.

The objects were classified into clusters using the classification functions F1 and F2. A patient is assigned to the cluster with greater classification function. For the case of two groups (as in our study) for simplicity, we did not compare F1 and F2, but considered their difference (F1-F2). If (F1-F2) ≥ 0 the object was assigned to Cluster 1. If (F1-F2) < 0 - to Cluster 2.

Fig. shows a discriminant function, which is described by the equation of line: "cholesterol" = 19.5-0.2 "insulin". That is, all points on the diagram below the discriminant line belong to Cluster 1, and above to Cluster 2. Hence the classification rule is reduced to the condition:

$$\Delta F = F_2 - F_1 = \text{cholesterol} + 0.2 \text{insulin} - 19.5 = \begin{cases} \geq 0 - \text{Cluster 2}; \\ < 0 - \text{Cluster 1} \end{cases}$$

where [cholesterol] = mmol/l; [insulin] = mcU/ml.

Patients with type 2 diabetes mellitus (Table 1), assigned to Cluster 2, significantly increased the levels of total cholesterol and insulin, indicating a severe degree of insulin resistance, depletion of endocrine compensatory mechanisms and progression of atherosclerosis (p < 0.05).

Thus, if the calculated value of ΔF for a particular patient is positive, then he should be assigned to Cluster 2. Otherwise, to Cluster 1.

In the second stage of our study, we selected the following threshold values for markers, in which the frequency of the dichotomy indicator significantly differed in groups without and with recurrent infarction and comprised 168.3 ng / ml for PAI, 1.05 mcmol / l for ADMA, 180 ml for EDV, 300 U / l for creatinine phosphokinase.

Recurrent myocardial infarction probability index ("RMIP Index") was calculated for the prediction of recurrent infarction, which is:

$$\text{RMIP index} = 2 \text{ EDV} + \text{ADMA} + \text{PAI-1} + \text{creatinine phosphokinase}$$

Since the predictor dichotomy values take only 0 or 1, the "RMIP Index" can vary from 0 to 5 points. In this case, the inequality will be fulfilled, provided that the "RMIP Index" > 3 (Fig.).

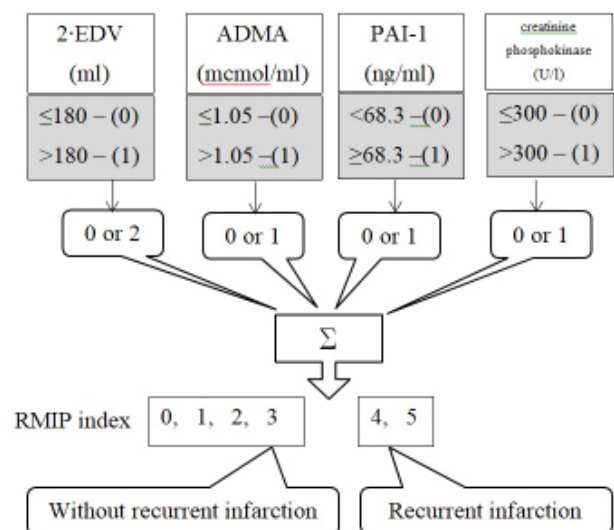


Fig. Algorithm for prediction of recurrent myocardial infarction in patients with type 2 diabetes mellitus

Of the 73 patients with DM-2, 43 persons had recurrent myocardial infarction. Our calculations helped correctly pre-

dict recurrent infarction in 37 patients. Thus, the sensitivity of prognostic method was 84.1% (37/44), and the specificity was 93.1% (27/29). At the same time, the overall prediction accuracy reached 87.7% (64/73).

The elaborated model for recurrent myocardial infarction prognosis in patients with type 2 diabetes mellitus can be used in practical health care institutions with the aim of optimizing the diagnosis of hospital and non-hospital complications of acute myocardial infarction.

**Conclusions.** 1. Patients with acute myocardial infarction and type 2 diabetes mellitus, assigned to Cluster 2, were found to have a significant increase in lipid (total cholesterol, LDL cholesterol, VLDL cholesterol, triglycerides and a decrease in HDL cholesterol) and carbohydrate (glucose, glycosylated hemoglobin, insulin) metabolism in comparison with Cluster 1 patients and control group indicating the progression of atherogenic changes and a severe degree of insulin resistance in these patients (p < 0.05).

2. Increase of ADMA levels by 26.6% and PAI-1 by 33% in patients with type 2 diabetes (Cluster 2) indicate an increase in endothelial dysfunction compared with Cluster 1 patients.

3. Cluster 2 patients with type 2 DM were shown to have recurrent myocardial infarction 13 times more frequent than Cluster 1 patients, indicating high risk of cardiovascular complications.

4. The study allowed us to elaborate a system for predicting recurrent infarction in patients with type 2 diabetes mellitus, involving a group of classifiers based on a discriminant model and a scoring system. Routine indices (insulin, cholesterol, EDV, creatinine phosphokinase) and specific markers (ADMA and PAI-1) were used as predictors.

5. The elaborated system of prediction of recurrent myocardial infarction has a high sensitivity (84.1%) and specificity (93.1%) with a general accuracy of prediction of 87.7%, which allows it to be used in modern clinical practice.

## REFERENCES

1. Король С.В. Шкала оцінки ризику госпітальної летальності STIMUL у пацієнтів з гострим коронарним синдромом з елевацією сегмента ST // Український кардіологічний журнал 2016; 2: 24-28.
2. Уніфікований клінічний протокол екстреної, первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги та медичної реабілітації хворих на гострий коронарний синдром з елевацією сегмента ST: Наказ Міністерства охорони здоров'я України № 455 від 02.07.2014 р. - К., 2014.
3. Кочина М.Л., Нессонова М.Н. Методи оцінки ступеня тяжкості стану пацієнтів // Кибернетика и вычислительная техника 2014; 175: 73-87.
4. Шумаков В.А., Малиновская И.Е., Терешкевич Л.П., Волошина О.В., Крячок Т.А., Готенко И.А. и др. Сахарный диабет у больных острым инфарктом миокарда: клинико-биохимические и функциональные характеристики // Український кардіологічний журнал 2014; 6: 28-32.
5. Bohlen HG. Nitric oxide and the cardiovascular system // Compr Physiol 2015; 5(2):808-23.
6. Collet JP, Montalescot G, Vicaire E, et al. Acute release of plasminogen activator inhibitor-1 in ST-segment elevation myocardial infarction predicts mortality // Circulation 2003;108(4):391-94.
7. Fortenberry YM. Plasminogen activator inhibitor-1 inhibi-

tors: a patent review (2006-present) // Expert Opin Ther Pat 2013; 23(7):801-15.

8. Huang Y, Cai X, Mai W, Li M, Hu Y. Association between prediabetes and risk of cardiovascular disease and all cause mortality: systematic review and meta-analysis // BMJ; 2016 Nov 23;355.

9. Matsuzawa Y, Lerman A. Endothelial dysfunction and coronary artery disease: assessment, prognosis, and treatment // Coron Artery Dis 2014; 25(8):713-24.

10. Pieper KS, Gore JM, Fitz Gerald G. et al. Validity of a risk-prediction tool for hospital mortality: the Global Registry of Acute Coronary Events // Am. Heart J 2009;157: 1097-105.

11. Song C, Burgess S, Eicher JD, O'Donnell CJ, Johnson AD. Causal Effect of Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 on Coronary Heart Disease // J Am Heart Assoc 2017; 6(6).

12. Xuan C, Tian QW, Li H, Zhang BB, He GW, Lun LM. Levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, and risk of coronary artery disease: A meta-analysis based on 4713 participants // Eur J Prev Cardiol 2016; 23(5):502-10.

## SUMMARY

### AN ALGORITHM FOR PROGNOSIS OF RECURRENT MYOCARDIAL INFARCTION IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS FOLLOWING DETERMINATION OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION MARKERS

**Minukhina D., Babadzhani V., Minukhin D., Krasnoyarskiy A., Yevtushenko D.**

*Kharkiv National Medical University, Ukraine*

The combination of cardiac pathology and metabolic disorders, namely type 2 diabetes mellitus, is one of the most frequent comorbid pathologies and the main cause of death from cardiovascular complications at an early stage of the disease. Despite the wide range of antithrombotic measures, prevention of thrombotic complications of acute myocardial infarction remains an urgent problem of cardiology.

The study involved examination of 73 patients with acute myocardial infarction with concomitant type 2 diabetes mellitus, who were distributed into clusters according to severity by the main indices of lipid and carbohydrate metabolism using hierarchical analysis. 43 patients (3 persons from Cluster 1 and 40 from Cluster 2) had complications in the form of recurrent myocardial infarction.

The study implied elaboration of the system of recurrent myocardial infarction in patients with type 2 diabetes mellitus, involving a group of classifiers based on a discriminant model and a scoring system of prediction. Routine indices (insulin, cholesterol, EDV, creatinine phosphokinase) and specific markers (asymmetric dimethylarginine and type 1 plasminogen activator inhibitor) were used as predictors.

The system of mathematical prediction of recurrent myocardial infarction has a high sensitivity (84.1%) and specificity (93.1%) with a total accuracy of 87.7%, which allows it to be used in modern clinical practice to prevent the occurrence of undesirable cardiovascular events.

**Keywords:** recurrent myocardial infarction, prognosis, asymmetric dimethylarginine, type 1 plasminogen activator inhibitor, endothelial dysfunction.

## РЕЗЮМЕ

### АЛГОРИТМ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПОВТОРНОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА У БОЛЬНЫХ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА НА ОСНОВАНИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАРКЕРОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

**Минухина Д.В., Бабаджан В.Д., Минухин Д.В., Краснояружский А.Г., Евтушенко Д.А.**

*Харьковский национальный медицинский университет, Украина*

Комбинация кардиальной патологии и метаболических расстройств, в частности с сахарным диабетом 2 типа, является одной из наиболее часто встречаемой коморбидной патологии и основной причиной смерти от сердечно-сосудистых осложнений на ранней стадии заболевания. Несмотря на большой спектр антитромботических мероприятий, предупреждение тромботических осложнений острого инфаркта миокарда остается актуальной проблемой кардиологии. Обследовано 73 больных острым инфарктом миокарда и сопутствующим сахарным диабетом 2 типа. Больные были распределены на кластеры по степени тяжести с учетом основных показателей липидного и углеводного обмена с использованием иерархического анализа. 43 больных (3 с 1-го кластера и 40 - 2-го кластера) имели осложнения в виде повторного инфаркта миокарда. Разработана система прогнозирования повторного инфаркта миокарда у больных сахарным диабетом типа 2, построенная как ансамбль классификаторов на основе дискриминантной модели и балльной системы прогнозирования. В качестве предикторов для прогнозирования использовались как рутинные показатели (инсулин, холестерин, КДО, СМ-КФК), так и специфические маркеры (асимметричный диметиларгинин и ингибитор активатора плазминогена 1 типа). Система математического прогнозирования повторного инфаркта миокарда имеет высокую чувствительность (84,1%) и специфичность (93,1%) при общей точности 87,7%, что позволяет использовать ее в клинической практике для предупреждения возникновения нежелательных сердечно-сосудистых событий.

## რეზიუმე

მიოკარდიუმის განმეორებითი ინფარქტის პროგნოზირების ალგორითმი ენდოთელური დისფუნქციის მარკერების განსზღვრის საფუძველზე შექრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით ავადმყოფებში

დ. მინუხინა, ვ. ბაბაჯანი, დ. მინუხინი,  
ა. კრასნოიარუსკი, დ. ევტუშენკო

*ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა*

გულის პათოლოგიის და მეტაბოლური დარღვევების კომბინაცია, კერძოდ – შექრიანი დიაბეტთან ტიპი 2, ერთ-ერთ ყველაზე ხშირ კომორბიდულ პათოლოგიას და დაავადების ადრეულ სტადიაზე გულ-სისხლძარღვოვანი გართულებებისაგან სიკვდილის ძირითად მიზეზს წარმოადგენს. ანტირომბოგენური ღონისძიებების ფართო სპექტრის მიუხედავად, მიოკარდიუმის

მწვავე ინფარქტის თრომბოზულ გართულებათა პრევენცია რჩება კარდიოლოგიის აქტუალურ პრობლემად. ავტორების მიერ გამოკვლეულია 73 ავადმყოფი მიოკარდიუმის მწვავე ინფარქტით და თანმხლები შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით, რომელნიც იფარქიული ანალიზის მეშვეობით და ლიპიდური და ნახშირწყლოვანი ცვლის ძირითადი მაჩვენებლების შესაბამისად, სიმძიმის მიხედვით დაიყო კლასტერებად. 43 ავადმყოფს (3 – პირველი კლასტერიდან, 40 – მეორე კლასტერიდან) ჰქონდა გართულებები მიოკარდიუმის განმეორებითი ინფარქტის სახით.

შემუშავებულია მიოკარდიუმის განმეორებითი ინფარქტის პროგნოზირების სისტემა ავადმყოფებში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით, აგებული, როგორც კლა-

სიფიკატორების ანსამბლი დისკრიმინანტული მოდელის საფუძველზე და პროგნოზირების ქულობრივი სისტემით.

პროგნოზირების პრედიქტორებად გამოყენებულია როგორც რუტინული მაჩვენებლები (ინსულინი, ქოლესტერინი), ასევე, სპეციფიკური მარკერები (ასიმეტრიული დიმეთილარგინინი და I ტიპის პლაზმინოგენის აქტივატორის ინჰიბიტორი). მიოკარდიუმის განმეორებითი ინფარქტის პროგნოზირების მათემატიკურ სისტემას აქვს მაღალი მგრძობელობა (84,1%) და სპეციფიკურობა (93,1%), საერთო სიზუსტით 87,7%, რაც იძლევა კლინიკურ პრაქტიკაში მისი გამოყენების შესაძლებლობას არასასურველი კარდიოვასკულური მოვლენების განვითარების პრევენციისათვის.

---

## CONNECTION BETWEEN SERUM VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR LEVELS AND SEVERITY OF MICROANGIOPATHY IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES AND OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA

<sup>1,2</sup>Kakhniashvili T., <sup>1</sup>Tabagari-Bregvadze N., <sup>2</sup>Nikoleishvili L., <sup>3</sup>Khuchua L., <sup>1,2</sup>Kurashvili R.

<sup>1</sup>Davit Tvildiani Medical University; <sup>2</sup>Diabetes, Endocrine and Cardio-pulmonary Disease Center “Diacor”;

<sup>3</sup>P. Sarajishvili Institute of Neurology; Tbilisi, Georgia

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) and its vascular complications comprise an important medical problem. Vascular damage is caused by hyperglycemia-induced changes including oxidative stress [1]. These changes lead to decrease capillary elasticity and increase vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in endothelial cells [2], that plays a key role in neovascularization processes. Neovascularization is critical for retina and kidney capillary and induces such irreversible changes as proliferative diabetic retinopathy with further blindness and nephropathy with end stage kidney disease outcome [3]. Data from recent studies confirm that co-existence of T2DM and obstructive sleep apnea (OSA) is very frequent and that OSA worsens diabetes microvascular complications [4-6]. OSA is characterized by interrupted sleep, frequent oxygen desaturation, hypoxemia, blood gas disturbances and oxidative stress [7]. It is confirmed that VEGF is hyper-expressed in capillary endothelial cells. Although recent data suggests that VEGF is elevated not only in capillary endothelial cells, but also as in serum and plasma in patients with type 2 diabetes, as well as in patients with OSA due to common pathogenetic disturbance - oxidative stress [8,9]. Study published in 2007 aimed to compare the circulating vascular endothelial growth factor level in patients with diabetes and in patients with cancer. As a result, the mean VEGF level in diabetic patients was significantly high compared to the patients with cancer or control group. It is emerging as a valuable tool in the treatment of patients with cancer anti-angiogenic therapy. As VEGF is a central target in anti-angiogenic therapy [10]. Moreover, one of the approved methods of diabetic retinopathy treatment is the local anti-VEGF intra-ocular injections. VEGF level is high not only in capillary endothelium, but also in bloodstream too. It is interesting if intra-ocular anti-VEGF treatment is enough.

The aim of our study was to evaluate the serum VEGF levels in patients with T2DM and comorbid OSA and to confirm its influence on the severity of retinopathy and diabetic kidney disease.

**Material and methods.** Data were obtained from T2DM patients enrolled in the prospective, cohort study carried out in the Diabetes, Endocrine and Cardiopulmonary Disease Center “Diacor” in Tbilisi, Georgia. All patients provided written informed consent. Study duration was 24 months. Patients with type 2 diabetes were included in the study. Exclusion criteria were as following: subjects with type 1 or other types of diabetes mellitus, pregnancy, alcohol/drug abuse, acute coronary, cerebro-vascular or peripheral vascular disease 3 months prior study enrollment, active hepatitis B, C or HIV infection, acute inflammation, psychiatric disease, patients on hemodialysis, polysomnographically confirmed central OSA, cancer and any life threatening conditions, significant thrombocytopenia/ thrombocytosis, leukopenia/leukocytosis, use of systemic anti-VEGF drugs (Aflibercept, Bevacizumab, Ranibizumab). Patients were screened for OSA using the Epworth Sleepiness Scale [11]. Patients scoring more than 11 points were evaluated with nocturnal, laboratory-based polysomnography (PSG) for final diagnoses. [12] An apnea-hypopnea index (AHI) greater than or equal to 5 events per hour was consistent with an OSA diagnosis. OSA severity was assessed on the basis of the AHI and the oxygen desaturation index (ODI) based on 4% oxygen desaturation. OSA was classified as mild, moderate, and severe on the basis of AHI 5-15 events per hour, 15-30 events per hour, more than 30 events per hour, respectively [13].

The following data were collected from all study participants: medical history; demographic and anthropometric data; Epworth sleepiness score data; laboratory (complete blood count, biochemistry, immunology, urinalysis) and instrumental measurements (fundoscopy, laboratory polysomnography).

Fundoscopy was performed by ophthalmologist using digital retinal images for both eyes. Diabetic retinopathy was scored according to the International Clinical Diabetes Retinopathy Severity Scale - the stage 1 was defined as no apparent retinopathy,

stage 2-as mild non-proliferative diabetic retinopathy, stage 3 - moderate non-proliferative diabetic retinopathy, stage 4 – as severe non-proliferative diabetic retinopathy, stage 5- as proliferative diabetic retinopathy [14].

Venous blood samples were taken at least 10 hours fasting period in the morning in clinic “Diacor”. Morning samples of urine were collected and analyzed for creatinine, protein and albumin excretion using standardized methods; VEGF was measured in serum by enzyme-linked immune-sorbent assay technology (Human ELIZA - Kit Catalog No: MBS355343, sensitivity < 1pg/m). Estimated glomerular filtration rate (e-GFR) was calculated using standardized formula using serum creatinine, age, race and gender - developed by the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) study group and the chronic kidney disease epidemiology collaboration (CKD-EPI) [15].

All study specific measurements, treatment approach and disease compensation quality assessment were done according the European Association for the Study of Diabetes (EASD), American Diabetes Association (ADA) and American Academy of Sleep Medicine (AASM) guidelines.

The patients with comorbid OSA were entered in OSA+ group and the patients without OSA comorbidity – in OSA- group. We evaluated diabetes duration and HbA1c influence on microangiopathy in this two groups.

All measures were presented as mean with standard deviation and the level of significance was defined as alpha = 0.05. With respect to potential biases of measurement, parameters with a non-Gaussian distribution of values were transformed by natural logarithm for statistical tests. Differences between groups were analyzed by ANOVAs. Pearson correlation coefficient was used for evaluating connections between VEGF and microangiopathy stages.

**Results and their discussion.** In total 232 patients were enrolled in the study. According to the medical history 54 (23.27%) were entered in OSA+ group, 178 - in OSA- group (Table 1). Mean VEGF value in OSA+ group was significantly higher, than in OSA- group (P=0.0008, Fig.). There was no difference in VEGF level in OSA + patients according to diabetes duration.

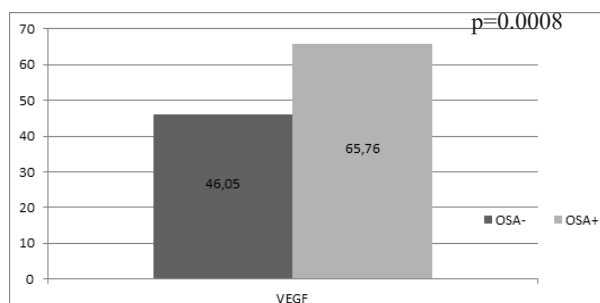


Fig. Mean VEGF values in OSA+ and OSA- groups

But the difference was significant comparing VEGF level between OSA+ and OSA – groups in subjects with diabetes duration  $\geq 6$  years (VEGF=71.19 $\pm$ 31.69 OSA+ and 47.74 $\pm$ 36.16 OSA-. P=0.0012). VEGF in patients with diabetic retinopathy was significantly higher in OSA+, than in OSA- group (P=0.0097). In patients with CKD, VEGF was higher in OSA+ group, compared to OSA- group, but the difference was not statistically significant (P=0.4402). In patients with coexisted diabetic retinopathy and CKD, VEGF level in OSA+ and OSA- group were approximately similar. In patients with coexisted diabetic retinopathy and microalbuminuria VEGF value in OSA+ group was significantly higher, than in OSA- group (P=0.0049, Table 1).

Table 1. VEGF level according to microangiopathy (n=232)

Groups		VEGF OSA-		VEGF OSA+	p value
OSA	(n=178)	46.05 $\pm$ 37.61	(n=54)	65.76 $\pm$ 36.64	0.0008
HbA1c < 7.5%	(n=54)	59.11 $\pm$ 50.18	(n=19)	59.05 $\pm$ 28.08	p=0.9961 (NS)
HbA1c $\geq$ 7.5%	(n=124)	40.37 $\pm$ 29.04	(n=35)	66.14 $\pm$ 26.79	p<0.0001
p value		p=0.002		p=0.3653 (NS)	
DD < 6 years	(n=39)	40.05 $\pm$ 38.36	(n=24)	58.98 $\pm$ 28.08	p=0.0404
DD $\geq$ 6 years	(n=139)	47.74 $\pm$ 36.16	(n=30)	71.19 $\pm$ 31.69	p=0.0012
p value		p=0.2484 (NS)		p=0.1452 (NS)	
OSA D < 1.5 years			(n=26)	60.54 $\pm$ 22.84	
OSA D $\geq$ 1.5 years			(n=28)	70.62 $\pm$ 45.85	
p value				p=0.1679 (NS)	
DR					
Yes	(n=126)	51.90 $\pm$ 37.43	(n=39)	70.05 $\pm$ 39.24	p=0.0097
No	(n=62)	34.98 $\pm$ 25.98	(n=15)	54.62 $\pm$ 26.80	p=0.0109
p value		p<0.0001		p=0.1452 (NS)	
CKD					
Yes	(n=64)	65.41 $\pm$ 46.29	(n=19)	75.72 $\pm$ 46.94	p=0.4402 (NS)
No	(n=114)	35.19 $\pm$ 26.27	(n=35)	60.36 $\pm$ 29.00	p<0.0001
p value		p<0.0001		p=0.1428 (NS)	
DR Yes and CKD Yes	(n=51)	65.76 $\pm$ 43.82	(n=19)	66.17 $\pm$ 21.34	p=0.9690 (NS)
DR Yes and microalbuminuria Yes	(n=22)	40.02 $\pm$ 11.98	(n=6)	57.30 $\pm$ 13.12	p=0.0049

Definition of abbreviations: HbA1c=glycated hemoglobin; OSA D=obstructive sleep apnea duration; DD=diabetes duration; DR=diabetic retinopathy, CKD=chronic kidney disease



Table 2. Pearson coefficients of VEGF level correlation with DR and CKD stages in OSA+ (n=54) and OSA- (n=178) groups

Groups	VEGF OSA-		VEGF OSA+	
	R=	p value	R=	p value
BMI	0,0678	0.0506 (NS)	0,1999	0.1473 (NS)
HbA1c	0,2241	0.2241 (NS)	0,1471	0.2884 (NS)
DD	0,0506	0.0678 (NS)	0.3548	0.04841
DR Stages	0.3653	p < 0.0001	0.3707	0.0058
CKD Stages	0.4567	p < 0.0001	0.3548	0.0085

BMI=body mass index

Pearson correlation coefficient between VEGF and diabetes duration; different stages of diabetic retinopathy; CKD stages were significant in OSA+ group (P=0.04841, P=0.0058, P=0.0085 respectively). Correlation coefficient between VEGF and different stages of diabetes retinopathy, and CKD stages were also significant in OSA- group (P=0.0001, P=0.0001 respectively, Table 2). Our study has not revealed correlation between VEGF and diabetes duration in OSA- group patients.

Previous studies evaluated serum/plasma VEGF in T2DM patients in connection with microangiopathy and showed that VEGF level was higher in patients with diabetes compared to controls. Moreover, the level of VEGF was significantly higher in diabetic microangiopathy subgroup, than in patients with diabetes and without microangiopathy [8,15]. Serum /plasma VEGF was also studied in OSA patients and the results revealed higher levels of VEGF in OSA subjects compared to controls [9]. To our knowledge, this is the first study comparing serum VEGF level in patients with comorbid OSA and T2DM in connection with microangiopathy. Our study showed that serum VEGF level was significantly higher in patients with comorbid OSA and T2DM compared to patients with isolated T2DM. Moreover, serum VEGF level was significantly higher in patients with diabetic retinopathy and in subjects with coexisted diabetic retinopathy and microalbuminuria in OSA + group than in OSA – group. Unlike previous studies, we also found significant positive correlation between VEGF level and diabetic retinopathy stages as well as VEGF level and CKD stages in both groups. Positive correlation between VEGF level and BMI or HbA1c level was not significant in both groups.

According to the study results, we can conclude that elevated VEGF level is connected with microangiopathy and the level of VEGF progressively increases in line with the progression of diabetic retinopathy and CKD stages. Interestingly the link is independent from OSA duration and HbA1c levels. High VEGF level was related to longer duration of diabetes, especially in patients with comorbid OSA.

The main limitation of our study is recruitment of patients from only one particular clinic, though it is hard to generalize the results to all Georgian population.

In conclusion, according to the study results, we can suggest that the blood VEGF level plays an important role in expression of severity of microangiopathy in patients with T2DM, especially with comorbid OSA. More studies are needed to confirm VEGF as an important participating marker of diabetic retinopathy and CKD pathogenesis.-

**Acknowledgment.** Authors acknowledge The Shota Rustaveli National Science foundation for granting the project PhD2016\_34; Sherozia E.; Dzvelaia Sh.; Chiradze N.; Peikrshvili L.; Imerlishvili K.; Nadiradze N. from clinic „Diacor”; Chikadze A. from P. Sarajishvili Institute of Neurology.

## REFERENCES

1. Madonna R, De Caterina R. Cellular and molecular mechanisms of vascular injury in diabetes--part I: pathways of vascular disease in diabetes // *Vascular Pharmacol.*2011; 54(3-6):68-74.
2. Sashwati Roy, Savita Khanna, Chandan K Sen. Redox regulation of the VEGF signaling path and tissue vascularization. *Free Radic // Biol. Med. Free Radic Biol Med* 2008; 44(2):180-92.
3. Hasanain Ahmed, Mahdi Alsihlawi. The relevance of serum level of VEGF in type 2 diabetic retinopathy // *Kufa Med Journal* 2012; 15(3): 106.
4. Obstructive sleep apnea, retinopathy linked in diabetes. American Thoracic Society's 105th International Conference. San Diego on May 19, 2009.
5. Roberto Pisoni, MD Medical University of South Carolina. Sleep apnea may contribute to kidney disease progression. Pennsylvania Convention Center in Philadelphia, PA. American Society of Nephrology (ASN), ScienceDaily. 2014 November.
6. Sleep apnoea and type 2 diabetes. *International Diabetes Federation*: 2015.
7. Danny J. Eckert, Atul Malhotra, Amy S. Jordan. Mechanisms of apnea // *PMC* 2012; 51(4): 313–323.
8. Joseph W Sassani MD. VEGF Level Correlated With Glycemic Control in Diabetic Retinopathy // *Acta Ophthalmologica* 2013; 3.
9. Ma Jing, Xu Yongjian, Zhang Zhenxiang, Liu Huiguo, Xiong Weining, Xu Shuyun. Serum level of vascular endothelial growth factor in patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome // *Journal of Huazhong University of Science and Technology.* 2007; 27(2): 157-160.
10. Murray Johns. Melbourne, Australia. Epworth Sleepiness Scale (ESS).
11. Epstein Lawrence J. et al. Sleep HealthCenters, Brighton, MA and Harvard Medical School, Boston, MA; Clinical Guideline for the Evaluation, Management and Long-term Care of Obstructive Sleep Apnea in Adults // *Journal of clinical sleep medicine.* Volume: 14.
12. Epstein LJ, Kristo D, Strollo PJ Jr, Friedman N, Malhotra A, Patil SP, Ramar K, Rogers R, Schwab RJ, Weaver EM, et al.; Adult Obstructive Sleep Apnea Task Force of the American Academy of Sleep Medicine // *Sleep Med* 2009; 5:263–276.
13. Wilkinson C.P. et al. Global Diabetic Retinopathy Project Group. diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. Orlando, Florida, October 2002 // *Ophthalmology.* 2003; 110(9): 1677-1682.
14. NIH National Institute of Diabetes and digestive and kidney Diseases - Estimating Glomerular Filtration Rate
15. Qin Zhang, Wen Fang et al. VEGF levels in plasma in relation to metabolic control, inflammation, and microvascular complications in type-2 diabetes // *Medicine* 2018; 97:15(e0415).

## SUMMARY

### CONNECTION BETWEEN SERUM VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR LEVELS AND SEVERITY OF MICROANGIOPATHY IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES AND OBSTRUCTIVE SLEEP APNEA

<sup>1,2</sup>Kakhniashvili T., <sup>1</sup>Tabagari-Bregvadze N.,  
<sup>2</sup>Nikoleishvili L., <sup>3</sup>Khuchua L., <sup>1,2</sup>Kurashvili R.

<sup>1</sup>Davit Tvildiani Medical University; <sup>2</sup>Diabetes, Endocrine and Cardio-pulmonary Disease Center "Diacor"; <sup>3</sup>P. Sarajishvili Institute of Neurology, Tbilisi, Georgia

Our aim was to evaluate the serum vascular endothelial growth factor (VEGF) level in type 2 diabetes patients with comorbid obstructive sleep apnea (OSA) and to compare it in connection with diabetic retinopathy and chronic kidney disease severity.

In the prospective cohort study following data were collected: medical anamnesis; demographic and anthropometric data; laboratory (serum VEGF, complete blood count, biochemistry, immunology, complete urine test, including microalbuminuria) and instrumental investigation data (fundoscopy, laboratory polysomnography).

From 232 analyzed patients 54 (23.27%) were placed in OSA+ group, 178-OSA- group Mean VEGF value in OSA+ group was significantly higher, than in OSA- group. Serum VEGF level in patients with diabetic retinopathy was significantly higher with OSA comorbidity. Pearson correlation coefficient between VEGF and diabetic retinopathy stages, VEGF and CKD stages was significant in both groups.

Our study suggests, that the blood VEGF play an important role in microangiopathy severity in patients with T2DM, especially with OSA comorbidity.

**Keywords:** type 2 diabetes mellitus, obstructive sleep apnea, microangiopathy, vascular endothelial growth factor.

## РЕЗЮМЕ

### КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ ВАСКУЛЯРНЫМ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМ ФАКТОРОМ РОСТА И ТЯЖЕСТЬЮ МИКРОАНГИОПАТИИ У ПАЦИЕНТОВ С ДИАБЕТОМ ТИПА 2 И СОПУТСТВУЮЩИМ СИНДРОМОМ ОБСТРУКТИВНОГО АПНОЭ СНА

<sup>1,2</sup>Кахниашвили Т.Ш., <sup>1</sup>Табагари-Брегвадзе Н.С.,  
<sup>2</sup>Николеишвили Л.Р., <sup>3</sup>Хучуа Л.Г., <sup>1,2</sup>Курашвили Р.Б.

<sup>1</sup>Медицинский университет им. Д. Твилдиани; <sup>2</sup>Центр диабета, эндокринных и сердечно-легочных заболеваний «Диакор»; <sup>3</sup>Институт неврологии им. П. Сараджисшвили, Тбилиси, Грузия

Целью исследования являлось определение корреляции между васкулярным эндотелиальным фактором роста в сыворотке крови и тяжестью диабетической ретинопатии и хронического заболевания почек у пациентов с диабетом типа 2 и сопутствующим синдромом обструктивного апноэ сна.

Проведено проспективное, когортное исследование 232 пациентов. Проанализированы медицинские истории, демографические и антропометрические данные, показатели

лабораторных (общий анализ крови и мочи, васкулярный эндотелиальный фактор роста - ВЭФ в сыворотке крови, биохимия, иммунология) и инструментальных (фундоскопия и полисомнография) исследований.

54 (23,27%) пациента составили группу с синдромом обструктивного апноэ сна (СОАС)+, 178 больных – группу СОАС-. Среднее значение ВЭФ в группе СОАС+ превышало показатели группы СОАС-. Уровень ВЭФ в сыворотке крови у пациентов с диабетической ретинопатией был значительно выше при сопутствующем СОАС. Выявлены коэффициенты прямой корреляции между ВЭФ и стадиями диабетической ретинопатии и хронического заболевания почек в обеих группах.

В результате проведенного исследования авторы установили, что ВЭФ играет значимую роль в развитии тяжелой микроангиопатии у пациентов с с диабетом типа 2, особенно с сопутствующим СОАС.

## რეზიუმე

სისხლის შრატის ვასკულური ენდოთელური ზრდის ფაქტორის და მიკროანგიოპათიის სიმძიმეს შორის კორელაციის განსაზღვრა შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით და თანმხლები ობსტრუქციული ძილის აპნოეთი პაციენტებში

<sup>1,2</sup>თ. კახნიაშვილი, <sup>1</sup>ნ. თაბაგარი-ბრეგვაძე,  
<sup>2</sup>ლ. ნიკოლეიშვილი, <sup>3</sup>ლ. ხუჭუა, <sup>1,2</sup>რ. ყურაშვილი

<sup>1</sup>დ. ტვილიდიანის სახ. სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>დიაბეტის, ენდოკრინული და კარდიო-პულმონური დაავადებების ცენტრი „დიაკორი“; <sup>3</sup>პ. სარაჯიშვილის სახ. ნევროლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სისხლის შრატის ვასკულური ენდოთელური ზრდის ფაქტორის დონის და მიკროანგიოპათიის სიმძიმეს შორის კორელაციის განსაზღვრა შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით და თანმხლები ობსტრუქციული ძილის აპნოეთი პაციენტებში.

ჩატარდა პროსპექტიული, კოჰორტული კვლევა კლინიკა „დიაკორი“-ს ბაზაზე. გაანალიზებულია დემოგრაფიული, ანთროპომეტრიული მონაცემები, ინსტრუმენტული (ფუნდოსკოპია, პოლისომნოგრაფია) და ლაბორატორიული (სისხლის შრატში ვასკულური ენდოთელური ზრდის ფაქტორის - ვეზფ-ის დონის განსაზღვრა, სისხლის და შარდის საერთო ანალიზი, ბიოქიმია და იმუნოლოგია) კვლევების შედეგები.

232 პაციენტიდან 54 განთავსდა ობსტრუქციული ძილის აპნოეთი (ოძა)+, ჯგუფში, და 178 - ოძა- ჯგუფში. კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ ვეზფ-ის დონე მნიშვნელოვნად მაღალი იყო ოძა+, ვიდრე ოძა- ჯგუფში. დიაბეტური რეტინოპათიის მქონე პაციენტებში ვეზფ-ის დონე ოძა+ ჯგუფში აღემატებოდა მაჩვენებელს ოძა- ჯგუფში. ორივე საკვლევ ჯგუფში გამოვლინდა პირდაპირი კორელაციური კავშირი ვეზფ-ს დონეს, დიაბეტურ რეტინოპათიასა და თირკმლის ქრონიკული დაავადების სტადიებს შორის.

კვლევის შედეგად ავტორებს გამოტანილი აქვთ დასკვნა, რომ შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით პაციენტებში ვეზფ-ის დონე მნიშვნელოვან როლს ასრულებს მიკროანგიოპათიის დამძიმებაში, განსაკუთრებით თანდართული ოძა-ს პირობებში.

## SERUM VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR CONCENTRATION DECREASES IN CORRELATION WITH GLYCATED HEMOGLOBIN LEVELS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES

<sup>1,2</sup>Kakhniashvili T., <sup>1</sup>Tabagari-Bregvadze N., <sup>2</sup>Dzvelaia Sh., <sup>3</sup>Chikadze A., <sup>1,2</sup>Kurashvili R.

<sup>1</sup>Davit Tvildiani Medical University; <sup>2</sup>Diabetes, Endocrine and Cardio-pulmonary Disease Center "Diacor";  
<sup>3</sup>P. Sarajishvili Institute of Neurolog, Tbilisi, Georgia

Data from recent studies confirm that co-existence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and obstructive sleep apnea (OSA) is very frequent. Moreover, OSA promotes worsening of diabetes microvascular complications [1-3]. Oxidative stress is the common mechanism of vascular damage that share both disease, T2DM and OSA. One of the adverse manifestation of oxidative stress induced vascular damage is increase in capillary endothelial growth factor (VEGF) level. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a homodimeric glycoprotein with a molecular weight of approximately 45 kDa. It is the key mediator of angiogenesis (the formation of new blood vessels), and binds two VEGF receptors (VEGF receptor-1 and VEGF receptor-2), which are expressed on vascular endothelial cells. In healthy humans, VEGF promotes angiogenesis in embryonic development and is important in wound healing in adults. When VEGF is overexpressed, it can contribute to disease. Overexpression of VEGF can cause vascular disease in the retina of the eye and other parts of the body. It is confirmed that VEGF is hyper-expressed in capillary endothelial cells. Although recent data suggests that VEGF is elevated not only in capillary endothelial cells, but also as in serum and plasma in patients with type 2 diabetes, as well as in patients with OSA due to common pathogenetic disturbance - oxidative stress [6,7]. The studies looking for the effect of T2DM or OSA treatment on blood VEGF levels are lacking. This effect has not been studied in Georgia either [8,9].

Though, the aim of our study was to compare the serum levels of VEGF in patients with T2DM and comorbid OSA at screening visit and after 6 month of specific intervention.

**Material and methods.** Data was obtained from patients with T2DM enrolled in the prospective, cohort study carried out in the Diabetes, Endocrine and Cardiopulmonary Disease Center "Diacor" in Tbilisi, Georgia. All patients provided written informed consent. Study duration was 24 months. Patients with type 2 diabetes were enrolled in the study. Exclusion criteria were as following: Subjects with type 1 or other types of diabetes mellitus, pregnancy, alcohol/drug abuse, 3 months before study enrollment acute coronary, cerebro-vascular or peripheral vascular disease, active hepatitis B, C or HIV infection, acute inflammation, psychical disease, patients on hemodialysis, polysomnographically confirmed central OSA, cancer and any life threatening conditions, significant thrombocytopenia/ thrombocytosis, leukopenia/leukocytosis, use of systemic anti-VEGF drugs (Aflibercept, Bevacizumab, Ranibizumab). Patients were screened for OSA using the Epworth Sleepiness Scale [10]. Nocturnal, laboratory-based polysomnography (PSG) was performed for patients scoring more than 11 points with Epworth Sleeping Scale for final diagnoses. An apnea-hypopnea index (AHI) greater than or equal to 5 events per hour was consistent with an OSA diagnosis. OSA severity was assessed on the basis of the AHI and the oxygen desaturation index (ODI) based on 4% oxygen desaturation. OSA was classified as mild, moderate, and severe on the basis of AHI 5-15 events per hour, 15-30 events per hour and more than 30 events per hour, respectively [12].

The following data were collected for all study subjects at baseline visit: medical anamnesis; demographic and anthropometric data; Epworth sleepiness score data; laboratory (serum VEGF, complete blood count, biochemistry, immunology, complete urine test, including microalbuminuria) and instrumental measurements (fundoscopy, laboratory polysomnography).

After 6 months follow up anthropometric data, Epworth

sleepiness score and serum VEGF were collected from each study participant. Abnormal lab tests on the baseline visit were repeated on the follow-up visit.

Fundoscopy was done using digital retinal images for each eye by an ophthalmologist. Diabetic retinopathy was scored according to the international clinical diabetes retinopathy severity scale [13].

Venous blood samples were taken at least 10 hours fasting period in the morning in the clinic „Diacor“. Morning urine samples were collected and analyzed for creatinine, protein and albumin excretion using standardized methods; VEGF was measured in serum by enzyme-linked immune-sorbent assay technology (Human ELIZA - Kit Catalog No: MBS355343, sensitivity <1 pg/m). Estimated Glomerular filtration rate (e-GFR) was calculated using standardized serum creatinine, age, race and gender - developed by the modification of diet in renal disease (MDRD) study group and the chronic kidney disease epidemiology collaboration (CKD-EPI) [14].

All laboratory-instrumental measurements, treatment approach and compensation quality assessment of study population was defined according to the European Association for the Study of Diabetes (EASD), American Diabetes Association (ADA) and American Academy of Sleep Medicine guidelines (AASM).

The patients with comorbid OSA were entered in OSA+ group and the patients without OSA comorbidity – in OSA- group. We evaluated diabetes and OSA treatment influence on VEGF in these two groups. According to medical indication OSA+ patients were administered either positional therapy or continuous positive airway pressure (CPAP) therapy. For diabetes treatment patients received combination of oral antihyperglycemic agents or combined treatment with oral medications plus insulin.

The results were analyzed statistically. All measures were presented as mean with standard deviation and the level of significance was defined as alpha = 0.05. With respect to potential biases of measurement, parameters with a non-Gaussian distribution of values were transformed by natural logarithm for statistical tests. Differences between the groups were analyzed by ANOVAs. Multi-linear logistic regression and Pearson correlation coefficient was used for comparing VEGF levels.

**Results and their discussion.** From the total 232 patients, 54 (23.27%) were distributed in OSA+ group, 178 (76.73%) – in OSA- group. The study revealed that prevalence of coexisted diabetic retinopathy and CKD (35.19%) as well as coexisted diabetic retinopathy and microalbuminuria (22.22%) was significantly higher in OSA+ group, compared to OSA- group (P=0.0418; P=0.0390 respectively). Moreover, the prevalence of coexisted diabetic retinopathy and CKD (25.93%), were higher in severe OSA subjects (P=0.0336). Serum VEGF level was significantly higher in OSA+ group, compared to OSA- group (65.76±36.64 OSA+; 46.04±37.61 OSA- P=0.0008). Direct correlation was seen between elevated VEGF level and diabetic retinopathy or CKD stages in both groups (P=0.0058 OSA+ and P=0.0001 OSA- for diabetic retinopathy and P=0.0085 OSA+ and P=0.0001 OSA- for CKD). VEGF level was decreased significantly after 6 months' intervention in both groups (P=0.0281 OSA+ and P=0.0278 OSA-). Although, the change between baseline and 6 month follow up decline in VEGF level was significant in OSA+ group, compared to OSA- group (P=0.0008, Table 1).

Table 1. Mean VEGF values in OSA+ and OSA- groups during 6 months follow up

Groups		OSA-		OSA+	p value
VEGF (0)	(n=178)	46.05 ± 37.61	(n=54)	65.76 ± 36.64	0.0008
VEGF (6m)	(n=178)	38.10 ± 29.83	(n=54)	53.52 ± 26.08	0.0008
p value		0.0278		0.0281	
D VEGF =(6m)-(0)		7.98 ± 19.70		12.24 ± 20.63	0.1408

VEGF=vascular endothelial growth factor; OSA =obstructive sleep apnea; (0)=screening visit; (6 m)=6 month follow up visit

Table 2. Correlation between D VEGF and D HbA1c, D VEGF and D Epworth scores in at 6 month follow up visit

Groups	OSA-	OSA+
D VEGF vs. D HbA1c Pearson Coefficient - R	0.1289	0.2716
p value	0.0864 (NS)	0.04696
D VEGF vs. D Epworth Pearson Coefficient - R		0.3285
p value		0.0153

HbA1c=glycated hemoglobin; Epworth=Epworth sleepiness score

Table 3. Mean VEGF, HbA1c and Epworth score values in CPAP and Positional therapy groups at screening and 6 months follow up visits

Groups		CPAP		Positional therapy	p value
VEGF (0)	(n=26)	67.02 ± 44.68	(n=28)	63.68 ± 28.10	0.7417 (NS)
VEGF (6m)	(n=26)	52.64 ± 25.03	(n=28)	53.57 ± 27.49	0.7417 (NS)
p value		0.7417 (NS)		0.1792 (NS)	
D VEGF		14.38 ± 27.81		10.31 ± 10.74	0.4752 (NS)
HbA1c (0)	(n=26)	8.65 ± 2.15	(n=28)	9.33 ± 2.17	0.2531 (NS)
HbA1c (6m)	(n=26)	6.90 ± 0.95	(n=28)	7.39 ± 0.73	0.7417 (NS)
p value		0.0376		< 0.0001	
D HbA1c		1.75 ± 1.45		1.95 ± 1.69	0.6439 (NS)
Epworth (0)	(n=26)	16.85 ± 2.33	(n=28)	13.89 ± 2.45	< 0.0001
Epworth (6m)	(n=26)	5.15 ± 3.56	(n=28)	3.70 ± 3.62	0.1442 (NS)
p value		< 0.0001		< 0.0001	
D Epworth		11.69 ± 3.80		10.19 ± 3.72	0.1489 (NS)

Possible influence of HbA1c on VEGF level was analyzed by multilinear logistic regression and Pearson correlation coefficient. Direct correlation between decreased VEGF level and decreased HbA1c level was revealed at 6 month follow up visit in OSA+ group (P=0.04696). Direct correlation was found between decreased VEGF level and Epworth sleepiness score (P=0.0153, Table 2).

Comparing VEGF level at baseline and 6 month follow up visits did not reveal significant changes neither on CPAP therapy nor on positional therapy in OSA + group (Table 3).

After 6 month of treatment period VEGF level were decreased significantly, in line with HbA1c decrease, in patients who received oral anti-diabetic drugs compared to patients who were on combination therapy (insulin + oral anti-hyperglycemic agents) (Table 4).

Our study showed that OSA comorbidity was associated with elevated VEGF level in patients with T2DM and diabetic retinopathy or CKD. The higher levels of VEGF were linked to

more severe OSA progression. At screening visit VEGF level was significantly higher in OSA+ group, than in OSA- group and VEGF level decreased in parallel with decreasing level of HbA1c and Epworth sleepiness score points in OSA+ group. Moreover, VEGF level significantly decreased in parallel with decreasing HbA1c level in OSA- group.

At six month follow up visit HbA1c level decreased in both anti diabetic treatment groups (combined agents and oral agents), but greater in patients who received combined anti-diabetic agents, compared to the patients who were on oral anti-diabetic agents in both (OSA- and OSA+) groups. Interestingly, there was a difference between these two groups according to VEGF level. In oral agents group VEGF level was significantly lower, than in combined anti-diabetic group. The reason of this difference might be fact that at screening visit VEGF level was much higher in patients who received combined anti-diabetic agents, than in patients who received oral agents. For six month follow up visit VEGF decreased similarly in the both groups.

Table 4. Mean VEGF and HbA1c values in OSA+ and OSA- groups depending on anti-diabetic therapy

Groups		Combined Insulin + Oral therapy		Oral anti-diabetic therapy	p value
VEGF (0)	(n=36)	64.88 ± 36.65	(n=162)	47.87 ± 28.50	0.0025
VEGF (6m)	(n=36)	54.52 ± 54.12	(n=162)	38.00 ± 22.67	0.004
p value		0.3449 (NS)		0.0256	
D VEGF = VEGF(6m)-VEGF(0)		11.08 ± 32.04		8.38 ± 14.51	0.6465 (NS)
HbA1c (0)	(n=36)	8.20 ± 1.71	(n=162)	9.25 ± 2.03	0.0044
HbA1c (6m)	(n=36)	6.97 ± 1.19	(n=162)	8.38 ± 0.88	< 0.0001
p value		0.0007		< 0.0001	
D HbA1c = HbA1c(6m) - HbA1c(0)		1.17 ± 1.14		1.75 ± 1.62	0.0430

At six month follow up visit VEGF level decreased in both OSA treatment groups (CPAP therapy and positional therapy). There was no significant changes between these two groups. Significant direct correlation between decreased VEGF level and decreased Epworth sleepiness score points indicated positive treatment influence of OSA on VEGF level.

The study has several limitations: Firstly, study recruitment lasted only 24 months and we were able to follow-up patients only for 6-month period. Secondly, polysomnography data was not followed-up; it was done only at screening visit and we evaluated CPAP and positional treatment effect on OSA according to the Epworth sleepiness score. Finally, we recruited patients from one particular center and we are not able to generalize the results to all Georgian population.

In conclusion, the study showed that VEGF level decreases in parallel with diabetes compensation quality. We suggest that elevated blood glucose level is an important factor for increase VEGF level and development of diabetes complications, such as diabetic retinopathy and CKD. Future researches are needed to support our results.

**Acknowledgment.** The Authors acknowledge The Shota Rustaveli National Science foundation for granting the project PhD2016\_34; Sherozia E., Nikoleishvili L., Chiradze N., Peikrishvili L., Miminoshvili M., Imerlishvili K. from clinic "Diacor"; Shakarishvili R., Kuchua L. from P. Sarajishvili Institute of Neurology.

## REFERENCES

1. Obstructive sleep apnea, retinopathy linked in diabetes. American Thoracic Society's 105 th International Conference. San Diego on May 19, 2009.
2. Roberto Pisoni. Sleep apnea may contribute to kidney disease progression. American Society of Nephrology (ASN), ScienceDaily. 2014; 11.
3. Sleep apnoea and type 2 diabetes. 2015 International Diabetes Federation.
4. Madonna R, De Caterina R. Cellular and molecular mechanisms of vascular injury in diabetes-part I: pathways of vascular disease in diabetes. *Vascul Pharmacol.* 2011; 54(3-6):68-74.
5. Dr.Hasanain Ahmed. Kufa Med. The relevance of serum level of VEGF in type 2 diabetic retinopathy. *Journal* 2012; 15(3): 106.
6. Joseph W Sassani MD. VEGF Level Correlated With Glycemic Control in Diabetic Retinopathy. *Acta Ophthalmologica. Journal Scan / Research* 20134 3.

7. Ma Jing et al. Serum level of vascular endothelial growth factor in patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome. *Journal of Huazhong University of Science and Technology* 2007; 27, (2): 157-160.

8. Ersoy C et al. The effect of metformin treatment on VEGF and PAI-1 levels in obese type 2 diabetic patients. 2008; 81(1):56-60.

9. Kostas Archontogeorgis et al. Serum Levels of Vascular Endothelial Growth Factor and Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3 in OSA Patients. Effect of Continuous Positive Airway Pressure Treatment. *Open Cardiovasc Med J.* 2015; 9: 133-138.

10. Dr Murray Johns. Melbourne, Australia. Epworth Sleepiness Scale (ESS).

11. Lawrence J. Epstein et al. Sleep HealthCenters, Brighton, MA and Harvard Medical School, Boston, MA; Clinical Guideline for the Evaluation, Management and Long-term Care of Obstructive Sleep Apnea in Adults. *Journal of clinical sleep medicine.* Volume: 14.

12. Epstein LJ, Kristo D, Strollo PJ Jr, Friedman N, Malhotra A, Patil SP, Ramar K, Rogers R, Schwab RJ, Weaver EM, et al. Adult Obstructive Sleep Apnea Task Force of the American Academy of Sleep Medicine. *Sleep Med* 2009; 5:263-276.

13. Wilkinson C.P. et al. Global Diabetic Retinopathy Project Group. diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology* 2002; 110(9): 1677-1682.

14. NIH National Institute of Diabetes and digestive and kidney Diseases - Estimating Glomerular Filtration Rate.

## SUMMARY

### SERUM VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR CONCENTRATION DECREASES IN CORRELATION WITH GLYCATED HEMOGLOBIN LEVELS IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES

<sup>1,2</sup>Kakhniashvili T., <sup>1</sup>Tabagari-Bregvadze N., <sup>2</sup>Dzvelaia Sh., <sup>3</sup>Chikadze A., <sup>1,2</sup>Kurashvili R.

<sup>1</sup>Davit Tvildiani Medical University; <sup>2</sup>Diabetes, Endocrine and Cardio-pulmonary Disease Center "Diacor"; <sup>3</sup>P. Sarajishvili Institute of Neurology, Tbilisi, Georgia

Our aim was to compare serum vascular endothelial growth factor (VEGF) level in type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients with comorbid OSA at screening and 6 month follow up visits.

In the prospective cohort study following data were collected

at screening visit: medical anamnesis; demographic and anthropometric data; Epworth sleepiness score data; laboratory (serum VEGF, complete blood count, biochemistry, immunology, complete urine test, including microalbuminuria) and instrumental investigation data (fundoscopy, laboratory polysomnography). At 6 months follow up visit we evaluated anthropometric data; Epworth sleepiness score; serum VEGF.

Comparing VEGF level at screening and 6 month follow up visits showed significant decrease in VEGF level in both groups ( $P=0.0281$  OSA+ and  $P=0.0278$  OSA-). It was established direct correlation between decreased VEGF level and decreased HbA1c level ( $P=0.04696$ ) and between decreased VEGF level and Epworth sleepiness score ( $P=0.0153$ ) at 6 month follow up visit in OSA+ group.

Our the study suggests that VEGF level decreases in parallel with diabetes compensation quality. Future researches are necessary to support this research.

**Keywords:** type 2 diabetes mellitus, obstructive sleep apnea, microangiopathy, vascular endothelial growth factor.

## РЕЗЮМЕ

### КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ УРОВНЕМ ВАСКУЛЯРНОГО ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ГЛИКЕМИЧЕСКИМ ГЕМОГЛОБИНОМ У ПАЦИЕНТОВ С ДИАБЕТОМ ТИПА 2 В СОЧЕТАНИИ С ОБСТРУКТИВНЫМ АПНОЭ СНА

<sup>1,2</sup>Кахниашвили Т.Ш., <sup>1</sup>Табагари-Брегвадзе Н.С.,  
<sup>2</sup>Дзвеляя Ш.Г., <sup>3</sup>Чикадзе А.В., <sup>1,2</sup>Курашвили Р.Б.

<sup>1</sup>Медицинский университет им. Д. Твильдиани; <sup>2</sup>Центр диабета, эндокринных и сердечно-легочных заболеваний «Диакор»; <sup>3</sup>Институт неврологии им. П. Сарадживили, Тбилиси, Грузия

Целью исследования явилось определение корреляции между уровнем васкулярного эндотелиального фактора роста в сыворотке крови и гликемическим гемоглобином у пациентов с сахарным диабетом типа 2 и сопутствующим синдромом обструктивного апноэ сна.

Проведено проспективное когортное исследование 232 больных сахарным диабетом типа 2 и сопутствующим синдромом обструктивного апноэ сна (СОАС). Проанализированы медицинские истории, демографические и антропометрические данные, результаты опросника сонливости Epworth, показатели лабораторных (общий анализ крови и мочи, васкулярный эндотелиальный фактор роста - ВЭФР в сыворотке крови, биохимия, иммунология) и инструментальных (фундоскопия и полисомнография) исследований, которые сравнивались с теми же данными спустя 6 месяцев после лечения при контрольном визите.

Сравнение уровня ВЭФР при первичном и контрольном (спустя 6 месяцев) визитах, наряду со значительным снижением уровня ВЭФР в обеих группах ( $P=0.0281$  в СОАС+ и  $P=0.0278$  в СОАС-) выявило прямую корреляционную

связь между уровнями ВЭФР, гликемического гемоглобина ( $P=0.04696$ ) и результатами опросника сонливости Epworth ( $P=0.0153$ ).

Установлено, что у пациентов с сахарным диабетом типа 2 с/без СОАС уровень гликемического гемоглобина снижается параллельно с уровнем ВЭФР, что диктует необходимость проведения дальнейших исследований в этом направлении.

## რეზიუმე

სისხლის შრატის ვასკულური ენდოთელური ზრდის ფაქტორის კორელაცია გლიკირებული ჰემოგლობინთან პაციენტებში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით და თანმხლები ობსტრუქციული ძილის აპნოეთი

<sup>1,2</sup>თ. კახიანიშვილი, <sup>1</sup>ნ. თაბაგარი-ბრეგვაძე, <sup>2</sup>შ. ძველიაია, <sup>3</sup>ა. ჭიკაძე, <sup>1,2</sup>რ. კურაშვილი

<sup>1</sup>დ. ტვილიდიანის სახ. სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>დიაბეტის, ენდოკრინული და კარდიო-პულმონური დაავადებების ცენტრი „დიაკორი“; <sup>3</sup>პ. სარაჯიშვილის სახ. ნევროლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სისხლის შრატის ვასკულური ენდოთელური ზრდის ფაქტორის კორელაციის დადგენა გლიკირებულ ჰემოგლობინთან პაციენტებში შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით და თანმხლები ობსტრუქციული ძილის აპნოეთი.

კლინიკა „დიაკორი“-ს ბაზაზე ჩატარდა პროსპექტიული, კოჰორტული კვლევა. საწყის ვიზიტზე შეგროვდა 232 პაციენტის სამედიცინო ანამნეზი, დემოგრაფიული და ანთროპომეტრიული მონაცემები, შეივსო ძილიანობის კითხვარი „Epworth“, განისაზღვრა ლაბორატორიული (ვასკულური ენდოთელური ზრდის ფაქტორი - ვეზფ სისხლის შრატში, სისხლის და შარდის საერთო ანალიზი, ბიოქიმია და იმუნოლოგია) და ინსტრუმენტული (ფუნდოსკოპია და პულმონოგრაფია) მაჩვენებლები, რომლებიც შედარებული იყო მონაცემებთან 6 თვის შემდეგ. პაციენტები ობსტრუქციული ძილის აპნოეს (ოძა) მიხედვით დაიყო ოძა+ და ოძა- ჯგუფებად.

კვლევის შედეგად გამოვლინდა ვეზფ დონის მნიშვნელოვანი დაქვეითება საწყისი ვიზიტიდან 6 თვეში ორივე საკვლე ჯგუფში ( $P=0.0281$  ოძა+ და  $P=0.0278$  ოძა-). 6 თვის თავზე პირდაპირი კორელაციური კავშირი გამოვლინდა ვეზფ დონის დაქვეითებასა და გლიკირებული ჰემოგლობინის და „Epworth“ კითხვარის ქულების დაქვეითებას შორის ( $p=0.047$  და  $p=0.02$ , შესაბამისად).

ავტორები ვარაუდობენ, რომ გლიკირებული ჰემოგლობინის დაქვეითებას თან ახლავს ვეზფ დონის დაქვეითება შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ით პაციენტებში ოძა-თი ან მის გარეშე და გამოტანილი აქვთ დასკვნა შემდგომი კვლევების ჩატარების აუცილებლობის შესახებ ამ კორელაციური კავშირის მიზეზ-შედეგობრიობის დასადგენად.

## ASSOCIATION OF DYSADIPOKINEMIA WITH TLR4 SERUM CONCENTRATION IN GOUT PATIENTS

Orlova I., Stanislavchuk M., Andruschko I., Bereziuk O.

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine

Recent in-depth studies of the gout pathogenesis have made it possible to identify new links in the chain of the disease development. It has been shown that the negative pro-inflammatory effect of hyperuricemia may be actualized by involvement of Toll-Like Receptors (TLRs) that activate NLRP3-inflammasomes (NLRP3: nucleotide binding domain, leucine-rich-containing family, pyrin domain-containing-3 OR Nod-like receptor protein 3), followed by transformation of pro-IL-1 $\beta$  in IL-1 $\beta$  [7,9] active form mediated by caspase-1, thus triggering and intensifying a cascade of inflammatory reactions. Adipokines may also take active part in regulating the immune-inflammatory response. In particular, leptin is able to have an effect on both innate and acquired links of the immune system. Adipokines act as a modulator between inflammation and metabolic disorders through a TLR signaling pathway [2]. There is also evidence that leptin is capable of increasing the expression of Toll-Like Receptors 4 (TLR4) [3]. Adiponectin, in turn, is able to inhibit signal transduction via TLR (2). Taking into account the above data, we decided to evaluate the relationship between TLR4 and adipokine profile of gout patients.

**Material and methods.** We surveyed 65 gout 53.1 $\pm$ 9.7 (M $\pm$  $\sigma$ ) year-old patients. The control group consisted of 24 age-representational apparently healthy persons (52.2 $\pm$ 8.2 years). For verification of the gout diagnosis, we used ACR/EULAR 2015 criteria [1]. Protocols of the study were approved by the Bioethics Committee of the Pyrohov Memorial Vinnytsia National Medical University. All surveyed subjects were informed about the purpose and objectives of the study and gave their consent for participation in the study. Clinical examination consisted of collection of the anamnestic data (duration of the disease, number of attacks in the last year, number of affected joints, the presence of tophi); and physical examination (identification of painful joints, counting the number of tophi).

Blood serum TLR4 levels were determined by the immunoenzyme technique using the Enzyme-linked immunosorbent Assay Kit (TLR4) (Human) (Cloud-Clone Corp., USA). The leptin (ng/ml) and adiponectin ( $\mu$ g/ml) concentrations were measured using the Human Leptin ELISA Kit (DRG, Germany) and Human Adiponectin ELISA (Mediagnost, Germany) according to the manufacturer's instructions. A logarithm of the ratio of adiponectin and leptin concentrations (Ig A/L) was calculated for comprehensive assessment of the dysadipokinemia grade.

The obtained results were statistically processed using common techniques and statistical software programs MS Excel and

Statistica SPSS22 for Windows. To evaluate the difference between the groups, we used parametric Student's t-test, Mann-Whitney U-test, and Kruskal-Wallis one-way analysis of variance in the event of non-parametric distribution. We also used the Spearman rank correlation coefficient for evaluation of relationship between the indices.

**Results and their discussion.** The total duration of the disease at the time of survey was 10.0 $\pm$ 7.1 years (Table I). The average number of exacerbations of gouty arthritis during the last year was 3.8 $\pm$ 3.1, while 40% of the examined patients appeared to have a chronic tophaceous gout. The average number of affected joints was 8.1 $\pm$ 5.0. The cerebrospinal fluid CK level was 454.6 $\pm$ 119.4  $\mu$ mol/L.

Levels of leptin in gout patients differed substantially from those in the control group (Fig. 1). The serum leptin concentration in patients varied from 2.1 to 18.2 ng/ml (95 CI) with a median of 5.5 and an interquartile interval (3.2, 7.2). The leptin level in apparently healthy subjects ranged from 0.4 to 7.5 ng/ml, while the median interquartile interval was 2.9 (1.4; 5.5). The average concentration values of leptin in patients were 1.9 times higher than those in the control group (6.3 $\pm$ 4.5 ng/ml and 3.4 $\pm$ 2.1 ng/ml, respectively).

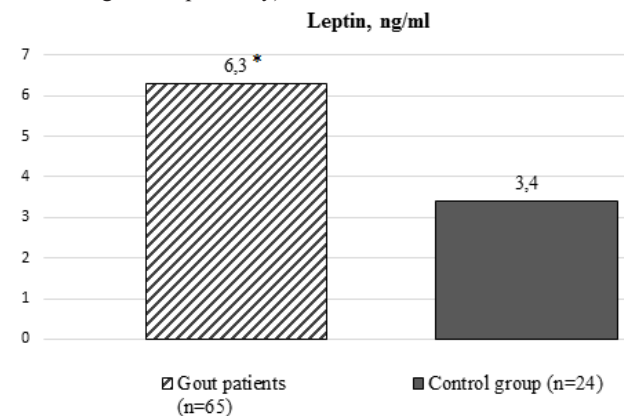


Fig. 1. Levels of leptin in gout patients and subjects of the control group.

Note: \* - statistically significant difference compared to the control group subjects ( $p < 0.05$ )

Significant differences were also revealed between the levels of adiponectin in the experimental and control groups (Fig. 2).

Table 1. Gout patients' baseline data

Indicator	Value	
	n (%)	M $\pm$ $\sigma$
Gender: male	65 (100)	
Age, years		53.1 $\pm$ 9.7
Disease history, years		10.0 $\pm$ 7.1
Number of flares/last year		3.8 $\pm$ 3.1
Number of joints under attack		8.1 $\pm$ 5.0
Presence of tophi	26 (40)	
sUA (mg/dl)		8.1 $\pm$ 2.0

Table 2. Adipokine profile of gout patients depending on the TLR4 blood serum concentration

Indices	TLR4 concentration, pg/ml			
	Q <sub>1</sub>	Q <sub>2</sub>	Q <sub>3</sub>	Q <sub>4</sub>
	<294.0 n=13	294.0-300.0 n=20	300.0-305.15 n=16	>305.15 n=16
Leptin, ng/ml	3.61±1.40	5.87±4.53	6.94±4.94*#	8.38±4.58**#
Adiponectin, µg/ml	4.53±1.93	3.54±1.49	2.97±1.79*#	3.34±1.74*#
Ig A/L	3.08±0.26	2.83±0.37	2.66±0.43*#	2.47±0.41**#

note: 1. \* -  $p < 0.05$  and \*\* -  $p < 0.001$  relative to quartile 1; 2. # -  $p < 0.05$  and ## -  $p < 0.001$  relative to quartile 2

Table 3. Coefficients of correlation between TLR4 blood serum concentration and adipokine profile of gout patients

Indicators	TLR4	
	r (95% CI)	p
Leptin ng/ml	0.51 (0.31; 0.69)	<0.001
Adiponectin, µg/ml	-0.41 (-0.61; -0.18)	<0.001
Ig A/L	-0.54 (-0.69; -0.35)	<0.001

The adiponectin concentration in gout patients was 2.5 times lower and was  $3.3 \pm 1.7$  µg/ml in comparison with the control group, where it was equal to  $8.4 \pm 3.6$  µg/ml. The level of adiponectin in gout patients appeared to vary from 1.3 to 6.9 µg/ml with a median 2.5 and an interquartile interval (2.2, 4.3), whereas in the group of apparently healthy individuals it was within 3.9 - 14.8 µg/ml, and median and interquartile interval were equal to 7.1 (5.3; 11.1) µg/ml, accordingly.

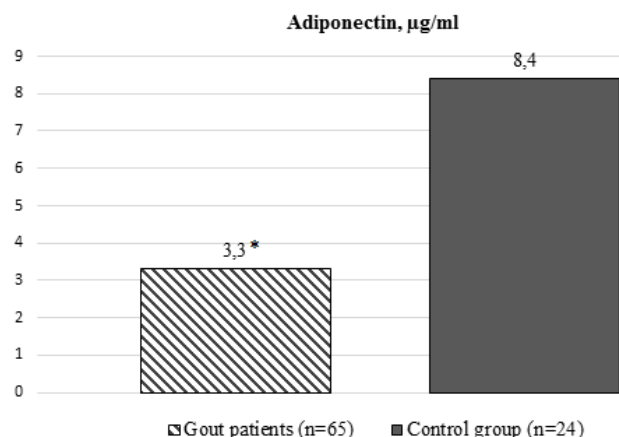


Fig. 2. Adiponectin levels in gout patients and subjects of the control group.

Note: \* - statistically significant difference compared to the control group subjects ( $p < 0.05$ )

Regarding Ig A/L, by average, it was 1.2 times lower in gout patients than in the control group (Fig. 3.). The range of Ig A/L fluctuations in patients ranged from 2.0 to 3.5, and from 2.9 to 3.9 (95 CI) in the control group, whereas the median and interquartile interval in the group of patients and in the apparently healthy individuals were 2.8 (2.5; 3.1) and 3.5 (3.3; 3.7), accordingly.

The TLR4 mean serum concentration in the group of patients was  $301.2 \pm 12.2$  pg/ml and statistically significantly higher than the one in the group of apparently healthy individuals (Fig. 4). TLR4 concentration in gout patients varied from 283.2 to 326.1 pg/ml, while in the subjects of the control group it ranged from 264.9 to 293.8 pg/ml, and the median and interquartile interval were 300.0 (294; 305.2) and 281.2 (273.5; 293.8) pg/ml, respectively.

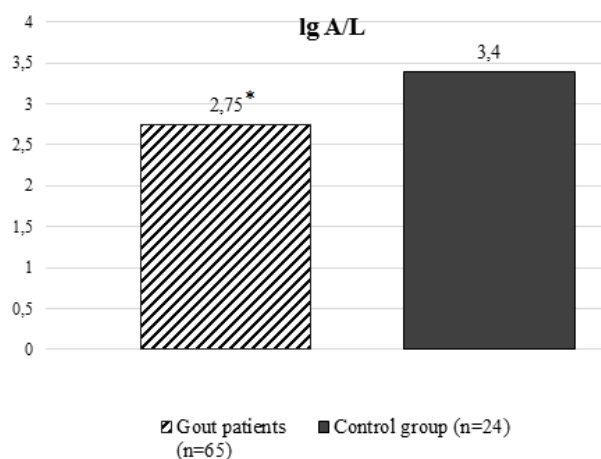


Fig. 3. Ig A/L of gout patients and subjects of the control group.

Note: \* - statistically significant difference compared to the control group subjects ( $p < 0.05$ )

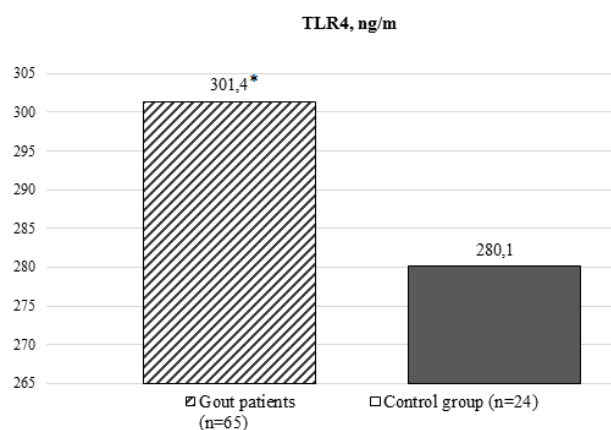


Fig. 4. TLR4 concentrations in gout patients and subjects of the control group.

Note: \* - statistically significant difference compared to the control group subjects ( $p < 0.05$ )



In the next phase, we analyzed the association of TLR4 concentration with adipokine profile of gout patients (Table 2). For this purpose, we performed the quartile distribution of TLR4 concentrations. According to the quartile distribution of TLR4 concentration, gout patients were divided into 4 groups: Q<sub>1</sub> - 13 individuals (the concentration <294.0 pg/ml), Q<sub>2</sub> - 20 individuals (294.0-300.0 pg/ml), Q<sub>3</sub> - (300.0-305.15 pg/ml), and Q<sub>4</sub> - 16 subjects (>305.15 pg/ml). It was found that an increase in the leptin level was associated with elevating TLR4 serum concentrations in gout patients. Thus, the patients with high TLR4 levels (>305.15 pg/ml) had leptin concentrations 2.3 times higher than those in low-level patients (<294.0 pg/ml). We also viewed a gradual decrease of A/L logarithmic ratio from the 1-st to the 4-th quartile - from 3.08 to 2.47. An increase of the TLR4 level was accompanied by a decrease of adiponectin concentration, but differences were less pronounced and the lowest level of adiponectin was found in patients with TLR4 concentrations ranging from 300.0 to 305.15 pg/ml.

In the next phase, we analyzed the incidence of hyperleptinemia, hypo adiponectinemia and dysadipokinemia in gout patients depending on TLR4 concentration (Fig. 5).

It appeared that the growth of TLR4 level from 1-st to 4-th quartile was accompanied by deepening the adipokine status disorders. In quartile Q1, the incidence of hyperleptinemia (leptin >5.91 ng/ml), hypo adiponectinemia (adiponectin <3.61 µg/ml), and dysadipokinemia (lg A/L <3.2) in patients was 7.7%, 46.2%, and 69%, respectively. The most pronounced were disorders of adipokine profile in patients, accumulated in the 4-th quartile. In quartile Q4, the incidence of hyperleptinemia, hypo adiponectinemia and dysadipokinemia in patients was statistically significantly higher than in Q1 by 73.5%, 41.3%, and 31%, respectively.

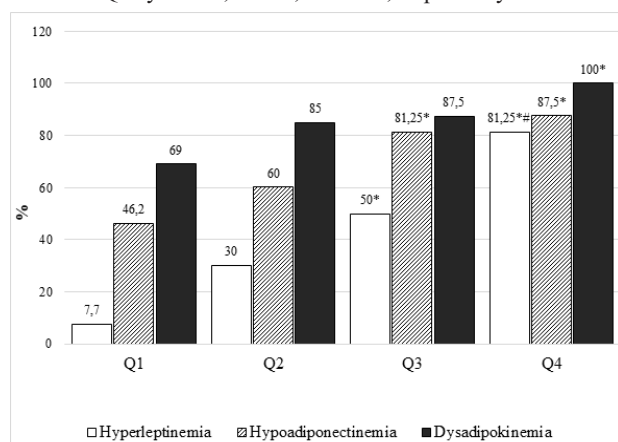


Fig. 5. The incidence of hyperleptinemia, hypo adiponectinemia, and dysadipokinemia depending on quartile distribution of TLR4 concentration.

Note: \* -  $p < 0.05$  - relative to quartile 1; # -  $p < 0.05$  - relative to quartile 2

The additional evidence of association of adipokine profile with TLR4 concentration was obtained from the Spearman's correlation analysis (Table 3). Statistically reliable association of moderate strength was registered between TLR4 concentration and adipokine status of gout patients; in such event, we noted a direct associative relationship with leptin level ( $r=0.51$ ) and the inverse one with adiponectin level ( $r=-0.41$ ). The closest association was found between the integral index of dysadipokinemia (lg A/L) and the level of TLR4 ( $r=-0.54$ ). Fig. 6 depicts the graphical dependence of TLR4 concentration on the logarithmic A/L ratio.

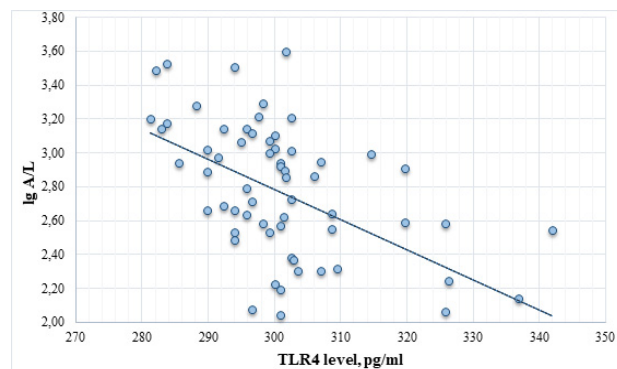


Fig. 6. Blood TLR4 concentration in gout patients depending on lg A/L

Gout patients were characterized by disturbance of the adipokine status associated with development of hyperleptinemia, hypo adiponectinemia, and dysadipokinemia. TLR4 concentration in gout patients was statistically significantly higher than in subjects from the control group. The data we received are consistent with the data from literature sources. Thus, a large-scale ARI-RANG study revealed that leptin concentration in gout patients was 3.31 ng/ml with an interquartile interval (2.37; 4.57), and adiponectin - 5.46 (3.93, 7.46) µg/ml; it was also shown that leptin concentration grew along with progression of the disease, while the adiponectin profile went down [5]. The phenomenon of dysadipokinemia was also recorded in patients with metabolic syndrome in Japanese and Korean populations [4,6]. Disorder of the adipokine status was estimated among gout patients in the Ukrainian population [8]. Our findings regarding the prevalence of higher TLR4 levels in gout patients have been confirmed by the results of the study performed by Ten Oever et al. [10].

It's worthy to note that we were the first researchers who conducted the study of association of TLR4 and adipokine profile of gout patients. We established that leptin level grew in parallel with TLR4 concentration, along with reduction of adiponectin concentration and greater manifestation of dysadipokinemia. The incidence of hyperleptinemia, hypo adiponectinemia and dysadipokinemia in subjects with high TLR4 levels was statistically significantly higher than in subjects with low TLR4 concentration by 73.5%, 41.3%, and 31%, accordingly. Growing TLR4 concentration was associated with a disturbance of the adipokine status in gout patients, while a characteristic feature was more tight association of the phenomenon with the integral index of dysadipokinemia than with the absolute serum levels of leptin and adiponectin.

The pathogenetic effect of TLR4 and its association with dysadipokinemia in gout patients requires further study, as detailed mechanisms of interaction of these indicators are not entirely understood.

**Conclusions.** Blood serum TLR4 concentration was statistically significantly higher in gout patients compared to the one in apparently healthy individuals. It was also found that gout patients had elevated leptin concentrations and low adiponectin levels and the integral index of dysadipokinemia (lg A/L). Dysadipokinemia in gout patients was associated with elevated concentration of TLR4 in the blood serum.

**Acknowledgment.** The work was carried out within the framework of the research work "Genetic and environmental factors in the emergence and progression of major rheumatologic diseases". State registration number - 0115U001282.

## REFERENCES

1. Neogi, T., Jansen, T. L. T. A., Dalbeth, N., Fransen, J., Schumacher, H. R., 2015 gout classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative // *Arthritis & rheumatology* 2015; 67(10): 2557-2568.
2. Batra, A., Pietsch, J., Fedke, I., Glaben, R., Okur, B., Stroh, T. Leptin-dependent toll-like receptor expression and responsiveness in preadipocytes and adipocytes // *The American journal of pathology* 2007; 170(6): 1931-1941.
3. Hwa Cho, Bae Y.C., Jung J.S. Role of Toll-Like Receptors on Human Adipose-Derived Stromal Cells // *Stem cells* 2006; 24(12): 2744-2752.
4. Jung CH, Rhee EJ, Choi JH. et al. The relationship of adiponectin/leptin ratio with homeostasis model assessment insulin resistance index and metabolic syndrome in apparently healthy Korean male adults// *Korean Diabetes Journal* 2010;34(4):237-243.
5. Kang D.R., Yadav D., Koh S.B., Kim J.Y., Ah S.V. Impact of serum leptin to adiponectin ratio on regression of metabolic syndrome in high-risk individuals: the ARIRANG study // *Yonsei Medical Journal* 2017; 58(2): 339-346.
6. Kotani K, Sakane, N. Leptin: adiponectin ratio and metabolic syndrome in the general Japanese population // *The Korean journal of laboratory medicine*. 2011;31(3):162-166.
7. McKinney C., Stamp L.K., Dalbeth N., Toples R.K., Day R.O., Kannagara D.R., Radstake T.R. Multiplicative interaction of functional inflammasome genetic variants in determining the risk of gout // *Arthritis research & therapy* 2015; 17(1): 288.
8. Orlova I.V., Stanislavchuk M.A., Gunko I.P. Dysadipokinemias in patients with gout and its association with the disease activity // *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)*, 2018; 71(2 pt 2), 289-294.
9. Qing Y.F., Zhang Q.B., Zhou J.G., Jiang L. Changes in toll-like receptor (TLR) 4–NFκB–IL1β signaling in male gout patients might be involved in the pathogenesis of primary gouty arthritis // *Rheumatology International* 2014; 34(2): 213-220.
10. ten Oever J., Kox M., van de Veerdonk F.L., Mothapo K.M., Slavcovic A., Jansen T.L., Stoffels M. The discriminative capacity of soluble Toll-like receptor (sTLR) 2 and sTLR4 in inflammatory diseases // *BMC Immunology* 2014; 15(1): 55.

## SUMMARY

### ASSOCIATION OF DYSADIPOKINEMIA WITH TLR4 SERUM CONCENTRATION IN GOUT PATIENTS

**Orlova I., Stanislavchuk M., Andruschko I., Bereziuk O.**

*National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine*

Study objective was to estimate the levels of TLR4 in gout patients and evaluate their association with the dysadipokinemias.

The study involved 65 gout patients and 24 healthy individuals. All study subjects preceded clinical and laboratory examination. Levels of adipokines and TLR4 concentration were estimated by commercial ELISA kits. The statistical information was processed using MS Excel and Statistica SPSS22 utility programs for Windows.

Our study revealed that gout patients had elevated leptin and TLR4 levels, decreased adiponectin concentration and Ig A/L dysadipokinemias indicator compared to apparently healthy individuals.

More prominent disturbance of adipokines status was estimated in patients with high level of TLR4. The adipokine status disturbances were associated with elevated TLR4 serum concentrations.

**Keywords:** gout, dysadipokinemias, TLR4.

## РЕЗЮМЕ

### АССОЦИАЦИЯ ДИСАДИПОКИНЕМИИ С УРОВНЕМ TLR4 У БОЛЬНЫХ ПОДАГРОЙ

**Орлова И.В., Станиславчук Н.А., Андрушко И.И., Березюк О.М.**

*Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Украина*

Целью исследования явилось определение зависимости между дисадипокинемией и уровнем TLR4 в сыворотке крови у больных подагрой.

В исследование включено 65 больных подагрой в возрасте 53.1±9.7 лет. Контрольную группу составили 24 практически здоровые лица, репрезентативные по возрасту. Всем больным проводились клинические и лабораторные обследования. Исследование уровня TLR4, лептина и адипонектина осуществлялось с использованием коммерческих наборов ELISA. Статистическая обработка результатов проведена посредством программ MS Excel и Statistica SPSS v.22.

В результате исследования у больных подагрой выявлены высокие уровни лептина и TLR4, низкий уровень адипонектина и снижение показателя дисадипокинемии - Ig A/L. Наиболее выраженные нарушения адипокинового статуса ассоциированы с высоким уровнем TLR4.

## რეზიუმე

დისადიპოკინემიის და TLR4 დონის ასოციაცია პოდაგრით ავადმყოფებში

ი. ორლოვა, ნ. სტანისლავჩუკი, ი. ანდრუშკო, ო. ბერეზიუკი

ნ. პიროგოვის სახ. ვინიცის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა დისადიპოკინემიის და TLR4 დონეებს შორის კავშირის განსაზღვრა პოდაგრით ავადმყოფებში.

კვლევაში ჩართული იყო 65 მამაკაცი პოდაგრით, საშუალო ასაკი 53.1±9.7 წ. საკონტროლო ჯგუფი შეადგინა 24 იმავე ასაკის პრაქტიკულად ჯანმრთელმა პირმა. ყველა ავადმყოფს ჩატარდა კლინიკური და ლაბორატორიული გამოკვლევები. TLR4, ლეპტინის და ადიპონექტინის გამოკვლევა განხორციელდა კომერციული ნაკრებებით ELISA; შედეგების სტატისტიკური დამუშავება - პროგრამა Statistica SPSS v.22. გამოყენებით.

ჩატარებული კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ პოდაგრით ავადმყოფებში აღინიშნება ლეპტინისა და TLR4 მაღალი, ხოლო ადიპონექტინის დაბალი დონე და დისადიპოკინემიის - Ig A/L მაჩვენებლის დაქვეითება. ადიპოკინის სტატუსის მკაფიოდ გამოხატული დარღვევები ასოცირდება TLR4 მაღალ დონესთან.

## УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ТОКСОПЛАЗМОЗА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ

<sup>1</sup>Бондаренко А.В., <sup>1</sup>Гаврилов А.В., <sup>1</sup>Кацапов Д.В., <sup>2</sup>Бондаренко Е.В., <sup>2</sup>Павлов В.В.

<sup>1</sup>Национальный медицинский университет, Харьков; <sup>2</sup>Областная клиническая инфекционная больница, Харьков, Украина

ВИЧ-инфицированные относятся к категории повышенного популяционного риска развития церебрального токсоплазмоза при уровне CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов менее 100 в 1 мкл крови, что является одной из основных причин летальности [14]. Риск развития церебрального токсоплазмоза в шесть раз выше вследствие реактивации персистивных токсоплазм, чем в результате первичного инфицирования у серонегативных лиц [1]. Серопозитивность к *T. gondii* в общей популяции может достигать 90% [3], тогда как специфические антитоксоплазменные IgG антитела обнаруживаются у 97% ВИЧ-инфицированных с церебральным токсоплазмозом [5].

Методом полимеразной цепной реакции в спинномозговой жидкости ДНК *Toxoplasma gondii* удается обнаружить лишь у 30% больных с активным токсоплазмозом. Поэтому в широкой лабораторной практике для диагностики, обычно, используют иммуноферментный анализ (ИФА), которые отличаются простотой в применении и не требуют сложного оборудования [13].

Согласно современным данным, кровь, спинномозговую жидкость и ткани мозга следует рассматривать в качестве различных компартментов [10], поэтому выявлению антител и нуклеиновых кислот, возбудителей нейроинфекций в спинномозговой жидкости, придается большее значение, чем в плазме крови.

Поскольку клинические проявления нейроинфекций различной этиологии носят неспецифический характер, точная и быстрая этиологическая диагностика имеет решающее значение для проведения этиотропной терапии, позволяет предупредить или замедлить прогрессирование патологического процесса и сохранить удовлетворительное качество жизни пациентов.

Целью исследования явилось определить диагностическую ценность параллельного определения индекса avidности IgG к *T. gondii* методом иммуноферментного анализа в крови и спинномозговой жидкости у ВИЧ-инфицированных лиц с очаговым поражением головного мозга.

**Материал и методы.** Обследовано 30 ВИЧ-инфицированных лиц в IV клинической стадии (16 мужчин и 14 женщин) в возрасте 25-49 лет с очаговым поражением головного мозга, проходивших лечение в Областной клинической инфекционной больнице г. Харькова. Проводились общеклинические исследования, диагностическая люмбальная пункция, компьютерная и/или магнитно-резонансная томография головного мозга, бактериоскопия спинномозговой жидкости на наличие *Mycobacterium tuberculosis* и *Cryptococcus neoformans*, ИФА крови на количественное определение IgM и IgG к HSV 1/2, VZV, EBV, CMV, *M. tuberculosis*, *T. gondii*, а также метод полимеразной цепной реакции спинномозговой жидкости для определения ДНК этих возбудителей.

Спинномозговая жидкость и сыворотка крови ВИЧ-инфицированных пациентов, у которых на первом этапе исследования отмечалось наличие антител к *T. gondii* в плазме крови, были дополнительным материалом для ретроспективного определения avidности IgG антител к *T. gondii* при параллельном исследовании. В этих целях ис-

пользовалась тест-система «ВектоТоксо-IgG-авидность», которая представляет собой набор реагентов для иммуноферментного определения индекса avidности иммуноглобулинов класса G к *T. gondii* в сыворотке (плазме) крови. ВИЧ-инфицированным пациентам, результаты ИФА или полимеразной цепной реакции на *T. gondii* которых были положительными, проводилось параллельное определение индекса avidности IgG к *T. gondii* методом ИФА в крови и спинномозговой жидкости.

Забор сыворотки крови и спинномозговой жидкости проводили одновременно. Все образцы для анализа хранили при -20 °С, а затем тестировали в одной постановке ИФА на иммуноферментном анализаторе RT-2100C Rayto Life and Analytical Sciences Co., Ltd (China) для количественного определения уровня специфических антитоксоплазменных IgG антител. Одновременный учет результатов анализа сыворотки крови и спинномозговой жидкости позволил сравнить avidность IgG антител к *T. gondii*, как персистирующих в крови, так и в спинномозговой жидкости (интратекальных).

Авидность является характеристикой прочности связи специфических антител с соответствующими антигенами и определяется числом связывающих участков и силой связывания. По сути, определение avidности IgG позволяет оценить давность инфицирования и при определении низкоавидных антител делается заключение о циркуляции последних на протяжении 3-4 месяцев после инфицирования. В последующем низкоавидные антитела замещаются высокоавидными. При реактивации инфекции в крови выявляются IgG антитела к *T. gondii* высокой avidности. Авидность антител в спинномозговой жидкости ранее не изучалась.

Метод определения avidности с использованием «ВектоТоксо-IgG-авидность» - набора реагентов для иммуноферментного определения индекса avidности IgG к *T. gondii* в сыворотке крови АО «Вектор-Бест», основан на трехстадийном твердофазном ИФА с применением антигена *T. gondii*, белок-диссоциирующего агента и моноклональных антител против IgG человека.

На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубировали в лунках параллельных рядов с иммобилизованным антигеном *T. gondii*. Имеющиеся в исследуемом материале специфические антитела к *T. gondii* связывались с антигеном, формируя комплекс антиген-антитело. На второй стадии, после внесения белок-диссоциирующего агента в один из параллельных рядов, происходила диссоциация комплекса «антиген-антитело», включающего IgG с более низкими константами связывания (низкой avidностью). На третьей стадии связавшиеся антитела взаимодействовали с конъюгатом моноклональных антител против IgG человека с пероксидазой хрена. Комплекс «антиген-антитело-конъюгат» выявляли тетраметилбензидином. После добавления раствора стоп-реагента измеряли оптическую плотность растворов в лунках на основной длине волны 450 нм при референсной длине волны 620-650 нм. Интенсивность окрашивания пропорциональна количеству, связанных в комплекс IgG к *T. gondii*. Индекс avidности рассчитывали,

Таблица. Результаты исследования индекса avidности антитоксоплазменных антител в образцах спинномозговой жидкости и крови ВИЧ-инфицированных лиц с очаговым энцефалитом

Пациент	Кровь			Спинномозговая жидкость		
	Прямое ИФА, оп	Диссоц. ИФА, оп	Индекс avidности, %	Прямое ИФА, оп	Диссоц. ИФА, оп	Индекс avidности, %
№1	1,345	1,013	75	0,899	0,399	44
№2	0,901	0,645	72	0,270	0,136	50
№3	1,842	1,349	73	0,083	0,040	48
№4	2,288	1,911	84	0,085	0,042	49
№5	1,661	1,359	82	0,12	0,079	66
№6	2,146	1,902	89	0,372	0,212	57

как отношение оптической плотности, полученной в лунках в присутствии диссоциирующего агента - высокоавидных иммуноглобулинов, к оптической плотности, полученной при анализе без диссоциирующего агента - низкоавидных иммуноглобулинов, и выражали в процентах.

**Результаты и их обсуждение.** Диагностика церебрального токсоплазмоза у ВИЧ-инфицированных лиц основывается на следующих критериях:

- 1) клинические симптомы, позволяющие заподозрить токсоплазмоз, с тенденцией к прогрессированию: нарушение сознания, лихорадка, судороги, головная боль, очаговые неврологические симптомы (заторможенность, парезы и параличи, двигательные расстройства, нарушение координации движений, выпадение полей зрения, афазия);
- 2) данные нейровизуализации (выявление одного или более кольцевидных очагов);
- 3) выявление *T. gondii* в клиническом образце (гистологическое исследование тканей головного мозга или обнаружение ДНК в спинномозговой жидкости методом полимеразной цепной реакции) [12].

Клиническая картина у обследованных ВИЧ-инфицированных пациентов не отличалась специфичностью и требовала проведения дифференциальной диагностики с первичной лимфомой головного мозга, прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатией, пиогенным абсцессом, герпесвирусным поражением мозга, криптококкозом или микобактериозом.

У 13 (43,3%) из обследованных нами ВИЧ-инфицированных пациентов при проведении магнитно-резонансной томографии выявлены очаговые поражения головного мозга с признаками, типичными для токсоплазмоза. Однако, специфичность для церебрального токсоплазмоза, обнаруживаемая при использовании методов нейровизуализации, усиленных контрастным веществом одного или множественных некротических очагов в виде кольца в веществе мозга, коре или базальных ганглиях, на сегодняшний день ставится под сомнение [6]. Так, указанные множественные кольцевидные накопления контраста описаны и при туберкуломах головного мозга [11]. В Украине, учитывая его распространенность, именно туберкулёз является той оппортунистической инфекцией, с которой в первую очередь следует проводить дифференциальную диагностику токсоплазмоза. Кроме того, при церебральном токсоплазмозе возможно развитие диссеминированного энцефалита без признаков очагов [4], и не всегда возможно только на основании методов нейровизуализации отличить очаги при церебральном токсоплазмозе от бактериального абсцесса, туберкулезного энцефалита или лимфомы головного мозга.

Для цитологического выявления *T. gondii* в тканях головного мозга при церебральном токсоплазмозе необходимо проведение игольной стереотаксической биопсии под контролем компьютерной томографии, что неосуществимо в большинстве стационаров. Более того, проведение биопсии головного мозга рекомендуется только при отсутствии клинического или рентгенологического ответа на специфическую терапию, что оттягивает во времени назначение адекватной этиотропной терапии [5].

Низкая диагностическая ценность метода полимеразной цепной реакции для определения генетического материала в крови и спинномозговой жидкости связана с внутриклеточным расположением *T. gondii*, небольшим количеством токсоплазмозных очагов и их удаленностью от ликвороносных путей. Факт попадания ДНК в спинномозговую жидкость не гарантирует ее длительной задержки через локальную активность ДНК-азы. Выявление *T. gondii* методом полимеразной цепной реакции в спинномозговой жидкости характеризуется высокой специфичностью (96-100%), но низкой чувствительностью (<50%) [9].

Альтернативой является определение специфических антител методом ИФА [8]. На фоне выраженного иммунодефицита синтез антитоксоплазменных IgM и IgA антител снижен, поэтому при манифестной форме хронического токсоплазмоза они, как правило, отсутствуют. Количественное определение титра антител не имеет диагностического значения, как и тест на avidность антител в крови, поскольку обязательным условием развития церебрального токсоплазмоза является реактивация процесса [2]. При отсутствии в крови специфических IgG диагноз «токсоплазмоз» маловероятен. Случаи токсоплазмоза у серонегативных пациентов встречаются весьма редко. Однако, с учетом того, что *T. gondii* инфицировано большинство жителей Украины, то нахождение в крови специфических IgG является крайне ненадежным диагностическим критерием.

При исследовании ВИЧ-инфицированных пациентов специфические IgG к *T. gondii* в плазме крови обнаружены нами у 27 (90%) больных. У всех пациентов с положительным результатом ИФА в крови специфические антитоксоплазменные IgG обнаруживались в достаточно высоких концентрациях и с avidностью выше 40%, что указывает на наличие хронической инфекции. Анализ спинномозговой жидкости специфические IgG к *T. gondii* выявил лишь у 7 (2%) пациентов. Необходимо отметить, что у всех пациентов, у которых IgG к *T. gondii* присутствовали в спинномозговой жидкости, они выявлялись и в сыворотке крови, что свидетельствует о невозможности изолированного появления специфических антител в спинномозговой жидкости

при отсутствии их в крови. У пациентов, у которых IgG к *T. gondii* обнаружены только в сыворотке крови в процессе диагностики и лечения диагноз церебрального токсоплазмоза не был установлен.

Полного соответствия роста антител в крови и спинномозговой жидкости не существует, что дает основание в случае их обнаружения в последней судить об их интраклеточной продукции. Однако, антитела могут диффундировать в спинномозговую жидкость из крови при нарушении гематоэнцефалического барьера, возникающего при церебральном токсоплазмозе. Известно, что в крови и спинномозговой жидкости обнаруживаются разные субклассы IgG к *T. gondii*, что с успехом можно использовать в целях диагностики [7].

Полученные в результате исследования данные показали, что специфические антитела находятся в спинномозговой жидкости в меньших концентрациях, чем в сыворотке крови у каждого из пациентов (таблица). Данные по определению avidности IgG к *T. gondii* сывороточных и интраклеточных также отличались. В спинномозговой жидкости обнаруживались антитела с более низкой avidностью, чем в крови, что следует использовать в диагностике церебрального токсоплазмоза.

**Выводы.** Таким образом, результаты исследования образцов спинномозговой жидкости и крови ВИЧ-инфицированных лиц с очаговым энцефалитом, выявили, что ИФА прямым и диссоциированными методами позволяет выявлять avidность IgG к *T. gondii* не только в сыворотке крови, но и в спинномозговой жидкости. Параллельное проведение ИФА для определения avidности специфических интраклеточных иммуноглобулинов в спинномозговой жидкости и персистирующих в крови предлагается в целях усовершенствования диагностики токсоплазмоза у ВИЧ-инфицированных пациентов. Высокая информативная способность тест-системы для определения индекса avidности IgG антител к *T. gondii* определяет возможность ее использования в алгоритме диагностики этиологического фактора нейроинфекции у ВИЧ-инфицированных. Своевременный этиологический диагноз позволит предупредить развитие осложнений в ходе развития заболевания и снизить летальность.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Грыжак ИГ. Риск токсоплазмозного энцефалита у ВИЧ-инфицированных пациентов с разным серологическим профилем антитоксоплазмозных антител. ScienceRise: Medical Science. 2016;7(3):9-14.
2. Липковская ИВ. Состояние иммунной системы у больных манифестной формой хронической стадии токсоплазмоза. Инфекционные болезни. 2013;73(3): 64-69.
3. Flegr J, Prandota J, Sovičková M, Israili ZH. Toxoplasmosis – a global threat. Correlation of latent toxoplasmosis with specific disease burden in a set of 88 countries. PLoS One. 2014;9(3):e90203
4. Gray F, Gherardi R, Wingate E, Wingate J, Fénelon G, Gaston A, et al. Diffuse “encephalitic” cerebral toxoplasmosis in AIDS. Report of four cases. J Neurol. 1989;236(5):273-277.
5. Hoffmann C, Rockstroh JK. (Eds). HIV 2015/2016. 23th edition. Medizin Fokus Verlag. 2015:341-345.
6. Mahadevan A, Ramalingaiah AH, Parthasarathy S, Nath A, Ranga U, Krishna SS. Neuropathological correlate of the “concentric target sign” in MRI of HIV associated cerebral toxoplasmosis. J Magn Reson Imaging. 2013;38(2):488-95.
7. Meira CS, Vidal JE, Costa-Silva TA, Frazzatti-Gallina N,

Pereira-Chioccola VL. Immunodiagnosis in cerebrospinal fluid of cerebral toxoplasmosis and HIV-infected patients using Toxoplasma gondii excreted/secreted antigens. Diagn Microbiol Infect Dis. 2011;71(3):279-85.

8. Meira CS, Vidal JE, Costa-Silva TA, Motoie G, Gava R, Hiramoto RM, et al. IgG4 specific to Toxoplasma gondii excretory/secretory antigens in serum and/or cerebrospinal fluid support the cerebral toxoplasmosis diagnosis in HIV-infected patients. J Immunol Methods. 2013;395(1-2):21-8.
9. Mesquita RT, Ziegler AP, Hiramoto RM, Vidal JE, Pereira-Chioccola VL. Real-time quantitative PCR in cerebral toxoplasmosis diagnosis of Brazilian human immunodeficiency virus-infected patients. J Med Microbiol. 2010;59(Pt6):641-647.
10. Sakka L, Coll G, Chazal J. Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck diseases. 2011;128:309-316.
11. Smith AB, Smirniotopoulos JG, Rushing EJ. Central Nervous System Infections Associated with Human Immunodeficiency Virus Infection: Radiologic Pathologic Correlation. RadioGraphics. 2008;28:2033-2058.
12. Sudan V, Jaiswal AK, Shanker D. Recent trends in the diagnosis of toxoplasmosis. Clinical Review Opinion. 2013;5(2):11-17.
13. Vidal JE, Diaz AV, de Oliveira AC, Dauar RF, Colombo FA, Pereira-Chioccola VL. Importance of high IgG anti-Toxoplasma gondii titers and PCR detection of T. gondii DNA in peripheral blood samples for the diagnosis of AIDS-related cerebral toxoplasmosis: a case-control study. Braz J Infect Dis. 2011;15(4):356-9.
14. Wang ZD, Wang SC, Liu HH, Ma HY, Li ZY, Wei F, et al. Prevalence and burden of Toxoplasma gondii infection in HIV-infected people: a systematic review and meta-analysis. Lancet HIV. 2017;4(4):e177-e188.

## SUMMARY

### IMPROVEMENT OF ETIOLOGICAL DIAGNOSIS OF THE CEREBRAL TOXOPLASMOSIS IN HIV-INFECTED PERSONS

<sup>1</sup>Bondarenko A., <sup>1</sup>Gavrylov A., <sup>1</sup>Katsapov D.,  
<sup>2</sup>Bondarenko O., <sup>2</sup>Pavlov V.

<sup>1</sup>National Medical University, Kharkiv; <sup>2</sup>Regional Clinical Infectious Diseases Hospital, Kharkiv, Ukraine

The objective of the study was to determine the diagnostic value of the parallel detection of the avidity index of the IgG to Toxoplasma gondii in the blood and cerebrospinal fluid by a three-step solid-phase enzyme immunoassay using T. gondii antigen, protein dissociating agent and monoclonal antibodies against human IgG at HIV-infected individuals with a focal damage of the brain. The results of the study showed that conducting of the enzyme-linked immunosorbent assay by a direct and dissociated method makes it possible to detect specific intrathecal and serum immunoglobulins, which is proposed in terms of improving diagnosis of cerebral toxoplasmosis in HIV-infected individuals. The high informative ability of the test system for detecting the avidity index of IgG antibodies to T. gondii allows the possibility to apply it in the algorithm for diagnosing an etiological factor of neuroinfection in HIV-infected individuals.

**Keywords:** HIV-infection, cerebral toxoplasmosis, enzyme-linked immunosorbent assay, avidity index.

РЕЗЮМЕ

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ЦЕРЕБРАЛЬНОГО ТОКСОПЛАЗМОЗА У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ЛИЦ

<sup>1</sup>Бондаренко А.В., <sup>1</sup>Гаврилов А.В., <sup>1</sup>Кацапов Д.В.,

<sup>2</sup>Бондаренко Е.В., <sup>2</sup>Павлов В.В.

<sup>1</sup>Национальный медицинский университет; <sup>2</sup>Областная клиническая инфекционная больница, Харьков, Украина

Целью исследования явилось определение диагностической ценности параллельного определения в крови и спинномозговой жидкости индекса авидности иммуноглобулинов класса IgG к *Toxoplasma gondii* методом трехстадийного твердофазного иммуноферментного анализа с применением антигена *T. gondii*, белок-диссоциирующего агента и моноклональных антител против IgG человека у ВИЧ-инфицированных лиц с очаговым поражением головного мозга.

Результаты исследования показали, что проведение иммуноферментного анализа прямым и диссоциированным методами позволяет выявить специфические интратекальные и сывороточные иммуноглобулины для усовершенствования диагностики церебрального токсоплазмоза у ВИЧ-инфицированных лиц. Высокая информативная способность тест-системы для определения индекса авидности IgG антител к *T. gondii* определяет возможность ее использования в алгоритме диагностики этиологического фактора нейроирификации у ВИЧ-инфицированных.

რეზიუმე

ცერებრალური ტოქსოპლაზმოზის ეთიოლოგიური დიაგნოსტიკის სრულყოფა აივით ინფიცირებულ პირებში

<sup>1</sup>ა. ბონდარენკო, <sup>1</sup>ა. გავრილოვი, <sup>1</sup>დ. კაცაპოვი,

<sup>2</sup>ე. ბონდარენკო, <sup>2</sup>ვ. პავლოვი

<sup>1</sup>ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>სამხარეო კლინიკური ინფექციური საავადმყოფო, ხარკოვი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სისხლში და ზურგის ტვინის სითხეში IgG კლასის იმუნოგლობულინების ავიდობის ინდექსის განსაზღვრა *Toxoplasma gondii* მიმართ სამსტადიური მყარფაზური იმუნოფერმენტული ანალიზის მეთოდის მეშვეობით ანტიგენ *T. gondii*-ის, ცილა-დისოციური აგენტის და ადამიანის IgG საწინააღმდეგო აგენტის გამოყენებით პაციენტებში აივინფექციით და თავის ტვინის კეროვანი დაზიანებით.

კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ იმუნოფერმენტული ანალიზი, ჩატარებული პირდაპირი და დისოციირებული მეთოდით, იძლევა სპეციფიური, ინტრატეკალური იმუნოგლობულინების გამოვლენის შესაძლებლობას, რაც ემსახურება აივით ინფიცირებულ პირებში ცერებრალური ტოქსოპლაზმოზის დიაგნოსტიკის სრულყოფას. *T. gondii*-ის მიმართ ანტისხეულების IgG ავიდობის ინდექსის განსაზღვრის ტესტ-სისტემის მაღალი ინფორმატიულობა უზრუნველყოფს მის გამოყენებას აივით ინფიცირებულ პირებში ნეიროინფექციის ეთიოლოგიური ფაქტორის დიაგნოსტიკაში.

VISCERAL GNATHOSTOMIASIS WITH SIMULTANEOUS DAMAGE TO THE UPPER AND LOWER PARTS OF THE GASTROINTESTINAL TRACT

<sup>1</sup>Shypulin V., <sup>1</sup>Neverovskiy A., <sup>1</sup>Cherniavskiy V., <sup>2</sup>Puzyrenko A.

<sup>1</sup>Bogomolets National Medical University, Department of Internal Medicine №1, Kyiv, Ukraine;

<sup>2</sup>All Saints University School of Medicine, Department of Pharmacology, Roseau, Commonwealth of Dominica

Gnathostomiasis is a parasitic infection caused by the third stage of the larvae of *Gnathostoma* species nematodes, which are observed predominantly in tropical and subtropical countries. This food zoonosis is endemic in areas where raw freshwater fish and shellfish are consumed, especially in Thailand and Southeast Asia, Japan and Latin America (Mexico). Previously, the disease was rarely found outside the endemic regions, but during the last decades, the number of cases registered and observed in countries where it is not endemic has increased. The reasons for this are the distribution of tourism, the change in food habits, the violation of the technologies of cooking and marinating fish [1,2,3,4,9]. We report a unique case of visceral gnathostomiasis with simultaneous damage of the upper and lower parts of the gastrointestinal tract.

*Case report.* The patient, a 28-yr-old white female came to the Clinical of the National Medical University (Kyiv, Ukraine). She complained about the inability to eat solid food (she eats only liquid food "Fortisip"), feeling of heaviness in the abdomen

after each food intake, regurgitation, and heartburn, periodic nausea, and vomiting. She noticed on and off the loose stool.

According to the patient, her parents and the medical documentation the disease began 14 years ago (in 2003) 2 weeks after a trip to Thailand where she consumed raw freshwater fish as sushi. At that time, she complained of mild fever, spasmodic abdominal pain, lack of appetite, bloating, diarrhea. Acute enterocolitis was diagnosed, and she was treated symptomatically. In spite of this, she had only some improvement but she did not return for follow up visit. Several times per week she has experienced mild cramping abdominal pain that is followed by watery bowel movements since that time.

After two and half years (in 2006) she noticed migratory swellings under the skin around the chest and abdomen associated with edema and pruritus. The patient came to Emergency Room of the Moscow Clinic. The white blood cell count was 11,300 mm<sup>3</sup> with a differential count of 60% PMNs, 20% lymphocytes, 3% monocytes, eosinophils 15%, basophils 1%. The

hemoglobin and hematocrit were 12.3 mg/dl and 37%, respectively, and the platelet count was 400,000. However, over the next 2 months of treatment with antihistamines and steroids, the patient continued to have these issues.

Six months later the patient had a segmental resection of the bowel due to bowel obstruction. The pathologist described eosinophilic infiltration of the mucosa and submucosa, neuropathy, and degeneration of sympathetic and sensory nerve fibers.

Since that time she did not visit any physician for follow up. In 2016, in addition to the previous symptoms the signs indicating pronounced gastroparesis were noted: constant regurgitation and vomiting, heartburn, eructation, heaviness in the abdomen after each food intake, inability to eat solid food. So the patient visited the Clinical of the National Medical University. Scintigraphy and radiological investigations showed severe gastroparesis, moderate gastroesophageal reflux, colon atony. The upper endoscopy and colonoscopy performed and biopsy showed larval worms of *Gnathostoma* in specimens from different parts of the gastrointestinal tract. Visceral gnathostomiasis was diagnosed, and it was treated with albendazole 400 mg twice daily for 21 days.

However, the patient went to Australia and did not return to follow up to our clinic and, unfortunately, the connection with her was lost.

**Differential diagnosis.** One of the rare causes of gastrointestinal damage associated with eosinophilic gastroenteritis and characterized by symptoms of abdominal pain, diarrhea, nausea and vomiting, weight loss and abdominal distension, malabsorption syndrome. The diagnostic criteria are eosinophilic infiltration of the wall of affected bowel with the mandatory exclusion of other causes of eosinophilic infiltration, such as parasites (helminths), medications, systemic connective tissue diseases [16]. Occasionally, the disease can be presented with obstruction of gastric outlet or even may manifest itself as an acute bowel obstruction, that can be the reason for surgical interventions.

Chronic intestinal pseudo-obstruction (CIPO) is a syndrome that develops as a result of changes in intestinal motility, which leads to clinical manifestations resembling intestinal obstruction, but in the absence of any mechanical obstructive process [13]. The causes of chronic intestinal pseudo-obstruction are primary lesions of intestinal muscle fibers (insufficiency of alpha-actin, family or sporadic visceral myopathy, autoimmune leiomyositis) or secondary (systemic lupus erythematosus, polymyositis, amyloidosis, progressive muscle dystrophy), some medications (neuroleptics) [12,13]. The neuropathic variant of CIPO can occur as a result of central nervous system diseases (Parkinson's disease, tumors, stroke, encephalitis) or disorders of peripheral nerve fibers which innervate different gastrointestinal segments (diabetic neuropathy, Hirschsprung's disease, Chagas disease, paraneoplastic syndrome, autoimmune diseases, amyloidosis). The rare causes of CIPO are mitochondrial diseases – the mesenchymopathic variant of CIPO (loss of interstitial cells of the Cahal). Among the infectious and helminthic causes of CIPO are neuroborreliosis [14], capillariasis [15].

Also according to current international clinical guidelines [10,11], the main causes of gastroparesis are diabetes mellitus, thyroid dysfunction, neurological diseases (for example, Parkinson's disease), previous stomach surgery and autoimmune diseases (most commonly systemic scleroderma). In some cases, gastroparesis may occur as a result of a viral infection, iatrogenically after the use of narcotic analgesics and anticholinergics. The rare causes of gastroparesis are amyloidosis, paraneoplastic diseases, damage to the muscular layer of the stomach, mesenteric ischemia.

The history of the disease and a set of laboratory and instrumental examinations which our patient have done over last 14 years, including the histological investigations, allow us to exclude the main and rare causes of gastroparesis described above. Regarding the administration of certain medications that could be the cause of the clinical picture, the abolition of these drugs for a long time did not lead to an improvement. Also, when managing patients with gastroparesis, it is recommended to exclude rumination syndrome, anorexia nervosa and bulimia [10]. The consultation of a psychiatrist and appropriate treatment excluded the possibility of a psychiatric origin of gastroparesis.

The diagnosis visceral gnathostomiasis was made by the history of the disease, the epidemiological history of trip to the endemic region, the consumption of raw freshwater fish, the causal relationship of the clinical manifestation of the disease after the tourist visit to Thailand, swellings under the skin, peripheral eosinophilia, positive biopsy investigations on *Gnathostoma*, the presence of eosinophilic infiltration of the intestinal mucosa and the degeneration of the sympathetic and sensory nerve fibers.

Humans are casual and atypical hosts of *Gnathostoma* spp, which does not support the reproductive cycle of helminth. After entering of the third stage larvae of *Gnathostoma* into the human stomach with infected fish, they penetrate through the wall of the stomach and migrate throughout the body, resulting in mechanical damage of human tissues and releasing of secretory proteins, including hyaluronidases, hemolysins, and metalloproteinases. *Gnathostomiasis* can be presented as four clinical varieties: (1) cutaneous form with intermittent migratory swellings; (2) a visceral form with a damage of the liver or the gastrointestinal tract; (3) neurognathostomiasis; (4) oculargnathostomiasis. Cutaneous form is the most common manifestation of larvae invasion [2,3]. Visceral form is the rarest variant [5-8]. Also, we did not find among the databases the cases of damaging of both upper and lower parts of the gastrointestinal tract with visceral and sensory neuropathy, as in this case described. Albendazole and ivermectin, which are prescribed at least for 21 days are used for the treatment of confirmed gnathostomiasis, but data on the long-term management of patients with chronic visceral gnathostomiasis, unfortunately, were not found [3,5,8].

Thus, we report the rare and atypical case of damaging of the gastrointestinal tract as a result of visceral gnathostomiasis. Visceral forms of this helminthiasis are detected and diagnosed extremely rare, therefore the management of such patients requires an individual and balanced approach since it is almost impossible to predict the consequences of any medical interventions.

## REFERENCES

1. B. Lee Ligon. Gnathostomiasis: a review of a previously localized zoonosis now crossing numerous geographical boundaries // *Semin Pediatr Infect Dis.* 2005 Apr;16(2):137-43.
2. James H. Diaz. Gnathostomiasis: an emerging infection of raw fish consumers in gnathostoma nematode-endemic and non-endemic countries // *Journal of Travel Medicine* 2015; Volume 22 (Issue 5): 318–324.
3. Herman JS, Chiodini PL. Gnathostomiasis, another emerging imported disease // *Clin Microbiol Rev* 2009; 22:484–492.
4. Jordan Leroy et al. Sushi, ceviche and gnathostomiasis - a case report and review of imported infections // *Travel Med Infect Dis.* 2017 Nov - Dec;20:26-30.

5. Moore DAJ, McCroddan J, Dekumyoy P, Chiodini PL. Gnathostomiasis: an emerging imported disease // Emerg Infect Dis 2003; 9:647–650.
6. Muller-Stover I, Richter J, Haussinger D. Infection with Gnathostomaspinerium as a cause of eosinophilic esophagitis // Dtsch Med Wochenschr 2004; 129:1973–1975.
7. Intapan PM et al. Hypereosinophilia and abdominal pulmonary gnathostomiasis // Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2008 Sep;39(5):804–7.
8. Strady C, Dekumyoy P, Clement-Rigolet M, et al. Long-term follow-up of imported gnathostomiasis shows frequent treatment failure // Am J Trop Med Hyg 2009; 80:33–35.
9. James H. Diaz, M.D. Increasing Risk Factors for Imported and Domestic Gnathostomiasis in the United States // J La State Med Soc VOL 167 September/October 2015.
10. Michael Camilleri et al. Clinical Guideline: Management of Gastroparesis // The American Journal of Gastroenterology. Volume 108 | January 2013.
11. Tack et al. Gastroparesis // Curr Opin Gastroenterol 2015, 31:499–505.
12. J. Politeietal. Chronic intestinal pseudo-obstruction. Did you search for lysosomal storage diseases? // Molecular Genetics and Metabolism Reports 11 (2017) 8–11.
13. C. Di Lorenzo, Pseudo-obstruction: current approaches // Gastroenterology 116(1999) 980–987.
14. David F ScheftandTygeNordentoft. Intestinal Pseudoobstruction Caused by Chronic Lyme Neuroborreliosis: A Case Report // Neurogastroenterol Motil, Vol. 21 No. 3 July 2015.
15. Wilairatana P. Capillariasis with chronic intestinal pseudo-obstruction // Southeast Asian J Trop Med Public Health. 1994 Sep;25(3):600-2.
16. Antoine AbouRached and Weam El Hajj. Eosinophilic gastroenteritis: Approach to diagnosis and management // World J GastrointestPharmacolTher. 2016 Nov 6; 7(4): 513–523.

## SUMMARY

### VISCERAL GNATHOSTOMIASIS WITH SIMULTANEOUS DAMAGE TO THE UPPER AND LOWER PARTS OF THE GASTROINTESTINAL TRACT

<sup>1</sup>Shypulin V., <sup>1</sup>Neverovskiy A., <sup>1</sup>Cherniavskiy V.,  
<sup>2</sup>Puzyrnko A.

<sup>1</sup>Bogomolets National Medical University, Department of Internal Medicine №1, Kyiv, Ukraine; <sup>2</sup>All Saints University School of Medicine, Department of Pharmacology, Roseau, Commonwealth of Dominica

In this article, we described a rare atypical clinical case of tropical helminthiasis – a visceral gnathostomiasis with simultaneous damage of the upper and lower parts of the gastrointestinal tract. The visceral form is the rarest variant and among the literary data, only single cases of this form are described in the world. Therefore the management of such patients requires an individual and balanced approach since it is almost impossible to predict the consequences of any medical interventions. This determines the clinical uniqueness of this case and requires further research of clinical guidelines for the management of such injuries.

**Keywords:** gnathostomiasis, gastroparesis, chronic intestinal pseudo-obstruction.

## РЕЗЮМЕ

### КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ВИСЦЕРАЛЬНОГО ГНАТОСТОМОЗА С ОДНОВРЕМЕННЫМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ ВЕРХНИХ И НИЖНИХ ЧАСТЕЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

<sup>1</sup>Шипулин В.П., <sup>1</sup>Неверовский А.В., <sup>1</sup>Чернявский В.В.,  
<sup>2</sup>Пузыренко А.Н.

<sup>1</sup>Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, кафедра внутренней медицины №1, Киев, Украина; <sup>2</sup>Медицинская университетская школа Всех Святых, кафедра фармакологии, Розо, Содружество Доминики

В статье описан редкий и атипичный клинический случай тропического гельминтоза – висцерального гнатостомоза с одновременным повреждением верхних и нижних частей желудочно-кишечного тракта. Висцеральная форма является самым редким вариантом. В литературных данных описаны только отдельные случаи этой формы гнатостомоза. Ведение таких пациентов требует индивидуального и сбалансированного подхода, поскольку практически невозможно предсказать последствия любых медицинских вмешательств. Это определяет клиническую уникальность этого случая и требует дальнейшего изучения и разработки соответствующих клинических руководств и рекомендаций.

## რეზიუმე

ვისცერული გნატოსტომოზის კლინიკური შემთხვევა კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის ზედა და ქვედა ნაწილების ერთდროული დაზიანებით

<sup>1</sup>ვ. შიპულინი, <sup>1</sup>ა. ნევეროვსკი, <sup>1</sup>ვ. ჩერნიავესკი,  
<sup>2</sup>ა. პუზირენკო

<sup>1</sup>ა. ბოგომოლცის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, შინაგანი მედიცინის კათედრა №1, კიევი, უკრაინა; <sup>2</sup>სამედიცინო უნივერსიტეტი, სკოლა ყველა წმინდანის, ფარმაკოლოგიის კათედრა, როზო, დომინიკის თანამეგობრობა

სტატიაში აღწერილია ტროპიკული ჰელმინთოზის იშვიათი და ატიპიური შემთხვევა - ვისცერული გნატოსტომოზი კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის ზედა და ქვედა ნაწილების ერთდროული დაზიანებით. ვისცერული ფორმა წარმოადგენს ყველაზე იშვიათ ვარიანტს, და მსოფლიო ლიტერატურაში გნატოსტომოზის ამ ფორმის მხოლოდ ცალკეული შემთხვევებია აღწერილი. ასეთი პაციენტების მართვა მოითხოვს ინდივიდუალურ და დაბალანსირებულ მიდგომებს, რამდენადაც, პრაქტიკულად შეუძლებელია წინასწარ განისაზღვროს ამა თუ იმ სამედიცინო ჩარევის შედეგი, რაც მეტყველებს ამ შემთხვევის კლინიკურ უნიკალურობაზე და მოითხოვს შემდგომ შესწავლასა და განვითარებას შესაბამისი კლინიკური რეკომენდაციების გამომუშავებით.



## ИНФАРКТ МИОКАРДА СРЕДИ ЖЕНЩИН - ДАННЫЕ ЛОКАЛЬНОГО РЕГИСТРА: АНАЛИЗ ФАКТОРОВ РИСКА, ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ОСТРОГО ПЕРИОДА И ВЫЖИВАЕМОСТЬ

Гребеник М.В., Зелененькая Л.И., Зоря Л.В., Маслий С.М.

*Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского МЗ Украины, Украина*

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), спровоцированные атеросклерозом и тромбозом артерий, в частности ишемическая болезнь сердца (ИБС), являются ведущей причиной смерти в мире, естественно, и в Украине [1,5]. ИБС является доминирующей в развитии фатальных исходов в женской популяции населения. Гендерные отличия ССЗ в последнее время вызывают повышенный интерес среди исследователей [9], поскольку большинство рандомизированных клинических исследований (РКИ) проведены преимущественно с участием мужской части населения. Клинические наблюдения указывают на более неблагоприятный прогноз у женщин в случае развития инфаркта миокарда (ИМ). Согласно данным АНА [4], в течение года от первого острого ИМ умирает женщин больше, чем мужчин (26% против 19%, соответственно), независимо от возраста. А в течении последующих 5 лет смертность значительно увеличивается – 47% против 36%, соответственно. Особенностью течения ИМ среди женщин является значительный удельный вес случаев ИМ без подъема сегмента ST (ИМбпST) и необструктивная коронарная болезнь сердца. В последнем случае ведущими патофизиологическими механизмами являются спазм коронарных артерий и микроваскулярная дисфункция.

Длительность госпитализации после коронарной реваскуляризации гораздо больше у пациенток с ИМ в сравнении с мужчинами. Показана высшая внутригоспитальная смертность и повторные госпитализации в течение первого месяца после выписки из стационара (30%).

В 2016 г. опубликовано научное соглашение, касающееся проблем диагностики и ведения острого коронарного синдрома (ОКС) в женской популяции [2]. Современные рекомендации предусматривают одинаковые подходы в лечении ИБС, артериальной гипертензии (АГ), острого коронарного синдрома (ОКС) независимо от пола пациента.

Тщательный анализ данных локальных регистров позволяет проследить наличие гендерных особенностей ОКС в условиях реальной клинической практики [3].

Целью данного исследования явился анализ многолетних, традиционных модифицированных и немодифицированных факторов кардиоваскулярного риска, клинических особенностей гендерных отличий течения острого периода инфаркта миокарда, 30-дневной летальности и отдаленной смертности по данным локального регистра Городского кардиологического центра.

**Материал и методы.** Проведен ретроспективный анализ данных (2010-2016 гг.) 1395 больных ИМ Кардиологической клиники кафедры терапии и семейной медицины Учебно-научного института последипломного образования. Изучались особенности течения ИМ. Исследованием охвачены больные ОИМ разной локализации в условиях коморбидности. Всем больным проведены общеклиническое исследование, эхокардиография согласно стандартам ASE. Диагноз ИМ верифицирован в соответствии с рекомендациями ESC (2012), Ассоциации кардиологов Украины (2014, 2016). Средний возраст пациентов, включенных в исследование составил  $64,63 \pm 11,43$  лет, среди возрастных групп доминировали лица пожилого  $615$  (44,1%) и средне-

го  $399$  (28,6%) возраста. Следует отметить, что число лиц старческого возраста только за последние анализируемые 2 года (2015-2016 гг.) уменьшилась более чем в 1,7 раза за счет увеличения младшей возрастной категории пациентов. Подтверждена гендерная зависимость развития ОИМ: соотношение мужчин и женщин составило 70,75% и 29,25%, соответственно. Однако, за последние 4 года (2013-2016 гг.) наблюдается четкая тенденция к увеличению количества больных женщин - с 23,1% до 34,2%. Пациенты распределены на группы с учетом гендерной принадлежности. I группу составили мужчины с ОИМ ( $n=987$ ), II группу – женщины с ОИМ ( $n=408$ ).

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи пакета статистических программ SPSS 23.0, Microsoft Office Excel 2013. Количественные признаки представлены в виде среднего и стандартного отклонения ( $M \pm m$ ), для сравнения средних двух выборок использовали U-тест Манна-Уитни. Отличия считали статистически достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Группы пациентов – мужчин и женщин были сопоставимы по сезонности возникновения первого ОИМ, с наиболее выраженной манифестацией в осенний период, соответственно, 29,9% и 29,4%, по временному суточному и интервалу дней недели начала болевого синдрома – преимущественно в утренние часы (24,4% и 24,0%) и достоверно чаще – в понедельник (19,9% и 17,3%) и пятницу (16,4% и 16,8%). В целом, по локализации очага некроза группы достоверно не отличались, хотя у мужчин поражение передней стенки миокарда наблюдалось несколько чаще, а у женщин преобладало поражение нижней стенки. Среди больных с ИМ без зубца Q достоверно преобладали женщины ( $p=0,014$ ). Случаи повторного ОИМ у женщин возникали раньше ( $p < 0,0001$ ), чем у мужчин, соответственно, спустя  $63,8 \pm 7,5$  и  $74,0 \pm 5,6$  месяца. Выявленные нами гендерные отличия соответствуют результатам недавнего исследования, проведенного АНА [2].

Установлено, что манифестация первого инцидента ОИМ среди мужчин возникла, в среднем, на 10 лет раньше в сравнении с женщинами, в  $61,8 \pm 0,4$  и  $71, \pm 0,4$  лет, соответственно. Полученные результаты, по всей вероятности, связаны с защитными эффектами циркулирующих эстрогенов на эндотелий сосудов, что подтверждается существенным увеличением частоты сердечно-сосудистых катастроф, в частности ОИМ в постменопаузальном периоде.

Проведен анализ распространенности модифицируемых факторов риска ССЗ в женской популяционной группе. В исследовании INTERHEART показано, что курение более сильно сопряжено с ОИМ у мужчин и является фактором риска у женщин в возрасте до 55 лет с увеличением риска заболевания в этой гендерной популяции в 7 раз. Курение табака подтверждено в трети (28,9%) пациентов мужской популяции.

Артериальная гипертензия (АГ) – значимый фактор развития ОИМ у женщин (36%) с популяционным риском. Анамнез АГ до развития первого ОИМ среди женщин составил  $15,2 \pm 0,5$  лет, у мужчин -  $12,3 \pm 0,3$  лет,  $p=0,028$ , при этом удельный вес больных АГ существенно преобладал

в женской популяции - 86,% против 68,7%,  $p<0,0001$ . Следует отметить, что АГ у женщин отличалась более тяжелой степенью, особенно по исходному уровню диастолического артериального давления (АД),  $p=0,001$ . Подобные результаты продемонстрированы и в других исследованиях. Отмечался более неблагоприятный контроль АД у женщин в сравнении с мужчинами, что, по всей вероятности, объясняется существенным увеличением АД после менопаузы и ухудшением эластических свойств артерий. Собственно увеличение жесткости сосудов и провоцирует трудности контроля АД.

Проанализирован также другой значимый модифицирующий фактор риска развития ССЗ – гиперхолестеринемия, имеющий доказанную причинно-следственную связь в манифестации коронарной смерти, инфаркта миокарда во многих международных исследованиях [6-8]. В проведенном исследовании в группе женщин выявлены более высокие исходные показатели общего холестерина (ХС), в частности, ХС липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) –  $3,39\pm 0,08$  ммоль/л, против  $3,01\pm 0,04$  ммоль/л у мужчин,  $p=0,005$ .

Увеличение массы тела также связано с повышенным риском коронарных осложнений. Среди лиц женского пола чаще выявлялись избыточная масса тела ( $p<0,0001$ ) и абдоминальное ожирение ( $p=0,019$ ). В комплексном обследовании пациентов средний ИМТ составил  $27,88\pm 0,14$  кг/м<sup>2</sup>.

Следует отметить, что наличие метаболического синдрома у женщин предполагает увеличение риска ОИМ в 5 раз. Сахарный диабет (СД) является особенно мощным фактором риска, который увеличивает риск развития ИБС, в т.ч. ОКС в 4-5 раз. В исследуемых группах распространенность и стаж сахарного диабета (СД) также существенно преобладали среди женщин – 32,6% и 10,3±0,8 лет против 20,1% и 7,3±0,5 лет у мужчин ( $p<0,0001$ ). Таким образом, гипер- и дислипидемия, нарушения жирового и углеводного обмена у женщин в сочетании с другими традиционными факторами кардиоваскулярного риска являются существенной угрозой развития осложнений ИБС.

Современный пациент в клинике внутренних болезней отличается наличием коморбидной патологии. Среди наиболее распространенных сопутствующих заболеваний в исследуемой когорте пациентов были болезни желудочно-кишечного тракта (26,0%), цереброваскулярная (инсульты, транзиторные ишемические атаки) патология (8,2%), хроническое обструктивное заболевание легких (8,8%), онкопатология (3,8%). Гендерные особенности коморбидности традиционно характеризовались преобладанием язвенной болезни среди мужчин (10,6% случаев против 6,6%,  $p=0,019$ ), желчекаменной болезни – среди женщин (8,3% против 3,9%,  $p=0,003$ ). Внесердечная сосудистая коморбидность (мозговые инсульты в анамнезе, аневризма аорты) достоверных статистических отличий между группами не выявила. Патология периферических сосудов у мужчин характеризовалась достоверным преобладанием в 3,9 раза случаев облитерирующего атеросклероза, а в группе женщин – в 1,7 раза поражением венозного русла. Традиционным для женской популяции было сопутствующее поражение щитовидной железы ( $p<0,0001$ ).

Анализ клинической картины острого периода ИМ выявил нарушения ритма: сердечные аритмии развивались практически одинаково часто в обеих группах - среди мужчин в 42,3% случаев, среди женщин – у 38,9% ( $p<0,05$ ). Желудочковые нарушения ритма встречались чаще в I группе ( $p=0,012$ ), особенно желудочковая тахикардия – в 2,5 раза в

сравнении со II группой женщин ( $p=0,0061$ ). Клиническое течение ОИМ у женщин чаще осложнялось развитием тромбоэмбокардита ( $p<0,0001$ ), а у мужчин – острой аневризмой сердца, которая формировалась в 1,9 раза чаще ( $p=0,04$ ). В первые сутки ОИМ в группе женщин преобладала острая сердечная недостаточность в виде отека легких (Killip III - 23,6% случаев против 16,6% у мужчин,  $p=0,003$ ) и кардиогенного шока (Killip IV 15,1% против 10,3%,  $p=0,012$ ).

По данным локального регистра выявлены гендерные особенности в лечебных вмешательствах. Так, перкутанные процедуры, как ведущая стратегия терапии острого коронарного синдрома в 1,6 раза чаще применялась в группе мужчин ( $p<0,0001$ ). Двойная антитромбоцитарная терапия также чаще реализована в I группе – 88,4% и 88,9% против – 77,1% и 81,5% во II группе, соответственно ( $p<0,0002$ ). В медикаментозном сопровождении также отмечались некоторые отличия. Охват гиполипидемическими препаратами, в частности, статинами составил 94,4% в группе мужчин и – 89,5% у женщин ( $p=0,001$ ). Гендерной разницы в назначении β-адреноблокаторов не выявлено. Что касается антагонистов кальциевых каналов и ИАПФ/БРА, они чаще назначались в группе женщин, соответственно 11,4% и 80,1% против 6,8% и 74,8% у мужчин ( $p=0,006$  и  $p=0,036$ ), что обусловлено преобладанием артериальной гипертензии у женщин.

Указанные различия в менеджменте пациентов, по всей вероятности, связаны с более поздней госпитализацией женщин, высоким геморагическим риском, преобладанием у них тяжелой АГ, СД и ожирения.

За 5-летний период наблюдения умерло 223 пациента 18,8% от общего количества включенных в регистр. Среди причин смерти основной является (58,75%) первичный ИМ в раннем (до 1 месяца) и повторный – в отдаленном (до 1 года) периоде, а также хроническая ИБС – 31,84%, онкопатология – 5,82%. Анализ данных продемонстрировал более высокую смертность (в 1,5 раза) от ИМ в группе женщин.

Повторные ИМ у женщин возникали раньше, чем у мужчин, соответственно, спустя  $63,8\pm 7,5$  мес. и  $74,0\pm 5,6$  мес.,  $p<0,0001$ . Ранняя летальность по времени в первые сутки развития ИМ преобладала среди мужчин и составила, в среднем,  $8,3\pm 1,2$ , в группе женщин –  $10,1\pm 1,7$  часов,  $p=0,002$ . 30-дневная летальность оказалась более высокой в группе женщин – 12% против 6,2% у мужчин ( $p=0,0003$ ). Средний временной промежуток наступления смерти в отдаленном постинфарктном периоде в I группе пациентов был более коротким и составил  $474,8\pm 49,6$  дней, против  $518,5\pm 68,2$  дней во II группе.

Кривые выживаемости мужчин и женщин по Kaplan-Meier продемонстрированы на рис.

Анализ выживаемости после ИМ согласно методике Kaplan-Meier (рис.) продемонстрировал более высокий показатель смертности в группе женщин в течение всего периода наблюдения. Модель сердечно-сосудистой смертности выявилась достоверной и составила  $\chi^2=26,73$ ,  $p<0,0001$ .

С помощью регрессионного анализа Кокса определены независимые предикторы выживаемости: возраст (СШ 1,02, 1,04-1,07 95% ДИ), частота сердечных сокращений (СШ 1,01, 1,00-1,02 95% ДИ) и сатурация кислорода (СШ 0,96, 0,94-0,99 95% ДИ) в первые сутки ИМ, исходный функциональный класс сердечной недостаточности (СН) (NYHA) (СШ 1,71, 1,28-2,27 95% ДИ), индекс конечного диастолического размера левого желудочка (СШ 2,38, 1,55-3,68 95% ДИ).

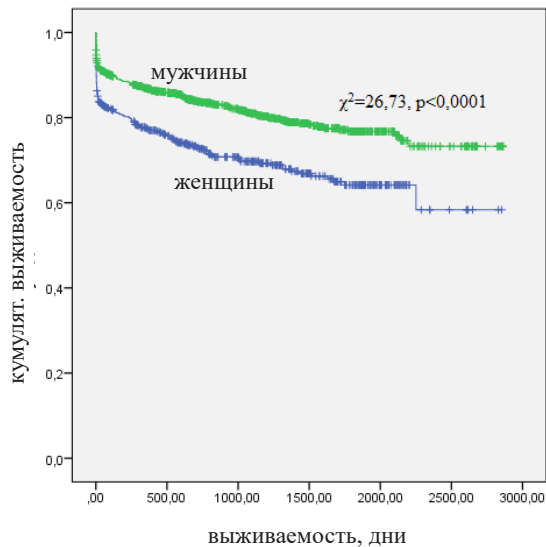


Рис. Выживаемость после инфаркта миокарда у женщин за период наблюдения

**Выводы** 1. На летальность женщин с ОКС оказывают влияние возраст, поздняя госпитализация, низкий процент первичных перкутанных вмешательств и ограничения в использовании статинов.

2. Показатель отдаленной выживаемости у женщин был в 1,5 раз меньше, чем у мужчин. Независимые факторы выживаемости ассоциированы с возрастом, частотой сердечных сокращений и сатурацией кислорода в первые сутки ИМ, исходным функциональным классом NYHA, индексом конечного диастолического размера левого желудочка.

3. Традиционные факторы кардиоваскулярного риска – АГ, ИМТ, уровень ХС ЛПНП, нарушение углеводного обмена прогностически более неблагоприятны в женской популяции, что проявляется в тяжелом течении и пролонгировании сердечно-сосудистых осложнений ОИМ.

Авторы рекомендуют учитывать гендерные особенности для оптимизации менеджмента больных ОКС.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Коваленко В.Н. Проблемы здоровья и длительности жизни в современных условиях: пособие для врачей / Коваленко В.Н., Корнацкий В.М.– К.: Гордон, 2017.- 298с.
2. Острый инфаркт миокарда у женщин: научное соглашение. American Heart Association (2016) // Medicine review.- 2016.- №2 (40).- С.12-20.
3. Соколов М.Ю. Реєстр хворих із гострим інфарктом міокарда Київської області: перші результати аналізу / М.Ю. Соколов // Серце і судини.- 2017.- №1.- С.8-17.
4. Acute myocardial infarction in women: A Scientific statement from the American Heart Association. Circulation 2016; Jan 26.
5. Cardiovascular disease in Europe – epidemiological update 2015 / N. Townsend, M. Nichols, P. Scarborough [et al] // Eur Heart J.- 2015.- Vol.36.- P. 2696-2705.
6. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators. The effects of lowering of LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: a meta-analysis of individual data from 27 randomised trials // Lancet.- 2012.- Vol. 380.- P. 581-590.
7. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators. Efficacy and safety of LDL-lowering therapy among men and women: meta-analysis of individual data from 174 000 participants in © GMN

- 27 randomised trials // Lancet.- 2015.- Vol. 385.- P. 1397-1405.
8. Cholesterol Treatment Trialists' (CTT) Collaborators. 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.-Vol. 376.- P. 1670-1681.
9. The epidemiology of cardiovascular disease in the UK 2014 / P. Bhatnager, K. Wickramasinghe, J. Williams [et al] // Heart.- 2015.- Vol. 101 (15).- P.1182-1189.

## SUMMARY

### THE LOCAL REGISTRY DATA ON MYOCARDIAL INFARCTION IN WOMEN: THE RISK FACTOR ANALYSIS, CLINICAL CHARACTERISTICS AND SURVIVAL

Hrebenyk M., Zelenenka L., Zoria L., Maslii S.

I. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine

The clinical experience implies poor prognosis in women with myocardial infarction (MI). We performed a retrospective cohort study of 1395 patients - 987 (70,75%) men and 408 (29,25%) women) aged of 64,63±11,43 years with myocardial infarction and comorbidity hospitalized between 2010-2016. This study shows an increase of mortality in women with myocardial infarction during the last 4 years from 23,1% to 34,2%. We observed more frequent cases of non-STEMI (p=0,014) and recurrent myocardial infarction in females compared with males (p<0,0001). Arterial hypertension with elevated diastolic pressure was more common women than in men (86,4% vs 68,7%, p=0,0001). Being overweight (p<0,0001), abdominal obesity (p=0,019), hypercholesterolemia, elevated low-density lipoprotein (p=0,005) were more common in females than in males. Type 2 diabetes mellitus was more frequent in women (32,6% compared with men 20,1%), the duration of the disease was also longer in females 10,3±0,8 years vs 7,3±0,5 years in men. Thyroid problems were observed more often in male (p<0,0001). Gastrointestinal ulcer was more common in men - 10,6% vs 6,6% compared with woman, p=0,019, while the bile duct diseases were more frequent in women - 8,3% vs 3,9% compared with men, p=0,003.

The mortality rate in acute myocardial infarction was 1.5-fold more frequent in women and due to age, heart rate, oxygen saturation at first day of myocardial infarction, NYHA functional class, left ventricular end-diastolic dimension index. The survival analyses after myocardial infarction was performed with the Kaplan-Meier method. It showed higher mortality level in females ( $\chi^2=26,73$ ; p<0,0001).

**Keywords:** myocardial infarction, gender differences, modifiable cardiovascular risk factors, survival.

## РЕЗЮМЕ

### ИНФАРКТ МИОКАРДА СРЕДИ ЖЕНЩИН - ДАННЫЕ ЛОКАЛЬНОГО РЕГИСТРА: АНАЛИЗ ФАКТОРОВ РИСКА, ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ОСТРОГО ПЕРИОДА И ВЫЖИВАЕМОСТЬ

Гребеник М.В., Зелененькая Л.И., Зоря Л.В., Маслий С.М.

Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского МЗ Украины, Украина

Клинический опыт указывает на сравнительно неблагоприятный прогноз у женщин с инфарктом миокарда (ИМ). Ретроспективный анализ (2010-2016 гг.) гендерных особен-

ностей течения ИМ в условиях коморбидности охватывает 1395 пациентов, из них 987 (70,75%) мужчин и 408 (29,25%) женщин в возрасте 64,63±11,43 лет. В последние 4 года отмечена тенденция увеличения количества женщин, больных ИМ с 23,1% до 34,2%, у которых преобладал ИМ без зубца Q ( $p=0,014$ ), а повторные ИМ во времени возникали раньше, чем у мужчин ( $p<0,0001$ ). У женщин чаще выявлена артериальная гипертензия (86,4% против 68,7% у мужчин,  $p<0,0001$ ), которая характеризовалась сравнительно более высоким уровнем диастолического давления ( $p<0,001$ ). Избыточная масса тела ( $p<0,0001$ ), абдоминальное ожирение ( $p=0,019$ ) и гиперхолестеринемия с высокими исходными показателями холестерина и липопротеидов низкой плотности ( $p=0,005$ ) чаще выявлены среди лиц женского пола, у них же удельный вес и стаж са-

харного диабета были выше, чем у мужчин, соответственно, 32,6% и 10,3±0,8 лет против 20,1% и 7,3±0,5 лет у мужчин ( $p<0,0001$ ), чаще наблюдали поражение щитовидной железы ( $p<0,0001$ ). Сохранялись типичные гендерные отличия в распространенности патологии органов пищеварения: язвенной болезнью чаще страдали мужчины (10,6% случаев против 6,6%,  $p=0,019$ ), а желчекаменной болезнью – женщины (8,3% против 3,9%,  $p=0,003$ ). Летальность от ИМ среди женщин преобладала в полтора раза и была связана с возрастом, частотой сердечных сокращений и сатурацией кислорода в первые сутки ИМ, исходным функциональным классом NYHA и индексом конечного диастолического размера ЛЖ. Анализ выживаемости (Kaplan-Meier) после ИМ выявил более высокий показатель смертности в группе женщин ( $\chi^2=26,73$ ;  $p<0,0001$ ).

### რეზიუმე

მიოკარდიუმის ინფარქტი ქალებში - ლოკალური რეგისტრის მონაცემები: რისკის ფაქტორების ანალიზი, მწვავე პერიოდის მიმდინარეობის თავისებურებები და გადარჩენის დონე

მ. გრეგბიკი, ლ. ზელენკაია, ლ. ზორია, ს. მასლი

ტერნოპოლის ნ. გორბანევსკის სახელობის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კლინიკური გამოცდილება მიუთითებს უარესი პროგნოზის შესახებ მიოკარდიუმის ინფარქტის განვითარების შემთხვევაში ქალებში. მიოკარდიუმის ინფარქტის მიმდინარეობის თავისებურებების რეტროსპექტიული (2010-2016 წწ.) გენდერული ანალიზი კომორბიდობის პირობებში მოიცავს 64,63±11,43 წლის ასაკის 1385 პაციენტს, მათგან 987 (70,75%) – მამაკაცი, 408 (29,25%) – ქალი. ბოლო ოთხი წლის განმავლობაში აღინიშნება მიოკარდიუმის ინფარქტით დაავადებულ ქალთა რაოდენობის ზრდის ტენდენცია 23,1%-დან 34,2%-მდე; მათ შორის სჭარბობდა მიოკარდიუმის ინფარქტი Q კბილის გარეშე ( $p=0,014$ ); განმეორებითი მიოკარდიუმის ინფარქტი ქალებში ვითარდებოდა უფრო ადრე, ვიდრე მამაკაცებში ( $p<0,0001$ ).

ქალებში უფრო ხშირი იყო არტერიული ჰიპერტენზია (86,4%; მამაკაცებში - 68,7%,  $p<0,0001$ ), რომელიც ხასითდებოდა დიასტოლური წნევის შედარებით მაღალი მაჩვენებლით ( $p<0,001$ ). სხეულის ჭარბი წონა ( $p<0,0001$ ), აბდომინური სიმსუქნე ( $p=0,019$ ), ჰიპერქოლესტერინემია ქოლესტეროლის და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეიდების მაღალი საწყისი მაჩვენებლებით ( $p=0,005$ ), ასევე, უფრო ხშირად გამოვლინდა ქალებში. ამ უკანასკნელთა შორის განსხვავებული იყო შაქრიანი დიაბეტის ხვედრითი წილი და სტაფი - შესაბამისად, 32,6% და 10,3±0,8 წელი (მამაკაცებში - 20,1% და 7,3±0,5 წელი, ( $p<0,0001$ ), უფრო ხშირი იყო ფარისებრი ჯირკვლის დაზიანება ( $p<0,0001$ ). მთლიანობაში, შენარჩუნებულია საჭმლის მომნელებელი სისტემის პათოლოგიის გავრცელების ტიპობრივი გენდერული განსხვავებანი: წელსულოვანი დაავადება უფრო ხშირად აღინიშნებოდა მამაკაცებს - 10,6%, ქალებში - 6,6% ( $p=0,019$ ), ნაღვლკენჭოვანი დაავადებით კი - ქალები - 8,3%, მამაკაცები - 3,9% ( $p=0,003$ ).

მიოკარდიუმის ინფარქტით ლეტალობა ქალებში ერთნახევრჯერ მეტია და დაკავშირებულია ასაკთან, გულის ცემის სისწორესა და ჯანგადასის სატურაციასთან მიოკარდიუმის ინფარქტის პირველი დღე-ღამის განმავლობაში, NYHA-ს საწყის ფუნქციურ კლასთან და მარცხენა პარკუჭის საბოლოო დიასტოლური ზომის ინდექსთან. მიოკარდიუმის ინფარქტის შემდეგ გადარჩენის ანალიზით (Kaplan-Meier) ქალების ჯგუფში გამოვლინდა სიკვდილობის უფრო მაღალი მაჩვენებელი ( $\chi^2=26,73$ ;  $p<0,0001$ ).

მიოკარდიუმის ინფარქტით ლეტალობა ქალებში ერთნახევრჯერ მეტია და დაკავშირებულია ასაკთან, გულის ცემის სისწორესა და ჯანგადასის სატურაციასთან მიოკარდიუმის ინფარქტის პირველი დღე-ღამის განმავლობაში, NYHA-ს საწყის ფუნქციურ კლასთან და მარცხენა პარკუჭის საბოლოო დიასტოლური ზომის ინდექსთან. მიოკარდიუმის ინფარქტის შემდეგ გადარჩენის ანალიზით (Kaplan-Meier) ქალების ჯგუფში გამოვლინდა სიკვდილობის უფრო მაღალი მაჩვენებელი ( $\chi^2=26,73$ ;  $p<0,0001$ ).

## ОСОБЕННОСТИ СИНДРОМА РАННЕЙ РЕПОЛЯРИЗАЦИИ ЖЕЛУДОЧКОВ У ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ АТЛЕТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ ПРИЗНАКОВ ГИПЕРТРОФИИ СЕРДЦА

Брижатый А.В., Атаман Ю.А., Брижатая И.А., Моисеенко И.О., Овечкин Д.В.

Сумской государственный университет, Научно-методический центр спортивной медицины, Украина

Одной из основных проблем, которые беспокоят общество, в том числе и специалистов по спортивной медицине, является высокая распространенность внезапной смерти спортсменов, в частности, в Украине участились такие случаи среди легкоатлетов. Современные рекомендации предлагают поддерживать 2-3-часовой суммарный недельный уровень физической активности для поддержания здорово-

го образа жизни [1], однако профессиональные атлеты превышают указанный порог в 5-10 раз [2]. В результате такого интенсивного режима тренировок происходит перегрузка сердечно-сосудистой системы, что выражается в формировании особенных для спортсменов структурных и функциональных изменений в сердце, объединяемых общим термином «спортивное сердце». В настоящее время процесс

установления диагностических критериев этого синдрома продолжается, особенно в части, касающейся поиска маркеров повреждения сердечной мышцы и риска развития органической кардиальной патологии, а также развития внезапной сердечной смерти. Такое состояние является более распространенным для молодых атлетов в сравнении с лицами, которые спортом профессионально не занимаются - по данным некоторых исследований относительный риск сердечных фатальных событий возрастает приблизительно в 2,5 раза [3].

В среднем и старшем возрасте проблема внезапной сердечной смерти обусловлена преимущественно острым коронарным синдромом, а у молодых лиц на первое место выступает гипертрофическая кардиомиопатия, функционирование дополнительных путей проведения и нарушения работы ионных каналов (каналопатии) [2]. Диагностика последних двух патологических состояний и составляет одну из основных проблем спортивной кардиологии, поскольку заболевания протекают, как правило, без манифестных клинических симптомов. Известными предикторами угрожающих жизни тахикардий у спортсменов являются такие ЭКГ-феномены, как синдром Бругада, синдромы укороченного и удлиненного интервала QT. Вместе с тем, последнее время появляется все больше данных, указывающих на значение синдрома ранней реполяризации желудочков (СРРЖ), как возможного предиктора фатальных аритмий [4]. Хотя этот ЭКГ-синдром до начала нынешнего десятилетия практически повсеместно рассматривался в качестве доброкачественного феномена, не имеющего самостоятельного диагностического значения, все больше экспериментальных и клинических данных указывают на его ассоциацию с повышенной аритмогенностью миокарда. Учитывая, что распространенность данного состояния у спортсменов-легкоатлетов в несколько раз превышает таковую в общей популяции [5], проведен анализ электрокардиографических характеристик сердца на предмет ассоциации синдрома ранней реполяризации желудочков с другими изменениями сердца.

Целью исследования явилось определить особенности синдрома ранней реполяризации желудочков у профессиональных атлетов в зависимости от наличия признаков гипертрофии сердца.

**Материал и методы.** Исследованы 28 спортсменов - членов основного состава сборной команды Украины по легкой атлетике, которые обследовались в Центре спортивной медицины Сумского государственного университета с 21.09.2017 по 28.02.2018. Женщин было 10 (35,7%) и 18 (64,3%) мужчин, средний возраст спортсменов составил

23,2±0,73 года (женщин - 22,7±1,03, мужчин 23,44±0,99). Основным критерием включения в исследование было подержание высокого уровня физической активности во время тренировочного соревновательного процесса - не менее 12 часов в неделю на протяжении как минимум 6 месяцев перед исследованием. Во время расспроса установлено, что среднее недельное время физической активности у исследованных составило 17,07±0,54 часа (у мужчин - 18,0±0,54 ч, у женщин - 15,40±0,99 ч).

Исследование сердечной деятельности включало электрокардиографию, шестичасовое холтеровское мониторирование, эхокардиографию, общеклинические исследования. По результатам обследования все спортсмены признаны здоровыми или практически здоровыми и допущены к соревновательной деятельности. Все пациенты дали письменное согласие на участие в исследовании.

В зависимости от наличия признаков гипертрофии сердца, все исследуемые поделены на две группы. Основную группу (ОГ) составили молодые лица, у которых были вышеуказанные признаки, а группу сравнения (СГ) - лица без гипертрофии сердца (таблица 1).

Как следует из представленной таблицы, по указанным критериям выбранные группы были репрезентативными.

Диагностика синдрома ранней реполяризации желудочков (СРРЖ) проводилась на основании регистрации элевации J-точки на 1 мм и более выше изоэлектрической линии в нижних или боковых отведениях. Случаи изолированных изменений в отведениях  $V_1-V_3$  не рассматривались как ранняя реполяризация, ввиду возможных подобных изменений при физиологических особенностях функционирования сердца, реципрокных изменений при гипертрофии левого желудочка, дисплазии правого желудочка и синдрома Бругада.

**Результаты и их обсуждение.** В проведенном исследовании проанализированы показатели, характеризующие деятельность ССС у спортсменов при одноразовом ЭКГ-исследовании. Отмеченные изменения представлены в таблице 2.

Выявленные изменения характерны для спортсменов с высокой регулярной физической активностью - достаточно низкая ЧСС, нарушения ритма и проводимости сердца выявлены у 64,3% обследованных, у 8 лиц определены ЭКГ-признаки гипертрофии левого желудочка, у остальных 6 представителей группы ОГ гипертрофия выявлена посредством УЗИ. Сравнение изучаемых групп выявило, что статистически значимые различия касались показателей, рассчитанных вольтажных индексов Корнелла и Соколова-Лайона.

Таблица 1. Описание контингента исследованных групп

Группы	Кол-во обследованных	Возраст	Кол-во женщин	Объем физической нагрузки (ч/нед.)	Средний процент анаэробной нагрузки на тренировках
ОГ	14	23,71±0,87	3 (21%)	17,29±0,77	62,5±4,62%
СГ	14	22,62±1,18	7 (50%)	16,86±0,78	62,5±3,58%
Р		0,472	0,237 ( $\chi^2=1,4$ )	0,698	1,000

Таблица 2. Данные ЭКГ у исследованных

	ЧСС (уд. в мин.)	Нарушения ритма и проводимости сердца	Индекс Соколова-Лайона	Корнельский вольтажный индекс	СРРЖ
ОГ	55,07±2,10	11 (78,6%)	30,71±2,32	21,07±1,96	8 (57,1%)
СГ	60,64±2,98	7 (50,0%)	21,07±1,81	11,71±1,72	4 (28,6%)
р	0,138	0,237 ( $\chi^2=1,4$ )	0,003	0,0014	0,252 ( $\chi^2=1,313$ )

Таблица 3. Связанные с СРРЖ характеристики показателей ЭКГ в зависимости от наличия гипертрофии миокарда

	Значение элевации точки J (мм)	Ширина QT-интервала (мсек)	Восходящая форма ST-сегмента (%)	Нисходящая или горизонтальная форма ST-сегмента (%)	СРРЖ (%)
ОГ	1,036±0,170	378,4±10,46	42,9	7,1	8 (57,1%)
СГ	0,714±0,250	376,1±10,26	21,4	7,1	4 (28,6%)
P	0,300	0,88	0,418 ( $\chi^2=0,655$ )	1,0	0,252 ( $\chi^2=1,313$ )

Таблица 4. Продолжительность QTc у пациентов с и без СРРЖ

	СРРЖ			- СРРЖ		
	ОГ	СГ	P	ОГ	СГ	P
n	8	4		6	10	
Ширина QT-интервала (мсек)	356,6±11,02	351,0±9,51	0,750	407,33±11,94	387,2±12,41	0,300
Общее	354,75±7,77			394,75±9,05*		

\*-  $p=0,004$  при сравнении общего значения QTc у обследуемых с и без СРРЖ

Обращает на себя внимание достаточно высокая распространенность СРРЖ: количество лиц с указанным синдромом составило 12 пациентов (42,1% общего числа обследованных). В своей классической работе M. Haïsaquerre et al. [4] указывают, что распространенность данного синдрома у взрослых составляет 1-5%, однако имеются и другие данные. Ряд авторов считают, что распространенность СРРЖ зависит от рода занятий, возраста, расы, сопутствующей симптоматики и подходов к определению СРРЖ. Суммируя данные 7-ми проспективных когортных исследований и 3-х исследований “случай-контроль” R. eSerra-Grima et. al. заключили, что распространенность СРРЖ в популяции в целом составляет 0,9%-31%, но может достигать 45% у профессиональных атлетов [5].

Ранее считалось, что СРРЖ это исключительно доброкачественный, не имеющий диагностической ценности ЭКГ-феномен. В частности, некоторые ученые рассматривают раннюю реполяризацию желудочков у спортсменов как один из симптомов развития ремоделирования миокарда, наряду с увеличенным вольтажом основных ЭКГ-зубцов, изменениями сегмента ST в отведениях  $V_1-V_3$  [6]. Однако данные недавнего мета-анализа показали, что больные СРРЖ имеют повышенный риск внезапной сердечной смерти от аритмии [7]. При этом особенно неблагоприятным считается наличие элевации сегмента ST горизонтальной или нисходящей формы [8].

Проанализированы особенности ЭКГ, которые имеют значение при наличии СРРЖ у спортсменов, результаты представлены в таблице 3.

Хотя пациентов с СРРЖ в ОГ выявилось вдвое больше, чем в СГ, как показано в нашем исследовании наличие гипертрофии миокарда не является причиной элевации точки перехода желудочкового комплекса в последующий сегмент ST ( $p=0,3$ ), что, естественно, ставит под сомнение причинность миокардиального ремоделирования в развитии ранней реполяризации. Кроме того, неблагоприятный вариант СРРЖ с нисходящей или горизонтальной формой сегмента ST отмечен в равном количестве в обеих группах и составил 7,1%. В остальных случаях отмечался более прогностически благоприятный восходящий тип СРРЖ. Коэффициент корреляции Пирсона

между амплитудой элевации точки J и продолжительностью скорректированного интервала QT равен -0,455, что свидетельствует о статистически слабой взаимосвязи между двумя переменными, хотя и наблюдается определенная тенденция к укорочению указанного интервала у пациентов со значительным подъемом точки окончания QRS-комплекса.

Незначительное влияние собственно “спортивного сердца” на процессы возбуждения и проведения импульсов по миокарду подтверждается расчетом скорректированного по формуле Базетта интервала QT: статистические отличия между средними показателями в обеих группах практически отсутствуют. Ввиду значимости продолжительности электрической систолы сердца для прогноза неблагоприятных сердечных событий и наличия данных, что СРРЖ может сопровождаться изменениями продолжительности интервала QTc, нами были изучены значения этого показателя в группах, разделенных в зависимости от наличия или отсутствия СРРЖ. Watanabe H. et al. [9] указывают, что высокая распространенность СРРЖ у пациентов с синдромом короткого интервала QT может облегчить диагностику заболевания, что позволит своевременно выделить пациентов группы высокого риска.

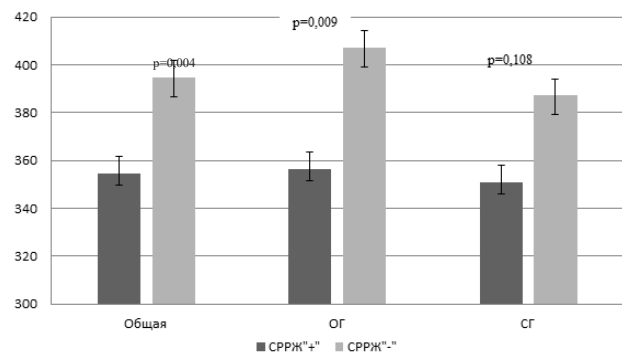


Рис. Значения QTc у спортсменов в зависимости от наличия гипертрофии сердца и СРРЖ

Наиболее значимым результатом из представленных в таблице 4 и рис. является статистически значимое ( $p=0,004$ ) снижение продолжительности интервала QTc у обследован-

ных с наличием СРПЖ, в первую очередь, за счет тех пациентов, которые имеют “спортивное сердце”. У пациентов без признаков увеличения сердечной мышцы развитие ранней реполяризации не сопровождалось подобными изменениями ( $p=0,108$ ).

Полученные данные свидетельствуют о том, что, хотя СРПЖ и развивается независимо от гипертрофии сердца спортсменов, сочетание этих двух пограничных состояний может сопровождаться укорочением интервала QT и может являться значимым компонентом синдрома укороченного QT. В обзоре S.W. Rabkin [10] описываются сложности диагностики указанного состояния, в частности показатели минимально допустимого значения QTc - от 300 до 360 мсек и диагностические критерии. Наиболее часто указывается наличие аритмий в анамнезе при отсутствии других заболеваний, которые могли бы привести к их появлению, наличие синдрома укороченного QT или эпизодов тяжелых аритмий у ближайших родственников или в анамнезе у пациентов. Проверка этих данных спортивным врачом у атлетов с СРПЖ, особенно при манифестации гипертрофических процессов в миокарде, позволит своевременно выделить пациентов с высоким риском неблагоприятных нарушений ритма. При этом определенную пользу может иметь включение в диагностическую программу комплексного обследования спортсменов: холтеровское мониторирование и ЭКГ в динамике. Требуется дальнейшие исследования по изучению прогностического значения укорочения интервала QT у атлетов при СРПЖ, особенно с гипертрофией сердца и возможной зависимости этих синдромов от количественных и качественных характеристик выполняемой физической нагрузки.

**Выводы.** На фоне высокой распространенности СРПЖ у профессиональных спортсменов, связи между его наличием и гипертрофией сердца нами не выявлено. Однако, сочетание этих двух синдромов у обследованных атлетов сопровождалось статистически значимым укорочением скорректированного интервала QT, что, при наличии определенных анамнестических данных, может быть одним из факторов риска развития острых аритмий.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Schnohr P., O’Keefe J.H., Marott J.L., Lange P., Jensen J.B. Dose of Jogging and Long-Term Mortality: The Copenhagen City Heart Study // *Journal of the American College of Cardiology*. - 2015. - Vol 65 (5): 411-419.
2. Sharma S., Merghani A., Mont L. Exercise and the heart: the good, the bad, and the ugly // *European Heart Journal*. - 2015. - V. 36: 1445-1453.
3. Montagnana M., Lippi G., Franchini M., Banfi G., Guidi G.C. Sudden cardiac death in young athletes // *Internal Medicine*. - 2008. - Vol. 47: 1373-1378.
4. Haïssaguerre M., Derval N., Sacher F., Jesel L. Deisenhofer I. et al. Sudden cardiac arrest associated with early repolarization // *The New England Journal of Medicine*. - 2008. - Vol. 358 (19): 2016-2023.
5. Serra-Grima R., Donate M., Alvarez-Garcia J., Barradas-Pires A., Ferrero A. et al. Long-term follow-up of early repolarization pattern in elite athletes // *The American Journal of Medicine*. - 2015. - Vol. 128 (2): 192e 1-9.
6. Panhuyzen-Goedkoop N.M., Jorstad H.T., J.L.R.M. Smeets. A new consensus document on electrocardiographic interpretation in athletes: does it help to prevent sudden cardiac death in athletes // *Netherlands Heart Journal*. - 2018. - Vol. 26: 127-132.
7. Wu S-H., Lin X-X., Cheng Y-J. et al. Early repolarization pattern and risk for arrhythmia death: a meta-analysis // *Journal of the American College of Cardiology*. - 2013. - Vol. 61: 645-650.
8. Rosso R., Glikson E., Belhassen B., Katz A., Halkin A. et al. Distinguishing «benign» from «malignant early repolarization»: the value of the ST-segment morphology // *Heart Rhythm*. - 2012. - Vol. 9 (2): 225-229.
9. Watanabe H., Makiyama T., Koyama T., Kannankeril P.J., Seto S. et al. High prevalence of early repolarization in short QT syndrome // *Heart Rhythm*. - 2010. - Vol. 7 (5): 647-652.
10. Rabkin S.W. Criteria for short QT interval based on a new QT-heart rate adjustment formula // *Journal of Arrhythmia*. - 2017. - Vol. 33 (5): 525-527.

## SUMMARY

### FEATURES OF EARLY REPOLARIZATION SYNDROME DEPENDING ON EVIDENCES OF HEART HYPERTROPHY IN PROFESSIONAL ATHLETES

Brizhatyi A., Ataman Y., Brizhataia I., Moiseenko I., Ovechkin D.

*Sumy State University, Scientific and Methodical Sports Medicine Center*

A syndrome of early repolarization, common in professional athletes, has recently been considered as a possible predictor of acute arrhythmias. It is known that for this category of young people the development of compensatory hypertrophy of the heart is also common.

The aim of the study was to investigate the features of early ventricular repolarization in professional athletes, depending on the presence of signs of cardiac hypertrophy.

The study included 28 high-level competition athletes who had regular intensive physical activity for at least six months. Syndrome of early repolarization was diagnosed on the basis of ECG registration, in case of elevation of the J-point on 1 mm and more above the isoelectric line in the lower or lateral leads was detected. Diagnosis of cardiac hypertrophy was established by electrocardiography and echocardiography. On the background of high prevalence of early repolarization syndrome in professional athletes, we did not reveal the statistically significant relationship between its presence and cardiac hypertrophy.

However, the combination of these two syndromes in the examined athletes was accompanied by a statistically significant shortening of the corrected QT interval, the last, in a case of the presence of certain anamnestic data, may be one of the risk factors for acute arrhythmias. This necessitates a deeper examination of such patients and monitoring of them. Further studies are needed to determine the prognostic value of early repolarization in athletes with cardiac hypertrophy.

**Keywords:** early repolarization syndrome, heart hypertrophy, professional athletes.

## РЕЗЮМЕ

### ОСОБЕННОСТИ СИНДРОМА РАННЕЙ РЕПОЛЯРИЗАЦИИ ЖЕЛУДОЧКОВ У ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ АТЛЕТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ НАЛИЧИЯ ПРИЗНАКОВ ГИПЕРТРОФИИ СЕРДЦА

Брижатый А.В., Агаман Ю.А., Брижатая И.А.,  
Моисеенко И.О., Овечкин Д.В.

*Сумской государственной университет, Научно-методический центр спортивной медицины, Украина*

Распространенный у профессиональных атлетов синдром ранней реполяризации желудочков в последнее время рассматривается как возможный предиктор развития острых аритмий. Известно, что для этой категории молодых лиц также характерно развитие компенсаторной гипертрофии сердца.

Целью исследования явилось определить особенности синдрома ранней реполяризации желудочков у профессиональных атлетов в зависимости от наличия признаков гипертрофии сердца.

Исследованы 28 легкоатлетов, которые имели регулярные интенсивные физические нагрузки на протяжении как минимум полугода. Диагностика синдрома ранней реполяризации желудочков проводилась на основании ЭКГ-регистрации элевации J-точки на 1 мм и более выше изоэлектрической линии в нижних или боковых отведениях. Диагностику гипертрофии сердца проводили на основании электрокардиографии и эхокардиографических данных. На фоне высокой распространенности синдрома ранней реполяризации желудочков у профессиональных спортсменов, связи между его наличием и гипертрофией сердца не выявлено. Однако, сочетание этих двух синдромов у обследованных атлетов сопровождалось статистически значимым укорочением корригированного интервала QT, что, при наличии определенных анамнестических данных, может быть одним из факторов риска развития острых аритмий. Результаты проведенного исследования диктуют необходимость более тщательного обследования таких пациентов, наблюдения за ними и дальнейшего научного изучения проблемы ранней реполяризации желудочков.

## რეზიუმე

პარკუჭების ადრეული რეპოლარიზაციის სინდრომის თავისებურება გულის ჰიპერტროფიის ნიშნების არსებობის პირობებში პროფესიულ ათლეტებში

ა. ბრიჯატი, იუ. ატამანი, ი. ბრიჯათაია, ი. მოისეენკო,  
დ. ოვეჩკინი

*სუმის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, სპორტული მედიცინის სამეცნიერო-მეთოდური ცენტრი, უკრაინა*

პროფესიულ ათლეტებში სადღეისოდ მეტად გახშირებულია პარკუჭების ადრეული რეპოლარიზაციის სინდრომი, რომელიც განიხილება, როგორც მწვავე არითმიების შესაძლებელი პრედიქტორი. ცნობილია, რომ ამ კატეგორიის ახალგაზრდებისათვის დამახასიათებელია გულის ჰიპერტროფიის განვითარება.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა პარკუჭების ადრეული რეპოლარიზაციის თავისებურების შესწავლა პროფესიულ ათლეტებში გულის ჰიპერტროფიის ნიშნების გათვალისწინებით.

კვლევაში ჩართული იყო 28 ათლეტი, რომელთაც ჰქონდათ მუდმივი და ინტენსიური ფიზიკური დატვირთვა თითქმის 6 თვის განმავლობაში. პარკუჭების რეპოლარიზაციის ადრეული სინდრომის დიაგნოსტიკა განხორციელდა ელევაციის J წერტილში იზოელექტრული ხაზის 1 მმ-ით მაღლა, ქვედა ან გვერდით განშტოებაში. გულის ჰიპერტროფიის დიაგნოსტიკა ჩატარდა ელექტროკარდიოგრაფიისა და ექოკარდიოგრაფიის მეშვეობით. პროფესიონალ ათლეტებში პარკუჭების ადრეული რეპოლარიზაციის სინდრომის განვითარების ფონზე კავშირი მის არსებობასა და გულის ჰიპერტროფიის შორის არ გამოვლინდა. უნდა აღინიშნოს, რომ ამ ორი სინდრომის თანხვედრას თან ახლდა სტატისტიკურად სარწმუნო QT კორიგირებული ინტერვალი, რაც გარკვეული ანამნეზური მონაცემების არსებობის პირობებში შეიძლება წარმოადგენდეს მწვავე არითმიების ერთ-ერთ რისკ-ფაქტორს. ეს უკანასკნელი განაპირობებს ასეთი პაციენტების უფრო ღრმა შესწავლის აუცილებლობას.

## EFFECTIVENESS OF NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS CORRECTION ON THE BACKGROUND OF OBESITY WITH CONCOMITANT CHRONIC KIDNEY DISEASE

Khukhlina O., Antoniv A., Kanovska L., Mandryk O., Smandych V.

*Higher educational establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine*

According to the literature, non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) with progression leads to the development of both cirrhosis of the liver (LC) and hepatocellular carcinoma, the incidence of which on the background of NAFLD significantly exceeds the indicators in the population. There are numerous attempts by scientists to find new probable biochemical markers of the intensity of fibrosis [9], increasing the diagnostic value, sensitivity and specificity of existing methods, and developing methods of influence to inhibit these processes.

The “golden standard” for fibrosis diagnosis is considered to be liver biopsy with morphological study of biopsy and fibrosis stages evaluation on one of the proposed scales (R.Knodell, Ishak, V.J.Desmet, METAVIR, E. Brunt). Despite the high level of studying the pathomorphological picture and the patterns of liver fibrosis progression with non-alcoholic steatohepatitis (NASH) on the background of obesity [9,11], the features of fibrosis in the liver tissue and its metabolic prerequisites for NASH with the comorbidity of chronic kidney disease (CKD)



depending on the stage not enough studied. The influence of glycyrrizin on the processes of fibrosing and their regulation was not studied.

The purpose of the work is to find out the effectiveness of heparisin on the state of the carbohydrate-protein components of the extracellular matrix of connective tissue in liver in patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH) with obesity I-II degree and chronic kidney disease (CKD) I-II stage.

**Material and methods.** 98 patients with NASH on the background of obesity of the I-II degree were examined, including: 52 patients with NASH (I group) (without accompanying CKD), 46 patients with NASH with comorbid CKD I-II stage (II group). The control group consisted of 20 practically healthy persons (PHPs) of the corresponding age and sex. Biopsy of the liver was performed on 32 NASH patients with CKD I-II, 28 patients with NASH without CKD. Patients on both groups of NASH received heparisin treatment (glycyrrizine 40 mg, glycine 400 mg, L-cysteine hydrochloride 20 mg) (Valartin Pharma) by intravenous administration of 20 ml of the drug for 10 days followed by enteral administration of 2 tablets of heparysin (1 tablet: glycyrrizine 25 mg, glycine - 25 mg, methionine - 25 mg) 3 times a day for 80 days. Patients with NASH and a comorbid flow of obesity and CKD of the I-II stages, except for heparisin, received baseline therapy of CKD I-II stage: chronic pyelonephritis (course of antibacterial drugs, uroseptics, cainfron). The examinations were carried out prior to treatment and on the 90th day of treatment.

Changes in the metabolism of the components of the extracellular matrix were determined by the free oxyproline content in blood (FOP) by S.S. Tetyanets (1985) and protein-bound oxyproline (PBOP) by M.S. Osadchuk (1979), hexosamines (HA) by O.G. Archipova (1988), seromucoid (SM), sialic acid (SA), fucose-free protein (FFP), using Danush Ltd (Lviv), ceruloplasmin (CP) by the Revina method (1976), the level of collagenolytic activity of blood plasma (CLA): according to the intensity of azocel lysis; the content of the fibroblast growth factor (FGF) in the blood, and also on the parameters of the total fibrotest (T.Pounard) by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

The statistical analysis of the results was carried out in accordance with the type of research and the types of numerical data that were obtained. Distribution normality was verified using the Lilliefors and Shapiro-Wilk tests and by the direct visual evaluation of eigenvalues distribution histograms. Quantitative indices having a normal distribution are represented as mean (M)  $\pm$  standard error (S). In the nonparametric distribution the data are presented as median (Me) as a measure of position, upper (Q75) and lower (Q25) quartiles as a measure of dispersion. Discrete indices are presented in the form of absolute and relative frequencies (percentage of observations to the total number of examined). Parametric tests with the assessment of Student's t-test, Fisher's F-test were used to compare the data that had normal distribution. The median test, Mann-Whitney Rank U-test, and Wilcoxon signed-rank test for multiple comparisons (in the case of dependent groups) were used in abnormal distribution. The Pearson correlation analysis was used to estimate the degree of dependence between variables in parametric distribution and the Spearman rank correlation coefficient was used in the case of the indices distribution that significantly differed from the normal one. In order to compare discrete values in independent groups, the criterion  $\chi^2$  of maximum probability (log-likelihood) (MP  $\chi^2$ ) was used; to compare the pairs of discrete values, the calculation of the modification of the exact criterion by Fisher (mid-p) was used. Determination of the diagnostic advantage of

the method was performed on the basis of assessing the quality of diagnostic procedures using ROC-analysis, with the determination of sensitivity, specificity, diagnostic value, area under the ROC-curve (AUROC), diagnostic odds ratio (DOR). Statistica for Windows version 8.0 (Stat Soft Inc., USA), Microsoft Excel 2007 (Microsoft, USA) software packages were used for statistical and graphical analysis of the obtained results.

**Results and discussion.** According to the results obtained (Table), the intensity of the fibrous reactions in patients with NASH, depending on the presence of a comorbid CKD, indicates a probable increase in PBOP blood serum in patients of I group - 1.6 times compared with PHP ( $p < 0.05$ ), patients in group 2-2.0 times ( $p < 0.05$ ), indicating high activity of collagen anabolism in this contingent of patients. At the same time, the index of FOP in blood (Table), which is the biochemical marker of collagen catabolism, in patients with NASH in I group was 1.2 times lower than that in PHP ( $p < 0.05$ ). That is, in patients with NASH an intensification of collagen formation processes is observed with the background of newly formed collagen resorption processes reduction. At the same time, in patients of II group, the FOP content in the blood exceeded the data in the PHP by 1.4 times ( $p < 0.05$ ), indicating an increase in collagen degradation on the background of its high synthesis. The interdependence of the above-mentioned changes confirms the presence of a correlation between the content of FOP and  $\alpha$ 2-MG in blood ( $r = 0.51$ ,  $p < 0.05$ ), the content of PBOP and CLA ( $r = 0.43$ ,  $p < 0.05$ ); the content of FOP and CLA ( $r = 0.53$ ,  $p < 0.05$ ) in II group.

The analysis of other elements of the extracellular matrix components of protein origin changes in blood, in particular, ceruloplasmin, indicates its probable increase in patients with steatohepatitis of all groups of observation ( $p < 0.05$ ) with a probable prevalence in patients with NASH in II group (1.9 times against 1.4 times in I group,  $p < 0.05$ ). We established a strong direct correlation between the values of ceruloplasmin in the blood and the content of bile acids ( $r = 0.67$ ,  $p < 0.05$ ), with ceruloplasmin and Alkaline phosphatase activity ( $r = 0.63$ ,  $p < 0.05$ ). The increase in the content of osmotic phase proteins that support the quality of inflammation and are activated under conditions of cholestasis, in particular bile acids, is one of the important factors in the progression of fibrosis in the liver.

The established disturbances in the balance of collagen catabolism and anabolism analysis were accompanied by a significant increase in the factors of their regulation of those inductions, in particular, the content of fibroblasts growth factor in the blood (FGF) - more noticed in patients with NASH and CKD (an increase 3.1 times against 2.1 times in I group,  $p < 0.05$ ). These phenomena explain induction phenomenon "Sinusoidal capillary" in patients with NASH with perisinusoidal star cells Ito activation, turning them into myofibroblast-like cells with hyperproduction of collagen in Dissspace, the development of pericellular, perissinusoidal, centrolobular and other types of fibrosis on the background of aseptic inflammation around dystrophic (steatosis) of hepatocytes, narrowing of sinusoids and formation of progressive disorders of portal circulation. As the data show, for the comorbidity of NASH with obesity and CKD, these phenomena are more pronounced and increase faster in comparison with the course of NASH only against the background of obesity.

The obtained data testify that, under the conditions of the comorbidity of NASH with CKD of the I-III stages the synthesis and resorption of collagen are activated, but the processes of anabolism prevail, despite the compensatory activation of collagenase, with a significant hyperproduction of actinic-phase proteins, fibronectin, HA, FGF and increased degradation of extracellular matrix fucoglycoproteins.

Table. Biochemical parameters of the state of components of connective tissue in patients with non-alcoholic stethogepatitis, obesity of the I-II degree and comorbidity with chronic kidney disease of the I-III stage in the dynamics of heparisin treatment ( $M \pm m$ )

Indicators, measurement units	Groups of examined patients				
	PHP	NASH before treatment	NASH after treatment	NASH with CKD before treatment	NASH with CKD after treatment
FibroTest, c.u.	0,18±0,01	0,29±0,02*	0,20±0,01#	0,46±0,01 */**	0,23±0,02 #
PBOP, µmol/l	41,48±3,72	64,72±2,38*	43,25±3,23#	83,50±3,73 */**	58,25±3,15 */#
FOP, µmol/l	12,39±0,34	10,31±0,50 *	12,76±0,38#	17,38±0,54 */**	13,25±0,98 #
HA, mmol/l	5,54±0,02	6,77±0,12*	5,68±0,15 #	8,52±0,27 */**	6,13±0,23 */#
SC, mmol/l	1,92±0,02	2,42±0,03*	2,03±0,01#	2,85±0,02 */**	2,38±0,02 */#
FFP, µmol/l	37,42±5,79	64,22±5,31*	41,70±3,52#	92,56±3,12 */**	67,15±4,27 */#
CLA, c.u.	0,84±0,01	0,73±0,01 *	0,86±0,01#	0,93±0,01 */**	1,25±0,01 */#
Ceruloplasmin, mmol/l	12,63±0,12	17,86±0,52*	12,75±0,61#	23,83±1,13 */**	16,71±0,71 */#
fibronectin, µg/ml	334,94±12,04	424,21±13,35*	345,28±10,72 */#	525,30±22,19 */**	417,37±12,38 */#
α2-MG, mmol/l	2,35±0,12	4,93±0,13*	3,21±0,11 */#	6,34±0,14 */**	4,83±0,16 */#
FGF, nmol/l	17,92±1,07	36,13±2,52 *	21,25±1,37 */#	53,23±2,29 */**	31,63±2,13 */#

notes: \* - changes are probable in comparison with the index in PHP ( $p < 0,05$ );  
\*\* - changes are probable when comparing the indices in patients with NASH ( $p < 0,05$ );  
# - changes are possible when comparing the indicators before treatment ( $p < 0,05$ )

The use of the heparisin showed the presence of its effect on the substantial correction of the revealed disturbances of homeostasis components of extracellular matrix. Thus, the average index of fibrotest in patients with NASHI group after treatment decreased by 1.5 times ( $p < 0,05$ ), in II group - 2,0 times ( $p < 0,05$ ) (Table). Blood content of PBOP in patients of I group decreased by 1.5 times ( $p < 0,05$ ), and in patients in II group - 1.4 times ( $p < 0,05$ ), indicating inhibition of collagen anabolism processes under influence the drug. At the same time, the index of FOP in the blood (Table) in patients with NASH in I group increased 1.2 times ( $p < 0,05$ ) and reached the standard level. In patients in II group, the content of FOP in blood decreased by 1.3 times ( $p < 0,05$ ), also with the normalization of the indicator. The indicated indicators reached the balance due to the probable growth of CLA under the influence of therapy I group - 1.2 times ( $p < 0,05$ ), in patients of II group - 1,3 times the baseline ( $p < 0,05$ ). At the same time, the content of α2-MG blood (Table) after treatment decreased by 1.5 and 1.3 times, respectively ( $p < 0,05$ ). The content of ceruloplasmin in the blood after treatment decreased 1.4 times in both groups ( $p < 0,05$ ), and the content of fibronectin decreased - 1.2 and 1.3 times respectively ( $p < 0,05$ ). We found a significant effect of heparisin on the content of FGF in the blood - reduction in both groups after treatment in 1.7 times ( $p < 0,05$ ). The content of SA in the blood of patients after treatment decreased by 1.2 times ( $p < 0,05$ ) in both groups, however, normative indicators reached only in group I of observation (Table). The values of HA content decreased by 1.2 and 1.4 times, respectively ( $p < 0,05$ ), the intensity of deg-

radation of extracellular matrix fucoglycoproteins decreased in both groups, respectively, in 1.6 and 1.4 times ( $p < 0,05$ ) and normalization of the indicator only in patients of I group.

Thus, we have established a significant corrective effect of heparisin on the metabolic rate of extracellular matrix of connective tissue in liver, both in comorbidity with and without CKD. In particular, heparisin therapy contributed to the achievement of the collagen catabolism balance by activating collagenase, inhibiting the activity of proteolytic inhibitors and collagenase, inhibition of fibroblast growth factor secretion, acute phase inflammation, degradation of fucoglycoproteins of the liver, and, in general, reducing the activity of reparative processes from the connective tissue, which proved to be a decrease in the index of liver fibrosis according to the fibrotest within 1.5-2.0 times.

**Conclusions.** Therapy with heparisin for 3 months contributed to the achievement of the balance of anabolism and catabolism analysis of collagen by activating collagenase, inhibiting the activity of proteolytic and collagenase inhibitors, inhibition of fibroblast growth factor secretion, acute phase inflammation indicators, degradation of extracellular matrix fucoglycoproteins in liver, and in general, reducing the activation of connective tissue components, which proved to be a decrease in the index of liver fibrosis according to the fibrotest within 1.5-2.0 times.

The prospect of further scientific research in this direction is the development of the early liver fibrosis diagnosis methods by biochemical markers of fibrosis formation in non-alcoholic steatohepatitis on the background of obesity and the accompanying of CKD of I-III stage.

## REFERENCES

1. Skibchik VA, Voitovich MO Non-alcoholic fatty liver disease: modern diagnostics. *Hepatology*. 2015 1: 52-56.
2. Tkach SM, Cheverda TL Non-alcoholic fatty liver disease: prevalence, natural course, modern approaches to diagnosis and treatment. *Clinical endocrinology and endocrine surgery*. 2016 1 (53): 60-71.
3. Khukhlin OS, Drozd V. Yu. Optimization of treatment of non-alcoholic steatohepatitis in patients with obesity and coronary heart disease. *Medications of Ukraine*. 2016. 9 (205): 46-52.
4. Anstee QM, Targher G, Day CP Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol*. 2013. 10: 330-344.
5. Athyros V, Tziomalos K, Katsiki N et al. Cardiovascular risk across the histological spectrum and the clinical manifestations of non-alcoholic fatty liver disease; an update. *World J. Gastroenterol*. 2015. 21: 6820-6834.
6. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Am. J. Gastroenterol*. 2012. 107 (6): 811-826.
7. Marcuccilli M, Chonchol M. NAFLD and Chronic Kidney Disease. *Int. J. Mol. Sci*. 2016. 17 (562): 3-15. doi:10.3390/ijms17040562
8. Mikolasevic I, Orlic L, Zaputovic L et al. Usefulness of liver test and controlled attenuation parameter in detection of nonalcoholic fatty liver disease in patients with chronic renal failure and coronary heart disease. *Wien. Klin. Wochenschr*. 2015. 127: 451-458.
9. Mikolasevic I, Racki S, Bubic I et al. Chronic kidney disease and nonalcoholic fatty liver disease proven by transient elastography. *Kidney Blood Press. Res*. 2013. 37: 305-310.
10. Musso G, Gambino R, Tabibian JH et al. Association of non-alcoholic fatty liver disease with chronic kidney disease: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Med*. 2014. 11: e1001680.
11. Musso G, Cassader M, Cohny S et al. Emerging liver-kidney interactions in nonalcoholic fatty liver disease. *Trends Mol. Med*. 2015. 21: 645-662.

## SUMMARY

### EFFECTIVENESS OF NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS CORRECTION ON THE BACKGROUND OF OBESITY WITH CONCOMITANT CHRONIC KIDNEY DISEASE

**Khukhlina O., Antoniv A., Kanovska L., Mandryk O., Smandych V.**

*Higher educational establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine*

The article presents a theoretical generalization of the research results the effectiveness of heparisin on the state of the carbohydrate-protein components of the extracellular matrix of connective tissue in liver in patients with non-alcoholic steatohepatitis with obesity I-II degree and chronic kidney disease I-II stage.

The purpose of the study is to find out the effectiveness of heparisin (glycyrrizine 40 mg, glycine 400 mg, L-cysteine hydrochloride 20 mg) on the state of the carbohydrate-protein components of the extracellular matrix in connective tissue of the liver in patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH) with obesity I-II degree and chronic kidney disease (CKD) I-II stage.

98 patients with NASH on the background of obesity of the I-II degree were examined, including: 52 patients with NASH (I

group) (without accompanying CKD), 46 patients with NASH with comorbid CKD I-II stage (II group). The control group consisted of 20 practically healthy persons (PHPs) of the corresponding age and sex. Biopsy of the liver was performed on 32 NASH patients with CKD I-II, 28 patients with NASH without CKD. Patients on both groups of NASH received heparisin treatment (glycyrrizine 40 mg, glycine 400 mg, L-cysteine hydrochloride 20 mg) (Valartin Pharma) by intravenous administration of 20 ml of the drug for 10 days followed by enteral administration of 2 tablets of heparisin (1 tablet : glycyrrizine 25 mg, glycine - 25 mg, methionine - 25 mg) 3 times a day for 80 days. Patients with NASH and a comorbid flow of obesity and CKD of the I-II stages, except for heparisin, received baseline therapy of CKD I-II stage: chronic pyelonephritis.

Heparizin therapy for 3 months contributed to the achievement of a collagen anabolic and catabolic balance by activating collagenase, inhibiting the activity of proteolytic inhibitors and collagenase, inhibition of fibroblast growth factor secretion, acute phase inflammation, reducing extracellular matrix fucoglycoproteins degradation in liver, and in general, reducing the activation of connective tissue components, by evidence which led to a decrease in the liver fibrosis index according to the fibrotest in the range of 1.5-2.0 times.

**Keywords:** nonalcoholic steatohepatitis, chronic kidney disease, liver fibrosis, heparisin.

## РЕЗЮМЕ

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОРРЕКЦИИ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА НА ФОНЕ ОЖИРЕНИЯ И ХРОНИЧЕСКОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ ПОЧЕК

**Хухлина О.С., Антонив А.А., Каневская Л.В., Мандрик О.Е., Смандич В.С.**

*Высшее учебное заведение Украины “Буковинский государственный медицинский университет”, Черновцы, Украина*

Целью исследования явилось определение эффективности действия гепаризина (глицирризина 40 мг, глицина 400 мг, гидрохлорида L-цистеина 20 мг) на состояние углеводно-белковых компонентов внеклеточного матрикса в соединительной ткани печени у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом, ожирением I-II степени и хронической болезнью почек I-II стадии

Обследовано 98 больных неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) на фоне ожирения II степени, в том числе 52 больных НАСГ без сопутствующей хронической болезни почек (ХБП) - I группа, 46 больных НАСГ с коморбидной ХБП I-III ст. (II группа). Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц соответствующего возраста и пола. Биопсия печени выполнена 32 больным НАСГ с сопутствующей ХБП I-III ст., 28 больным НАСГ без ХБП. Больные НАСГ обеих групп получали лечение гепаризином (глицирризин 40 мг, глицин 400 мг, гидрохлорида L-цистеина 20 мг, ВалартинФарма) путем введения 20 мл препарата в течение 10 дней с последующим переходом на энтеральное применение по 2 таблетки гепаризина (в 1 таблетке: глицирризин 25 мг, глицин - 25 мг, метионин - 25 мг) 3 раза в день в течение 80 дней. Больные НАСГ, ожирением и ХБП I-III ст., кроме гепаризина, получали базисную терапию ХБП I-II ст: хронического пиелонефрита.

При коморбидности неалкогольного стеатогепатита с хронической болезнью почек I-III ст. в форме хронического пиелонефрита возрастает интенсивность оксидативного стресса: накопление промежуточных (изолированные двойные связи, диеновые конъюгаты) и конечных (малоновый альдегид, кетодиенин) продуктов перекисного окисления липидов, окислительной модификации белков (альдегид- и кетоны-динитрофенилгидразонит основного и нейтрального характера) на фоне дезинтеграции активности факторов протворадикальной защиты (снижение содержания в эритроцитах глутатиона восстановленного, активности супероксиддисмутазы, глутатионзависимые ферменты). При коморбидности неалкогольного стеатогепатита с подагрической нефропатией и в условиях бессимптомной гиперурикемии степень оксидативного стресса была существенно ниже вследствие мощных антиоксидантных свойств мочевой кислоты, однако степень эндотоксикоза преобладала таковую при стеатогепатите без поражения почек.

Гепаризиновая терапия в течение 3 месяцев способствовала достижению анаболического и катаболического баланса коллагена путем активации коллагеназы, ингибирования активности протеолитических ингибиторов и секреции фактора роста фибробластов, угнетения острой фазы воспаления. Восстановлению способствует уменьшение деградации фукогликопротеинов внеклеточного матрикса печени и в целом, понижение активности компонентов соединительной ткани, которые привели к снижению индекса фиброза печени в зависимости от фибротеста в диапазоне 1,5-2,0 раза.

#### რეზიუმე

არაალკოჰოლური სტეატოჰეპატიტის კორექციის ეფექტურობა სიმსუქნისა და თირკმლის ქრონიკული დაავადებების ფონზე

ო. ხუხლინა, ა. ანტონივი, ღ. კანევსკაია, ო. მანდრიკი, ვ. სმანდინი

უკრაინის უმაღლესი სასწავლო დაწესებულება „ბუკოვინის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი“, ჩერნოვცი, უკრაინა

ნაშრომის მიზანი - ჰეპარიზინის (გლიცერიზინი 40 მგ., გლიცინი 400 მგ., L-ცისტეინის ჰიდროქლორიდი 20 მგ.) ეფექტურობის დადგენა ღვიძლის შემაერთებული ქსოვილის ექსტრაცელულური მატრიქსის ნახშირწყლოვან-ცილოვანი კომპონენტების მდგომარეობაზე პაციენტებში არაალკოჰოლური სტეატოჰეპატიტის, I-II ხარისხის სიმსუქნისა და თირკმლის ქრონიკული დაავადების I-II სტადიით.

გამოკვლეულია 98 ავადმყოფი II ხარისხის სიმსუქნით, მათ შორის 52 - სტეატოჰეპატიტით თირკმ-

ლის პათოლოგიის გარეშე - I ჯგუფი; 46 ავადმყოფი სტეატოჰეპატიტით კომორბიდული I-III სტადიის თირკმლის პათოლოგიით - II ჯგუფი; საკონტროლო ჯგუფი შეადგინა 20 პრაქტიკულად ჯანმრთელმა პირმა, შესაბამისი ასაკის და სქესის. აღებულია ღვიძლის ბიოპტატები 32 ავადმყოფზე სტეატოჰეპატიტით და თირკმლის პათოლოგიით, აგრეთვე 28 ავადმყოფზე სტეატოჰეპატიტით თირკმლის პათოლოგიის გარეშე. ორივე ჯგუფში სტეატოჰეპატიტის დროს ჩატარდა მკურნალობა ჰეპარიზინით („გლარტინფარმა“) პარენტერალურად 20 მლ. 10 დღის განმავლობაში შემდგომ ენტერალური გამოყენებით 2 აბი ჰეპარიზინის სახით (1 აბი შეიცავს: გლიცერიზინი 25 მგ., გლიცინი 25 მგ., მეთიონინი 25 მგ.) დღეში 3-ჯერ 80 დღე. სტეატოჰეპატიტის, სიმსუქნისა და თირკმლის ქრონიკული პათოლოგიის დროს, ჰეპარიზინის გარდა, ავადმყოფებს ჩაუტარდა I-II სტადიის ქრონიკული პიელონეფრიტის ბაზისური თერაპია.

არაალკოჰოლური სტეატოჰეპატიტის კომორბიდობის დროს თირკმლის ქრონიკულ პათოლოგიასთან ქრონიკული პიელონეფრიტის სახით იმატებს ოქსიდაციური სტრესის ინტენსივობა: შუალედური (იზოლირებული ორმაგი კავშირები და დიენური კონიუგატები) და საბოლოო (მალონის ალდეჰიდი, კეტოდიენები) პროდუქტების რაოდენობა, იზრდება ცილების ზეჟანგვითი მოდიფიკაცია (ალდეჰიდი და ნეიტრალური თვისების) ანტირადიკალური დაცვის ფაქტორთა აქტივობის დეზინტეგრაციის ფონზე (ერიოთროციტებში აღდგენილი გლუტათიონის, სუპეროქსიდისმუტაზისა და გლუტათიონპეროქსიდაზის ფერმენტთა შემცველობის შემცირება). არაალკოჰოლური სტეატოზისა და პოდაგრული ნეფროპათიის, ასევე ლატენტური ჰიპერურიკემიის პირობებში ოქსიდაციური სტრესის ხარისხი არსებითად ნაკლებია შარდმჟავას ძლიერი ანტიოქსიდანტური თვისებების გამო, თუმცა ენდოტოკსიკოზის ხარისხი თირკმლის დაზიანების გარეშე მიმდინარე სტეატოჰეპატიტის დროს უფრო მაღალია.

თერაპია ჰეპარიზინით 3 თვის განმავლობაში ხელს უწყობს კოლაგენის ანაბოლური და კატაბოლური ბალანსის აღდგენას კოლაგენაზას გააქტივების, პროტეო-ლიზური ინჰიბიტორების, აგრეთვე ფიბრობლასტების ზრდის ფაქტორის აქტივობისა და ანთების მწვავე ფაზის დათრგუნვის გზით. აღდგენას ხელს უწყობს ღვიძლის ექსტრაცელულური მატრიქსის ფუკოვანიკოპროტეინების დეგრადაციის შემცირება და, ზოგადად, შემაერთებული ქსოვილის კომპონენტების აქტივობის დაქვეითება. აღნიშნული დასკვნები შეფასდა ღვიძლის ფიბროზის ინდექსის შემცირების საფუძველზე ფიბროტესტის მანვენებლის მიხედვით დიაპაზონში 1,5-2-ჯერ.

## PATHOGENETIC LINKS OF THE COMBINED COURSE OF CHRONIC PANCREATITIS AND HYPERTENSIVE DISEASE AND THEIR ROLE IN THE FORMATION OF COMPLICATIONS

Viun T., Pasieshvili L.

*Kharkov National Medical University, Ukraine*

The combined course of many of the most common chronic diseases of internal organs, each of which is socially significant and can determine the quality of life, requires other diagnostic and therapeutic approaches. Among such nosological forms, the comorbidity of which aggravates the clinical picture of the disease and the prognosis, one can consider hypertensive disease (HD) and chronic pancreatitis (CP).

The prevalence of hypertensive disease in a digital recalculation on the planet's population can be considered as an epidemic, which is registered in all countries and regions, at any age, regardless of gender, race and social identity. Patients with HD make up about 12 million of the total population of Ukraine, however, according to many researchers, these data are incomplete and do not reflect the true picture of its prevalence [7]. According to official statistics, in 2016 HD was recorded in 47.3% of men and 46.3% of women in the country [6]. Also, HD is registered in 27% of patients who visit medical institutions with various diseases [2]. The affection of the vascular wall in HD leads to the formation of endothelial dysfunction with the accumulation of many active substances and proinflammatory cytokines among them [12]. Thus, HD not only leads to hemodynamic changes, but also due to generalized vasospasm can cause a violation of microcirculation in various organs and systems, as well as maintain an inflammatory component of the pathogenesis of concomitant nosological forms [8,11]. In this connection, it can be assumed that the accession of any disease of internal organs to HD will make it difficult to achieve clinical remission.

Chronic pancreatitis is one of the nosological forms, which is often observed in patients with HD. In recent years, the issue of priorities in the etiology of CP has been reviewed: biliary pathology, as the cause of the disease has become less common, and excessive alcohol "load" is detected in almost 40% of such patients [1,6,9]. Development of CP is accompanied by a violation of all types of metabolism, and in combination with the instability of hemodynamics in HD, conditions for the progression of nosology malfunctions and the formation of complications are created [9]. Among such complications it is possible to consider secondary osteoporosis (SO), the occurrence of which may be due to increased intake (II) and/or insufficient absorption (IA) of calcium in the small intestine [3,10].

In addition, in recent years, the issues of genetic predisposition to the formation of various clinical forms are being considered. However, in none of the diseases the existence of a single gene that provokes its development and course has been proven [4].

Objective - study of the relationship between the polymorphism of the gene of vitamin D receptors (VDR) and biochemical markers of bone metabolism (osteocalcin, tartrate-resistant acid phosphatase, total acid phosphatase) in the risk of osteoporosis in patients with chronic pancreatitis and hypertensive disease.

**Material and methods.** 110 patients with CP were examined, in 70 cases it occurred in combination with HD (main group). The comparison group included 40 patients with CP without hypertensive disease. Both groups were comparable in age (33.2±2.1 years and 32.9±3.1 years, respectively) and gender (women mounted to 72.9% and 70% respectively). The dura-

tion of the history of CP was between 2-15 years with an interquartile swing (IS) of 4-7 years and a median trend of 5 years. The diagnosis of CP was established at the previous stages of treatment and was verified with a comprehensive assessment of complaints, data of anamnesis, clinical and laboratory and instrumental research methods.

The duration of the history of HD was recorded in the range of 3-17 years; IS scope corresponded to 4-8 years, the medial trend was 5 years.

The diagnosis of arterial hypertension (AH) was established taking into account the recommendations of the European Society for Hypertension (ESH) (2009); recommendations of the working group on arterial hypertension of the Ukrainian Association of Cardiologists on the prevention and treatment of hypertension (2012), taking into account the classification of the degree and stage of hypertension, the risk of hypertension (risk stratification for assessing AH prediction).

Indicators of the standard of biochemical and genetic studies were obtained by examining 70 practically healthy persons of the same sex and age.

Instrumental diagnosis of OP was performed using an ultrasound densitometer or X-ray examination with the dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) method.

Osteocalcin in the blood serum was examined by an enzyme immunoassay using commercial test systems "IDS" ("ELISA", USA).

Total and tartrate-resistant acid phosphatases (TRAP) were determined by a biochemical method using commercial DAC-SpectroMed kits (Moldova).

Polymorphism of the gene of vitamin D receptors (VDR c.IVS7 + 283 G> A) was studied in the polymerase chain reaction using "Litech" kits (Russia) in real time on a six-channel Rotor-Gene™ 6000 analyzer (Corbett Research, Australia).

The statistical processing of the results was carried out using the STATISTICA software package. When analyzing the conjugacy tables, the Pearson criterion  $\chi$ -square (QCP) was determined; for comparison of unbound samples of continuous scale indicators, the nonparametric Mann-Whitney criterion (CMC) was used.

**Results and their discussion.** A densitometric study showed that out of 110 patients with CP, changes in bone mineral density (BMD) were recorded in 33 (30%) cases. In the main group, signs of osteoporosis (OP) were confirmed in 11 persons (15.7%), and osteopenia - in 12 (17.1%) cases. In the comparison group, these rates corresponded to 10% and 15%.

Based on the results of testing the polymorphic VDR gene, the control group had the following distribution: carriers of the bb genotype - 17 (24.3%) persons; carriers of the Bb-genotype-34 (48.6%) and carriers of the BB-genotype - 19 (27.1%) patients. In the group of patients with CP, gene polymorphism corresponded to: 9 (22.5%) individuals, 17 (42.5%) and 14 (35%). In the combination of CP and HD, the changes in the polymorphism of this gene were as follows: 11 (15.7%) patients, 23 (32.9%) and 36 (51.4%), respectively. Thus, the overwhelming majority of patients with CP, aggravated with HD (84.3%), had a pathological B-allele, compared to the comparison group - 77.5% of cases.

To determine the relationship between the levels of biochemical markers of OP, the presence of pathological VDR gene and

fractures, the parameters of osteocalcin, total acid phosphatase (TAP) and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) were transformed into ordinal scales by comparison with reference values. The limits of the reference values were the measurement intervals in the control group (70 patients).

Thus, the content of osteocalcin in the control group ranged from 14.7 to 26.0 ng/ml; the normal range for TAP was 2.2-4.8 U/l and TRAP was 1.6-3.9 U/l. In the future, for the marker of each patient, the ratio of the marker indicator to the reference values on a scale "N" is the norm, "BN" is below the norm, "AN" is above the norm and the percentage composition of this gradation in each group were indicated.

In the group of patients with isolated pancreatitis, the average osteocalcin content was  $26.1 \pm 0.8$  ng/ml. At the same time, the norm values were recorded in 27 (67.5%) patients with the following allele distribution: genotype bb – was in 6 (22.2%) persons, BB - 7 (25.9%), Bb - 14 (51.9%). A decrease in the level of osteocalcin to  $17.1 \pm 0.4$  ng/ml was observed in 4 (10.0%) patients, one of whom had a fracture of the upper limb in an anamnesis. Genotype BB was determined in 3 cases and Bb in one. Elevated levels of osteocalcin ( $37.9 \pm 0.8$  ng/ml) were found in 9 (22.5%) patients, two of whom had fractures of the limbs. In this case, the genotype bb was in a third of patients (3), BB - in 44.5% (n=4) and Bb - in 22.2% (n=2).

When combined CP and HD, the level of osteocalcin averaged over the group was  $22.1 \pm 0.64$  ng/ml. A half of the patients with the following genotypes has its normal value: bb - 34.3% (12 of 35), Bb - 37.1% (13) and BB - 28.6% (10), 2 of whom had fractures. Elevated levels of osteocalcin were recorded in 12 (17.1%) patients - 11 of them had fractures in the anamnesis and the distribution of the genotypes corresponded to: Bb - 83.3% (10) and BB - 16.7% (2). The content of osteocalcin was lower than normal in 23 (32.9%) cases followed by polymorphism of the VDR gene: bb - 8.7% (2), Bb - 17.4% (4), BB - 73.9% (17), 16 of them had fractures in the past.

The parameters of total TAP in patients with CP corresponded to the level of "above the norm" ("AN") in 95% of the observations (n=38) followed by the distribution of VDR gene alleles: 7 (18.4%) patients had genotype bb, BB - 14 (36.8%), Bb-17 (44.8%). In 2 (5%) of patients the TAP index was within the norm ("N") and corresponded to the genotype bb. In this case, fractures of bones of different localization in the anamnesis were noted in 3 (8%) observations from the subgroup "AN", which in all cases were carriers of the genotype BB.

In the group of patients with CP and HD, the total acid phosphatase was higher than normal in all patients. At the same time, the bb genotype was found in 11 (15.7%) of cases, BB – 23 (32.9%) and Bb – 36 (51.4%). Bronchial fractures in the "AN" subgroup were in 35 (50%) patients, of which 4 (11.4%) were carriers of the bb genotype, BB - 18 (51.4%), Bb - 13 (37.1%).

The level of TRAP in the group of patients with CP was higher than the norm in 12 (30%) of patients, while the distribution of the VDR genotype was consistent with the Bb genotype in 3 (25%) patients and BB – 9 (75%). At the same time, in the "AN" subgroup, only one (8%) patient with the BB genotype had a fracture. In 20 (50%) persons, the TRAP index was in accordance with the norm, and the distribution of genotypes: bb – 8 (40%) of cases; Bb genotype – 7 (35%) and BB – 5 (25%). In the subgroup "N", one (5%) patient with the BB genotype had a fracture. In a fifth (20%) of patients, the level of TRAP was below the norm ("BN"). In this case, the bb genotype was recorded in 1 (12.5%) of cases and the Bb genotype - in 7 (87.5%). One patient of this group with BB-genotype had an indication of fracture of the upper limb in an anamnesis.

In the patients of the main group, TRAP rates were higher than the norm in 47 (67.1%) of cases with the following distribution of VDR gene polymorphism: bb genotype was in 1 (2.1%) patient, BB - 19 (40.4%) and Bb - 27 (57.5%). In 18 (25.7%) patients, the content of TRAP was within the normal range with gene polymorphism of 6 (33.3%), 4 (22.2%) and 8 (44.5%), respectively. In 5 (7.2%) of cases, the level of TRAP was below the norm with variations in the polymorphism of this gene: bb – 4 (80%), BB - 0% and Bb – 1 (20%).

In the subgroup "AN", 35 (50%) patients indicated a history of fractures in the history of combined CP and HD, of which 3 (8.6%) were the carriers of bb genotype, BB - 19 (54.3%) patients and Bb - 13 (37.1%). In the subgroups "N" and "AN" there were no indications for the fractures of the limbs. At the same time, this distribution had a statistically significant character (Pearson Chi-square,  $\chi^2 = 20.81$ ,  $p < 0.01$ ).

Based on the results of the study of the polymorphic VDR gene, control subjects were divided into three groups: carriers of the bb genotype were found in 17 (24.3%) of cases, Bb-genotype – 34 (48.6%) and BB-genotype - 19 (27.1%).

Changes in the polymorphism of the VDR gene influenced the incidence of lesion of the osteoarticular system. For example, fractures of bones of different localization in the history were recorded in 39 patients (35.5% out of 110 examined with CP), 35 of them belonged to the main group and 4 - to the comparison group, while the dependence was statistically significant (Pearson Chi-square,  $\chi^2 = 20.81$ ,  $p < 0.01$ ). These results served as the basis for establishing a possible relationship between anamnestic and clinical data and polymorphism of the VDR gene.

Thus, a statistically significant dependence was revealed in the distribution of alleles of the VDR gene from a group of patients (Pearson Chi-square,  $\chi^2 = 30.08$ ,  $p < 0.01$ ). The revealed regularities are represented by the column diagrams in Fig. 1.

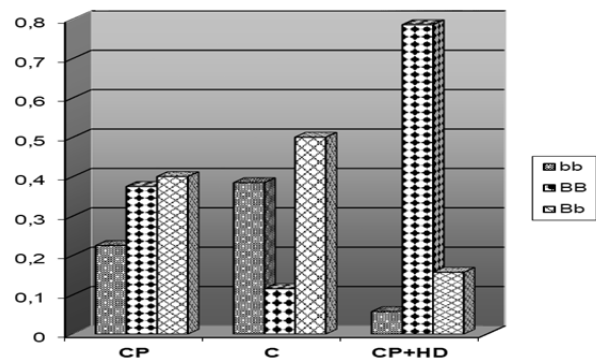


Fig. 1. The distribution of alleles of the VDR gene in the main group (CP + HD), comparison group (CP) and control (C)

The parameters of the content of TAP and TRAP in individuals with combined course of CP and HD were  $8.7 \pm 2.3$  U/L and  $5.1 \pm 2.3$  U/L, respectively, and in the comparison group -  $6.9 \pm 3.0$  U/l and  $3.5 \pm 2.1$  U/l. The graphically presented distributions are represented by box charts of the triads "median, interquartile range, sample sweep" in Figs. 2 and 3.

Thus, the levels of TAP and TRAP were 2.5 and 1.9 times higher than those of the main group (Mann-Whitney U Test,  $U = 866.0$ ,  $p < 0.01$ ), and in the comparison group 2.0 (TAP) and 1.3 (TRAP) times, respectively (Mann-Whitney U Test,  $U = 821.0$ ,  $p < 0.01$ ), which allowed to state the development of osteopenic conditions. Genetic redistribution of the alleles of the VDR gene with predominance of the B-allele was "supported" by changes

in biochemical markers of osteoporosis. Also, a decrease in the content of osteocalcin in the blood serum of patients with comorbidity of CP and HD (32.9%) occurred more often against the background of an unfavorable B-allele of polymorphism of the VDR gene (30%). Thus, the combined course of CP and HD is an unfavorable tandem in the development of secondary osteoporosis and the basis for early osteoporotic screening.

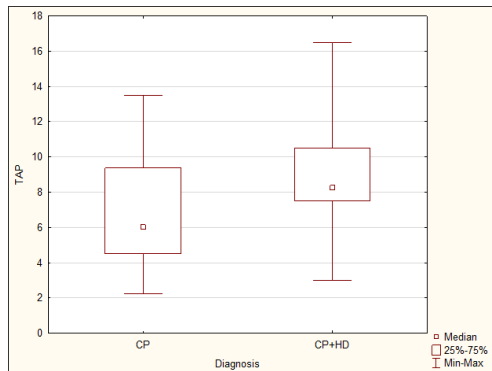


Fig. 2. Indicators of the content of TAP in the main group (CP+HD) and the comparison group (CP)

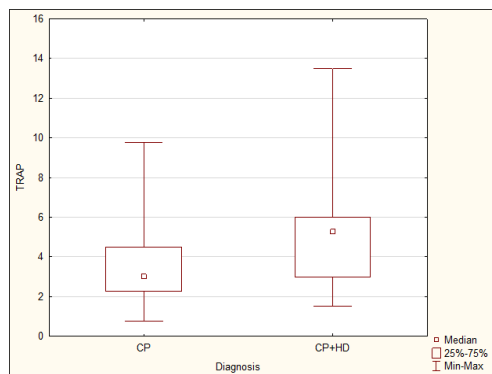


Fig. 3. Indicators of the content of TRAP in the main group (CP+HD) and the comparison group (CP)

**Conclusions.** The combined course of chronic pancreatitis and hypertensive disease is characterized by an increase in the number of individuals with V-alleles of the VDR gene (84.3% of cases), whose carriers have an increased risk of osteopenic conditions.

The combined course of chronic pancreatitis and hypertensive disease is accompanied by changes in the content of biochemical markers of bone tissue metabolism (osteocalcin, total bone phosphatase and tartrate-resistant acid phosphatase), the content of which correlates with the polymorphism of the gene for vitamin D receptors.

The combined course of chronic pancreatitis and hypertensive disease is the basis for early diagnosis of osteoporotic complications.

## REFERENCES

1. Бабінець Л. С. Можливості практичного застосування бальної системи M-ANNHEIM при хронічному панкреатиті в практиці сімейного лікаря / Л. С. Бабінець, У. М. Захарчук // Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. – К. – 2013. – Вип. 22, книга 2. – С.16-21.
2. Дудник С. Серцево-судинні захворювання в Україні:

прогнози — невтішні / Світлана Дудник // Медична газета України «Ваше Здоров'я». – 2015. – №1-2. – С.18-19.

3. Искендеров Б.Г. Артериальная гипертензия и метаболизм кальция. Монография. Пенза. 2010. 224 с.

4. Пасієшвілі Л. М., В'юн Т. І. Вплив поліморфізму гена рецепторів вітаміна D на виразність остеопенічного синдрому у пацієнтів на хронічний панкреатит з супутньою гіпертонічною хворобою. Український журнал медицини, біології та спорту. 2018; Том 3, №2(11); с.114-20. doi: 10.26693/jmbs03.02.114

5. Проблеми здоров'я і тривалості життя в сучасних умовах / А.П. Дорогой, Т.С. Манойленко, І.Л. Ревенко, Г.М. Дорохіна. – К.: Гордон, 2017. – 300 с.

6. Сіренко Ю. М. Артеріальна гіпертензія та супутня патологія / Ю. М. Сіренко. – Донецьк, 2010. – 384 с.

7. Хвороби системи кровообігу як медико-соціальна і суспільно-політична проблема. Аналітично-методичний посібник, рекомендований для кардіологів, ревматологів, терапевтів, організаторів охорони здоров'я та лікарів загальної практики / під ред. Коваленка В. М. – К.: ДУ Національний науковий центр «Інститут кардіології ім. Акад. М. Д. Стражеска», 2014. – 280 с.

8. Bang D, Xu J, Keenan R, Pike V, Lehmann R, Tenner C, Crittenden D, Pillinger M, Krasnokutsky S. Cardiovascular Disease Prevalence in Patients with Osteoarthritis, Gout, or Both. *Bulletin of the Hospital Joint Disease*. 2016; 74: 113-8.

9. Braganca J. M. Chronic pancreatitis // J. M. Braganca, Lee C. H. Mc. Cloy, M. J. McMahon // *Lancet*. – 2011. – N 377 (9772). – С. 1184–1197.

10. Duggan SN, O'Sullivan M, Hamilton S, Feehan SM, Ridgway PF, Conlon KC. Patients with chronic pancreatitis are at increased risk for osteoporosis. *Pancreas*. 2012; 41 (7): 1119-24.

11. Feihl F. Hypertension and microvascular remodelling/ F. Feihl, L. Liaudet, B. I. Levy, B. Waeber // *Cardiovasc. Res*. – 2008. – Vol. 78. – P.274–285.

12. The International Consortium for Blood Pressure Genome-Wide Association Studies. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature*. 2011; 478; 103–109.

## SUMMARY

### PATHOGENETIC LINKS OF THE COMBINED COURSE OF CHRONIC PANCREATITIS AND HYPERTENSIVE DISEASE AND THEIR ROLE IN THE FORMATION OF COMPLICATIONS

Viun T., Pasieshvili L.

Kharkov National Medical University, Ukraine

Objective the purpose of the study the relationship between the gene polymorphism of vitamin D receptors (VDR) and biochemical markers of bone metabolism in the risk of osteoporosis in patients with chronic pancreatitis (CP) and hypertensive disease (HD).

110 patients with CP were examined, in which it proceeded against the background of HD in 70 cases, and in 40 cases it was isolated. The polymorphism of the VDR gene, the content of osteocalcin, total acid phosphatase (TAP), and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) were studied to determine the possible effect of these parameters on the course of the disease and the formation of complications.

The obtained results show that in persons with combined course of CP and HD, a decrease in serum osteocalcin content (bone tissue synthesis index) and an increase in the content of TAP and TRAP - markers of bone destruction were revealed. The polymorphism of the VDR gene was characterized by the predominance of individuals with the B-allele, against which the reliability of changes in biochemical markers of osteoporosis was noted, which can be considered as a predictor of the development of osteoporotic conditions.

The combined course of CP and HD is characterized by an increase in the number of persons with B-alleles of the VDR gene (84.3%), the carriers of which have an increased risk of osteopenic conditions. Reduction of osteocalcin content, increase in the level of TAP and TRAP in the blood serum of patients with HP and HD often occur against the background of an unfavorable B-allele of VDR gene polymorphism. Combined course of CP and HD is the basis for early diagnosis of secondary osteoporosis.

**Keywords:** chronic pancreatitis, hypertensive disease, vitamin D receptor gene, biochemical markers of osteoporosis, osteopenic conditions.

## РЕЗЮМЕ

### ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗВЕНЬЯ СОЧЕТАННОГО ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИТА И ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ И ИХ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ ОСЛОЖНЕНИЙ

Вьюн Т.И., Пасишвили Л.М.

*Харьковский национальный медицинский университет, Украина*

Целью исследования является изучение взаимосвязи между полиморфизмом гена рецептора витамина D (VDR), биохимическими маркерами метаболизма костной ткани и риском развития остеопороза у больных хроническим панкреатитом в сочетании с гипертонической болезнью.

Обследовано 110 пациентов с хроническим панкреатитом (ХП), среди них в 70 случаях панкреатит протекал на фоне гипертонической болезни (ГБ) и в 40 - изолированно. Исследовали полиморфизм гена VDR, содержание остеокальцина, общей кислой фосфатазы (ОКФ) и тартратрезистентной кислой фосфатазы (ТРКФ) с определением возможного влияния данных показателей на течение заболевания и формирование осложнений.

Полученные результаты выявили, что у лиц с сочетанным течением ХП и ГБ отмечается снижение содержания остеокальцина в сыворотке крови (показатель синтеза костной ткани) и повышение содержания ОКФ и ТРКФ - маркеров костной деструкции. Полиморфизм гена VDR выявлен преимущественно у лиц с В-аллелем, на фоне которого отмечены достоверные изменения биохимических маркеров остеопороза, что следует рассматривать в качестве предиктора развития остеопоротических состояний.

У большинства лиц (84,3%) с сочетанным течением ХП и ГБ выявлено наличие В-аллеля гена VDR, носители которого характеризуются повышенным риском формирования остеопенических состояний. Снижение содержания остеокальцина, повышение уровня ОКФ и ТРКФ в сыворотке крови пациентов с ХП и ГБ чаще происходит на фоне неблагоприятного В-аллеля полиморфизма гена VDR. Сочетанное течение ХП и ГБ является критерием ранней диагностики вторичного остеопороза.

## რეზიუმე

ქრონიკული პანკრეატიტის და ჰიპერტონული დაავადების თანმხლები მიმდინარეობის პათოგენეტიკური რგოლები და მათი როლი გართულებების ჩამოყალიბებაში

ტ. ვიუნი, ლ. პასიშვილი

*ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა*

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა კორელაციის განსაზღვრა ვიტამინ D რეცეფტორის გენის პოლიმორფიზმს, ძვლოვანი ქსოვილის მეტაბოლიზმის ბიოქიმიური მარკერების და ოსტეოპოროზის განვითარების რისკს შორის ავადმყოფებში ქრონიკული პანკრეატიტით და ჰიპერტონული დაავადებით.

გამოკვლეულია 110 პაციენტი ქრონიკული პანკრეატიტით (ქპ), მათ შორის 70 შემთხვევაში პანკრეატიტი მიმდინარეობდა ჰიპერტონული დაავადების (ჰდ) ფონზე, ხოლო 40 შემთხვევაში - იზოლირებულად. გამოკვლეულია ვიტამინ D რეცეფტორის (VDR) გენის პოლიმორფიზმი, ოსტეოკალცინის, საერთო მჟავაფოსფორტაზის (სმფ) და ტარტრატრეზისტენტული მჟავაფოსფორტაზის (ტრმფ) შემცველობა, მათი შესაძლებელი ზემოქმედების განსაზღვრით დაავადების მიმდინარეობაზე და გართულებების განვითარებაზე.

მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა, რომ ქრონიკული პანკრეატიტით და ჰიპერტონული დაავადების თანმხლებით პაციენტებში აღინიშნება ოსტეოკალცინის შემცველობის დაქვეითება სისხლის შრატში და სმფ-ს და ტრმფ-ს - ძვლის დესტრუქციის მარკერების მატება. VDR გენის პოლიმორფიზმი ახასიათებს ძირითადად B-ალელის მატარებელ პირებს, მის ფონზე აღინიშნება ოსტეოპოროზის ბიოქიმიური მარკერების სარწმუნო ცვლილებები, რაც შესაძლებელია განიხილებოდეს, როგორც ოსტეოპოროზული მდგომარეობის განვითარების პრედიკტორები. ქპ-ს და ჰდ-ს შერწყმული მიმდინარეობით ავადმყოფები ხასიათდებიან VDR გენის B-ალელის მაღალი მანვენებლებისთ, რაც მიუთითებს ოსტეოპენური მდგომარეობის განვითარების მაღალ რისკებზე. ქპ-ს და ჰდ-ს შერწყმული მიმდინარეობა წარმოადგენს მეორადი ოსტეოპოროზის ადრეული დიაგნოსტიკის რიტერიუმს.



## CLINICAL-PATHOGENETICAL ROLE OF DYNAMICS OF CONCENTRATION OF INTERLEUKIN-6 DEPENDING ON POLYMORPHISM OF ITS GENE IN CONDUCTING ANTIVIRAL THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C

Kalashnyk K., Riabokon Yu., Riabokon O.

Zaporizhzhya State Medical University, Ukraine

Recently, the approaches to antiviral therapy (AVT) of chronic hepatitis C (CHC) have undergone significant changes due to the appearance of antiviral drugs with a direct mechanism of action, which allowed to significantly reduce the duration of treatment and increase its effectiveness [1,6]. According to EASL (2016) [4], almost all treatment regimens, with the exception of the 3D regimen, include sofosbuvir (SOF), a potent inhibitor of HCV NS5B polymerase with a high genetic resistance barrier and a favorable safety profile [3,7]. SOF is a nucleotide precursor of the active substance, which is intracellularly converted to the active uridine-nalal triphosphate (GS-461203), embedded in the virion of HCV using NS5BRNA polymerase, which stops the synthesis of the ribonucleic acid of the pathogen. In Ukraine, since 2015, it has become possible to prescribe AVT for patients with CHC under the current treatment regimen of SOF in combination with pegylated interferon (peg-IFN) and ribavirin (RBV), which lasts only 12 weeks, regardless of the genotype of the HCV virus [2,4].

In modern studies on the immunopathogenesis of CHC, special attention is paid to the definition of not only the content of individual cytokines, but also the polymorphism of the genes encoding interleukins (IL). It is noted that the polymorphism of the genes of individual cytokines affects not only the natural course of the disease, but also the effectiveness of treatment [9]. The clinical significance of the IL-28B gene polymorphism in the prediction of the effectiveness of double AVT according to the peg-IFN+RBV scheme in patients infected with HCV genotype 1 is the most elucidated [9]. However, recent literature data indicate that the IL-28B polymorphism has lost its relevance as a predictor of the effectiveness of AVT, which includes SOF [9,13]. Taking into account that the peg-IFN+SOF+RBV antiviral regimen includes interferon, it is impossible to reject the effect of a human genotype on the success of therapy, which makes it expedient to continue research in this direction.

It is known that interleukin-6 (IL-6) is a multifunctional cytokine that contributes to regulating the functioning of the immune system, hemopoiesis and oncogenesis [14]. It plays the role of stimulator of products of proinflammatory proteins, reduces the production of albumins, activates cytotoxic T-lymphocytes, affects the development of B-lymphocytes, regulates differentiation, apoptosis and cell proliferation [10,14]. At the same time, the level of production of this cytokine has a dependence on the polymorphism of the gene that encodes it. In particular, the study [16] demonstrated that the polymorphism of the G/C nucleotides on the promoter -174 of the IL-6 gene influenced the speed of its work, which was reflected at the levels of IL-6 circulation in the body. Several studies have demonstrated the role of this cytokine in such pathological conditions as arterial hypertension [11], rheumatoid arthritis [8], hepatocellular carcinoma [12]. There are few studies to determine the role of IL-6 in the course of liver disease. In particular, the authors [15] demonstrated that women with CHC, with a degree of liver fibrosis above F2, had an increase in the number of cytokines by 2,7 times compared with healthy people. However, in the literature available to us, no work was found on the role of IL-6 in the blood, depending

on the polymorphism of its gene during AVT, which determined the direction of our study.

The aim of the work – determine the role of the dynamics of the content of IL-6 depending on the polymorphism of the gene that it encodes in achieving a stable virological response in the antiviral treatment of patients with chronic hepatitis C.

**Material and methods.** The study included 83 patients with CHC aged from 24 to 73 years, median age was 41,0 (39; 51) years. Men were 57, women – 26. Infection by 1 genotype HCV occurred in 52 (62,7%) and 3 genotype – 31 (37,3%) patients. In 53 (63,9%) patients, prior to AVT, there was a high viral load (higher than 400,000 IU/ml), and in 30 (36,1%) patients it was low. The activity of the inflammatory process in the liver according to the results of non-invasive ActiTest or the level of increase in ALT in serum was as follows: A0 – 16 (19,3%), A1 – 35 (42,1%), A2 – 10 (12,0%), A3 – in 22 (26,5%) patients. The degree of fibrosis of the liver according to the results of the FibroTest or elastometry was as follows: F0 – 4 (4,8%), F1 – 8 (9,6%), F2 – 38 (45,8%), F3 – 27 (32,5%), F4 – 6 (7,2%) patients.

All patients with CHC have received AVT according to the recommendations of EASL 2016 [4] under the scheme of peg-IFN+SOF+RBV for a duration of 12 weeks. The evaluation of the effectiveness of the treatment assessed the formation of the virological response at the time of completion of the treatment and a stable virological response (SVR) at the 24th week after completion of AVT. All patients are involved in the study on a random basis and with informed consent.

The genotype of the IL-6 gene polymorphism (rs1800795) was performed using CFX-96 Touch polymerase chain reaction real-time product detection system (BIO-RAD, USA) using NP-512-100 (RF) kits. The control group was 45 healthy people. Quantitative content of IL-6 in serum was determined by immunoassay using Human IL-6 High Sensivity ELISA BMS213HS (Invitrogen, Austria) and the full-strength Sirio-S immuno-enzyme analyzer (Seac, Italy). The control group consisted of 20 healthy people, in whom the polymorphism of the IL-6 gene was determined. The above studies were conducted at the ZSMU Scientific medical-laboratory center.

For the analysis of the distribution of genotypes between patients and healthy individuals, the odds ratios (OR) in the "Case-control" online calculator ([http://gen-exp.ru/calculator\\_or.php](http://gen-exp.ru/calculator_or.php)) were calculated. The influence of the factor was considered highly probable at the confidence interval (95% CI) value above 1, when the unit was not within a given interval.

Statistical data processing was performed in STATISTICA for Windows 6.0 (StatSoft Inc., №AXXR712D833214FAN5). Mann-Whitney's criterion was used to assess the validity of the differences between quantitative features in independent groups. The relationship between the studied parameters was estimated by the method of Kendel's rank correlation.

**Results and their discussion.** As a result of the conducted studies of polymorphism of the IL-6 gene (rs1800795), it was found that the incidence of CC genotype in healthy individuals was significantly higher ( $\chi^2=16,65$ ,  $p<0,0001$ ) than in pa-

Table 1. Dynamics of the concentration of IL-6 in the blood of patients with CHC at different periods of AVT depending on the polymorphism of the gene IL-6 (rs1800795), Me [Q25; Q75] pg/ml

Periods of AVT	Healthy people (n=20)	Patients with CHC (n=83)	
		Genotype CC (n=14)	Genotypes CG/GG (n=69)
Before starting AVT	0,08 [0,08; 0,14]	0,22 [0,10; 0,26]	0,32 [0,22; 1,10] <sup>1,2</sup>
At the time of completion of AVT		0,13 [0,04; 0,40]	0,26 [0,2; 0,82] <sup>1,2,3</sup>
24 weeks after AVT		0,07 [0,04; 0,22] <sup>3</sup>	0,18 [0,10; 0,26] <sup>3</sup>

notes: 1 – the difference is reliable, compared with healthy people ( $p < 0,005$ ); 2 – in comparison with patients with CC genotype ( $p < 0,05$ ) in the corresponding period of research; 3 – in comparison with the indicator before starting AVT in patients of the corresponding group ( $p < 0,05-0,01$ )

Table 2. Dynamics of IL-6 concentration in patients with CHC at different times of AVT depending on the effectiveness of treatment and polymorphism of the IL-6 gene (rs1800795), Me [Q25; Q75] pg/ml

Periods of AVT	Healthy people (n=20)	Patients with CHC (n=83)		
		Responded to the formation SVR 24 (n=73)		Non-responded to the formation SVR 24 (n=10)
		Genotype CC (n=14)	Genotypes CG/GG (n=59)	Genotypes CG/GG (n=10)
Before starting AVT	0,08 [0,08; 0,14]	0,22 [0,1; 0,26]	0,29 [0,19; 0,81] <sup>1</sup>	1,3 [0,64; 1,58] <sup>1,3</sup>
At the time of completion of AVT		0,13 [0,04; 0,4]	0,3 [0,2; 0,82] <sup>1,2</sup>	0,24 [0,15; 0,66]
24 weeks after AVT		0,07 [0,04; 0,22] <sup>4</sup>	0,18 [0,06; 0,22] <sup>4</sup>	0,3 [0,24; 0,45] <sup>1,3,4</sup>

notes: 1 – the difference is reliable, compared with healthy people ( $p < 0,05-0,0001$ ); 2 – in comparison with patients with genotype CC ( $p < 0,05$ ) in the corresponding period of the study; 3 – in comparison with patients with genotype CG ( $p < 0,05-0,01$ ) who responded to treatment in the corresponding period of the study; 4 – compared with the indicator before treatment in patients of the corresponding group ( $p < 0,05-0,005$ )

tients with CHC and was respectively 51,1% (23 out of 45) against 16,9% (14 out of 83). At the same time, among the patients with CHC, genotypes of CG and GG were prevalent, with an incidence of 49,4% (41 out of 83) and 33,7% (28 out of 83) respectively, which was significantly higher than that of healthy individuals ( $\chi^2=8,99$ ,  $p < 0,005$ ). As a result of the "case-control" calculations, the dominant inheritance model was selected which allowed to find that the CG/GG genotypes of the IL-6 gene had high chances of influencing chronization of HCV infection (0,831 vs. 0,289,  $\chi^2=16,65$ , OR=5,15, 95% CI=2,27-11,69). Therefore, for further investigation of the effect of IL-6 gene (rs1800795) polymorphism on the quantitative content of this cytokine in blood and the effectiveness of AVT, we grouped patients as follows: 14 patients with CC genotype; 69 patients with genotypes CG/GG. Quantitative content of IL-6 in the blood of healthy individuals did not depend ( $p > 0,05$ ) on the polymorphism of the IL-6 gene and was made in persons with genotypes CC 0,08 [0,06; 0,16] pg/ml and genotype CG/GG – 0,12 [0,08; 0,12] pg/ml respectively, which made it possible to integrate healthy individuals into one control group.

Analysis of the quantitative content of IL-6 in the blood of patients with CHC showed a dependence on the polymorphism of the gene encoding it. Even before the appointment of AVT, the concentration of IL-6 in the blood of patients with CHC with the genotype CC/CG was highest and exceeded this figure as healthy people (in 4 times,  $p=0,000008$ ), and patients with the genotype CC polymorphism of the gene IL-6 (in 1,5 times,  $p=0,078$ ). In patients with CHC with the genotype CC, IL-6 had a clear tendency to a higher level than that of healthy people, but this difference was not statistically significant ( $p > 0,05$ ). Conducting AVT was accompanied by a decrease in the concentration of IL-6 in the blood of patients with CHC from both studied

groups. It should be noted that in patients with the genotype CC, the level of IL-6 in the blood had a statistically significant decrease ( $p=0,04$ ) during the observation period, however, at all stages of the study, the median of its contents had no significant differences from the healthy controls in the control group ( $p > 0,05$ ). In patients with CC/CG genotypes, in contrast to patients with the CC genotype, the level of IL-6 in the blood even decreased at the time of completion of AVT ( $p=0,0001$ ), compared to the corresponding parameter before treatment, but remained significantly higher, compared with healthy people ( $p=0,0001$ ), and with patients with CHC with CC genotype ( $p=0,037$ ) at the end of treatment (Table 1).

The above-mentioned dependence of IL-6 concentration on the polymorphism of the gene encoding it (rs1800795), according to the results of our studies, also had a clear correlation with the effectiveness of AVT according to the peg-IFN $\alpha$ +RBV+SOF scheme. All patients with the genotype CC (14 - 100%) responded to AVT by forming SVR 24, while the median level of IL-6 in the bloodstream was within the reference value throughout the treatment period. Among patients with CG/GG genotypes, AVT was effective only in 85,5% (59 out of 69) patients. Analysis of the dynamics of the concentration of IL-6 in the blood of patients with CHC with genotypes CG/GG showed the correlation of the effectiveness of AVT with changes in this cytokine. Prior to treatment in patients with genotypes CG/GG, who in the future did not respond to AVT by forming SVR 24, the level of IL-6 in the blood was the highest, as compared to healthy people ( $p=0,00006$ ) and patients with genotype CG/GG ( $p=0,003$ ), which responded to AVT. In these patients, a significant decrease ( $p=0,043$ ) of IL-6 concentration in the blood was detected 24 weeks after the completion of AVT, compared with the corresponding indicator before treatment. However, during this pe-

riod, the level of IL-6 in the blood remained significantly higher, compared with healthy people ( $p=0,015$ ) and patients with CG/GG genotypes, which responded to AVT by forming SVR 24 ( $p=0,012$ ), Table 2.

To determine the factors that had a statistically significant effect on the results of AVT by the peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV scheme, we ranked the Kendel correlation. According to the results of this analysis, it was found that the low IL-6 concentration in patients with CHC prior to therapy led to a high probability of effectiveness of AVT at the end of treatment ( $\tau=-0,33$ ,  $p=0,001$ ) and in the assessment of SVR 24 ( $\tau=-0,39$ ,  $p=0,0002$ ). The level of increase in the concentration of IL-6 in the blood was influenced by the polymorphism of the IL-6 gene (rs1800795) as before AVT ( $\tau=0,24$ ,  $p<0,05$ ), and at the time of completion of treatment ( $\tau=0,25$ ,  $p=0,01$ ). It should be noted that factors such as sex of the patient ( $\tau=0,03$ ), the genotype of the virus HCV ( $\tau=0,005$ ) and the degree of liver fibrosis ( $\tau=0,15$ ) did not have prognostic significance ( $p>0,05$ ) during AVT scheme peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV.

Literary data suggest that the search for predictors of response to AVT in patients with CHC lasts practically since the development of the first schemes of etiotropic treatment. For a long time there was a double AVT according to the peg-IFN $\alpha$ +RBV scheme, in which the predictors of its efficacy were clearly identified, namely infection with HCV genotypes 2 and 3, female sex, white race, no overweight, young age, poorly pronounced fibrosis of the liver and absence of previously performed AVT [5]. With the advent of the possibility of determining the genetic factors of patients, an active search for predictors of the effectiveness of treatment is considered, taking into account the polymorphism of various cytokines. The clinical significance of IL-28B gene polymorphism in predicting the efficacy of peg-IFN+RBV double AVT in HCV-infected patients [9] has been proven, but it is known that this predictor has lost its value when incorporated into the SOF treatment regimen [9, 13]. According to the results obtained in our study, with the inclusion of pangenotypic antiviral drug with a direct action mechanism (SOF) in AVT, such factors of the virus as the HCV genotype, the factors of the patient – male/female sex and the degree of liver fibrosis (which had an effect on the effectiveness of the double peg-IFN $\alpha$ +RBV therapy) in the treatment of patients with CHC by peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV has no prognostic value. However, our analysis of the effectiveness of AVT in patients with CHC, taking into account the polymorphism of the IL-6 gene (rs1800795) in conjunction with the concentration of this cytokine in the blood, showed that the genotype CC polymorphism of IL-6 gene (rs1800795) was associated with a variation in concentration IL-6 in the blood within the reference values and the achievement of SVR 24 in all of these patients. In patients with CHC genotypes CG/GG, the effectiveness of AVT with peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV was lower compared to patients with CC genotypes. The lack of response to peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV treatment was associated with CG/GG genotypes and the highest levels of IL-6 in the blood.

#### Conclusion.

1. In patients with CHC, the concentration of IL-6 depended on the gene polymorphism (rs1800795), which encodes it. In patients with CC/CG genotypes, the level of IL-6 in the blood was the highest and exceeded the corresponding indicator of healthy people (in 4 times,  $p=0,000008$ ), and patients with the genotype CC polymorphism of the IL-6 gene (in 1,5 times,  $p=0,078$ ).

2. In patients with CHC, the genotype CC polymorphism of the IL-6 gene (rs1800795) was associated with a fluctuation in the

concentration of IL-6 in the blood within the reference values, which was prognostically favorable for the formation of SVR 24 in the course of AVT according to the peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV.

3. In the presence of CG/GG genotypes in patients with CHC, the effectiveness of AVT with peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV was lower than in patients with genotypes of CC polymorphism of the IL-6 gene (rs1800795) (85,5% vs. 100%). The ineffectiveness of peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV antiviral therapy was associated with the presence of CG/GG genotypes and the highest levels of IL-6 in the blood.

#### REFERENCES

1. Голубовская О.А. Применение комбинаций лекарственных средств для лечения пациентов с хроническим гепатитом С: обзор клинических исследований и особенности национальных стандартов терапии. Клиническая инфектология и паразитология. 2016;3:46-54.
2. Наказ МОЗ України від 18.07.2016 № 729 “Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при вірусному гепатиті С”
3. Donaldson E, Harrington P, O’Rear J, Naeger L. Clinical evidence and bioinformatics characterization of potential hepatitis C virus resistance pathways for sofosbuvir. *Hepatology*. 2014;61(1):56-65.
4. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2016. *J Hepatol*. 2017;66(1):153-194.
5. Evon D, Esserman D, Bonner J, Rao T, Fried M, Golin C. Adherence to PEG/ribavirin treatment for chronic hepatitis C: prevalence, patterns, and predictors of missed doses and nonpersistence. *J Viral Hepat*. 2013;20(8):536-549.
6. Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014;61(1):S45-S57.
7. Koff R. Review article: the efficacy and safety of sofosbuvir, a novel, oral nucleotide NS5B polymerase inhibitor, in the treatment of chronic hepatitis C virus infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39(5):478-487.
8. Li B, Xiao Y, Xing D, Ma X, Liu J. Circulating interleukin-6 and rheumatoid arthritis. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(23):e3855.
9. Mechie N. Predictability of IL-28B-polymorphism on protease-inhibitor-based triple-therapy in chronic HCV-genotype-1 patients: A meta-analysis. *World J Hepatol*. 2014;6(10):759.
10. Nasonov E, Lila A. INHIBITION OF INTERLEUKIN 6 IN IMMUNE INFLAMMATORY RHEUMATIC DISEASES: ACHIEVEMENTS, PROSPECTS, AND HOPES. *Rheumatology Science and Practice*. 2017;55(6):590-599.
11. O’Reilly S, Ciechomska M, Cant R, van Laar J. Interleukin-6 (IL-6) Trans Signaling Drives a STAT3-dependent Pathway That Leads to Hyperactive Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) Signaling Promoting SMAD3 Activation and Fibrosis via Gremlin Protein. *Journal of Biological Chemistry*. 2014;289(14):9952-9960.
12. Othman M, Aref A, Mohamed A, Ibrahim W. Serum Levels of Interleukin-6 and Interleukin-10 as Biomarkers for Hepatocellular Carcinoma in Egyptian Patients. *ISRN Hepatol*. 2013;2013:1-9.
13. Petta S, Cabibbo G, Enea M et al. Cost-effectiveness of sofosbuvir-based triple therapy for untreated patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2014;59(5):1692-1705.
14. Rose-John S. The soluble interleukin-6 receptor and related

proteins. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism. 2015;29(5):787-797.

15. Salter M, Lau B, Mehta S, Go V, Leng S, Kirk G. Correlates of Elevated Interleukin-6 and C-Reactive Protein in Persons With or at High Risk for HCV and HIV Infections. JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes. 2013;64(5):488-495.

16. Shah S, Ma Y, Scherzer R et al. Association of HIV, hepatitis C virus and liver fibrosis severity with interleukin-6 and C-reactive protein levels. AIDS. 2015;29(11):1325-1333.

## SUMMARY

### CLINICAL-PATHOGENETICAL ROLE OF DYNAMICS OF CONCENTRATION OF INTERLEUKIN-6 DEPENDING ON POLYMORPHISM OF ITS GENE IN CONDUCTING ANTIVIRAL THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C

Kalashnyk K., Riabokon Yu., Riabokon O.

Zaporizhzhya State Medical University, Ukraine

The study included 83 patients with CHC who received antiviral therapy according to the EASL 2016 recommendations on a 12-week peg-IFN+SOF+RBV schedule. The aim of the study was to determine the role of IL-6 concentration dynamics in relation to the polymorphism of the gene that encodes it, in achieving a SVR during therapy. Based on the results of the study, it was established that the polymorphism of the IL-6 gene (rs1800795) in patients with CHC influenced the dynamics of IL-6 concentration and the effectiveness of AVT. In patients with CHC, the genotype CC of the polymorphism of the IL-6 gene was associated with fluctuations in the concentration of IL-6 in the blood within the reference range, which was prognostically favorable for the formation of SVR 24 for AVT according to the peg-IFN $\alpha$  + SOF + RBV. With the presence of CG/GG genotypes in patients with CHC, the efficacy of this treatment was lower than in patients with CC genotypes (85,5% vs. 100%). The ineffectiveness of AVT according to the scheme peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV was associated with the presence of CG/GG genotypes and the highest concentration of IL-6 in the blood.

**Keywords:** chronic hepatitis C, antiviral treatment, interleukin-6.

## РЕЗЮМЕ

### КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ДИНАМИКИ СОДЕРЖАНИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА ЕГО ГЕНА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫМ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

Калашник К.В., Рябоконе Ю.Ю., Рябоконе Е.В.

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

Целью исследования явилось определить роль динамики содержания ИЛ-6 в зависимости от полиморфизма гена, который

его кодирует, в достижении стойкого вирусологического ответа при проведении терапии.

В исследование включено 83 больных хроническим гепатитом С (ХГС), которые получали противовирусную терапию (ПВТ) согласно рекомендаций EASL 2016 по схеме peg-IFN+SOF+RBV, длительностью 12 недель. Согласно результатам проведенного исследования установлено, что у больных ХГС полиморфизм гена ИЛ-6 (rs1800795) влияет на динамику содержания ИЛ-6 и эффективность противовирусного лечения. У больных ХГС генотип CC полиморфизма гена ИЛ-6 ассоциировался с колебаниями количественного состава ИЛ-6 в крови в границах референтных значений, что было прогностически способствовало формированию стабильного вирусологического ответа 24 при проведении ПВТ по схеме peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV. При наличии у больных ХГС генотипов CG/GG эффективность указанного лечения была ниже, чем у пациентов с генотипом CC (85,5% против 100%). Неэффективность ПВТ по схеме peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV ассоциировалась с наличием генотипов CG/GG и самым высоким уровнем ИЛ-6 в крови.

## რეზიუმე

ინტერლეიკინ-6-ის შემცველობის დინამიკის კლინიკო-პათოგენეზური როლის კავშირი მისი გენის პოლიმორფიზმთან ქრონიკული C ჰეპატიტის მქონე პაციენტების ანტივირუსული თერაპიის დროს

კ. კალაშნიკი, ი. რიბოკონი, ე. რიბოკონი

ზაპოროჟიეს სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ანტივირუსული თერაპიის დროს მყარ ანტივირუსულ პასუხზე მაკოდირებელი გენის პოლიმორფიზმზე დამოკიდებული ილ-6-ის დინამიკის გავლენის განსაზღვრა.

კვლევაში ჩართული იყო ქრონიკული C ჰეპატიტით 83 პაციენტი, რომლებსაც უტარდებოდა peg-IFN+SOF+RBV-ით 12-კვირიანი ანტივირუსული მკურნალობა EASL 2016-ის რეკომენდაციების მიხედვით.

ჩატარებული კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ ქრონიკული C ჰეპატიტით პაციენტებში ილ-6-ის გენის პოლიმორფიზმი (rs1800795) გავლენას ახდენს ილ-6-ის შემცველობის დინამიკასა და ანტივირუსული მკურნალობის ეფექტურობაზე.

CC გენოტიპის ქრონიკული C ჰეპატიტით პაციენტებში ილ-6-ის გენის პოლიმორფიზმი ასოცირებულია სისხლში ილ-6-ის რაოდენობის ცვალებადობასთან, რეფერენტული მნიშვნელობის ფარგლებში, რაც, peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV სქემით ჩატარებული ანტივირუსული თერაპიის დროს, პროგნოზულად კეთილსაიმედოა მყარ ანტივირუსულ პასუხზე 24 ფორმირებაში. CG/GG გენოტიპების ქრონიკული C ჰეპატიტის დროს ჩატარებული მკურნალობა, CC გენოტიპთან შედარებით, ნაკლებად ეფექტური იყო (85,5% და 100%). peg-IFN $\alpha$ +SOF+RBV-ით ანტივირუსული მკურნალობის არაეფექტურობა ასოცირდება CG/GG გენოტიპთან და სისხლში ილ-6-ის მაღიან მაღალ დონესთან.

## ОБОСНОВАНИЕ ПОКАЗАНИЙ К ПРИМЕНЕНИЮ БОС-ТЕРАПИИ И ЦИТОФЛАВИНА В ЛЕЧЕНИИ НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ОСТЕОХОНДРОЗА СРЕДИ ПОЖИЛЫХ ПАЦИЕНТОВ

<sup>2</sup>Парфенов Ю.А., <sup>1</sup>Василевская М.А., <sup>3</sup>Парфенов С.А., <sup>1</sup>Сапожников К.В., <sup>3</sup>Коваленко А.Л., <sup>4</sup>Заплутанов В.А.

<sup>1</sup>ГБУЗ «Городская поликлиника №91» Санкт-Петербург; <sup>2</sup>Северо-Западный институт управления РАНХ и ГС при Президенте РФ, Санкт-Петербург; <sup>3</sup>ФГБУН «Институт токсикологии ФМБА», Санкт-Петербург;

<sup>4</sup>ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН», Санкт-Петербург, Россия

Согласно мировым статистическим данным, доля лиц старшей возрастной группы неуклонно увеличивается, по расчетам через 30 лет в пожилом и старческом возрасте будут находиться около 15% населения земли [5,13,16]. Особенностью пожилого организма являются: инволютивные изменения, истощение функциональных и пластических резервов и, как следствие, высокая доля перехода вновь возникающих заболеваний в хроническую форму [12]. Накопление эффектов различных вредоносных воздействий на организм с возрастом приводит к суммации различных патологических состояний. Типичными заболеваниями для среднестатистического человека пожилого и старческого возраста являются атеросклероз, приводящий к хронической недостаточности кровообращения (в том числе и мозгового), гипертензивный синдром, дистрофические поражения суставов, избыточная масса тела, сахарный диабет типа 2. Подход к данной проблеме должен быть мультифакторным и комплексным, включающим наблюдение со стороны специалистов разных областей и непрерывное совершенствование схем лечения. Исходя из вышеизложенного, вопросы лечения таких пациентов по сей день являются актуальными.

Остеохондроз, как хроническое дистрофическое рецидивирующее заболевание, на фоне особенностей пожилого организма неуклонно прогрессирует, негативно влияя на качество и продолжительность жизни пациента [3,14]. Основываясь на общеизвестном опыте, до 60-70% всех обращений к неврологу связаны с хронической болью в спине. В патогенезе неврологических осложнений дистрофических процессов позвоночного столба значительная роль отводится длительно протекающему раздражению болевых рецепторов, которые в большом количестве представлены в суставном аппарате. Постоянная болевая импульсация приводит к развитию локального асимметричного мышечного напряжения и затем к фиксации позвоночного столба в нефизиологичном положении. Сам по себе мышечно-тонический синдром является фактическим осложнением, замыкающим порочный круг. С течением времени неравномерно распределенная осевая нагрузка приводит к нарушению макро- и микроструктуры хрящей, отростков и межпозвоноковых дисков [7]. Особое значение имеет происходящее снижение мышечного тонуса и общей физической подготовленности лиц в пожилом возрасте, что приводит к еще большей нагрузке на костно-суставные структуры. Наиболее типичным проявлением остеохондроза является болевой синдром, существенно ограничивающий повседневную активность человека, и другие проявления, вызванные, в частности, хронической компрессией корешков спинномозговых нервов [8,9]. Клиника заболевания многообразна и обусловлена уровнем поражения, стадией заболевания и распространенностью процесса. Традиционные подходы к лечению таких пациентов включают лечебную физкультуру, применение корсетов, физиотерапевтические методы лечения, медикаментозные средства из групп нестероидных противовоспалительных препаратов, миорелак-

сантов, витаминов, венотоников. Однако часто наблюдается лишь частичный эффект от всех этих мер. Безуспешность лечения отмечается у пациентов пожилого и старческого возраста, что обусловлено коморбидностью, астенизацией хроническими заболеваниями и возрастными личностными изменениями. Поиск путей улучшения эффективности стандартной терапии, назначаемой пожилым пациентам, страдающим остеохондрозом, обуславливает необходимость настоящего исследования. К возможным вариантам расширения существующей схемы лечения относится использование препарата, обладающего антигипоксическим и антиоксидантным эффектом и нейропротекторным действием на подвергающиеся хронической болевой стимуляции и нередко компрессии структуры нервной системы. Учитывая геронтологическую направленность, такой препарат должен иметь хорошую переносимость и минимум побочных эффектов. Всеми этими свойствами обладает нейрометаболический препарат цитофлавин (ООО «НТФФ «ПОЛИСАН», г. Санкт-Петербург, Россия) [1,2,4,15]. Имея высокую гисто-гематическую проницаемость, цитофлавин также способен оказывать благотворный эффект на центральную нервную систему в условиях хронической недостаточности мозгового кровообращения.

Психосоциальные аспекты длительно протекающего болевого синдрома требуют самостоятельного сопутствующего лечения, позволяя использование терапии с биологической обратной связью (БОС-терапия) [10]. Тренировка с применением обратной связи имеет общеадаптирующий эффект на организм, увеличивая объем физиологических резервов. С помощью БОС-терапии можно научить пациента контролировать тонус мышц организма, снижая при этом выраженность мышечного дефанса, как одного из проявлений остеохондроза.

Описанные варианты решений представляются весьма перспективными, однако, перед разработкой предложений по их внедрению в протоколы оказания медицинской помощи при неврологических осложнениях остеохондроза позвоночника в группе пожилых пациентов, помимо непосредственной оценки влияния цитофлавина и БОС-терапии на динамику клинико-психофизиологического статуса, необходимо обосновать показания для их назначения различным группам больных, что и явилось целью настоящего исследования.

**Материал и методы.** Исследование проводилось на выборке пациентов СПб ГБУЗ Городская поликлиника №91 (отделения №105 и 50). Критерием включения являлся диагноз «остеохондроз позвоночника», уточнённый с помощью нейровизуализационных методов исследования (МРТ, КТ). Критериями исключения являлись: онкологические заболевания, тяжелые неврологические и психические расстройства, остеопороз, травмы позвоночника в анамнезе, молодой и средний возраст (до 60 лет), старческий возраст (75 лет и старше), выраженные акцентуации личности (более 80 Т баллов по шкалам опросника Стандартизированного

многофакторного исследования личности). Полученная выборка из 150 респондентов методом рандомизации разделена на две группы по 75 больных – основную и контрольную.

Далее проведено ретроспективное исследование имеющейся медицинской документации и результатов проведенного обследования. Анализировались данные половозрастного состава, проявления остеохондроза, объема и состава коморбидной патологии, клинико-инструментальных исследований. Стадия остеохондроза определялась по классификации Зекера.[6]. Пациентам проводилось дополнительное обследование с использованием визуальной аналоговой шкалы боли (ВАШ), опросника «Оценки качества жизни» (SF-36), опросника отношения к болезни (ТОБОЛ), опросника Стандартизированного многофакторного исследования личности (СМИЛ) и кардиоинтервалографии.

Все пациенты получали стандартный объем лечения, включающий назначение нестероидных противовоспалительных препаратов, миорелаксантов, хондропротекторов, а также средств, улучшающих микроциркуляцию. К физиотерапевтическим методикам относились электротерапия, магнитотерапия и бальнеотерапия. Основная группа в дополнение к основной терапии получала цитофлавин и проходила аутогенные тренировки с применением метода биологической обратной связи. Схема лечения препаратом цитофлавин включала два курса по 25 дней с ежедневным двукратным приемом per os 2 таблеток. Перерыв между курсами – 1 месяц. БОС-терапия проводилась с использованием специальной аппаратуры «ПБС БОС» (ЗАО «Биосвязь», Россия), на базе которой реализованы два режима терапии: тренировка с контролем электромиограммы, направленная на уменьшение мышечного напряжения в области боли, а также контроль частоты сердечных сокращений с записью ЭКГ и дыхательных волн. Тренировки проводились двумя курсами по 3-5 раз в неделю, длительностью 4 недели, перерыв между курсами - 4 недели.

Обследования проводились аналогичным образом и с участием одних и тех же специалистов дважды: перед началом лечения и после окончания. После оценки эффективности назначения БОС-терапии и цитофлавина проведено исследование предикторов эффективности дополнительных лечебных мероприятий. Для этого основная группа разделена на три подгруппы. Классифицирующим признаком выбран основной компонент проявлений остеохондроза – боль. Во 2а подгруппу (n=41) отнесены пациенты с явным снижением выраженности боли по ВАШ более, чем на 30%; в подгруппу 2б (n=17) попали респонденты с менее выраженной динамикой, от 5 до 30% снижения; лица с незначительным снижением (менее 5%) или отсутствием положительных изменений определены в третью подгруппу 2в (n=17).

Для удобства последующего анализа данных, проявления остеохондроза, после необходимой дифференциальной диагностики, обобщались и кодировались в дихотомические (есть признак/нет признака) переменные следующим образом:

1. Переменная «Ограничения движения» принимала положительные значения, если у пациента имелись любые ограничения по причине прогрессирования остеохондроза в движении хотя бы одного отдела позвоночника.

2. Переменная «Симптомы натяжения» принимала положительное значение, если при осмотре неврологом выявлены положительные симптомы натяжения.

3. Переменная «Компрессия» принимала положительное значение в случае выявления признаков корешкового синдрома, вызванного компрессией.

4. Переменная «Нарушения иннервации» признавалась положительной, если у больного выявлялся синдром позвоночной артерии, либо парезы или гипотрофии мышц.

Статистическая обработка полученных данных производилась на базе персонального компьютера в операционной среде Windows 8 с помощью программного обеспечения Microsoft Office 2013 и пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 22,0.

При анализе количественных данных сначала выполнялась оценка нормальности распределения изучаемых параметров с помощью критерия Шапиро-Уилка, равенство дисперсий проверялось критерием Ливиня. По результатам проверки в подавляющем большинстве случаев выявлено распределение, отличающееся от нормального, поэтому сравнение данных между двумя независимыми группами проводилось с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Сравнение этапов проводилось при помощи непараметрического T-критерия Вилкоксона. При множественном сравнении независимых групп использовался непараметрический дисперсионный анализ по критерию Краскела-Уоллиса. Апостериорное сравнение проводилось в случае равенства дисперсий с применением GT-2 критерия Гохберга. В случае, если дисперсии сравниваемых признаков отличались, использовался критерий Геймса-Хоуэлла. Описание данных и их дисперсии имело вид: Me (Q25; Q75), где Me – медиана, Q25 и Q75 – 25% и 75% квартили, соответственно.

Анализ качественных данных независимых выборок производился в режиме многопольных таблиц сопряженности с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона, при необходимости к нему применялась поправка Йетса на непрерывность. Сравнение этапов проводилось с помощью критерия Мак-Нимара. Доверительные интервалы для частот рассчитывались с применением метода Вальда с коррекцией по Агрести-Коулу. Описание данных имело вид: p (нижняя граница 95% ДИ; верхняя граница 95% ДИ), где p – частота встречаемости признака в выборке, %; ДИ – доверительный интервал.

Критическим уровнем значимости, при котором отвергалась нулевая гипотеза об отсутствии различий между изучаемыми группами, для парных сравнений выбран  $p < 0,05$ . Для сравнения шкал СМИЛ значения  $p < 0,05$  не рассматривались как решающие, т.к. в некоторых случаях при разнице в 4-5 баллов выявлялись статистически значимые различия, при которых значение p могло быть меньше 0,001, однако, интерпретация данного метода рассматривает такое колебание как незначимое.

**Результаты и их обсуждение.** Перед анализом динамики клинико-психофизиологического статуса проведено сравнение основных исходных показателей групп. По результатам этого сравнения группы признаны сопоставимыми по гендерному составу и исходному состоянию, включающему стадию и основные проявления остеохондроза, за исключением тенденции к снижению частоты встречаемости симптомов натяжения в основной группе, что, однако, не является значимым различием ( $p = 0,07$ ).

По прошествии периода наблюдения в обеих группах отмечалась положительная динамика ряда клинических и психофизиологических показателей. Так, значительно уменьшилась выраженность боли у пациентов по ВАШ: с 5,80 (4,90; 6,80) до 4,90 (3,60; 6,20) ( $Z = -3,88$ ;  $p < 0,001$ ) в контрольной группе, и с 6,30 (4,70; 7,00) до 3,90 (1,90; 5,70) ( $Z = -6,51$ ;  $p < 0,001$ ) в основной. Сравнение результатов второго обследо-

Таблица 1. Динамика частоты встречаемости основных проявлений остеохондроза, частота (-95% ДИ; +95% ДИ)

Показатель	Контрольная группа (n=75)		Значимость между этапами	Основная группа (n=75)		Значимость между этапами
	до	после		до	после	
Ограничение движения	69,33% (57,83%; 78,88%)	58,67% (47,07%; 69,39%)		70,67% (59,21%; 80,03%)	61,33% (49,71%; 71,81%)	
Симптомы натяжения	<b>56,00%</b> <b>(44,45%;</b> <b>66,94%)</b>	<b>44,00%</b> <b>(33,06%;</b> <b>55,55%)</b>	p<0,01	<b>41,33%</b> <b>(30,61%;</b> <b>52,93%)</b>	<b>25,33%</b> <b>(16,58%;</b> <b>36,58%)</b>	p<0,001
Компрессионные синдромы	64,00% (52,38%; 74,2%)	57,33% (45,76%; 68,17%)		<b>62,67%</b> <b>(51,04%;</b> <b>73,01%)</b>	<b>40,00%</b> <b>(29,4%;</b> <b>51,62%)</b>	p<0,001
Нарушения иннервации	84,00% (73,64%; 90,92%)	77,33% (66,28%; 85,62%)		<b>82,67%</b> <b>(72,14%;</b> <b>89,89%)</b>	<b>49,33%</b> <b>(38,05%;</b> <b>60,68%)</b>	p<0,001

примечание: жирным шрифтом выделены различия между этапами, курсивом - различия между группами

Таблица 2. Динамика показателей качества жизни, Me (Q25; Q75)

Показатель	Контрольная группа (n=75)		Значимость между этапами	Основная группа (n=75)		Значимость между этапами
	до	после		до	после	
ФК КЖ	<b>42,00 (37,00;</b> <b>46,00)</b>	<b>49,00 (43,00;</b> <b>55,00)</b>	Z = -7,530; p < 0,001	<b>42,00 (38,00;</b> <b>46,00)</b>	<b>59,00 (52,00;</b> <b>65,00)</b>	Z = -7,527; p < 0,001
ПК КЖ	<b>41,00 (39,00;</b> <b>44,00)</b>	<b>55,00 (49,00;</b> <b>60,00)</b>	Z = -7,529; p < 0,001	<b>41,00 (37,00;</b> <b>44,00)</b>	<b>61,00 (53,00;</b> <b>69,00)</b>	Z = -7,526; p < 0,001
ПЗ	<b>34,00 (28,00;</b> <b>39,00)</b>	<b>43,00 (38,00;</b> <b>51,00)</b>	Z = -7,529; p < 0,001	<b>36,00 (27,00;</b> <b>41,00)</b>	<b>51,00 (41,00;</b> <b>63,00)</b>	Z = -7,526; p < 0,001

примечание: ФК – физический компонент, ПК – психический компонент, ПЗ – психическое здоровье, КЖ – качество жизни; жирным шрифтом выделены различия между этапами, курсивом - различия между группами

дования показало, что в основной выборке динамика более выражена (U=1984,00; Z=-3,11; p<0,01).

В обеих группах снизилась частота жалоб на основные проявления остеохондроза (таблица 1). Встречаемость симптомов натяжения в обеих группах значимо снизилась, при этом, динамика оказалась более выраженной в основной группе ( $\chi^2=5,77$ , p=0,016). Значимой динамики по встречаемости компрессионных синдромов (КС) и нарушений иннервации (НИ) в контрольной группе не зафиксировано в отличие от основной группы. Анализ данных второго обследования выявил, что встречаемость НИ и КС значимо ниже в основной группе в сравнении с контрольной (НИ:  $\chi^2=12,66$ , p<0,001; КС:  $\chi^2=4,51$ , p=0,034).

Снижение выраженности основных проявлений остеохондроза положительно сказалось на качестве жизни пациентов (таблица 2).

Как следует из таблицы 2, в обеих группах компоненты качества жизни пациентов претерпели значимые положительные изменения, однако, респонденты основной выборки более высоко оценивали свое качество жизни (ФК: U=1272,50; Z=-5,79; p<0,001; ПК: U=1787,00; Z=-3,88; p<0,001; ПЗ: U=1946,00; Z=-3,26; p<0,01).

Для уточнения групп показаний необходимо рассмотреть внутригрупповые особенности динамики клинико-психологического статуса, иными словами, найти предикторы эффективности расширенного лечения. Для решения этой задачи основная группа разделена на три подгруппы по выраженности динамики основного компонента клиники остеохондроза – боли. Во 2а подгруппу (n=41) отнесены пациенты с отчетливым снижением выраженности боли по ВАШ более чем на 30%, в подгруппу 2б (n=17) попали респонденты с ме-

нее выраженной динамикой, от 5 до 30% снижения, а лица с незначительным снижением (менее 5%) или с отсутствием положительных изменений определены в третью подгруппу 2в (n=17). Анализировался исходный статус пациентов для поиска особенностей, предикторов, которые могут повлиять на выраженность снижения болевых ощущений.

В первую очередь сравнивался половозрастной состав подгрупп. Выборки различались по возрасту, в случаях, когда гендерных различий не выявлено ( $\chi^2=22,81$ , p<0,01, Рис. 1). Апостериорное сравнение показало, что медиана возраста в подгруппе 2в значимо отличается от 2а (I-J=6,06; p<0,001) и 2б (I-J=5,82; p<0,01) подгрупп, что может свидетельствовать о снижении влияния терапии на болевой синдром при приближении возраста пациента к порогу старческого.

Рис. 1. Возраст в подгруппах, лет

Распределение участников трёх подгрупп по стадиям остеохондроза представлено на рис. 2.

Анализ показал значимые различия по встречаемости в подгруппах второй ( $\chi^2=7,43$ ,  $p=0,024$ ), третьей ( $\chi^2=15,57$ ,  $p<0,001$ ) и четвертой ( $\chi^2=30,20$ ,  $p<0,001$ ) стадий остеохондроза. При этом «разнообразие» стадий, т.е. наличие всех трёх, представлено лишь во 2а подгруппе: 19,51% (9,5%; 34,95%) лиц со второй стадией, 51,22% (35,81%; 66,41%) пациентов с третьей стадией и 29,27% (16,94%; 45,28%) с четвертой. Подгруппа 2б целиком состоит из лиц с четвертой стадией остеохондроза, эта же стадия является преобладающей над третьей в подгруппе 2в (82,35% (55,94%; 96,44%) и 17,65% (3,56%; 44,06%) соответственно, а представители со второй стадией остеохондроза присутствуют только в подгруппе 2а.

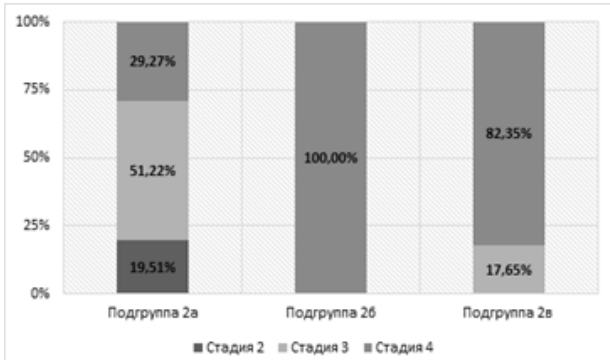


Рис. 2. Распределение пациентов по стадиям заболевания

Значимость различий по распределению стадий в подгруппах представлена в таблице 3.

Различия между 2а подгруппой и 2б, 2в подгруппами статистически значимы, а между 2б и 2в подгруппами незначимы, что, по всей вероятности, позволяет судить о зависимости между стадией и степенью снижения болевых проявлений остеохондроза. На это также указывает наличие линейных трендов, выявленных при сравнении частот встречаемости стадий в подгруппах:  $\chi^2=6,09$ ,  $p=0,014$  для второй стадии,  $\chi^2=9,58$ ,  $p<0,01$  для третьей и  $\chi^2=19,09$ ,  $p<0,001$  для четвертой.

Опросник ТОБОЛ предназначен для психологической диагностики типов отношений к болезни [11]. В его составе 12 шкал, описывающих различные типы, объединённые в 3 блока по принципам «адаптивность – дезадаптивность»

и «интерпсихическая – интрапсихическая направленность дезадаптации», соответственно, пациенты, у которых адаптивность не нарушена, попадают в первый блок, а пациенты со сниженной адаптивностью – во второй и третий блоки в зависимости от направленности нарушений.

Для больных первого блока, с точки зрения отношения к болезни, характерно снижение критичности к своему состоянию, преуменьшение «значения» заболевания до полного его отрицания, «уход» в работу. Пациентам, отнесённым ко второму блоку, наоборот, характерен акцент на болезни, отказ от борьбы с ней. Психическое состояние этих больных можно описать как подавленное, тревожное, угнетённое. Пациенты третьего блока демонстрируют сенсibilизированное отношение к болезни: стесняются или используют ее для достижения своих целей, иногда ищут в окружающих причину своего состояния. У таких пациентов возможны генерогенные агрессивные тенденции.

Исходный статус отношения к болезни у пациентов представлен на Рис. 3. Сравнение трёх подгрупп выявило значимые различия по частоте встречаемости второго ( $\chi^2=12,67$ ,  $p<0,01$ ) и третьего ( $\chi^2=24,44$ ,  $p<0,001$ ) блоков отношения к заболеванию и линейные тренды по ним:  $\chi^2=10,98$ ,  $p<0,01$  для блока интрапсихической направленности и  $\chi^2=21,11$ ,  $p<0,001$  для блока интерпсихической направленности.

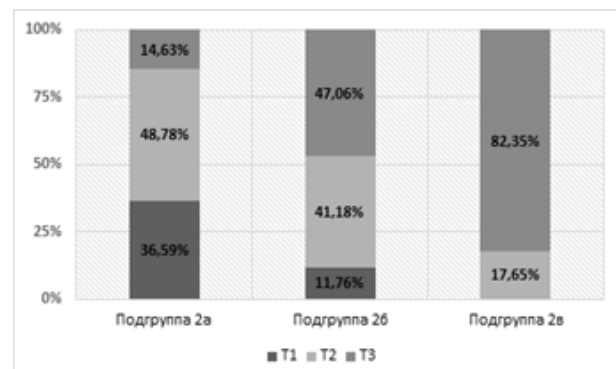


Рис. 3. Распределение респондентов по отношению к болезни. примечание: T1 – первый блок отношения к болезни, T2 – второй, T3 – третий

Таблица 3. Распределение стадий остеохондроза и блоков отношения к болезни в подгруппах

Сравниваемые подгруппы	Стадия	Уровень значимости	Блок	Уровень значимости
2а-2б	2	$\chi^2=3,85$ , $p=0,049$	1	-
	3	$\chi^2=13,65$ , $p<0,001$	2	-
	4	$\chi^2=24,05$ , $p<0,001$	3	$\chi^2=6,90$ , $p<0,01$
2а-2в	2	$\chi^2=3,85$ , $p=0,049$	1	-
	3	$\chi^2=5,58$ , $p=0,018$	2	$\chi^2=12,66$ , $p<0,001$
	4	$\chi^2=13,69$ , $p<0,001$	3	$\chi^2=24,93$ , $p<0,001$
2б-2в	2	Не представлена в подгруппах	1	-
	3	-	2	$\chi^2=8,81$ , $p<0,01$
	4	-	3	$\chi^2=4,63$ , $p=0,031$



Значимость различий по распределению пациентов по блокам отношения к заболеванию согласно результатам теста ТОБОЛ представлена в таблице 3.

Сравнительный анализ выявил, что во 2в подгруппе имеется наибольшая доля пациентов с интерпсихическим направлением снижения адаптации к своему заболеванию, что указывает на возможное влияние типа отношения к болезни на прогноз снижения болевых ощущений.

Отличия между подгруппами выявлены и в профилях личности по тесту (Рис. 4). Пациенты всех трех выборок различаются по 1-й ( $\chi^2=32,05$ ,  $p<0,001$ ; линейный тренд  $F=22,26$ ,  $p<0,001$ ), 3-й ( $\chi^2=26,66$ ,  $p<0,001$ ; линейный тренд  $F=16,04$ ,  $p<0,001$ ) и 4-й шкалам ( $\chi^2=17,69$ ,  $p<0,001$ ; линейный тренд  $F=11,09$ ,  $p<0,001$ ) СМИЛ.

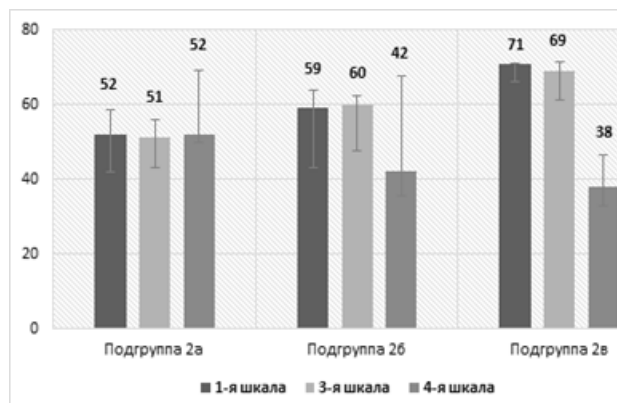


Рис. 4. Значения некоторых шкал СМИЛ (баллы)  
примечание: 1-я шкала – невротический сверхконтроль, 3-я шкала – эмоциональная лабильность, 4-я шкала – импульсивность

Для первой шкалы профиля СМИЛ - невротический сверхконтроль, характерна гиперсоциальность установок, возможность психосоматического варианта дезадаптации, повышенное внимание к собственному здоровью. Индивид с повышением значений по такой шкале имеет низкую психотерапевтическую податливость, при этом постоянно ищет помощи и редко доволен лечением. Высокие значения третьей шкалы - эмоциональная лабильность, свойственны демонстративным личностям, имеющих неустойчивость эмоционального фона. У таких лиц возможно конфликтное наличие разнонаправленных тенденций в структуре личности. Одним из защитных механизмов против стресса для обладателей высокой 3-й шкалы является трансформация психологической тревоги в функциональные нарушения. Сочетание высоких 1-й и 3-й шкал свидетельствует в пользу эгоцентрических свойств личности с возможностью ухода в болезнь от социальной ответственности. Пациенты с такими свойствами профиля имеют меньшую приверженность к лечению, а неудачи при терапии могут вызвать отказ от неё. Во 2в подгруппе зафиксированы максимальные значения 1-й шкалы профиля в сравнении со 2а ( $I-J = 17,29$ ;  $p<0,001$ ) и 2б ( $I-J = 13,71$ ;  $p<0,001$ ). Аналогичная картина отмечена и по данным 3-й шкалы (со 2а:  $I-J=14,70$ ;  $p<0,001$ ; со 2б:  $I-J=9,18$ ;  $p=0,012$ ).

Повышение значения по шкале импульсивности характерно для индивидуумов с активной жизненной позицией, мотивированных на достижение успеха. В случае грамотного обоснования значимости назначаемого лечения

для такого пациента можно добиться его высокой приверженности к терапии, особенно в случае применения методик психокоррекции и, как следствие, улучшить её результат. Максимальное значение 4-й шкалы имеется во 2а подгруппе, минимальное – во 2в, значительно отличающиеся от 2а ( $I-J = -16,58$ ;  $p<0,001$ ).

Проведенный статистический анализ показал, что имеется ряд факторов, оказывающих возможное влияние на эффективность снижения выраженности болевого синдрома при лечении БОС-терапией и цитофлавином. К ним относятся возраст, стадия остеохондроза, тип отношения к болезни, значения некоторых шкал СМИЛ. Однако, наличие значимых различий по ряду признаков в группах не всегда позволяет судить о влиянии этих признаков на группирующую переменную, т.е. на выраженность снижения болевого синдрома по ВАШ, следовательно, необходимо провести дополнительные процедуры анализа.

Для такой оценки необходимо проведение регрессионного анализа. Так как номер группы – порядковая переменная, а среди участвующих в анализе предикторов имеются как дискретные, так и номинальные признаки, то методом выбора является режим порядковой логистической регрессии, где зависимой переменной выступает номер группы, независимыми – номинальные и порядковые параметры, а ковариатами – переменные количественной шкалы. Связующей функцией выбрана логит-функция.

Оценка степени влияния поможет определить доказанность или недоказанность положительного эффекта от дополнения существующего лечения цитофлавином и БОС-терапией, однако перед этим необходимо убедиться в валидности модели регрессии, для чего рассчитаны параметры подгонки модели и ряд критериев согласия.

Для оценки значимости вклада использованных предикторов в группирующий параметр рассчитан -2LL (отрицательное удвоенное значение логарифма функции правдоподобия). Разность между значениями «только свободный член» и значением «окончательный» проверяется с помощью теста  $\chi^2$ . В данном случае наблюдается значимое улучшение ( $\chi^2L = 60,320$ ;  $p<0,001$ ).

Проверка соответствия ожидаемых частот с рассчитанными проводится с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона (в данном случае – критерий согласия). Отсутствие значимой разницы между расчетными и ожидаемыми частотами является положительным признаком валидности модели ( $\chi^2=119,930$ ;  $df=139$ ;  $p=0,877$ ). Мера согласия Нейджелкера указывает какой процент дисперсии объясняет полученная модель, в данном случае 80,8%, что является хорошим результатом.

Итак, на основании предварительной оценки регрессионная модель признана валидной, а, значит, по ней можно оценить величину влияния каждого предиктора на группирующую переменную и, следовательно, можно прогнозировать эффективность снижения болевого синдрома при терапии.

Расчеты влияния предикторов на группировку по выраженности снижения болевого синдрома (по ВАШ) представлены в таблице 4.

В случае, когда переменная оказывает сильное влияние на группирующий параметр, ее следует считать значимым предиктором.

Ввиду низкого уровня значимости, предикторы «возраст», «шкала эмоциональной лабильности» (3-я шкала) и «шкала импульсивности» (4-я шкала) не расцениваются

Таблица 4. Результаты применения порядковой регрессии

Предиктор	Тип переменной	Оценка	Значимость
Возраст	Дискретная	0,034	0,751
1-я шкала профиля	Дискретная	0,141	0,039
3-я шкала профиля	Дискретная	0,082	0,061
4-я шкала профиля	Дискретная	0	0,997
2-я стадия остеохондроза	Порядковая	-20,237	< 0,001
3-я стадия остеохондроза		-2,594	< 0,01
4-я стадия остеохондроза		0	
1-й блок ТОБОЛ	Порядковая	-2,703	< 0,01
2-й блок ТОБОЛ		-2,602	< 0,01
3-й блок ТОБОЛ		0	

Таблица 5. Показания к назначению БОС-терапии и цитофлавина

Предиктор	Влияние на болевой синдром	Показания
2-я стадия остеохондроза	Значимое	Абсолютно показано
3-я стадия остеохондроза	Умеренное	Показано
4-я стадия остеохондроза	Незначительное	Показано условно
1-й блок ТОБОЛ	Умеренное	Показано
2-й блок ТОБОЛ	Умеренное	Показано
3-й блок ТОБОЛ	Незначительное	Показано условно
Высокая 1-й шкала СМЛЛ	Эффект не доказан	Эффект не доказан

как влияющие на группирующую переменную. Остальные параметры могут быть включены в разработанную модель.

Значение оценки предиктора меньше нуля является положительным прогностическим фактором для назначения БОС-терапии и цитофлавина. Нулевые значения оценок напротив некоторых значений качественных переменных не умаляют значимости самой переменной и указывают на достоверное отсутствие положительного влияния данного значения на прогноз назначения БОС-терапии и цитофлавина. Положительные значения оценок предиктора говорят о негативном ответе на терапию с применением БОС-терапии и цитофлавина, отрицательные, наоборот, связаны с улучшением. Нулевые значения указывают на незначительное влияние предиктора на прогноз назначения БОС-терапии и цитофлавина.

Таким образом, на основании данных таблицы 6 можно выделить значимые предикторы, к которым относятся стадия остеохондроза, отношение к болезни и значение 1-й шкалы профиля личности. По знаку и величине оценки их можно интерпретировать следующим образом (таблица 5, графа 2).

На основании данной интерпретации можно сформулировать следующие показания к назначению БОС-терапии и цитофлавина (таблица 5, графа 3), причем положительное влияние рассматривается как показание, отсутствие влияния – как условное показание, отрицательное влияние – как отсутствие доказанного эффекта.

Исходя из вышеизложенного, следует заключить, что назначение БОС-терапии и цитофлавина значимо потенцирует эффект от стандартной терапии. При этом, отрицательных эффектов, неблагоприятных реакций и мотивированных от-

казов от такого дополнения не зафиксировано. Таким образом, наличие остеохондроза у пациентов старшей возрастной группы позволяет расширить показания для лечения с помощью БОС-терапии и цитофлавина.

**Заключение.** Результаты проведенного исследования можно указывают, что БОС-терапия и цитофлавин существенно усиливают положительный эффект стандартного лечения в виде снижения выраженности болевого синдрома, уменьшения частоты основных проявлений остеохондроза - нарушения иннервации, симптомы натяжения. Значимо увеличивается и качество жизни пациентов.

Однако, в исходном статусе респондентов имеются как положительные, так и отрицательные предикторы эффективности назначения БОС-терапии и цитофлавина для снижения выраженности болевого синдрома. К положительным относятся низкие значения шкалы невротического сверхконтроля профиля личности, 2-3 стадии остеохондроза, а также нормальная адаптивность в отношении к своей болезни либо интрапсихическая направленность нарушения адаптивности. Прогноз значимого снижения боли по ВАШ является сомнительным в случаях, когда пациент курит, имеет 4-ю стадию остеохондроза, высокие цифры по шкале невротического сверхконтроля или нарушение адаптивности в сторону интерпсихотических проявлений в отношении к своей болезни.

#### Выводы.

1. Результаты проведенного исследования позволяют расширить показания к применению курсового лечения препаратом цитофлавин в комбинации с БОС-терапией у пациентов старческого возраста, имеющих неврологические осложнения остеохондроза позвоночника.

2. Перед назначением БОС-терапии и цитофлавина необходимо учесть ряд положительных и отрицательных предикторов их эффективности касательно снижения выраженности болевого синдрома.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Захаров К.И., Парфенов С.А., Белов В.Г., Парфенов Ю.А., Ершов Е.В., Сапожников К.В., Коваленко А.Л., Харитонов Т.В., Скрипко В.Д. Бихевиоральная терапия и цитофлавин в лечении деформирующего коксартроза у пациентов пожилого и старческого возраста. Успехи геронтологии. 2016; 5(29): 816-822.
2. Ильинский Н.С., Парфенов С.А., Харитонов Т.В., Парфенов Ю.А. Влияние цитофлавина на восстановление когнитивных функций у страдающих алкоголизмом пожилых лиц Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2016; 116 (11-2): 49–53.
3. Золотухина С.Ю. Комплексное лечение остеохондроза поясничного отдела позвоночника: дис. ... канд. мед. наук. – Самара, 2010. 102 с.
4. Белов В.Г., Парфёнов Ю.А., Нестеренко М.Ю. Володина К.И. Использование антиоксиданта/антигипоксанта в терапии астенического синдрома у пожилых пациентов. Успехи геронтологии. 2013; 26 (2): 379-382
5. Заплутанов В.А., Литовкин А.В., Белов В.Г., Спикина А.А., Парфенов Ю.А., Парфенов С.А., Ашоур А.З., Коваленко А.Л. Качество жизни пациентов пожилого и старческого возраста с онкологической патологией. Онкология. Журнал им. А.П. Герцена 2016; 2: 25-28.
6. Латышева В.Я., Дривотинов Б.В., Олизарович М.В. Неврология и нейрохирургия Минск: Вышэйная школа, 2013. 512 с.
7. Гусев Е.И., Коновалов А.Н., Скворцова В.И. Неврология и нейрохирургия: учебник: в 2х томах /2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. Т1. 624 с.

8. Биктимиров Р.Г., Кедров А.В., Киселев А.М., Качков И.А. Остеохондроз позвоночника Альманах клинической медицины. 2004; 7: 328-337.
9. Остеохондроз позвоночника. Клинические рекомендации / Общероссийская общественная организация ассоциация травматологов-ортопедов России (АТОР). Новосибирск, 2013; 69.
10. Тюрина О.Г., Айвазян Т.А., Зайцев В.П., Горбунов Ф.Е. Применение биообратной связи у больных остеохондрозом позвоночника с длительным болевым синдромом Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья (Научно-практический журнал). Воронеж: ВГМА им. Н.Н. Бурденко. 2002; 9: 8-15.
11. Психологическая диагностика отношения к болезни. Пособие для врачей. Под ред. Л.И. Вассерман СПб, 2005. – 33 с.
12. Ашоур А.З., Белов В.Г., Парфенов Ю.А., Парфенов С.А., Ершов Е.В., Сапожников К.В. Разработка алгоритма оценки тяжести хронического генерализованного пародонтита у пациентов с коморбидной патологией Вестник Северо-Западного Государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2016; 8 (2): 44-54.
13. Ашоур А.З., Литовкин А.В., Белов В.Г., Парфенов Ю.А., Парфенов С.А., Спикина А.А., Федоров Е.В., Ершов Е.В. Региональная модель паллиативной помощи лицам пожилого и старческого возраста с онкологической патологией в Калининградской области Современные проблемы науки и образования. 2015; 6: 7.
14. Ситель А.Б. Формирование рефлекторных и компрессионных синдромов при дискогенной болезни поясничного отдела позвоночника. Вертеброневрология. 2002; 9 (1-2): 51-58.
15. Allameh Z., Salamzadeh J. Use of antioxidants in urinary tract infection J Res Pharm Pract. 2016; 5(2): 79-85.
16. Global Population Estimates by Age, 1950-2050, <http://www.pewglobal.org/2014/01/30/global-population/>

#### SUMMARY

#### SUBSTANTIATION OF INDICATIONS FOR BIOFEEDBACK THERAPY AND CYTOFLAVIN APPLICATION IN TREATMENT OF OSTEOCHONDROSIS NEUROLOGICAL COMPLICATIONS IN ELDERLY PATIENTS

<sup>2</sup>Parfenov Yu., <sup>1</sup>Vasilevskaya M., <sup>2</sup>Parfenov S., <sup>1</sup>Sapozhnikov K., <sup>3</sup>Kovalenko A., <sup>4</sup>Zaplutanov V.

<sup>1</sup>GBUZ "City Polyclinic №91", St. Petersburg; <sup>2</sup>North-West Institute of Management of RANEPА, St. Petersburg;

<sup>3</sup>Institute of Toxicology, Federal Biomedical Agency, St. Petersburg;

<sup>4</sup>Institute of evolutionary physiology and biochemistry I.M. Sechenov RAS, St. Petersburg, Russia

The aim of the study was to assess the impact of cytoflavin and bioflavin therapy on the dynamics of clinical and psychophysiological status of patients with Osteochondrosis. 150 patients with osteochondrosis of a backbone were investigated.

The patients were divided into two groups using method of randomization: the main group – 75 patients – and control group – 75 patients. All patients received a standard treatment (non-steroidal anti-inflammatory drugs, myorelaxants, chondroprotectors, as well as physiotherapy). The main group in addition to standard treatment received biofeedback therapy and cytoflavin.

The results showed that cytoflavin and biofeedback therapy

significantly enhanced the positive effect of standard treatment and significantly increased the quality of life of patients. It is recommended to treat elderly patients with neurological complications of spinal osteochondrosis with Cytoflavin in combination with biofeedback therapy

Before prescribing biofeedback therapy and Cytoflavin it is necessary to take into account a number of positive and negative predictors of their effectiveness in reducing severity of pain syndrome.

**Keywords:** cytoflavin, bioflavin, biofeedback therapy, osteochondrosis of a backbone, neurologic complications,

## РЕЗЮМЕ

### ОБОСНОВАНИЕ ПОКАЗАНИЙ К ПРИМЕНЕНИЮ БОС-ТЕРАПИИ И ЦИТОФЛАВИНА В ЛЕЧЕНИИ НЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ОСТЕОХОНДРОЗА СРЕДИ ПОЖИЛЫХ ПАЦИЕНТОВ

<sup>1</sup>Парфенов Ю.А., <sup>1</sup>Василевская М.А., <sup>2</sup>Парфенов С.А.,  
<sup>1</sup>Сапожников К.В., <sup>3</sup>Коваленко А.Л., <sup>4</sup>Запуганов В.А.

<sup>1</sup>ГБУЗ «Городская поликлиника №91» Санкт-Петербург;  
<sup>2</sup>Северо-Западный институт управления РАНХ и ГС при Президенте РФ, Санкт-Петербург; <sup>3</sup>ФГБУН «Институт токсикологии ФМБА», Санкт-Петербург; <sup>4</sup>ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН», Санкт-Петербург, Россия

Целью исследования явилась оценка влияния цитофлавина и терапии с биологической обратной связью на динамику клинико-психофизиологического статуса и обоснование показаний для их назначения больных остеохондрозом.

Исследованы 150 пациентов с диагнозом остеохондроз позвоночника, которые методом рандомизации разделены на две группы по 75 больных – основную и контрольную. Стадия остеохондроза определялась по классификации Зекера. Все пациенты получали стандартный объем лечения (нестероидные противовоспалительные препараты, миорелаксанты, хондропротекторы, физиотерапию). Основная группа получала в дополнение к основной терапии цитофлавин и аутогенные тренировки с применением метода терапии с биологической обратной связью.

По результатам проведенного исследования следует заключить, что назначение терапии с биологической обратной связью и цитофлавина существенно усиливает положительный эффект стандартного лечения в виде снижения выраженности болевого синдрома, уменьшения встречаемости основных проявлений остеохондроза - нарушения иннервации, симптомы натяжения. Значимо увеличивается и качество жизни пациентов.

Результаты настоящего исследования позволяют расширить показания к применению курсового лечения препаратом цитофлавин в комбинации с терапией с биологической обратной связью у пациентов старческого возраста с неврологическими осложнениями остеохондроза позвоночника.

Перед назначением терапии с биологической обратной связью и цитофлавина необходимо учесть ряд положительных и отрицательных предикторов их эффективности касательно снижения выраженности болевого синдрома.

## რეზიუმე

ოსტეოქონდროზის ნევროლოგიური გართულებების მკურნალობაში ბიოლოგიური უკუკავშირით თერაპიის და ციტოფლავინის გამოყენების ჩვენებები

<sup>1</sup>იუ. პარფენოვი, <sup>1</sup>მ. ვასილევსკაია, <sup>2</sup>ს. პარფენოვი,  
<sup>1</sup>კ. საპოჟნიკოვი, <sup>3</sup>ა. კოვალენკო, <sup>4</sup>ვ. ზაპლუტანოვი

<sup>1</sup>ქალაქის პოლიკლინიკა №91, სანკტ-პეტერბურგი;  
<sup>2</sup>ჩრდილოეთ-დასავლეთის RANEPA მართვის ინსტიტუტი, სანკტ-პეტერბურგი; <sup>3</sup>ტოქსიკოლოგიის ინსტიტუტი, ფედერალური ბიოსამედიცინო სააგენტო, სანკტ-პეტერბურგი; <sup>4</sup>ი. სეჩენოვის სახ. ევოლუციური ფიზიოლოგიის და ბიოქიმიის ინსტიტუტი, სანკტ-პეტერბურგი, რუსეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ციტოფლავინის და ბიოლოგიური უკუკავშირის თერაპიის კლინიკო-ფსიქო-ფიზიოლოგიური სტატუსის დინამიკაზე ზემოქმედების შეფასება და მათი დანიშნისათვის ჩვენებების დასაბუთება ავადმყოფთა გარკვეული ჯგუფებისათვის.

გამოკვლეულია 150 პაციენტი ხერხემლის ოსტეოქონდროზის დიაგნოზით. რანდომიზაციის მეთოდის გამოყენებით პაციენტები გაყოფილი იყო 2 ჯგუფად: ძირითადი (n=75) და საკონტროლო (n=75). ოსტეოქონდროზის სტადიის განსაზღვრა ხდებოდა ზეკერის კლასიფიკაციის თანახმად. ყველა პაციენტი ღებულბდა სტანდარტულ მკურნალობას (არასტეროიდული ანთებისსაწინააღმდეგო პრეპარატები, მიორელაქსანტები, ხონდროპროტექტორები, ფიზიოთერაპია). ძირითადი ჯგუფის ავადმყოფებს დამატებით დაენიშნა ციტოფლავინი და აუტოგენური ვარჯიშები ბიოლოგიური უკუკავშირის თერაპიის გამოყენებით.

ჩატარებული კვლევის შედეგებმა ცხადყო, რომ ბიოლოგიური უკუკავშირის თერაპიის და ციტოფლავინის დამატებამ სტანდარტულ მკურნალობაზე საგრძნობლად გააძლიერა მკურნალობის ეფექტი, რაც გამოიხატა ტკივილის და ოსტეოქონდროზის ძირითადი გამოვლინებების შემცირებაში - მოიხსნა დაძაბულობა, დაჭიმვის სინდრომი და გაუმჯობესდა პაციენტების ცხოვრების ხარისხი. ჩატარებული კვლევის შედეგები მიუთითებს ციტოფლავინისა და ბიოლოგიური უკუკავშირის თერაპიის სამკურნალო კომპლექსში ჩართვის აუცილებლობაზე ხანდაზმულ პაციენტებში ხერხემლის ოსტეოქონდროზის ნევროლოგიური გართულებებით. სტადიის ავტორები მიზანშეწონილად თვლიან, რომ ციტოფლავინისა და ბიოლოგიური უკუკავშირის თერაპიის დანიშნამდე აუცილებელია გათვალისწინებული იყოს მათი დადებითი და უარყოფითი პრედიქტორები ტკივილის შემცირების ეფექტურობის მიმართ.

## СТРУКТУРА И РИСК РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В СЕЛАХ ВЕРХНЕЙ ИМЕРЕТИ (ЗАПАДНАЯ ГРУЗИЯ) И ИХ РЕДОКС- И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ

<sup>1</sup>Кварацхелия Г.Дж., <sup>2</sup>Тикарадзе Э.Т., <sup>3</sup>Булеишвили М.Л., <sup>2</sup>Шарашенидзе Г.З., <sup>3</sup>Ормоцадзе Г.Л., <sup>2</sup>Саникидзе Т.В.

<sup>1</sup>Грузинский университет Давида Строителя; <sup>2</sup>Тбилисский государственный медицинский университет;  
<sup>3</sup>Центр экспериментальной биомедицины им. И. Беритаивили; <sup>4</sup>Районная больница, Сачхере, Грузия

Исследование механизмов хронических патологий, ассоциированных с неблагоприятным воздействием риск-факторов внешней среды, по сей день является актуальной проблемой медицины. Особый интерес представляют хронические неспецифические заболевания легких (ХНЗЛ), которые ассоциируются с загрязнением воздушной среды и по числу летального исхода занимают третье место в мире [14]. Необходимо отметить наличие причинно-следственной связи патогенеза хронических респираторных заболеваний, в том числе ХНЗЛ, с патофизиологическими механизмами хронических заболеваний, характеризующихся высокой летальностью [13,34,35], в частности сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [8,10].

С точки зрения понимания причинно-следственных связей между патогенезом ХНЗЛ, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний заслуживают внимания результаты исследований, свидетельствующие о высокой вероятности летального исхода при тяжелых и очень тяжелых формах ХНЗЛ, тогда как при умеренной и средней тяжести этого заболевания смерть наступает как правило от сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [16,18,29]. Причинно-следственная зависимость патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и ХНЗЛ представляет интерес также с точки зрения межпопуляционных исследований. Существующие в настоящее время данные весьма противоречивы: некоторые исследователи считают, что риск ССЗ увеличивается с выраженностью ХНЗЛ [8], другие отмечают, что в связи со стандартизацией показателей по возрасту или другим возможным факторам, результаты менее очевидны. Более того, ряд исследователей вообще не признают связи между ССЗ и ХНЗЛ. Вероятной причиной такого разброса результатов, наряду с чисто методическими факторами, рассматриваются и специфические особенности исследуемых популяций [5,10,20,32].

Сравнительный анализ рисков респираторных, сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний, а также причинно-следственной зависимости между ними в популяциях, расселенных в различных географических ареалах с неоднородной степенью экологической напряженности, является весьма ценной информацией для установления специфических особенностей данных механизмов в конкретных популяциях [25].

Целью исследования явилось определение характера причинно-следственной зависимости между рисками развития хронических неспецифических заболеваний легких и сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов, проживающих в селах Чиатурского района с различной степенью экологической напряженности.

**Материал и методы.** В соответствии с поставленной целью инициативной группой медицинского персонала Республиканской больницы им. акад. Н. Кипшидзе, в рамках государственной программы всеобщего страхования населения, обследованы 400 жителей Чиатурского района, проживающие в селах Хрейти, Перевиса и Ргани, которые характеризуются различной степенью экологической напряженности окружающей среды. В зависимости от удаленности от ис-

точников экологического загрязнения – карьеров добычи марганца и масштабов его добычи, произведено ранжирование их по степени экологической напряженности: Хрейти – низкая, Перевиса – средняя, Ргани – высокая [1,2]. Пациентам, помимо сбора анамнеза, проводили клинико-функциональные обследования, включая лабораторные, клинические и инструментальные исследования. Заболевания классифицированы в соответствии с Международной классификацией болезней ICD-10. Изучался также редокс-баланс крови, проводились генетические исследования.

Определение общей антирадикальной активности плазмы крови пациентов производилось посредством модифицированного DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) теста [7,15,38]. Образцы плазмы крови (1 мл) депротонировали добавлением 3 мл ацетонитрила и центрифугировали в течение 10 минут (4°C, 9500g). К 1 мл супернатанта добавляли 3 мл DPPH (2,5 мг радикала DPPH растворяли в 100 мл метанола) и после 30 мин. инкубационного периода при комнатной температуре (25°C) спектрофотометрически определяли оптическую плотность раствора на длине волны 515 нм. Отрицательный контроль осуществляли с использованием ацетонитрила при той же концентрации, проводили трёхкратные измерения. Калибровочную кривую строили по галловой кислоте, где значения поглощения интерполированы и результаты выражены в виде эквивалентов галловой кислоты. Для выявления различий и сравнения образцов рассчитывали DPPH-DPPH<sub>0</sub>, где DPPH – эквивалент галловой кислоты в произвольный момент времени, а DPPH<sub>0</sub> эквивалент галловой кислоты в начальный момент времени.

С целью регистрации хромосомных нарушений использовали неинвазивный метод, применяемый при популяционных исследованиях, информативный метод для определения уровня микроядер в соскобах слизистой ротовой полости: с внутренней стороны эпителия щеки деревянным шпательом брали соскоб и помещали его на предметное стекло [39]. Препарат фиксировали фиксатором Карнуа (смесь этанола и ледяной уксусной кислоты 3:1); спустя 24 часа проводили гидролиз в 1-нормальной HCl в течение 30 минут при температуре 37°C, модифицированный метод H.F. Stich и соавт. [37]. Препараты окрашивали азур-эозином, после промывки докрашивали посредством “Fast green”.

Статистический анализ и графическую визуализацию результатов проводили с применением программного обеспечения STATISTICA-10. При анализе результатов исследования применяли методы вариационной статистики (ANOVA), критерий  $\chi^2$  (анализ наблюдаемых и ожидаемых частот) и критерий Z (оценка статистической значимости различия двух пропорций).

**Результаты и их обсуждение.** Прямым путем выявления ассоциации между ХНЗЛ и ССЗ является анализ коморбидности пациентов с ХНЗЛ, а критерием принятия гипотезы о допустимости рассмотрения ХНЗЛ в качестве риск-фактора ССЗ считается наличие статистически значимого превышения риска сопутствующего ССЗ у пациентов с ХНЗЛ над риском первичных ССЗ в основной популяции [9,10,16,34-36].

На рис. 1 представлены доли пациентов (число пациентов к общему количеству обследованных жителей) с первичной артериальной гипертензией (АГ), ХНЗЛ и ХНЗЛ с сопутствующей АГ в субпопуляциях населения сел Хреити, Перевиса и Ргани. Доля пациентов с определенной нозологией от общего количества исследованных пациентов (выборочная вероятность развития болезни) в первом приближении с полным основанием может быть рассмотрена в качестве риска заболевания.

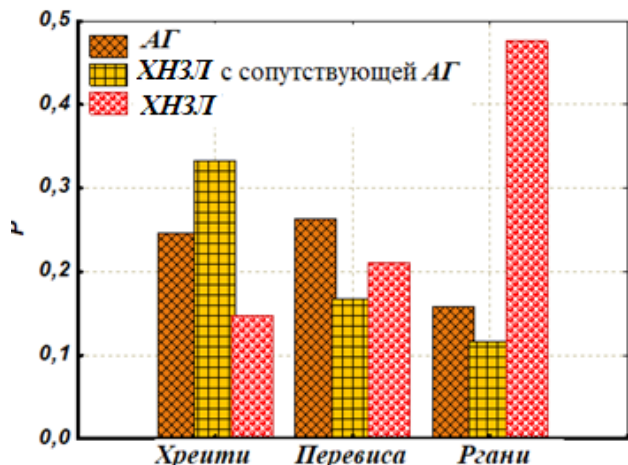


Рис. 1. Доля пациентов (P) с ХНЗЛ, АГ и ХНЗЛ с сопутствующей АГ в субпопуляциях обследованного населения сел Хреити, Перевиса и Ргани

На основании анализа исследуемых данных выявлена четкая обратная зависимость риска развития первичной и сопутствующей АГ от степени экологической напряженности и частоты ХНЗЛ: чем выше степень экологического напряжения и риск развития (частота) ХНЗЛ, тем ниже риски развития первичной и сопутствующей ХНЗЛ АГ (рис. 1, таблицы 1,2). Однако статистически значимого различия между рисками развития первичной и сопутствующей ХНЗЛ АГ не фиксируется (таблица 1), что согласуется с существующими представлениями о малой вероятности возможности рассмотрения ХНЗЛ в качестве независимого риск-фактора АГ.

Что касается различий между рисками развития первичной и сопутствующей ХНЗЛ АГ в субпопуляциях обследо-

уемых сел, выявлена четкая, статистически значимая зависимость – чем выше степень экологического напряжения и риск развития ХНЗЛ, тем ниже риск развития первичной и сопутствующей ХНЗЛ АГ (таблица 2).

Полученные результаты с высокой вероятностью свидетельствуют о тесной причинно-следственной связи между ХНЗЛ и АГ в популяциях сел Хреити, Перевиса и Ргани, однако между ними наблюдается скорее конкурентная зависимость, чем эффект взаимоусиления, поскольку, как следует из результатов собственных наблюдений, в условиях низкой и средней степени экологических нагрузок вероятности развития АГ и ХНЗЛ приблизительно равны, тогда как в условиях высокой экологической нагрузки резко возрастает вероятность развития ХНЗЛ, а вероятность развития АГ, приблизительно, в 2-3 раза уменьшается (рис. 1).

На основании анализа литературных данных и результатов собственного исследования, с позиций патофизиологических механизмов развития ХНЗЛ и АГ, при интерпретации полученных результатов наиболее адекватным механизмом представляется воспаление и связанный с ним окислительный стресс, индуцированный частицами загрязненной атмосферы исследованных сел. Согласно результатам многочисленных исследований [9,14,19,29], контакт воздушных поллютантов с эпителием дыхательных путей обуславливает интенсификацию процессов свободно-радикального окисления, инициации окислительного стресса в тканях респираторного тракта и развитие недостаточности антиоксидантной системы в организме. Накопление цитотоксических свободных радикалов кислорода, в свою очередь, обеспечивает инициацию воспалительного ответа в организме, сопровождающегося высвобождением воспалительных клеток и их медиаторов - цитокинов, включая фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), интерлейкин-6 (IL-6), С-реактивный белок (CRP), фибриноген и адгезивные молекулы, которые, попадая в системную циркуляцию, способствуют развитию субклинического воспалительного процесса, оказывающего системный отрицательный эффект не только на дыхательную систему, но и на циркуляторную систему и весь организм в целом [24]. Таким образом, развитие системного воспалительного процесса, индуцированного очагом загрязнения, следует рассматривать в качестве запускающих механизмов как респираторных, так и сердечно-сосудистых заболеваний (рис. 2).

Таблица 1. Статистическая значимость совпадения долей первичной и сопутствующей ХНЗЛ АГ по критерию  $\chi^2$  в субпопуляциях обследованного населения сел Хреити, Перевиса и Ргани

Села	Первичная АГ vs. Сопутствующая ХНЗЛ АГ $\chi^2 = ,094$ ; $p = ,95$			
	АГ	Сопутствующая ХНЗЛ АГ	АГ – ХНЗЛ АГ	$\chi^2$
Хреити	0,24	0,33	-0,08	0,02
Перевиса	0,26	0,16	0,09	0,05
Ргани	0,15	0,11	0,04	0,01
Итого	0,65	0,60	0,05	0,09

Таблица 2. Статистическая значимость различия доли первичной и сопутствующей ХНЗЛ АГ между субпопуляциями обследованного местного населения сел Хреити/Перевиса, Перевиса/Ргани, Хреити/Ргани, соответственно, Z-критерий различия двух пропорций

Z-тест различия двух пропорций			
Заболевания	$P_{\text{Хреити/Перевиса}}$	$P_{\text{Перевиса/Ргани}}$	$P_{\text{Хреити/Ргани}}$
Первичная АГ	0,9	0,02	0,02
Сопутствующая ХНЗЛ АГ	0,05	0,25	>0,01



Рис. 2. Схема патофизиологических механизмов развития ХНЗЛ и АГ

Проведенный анализ полученных данных позволяет идентифицировать наиболее вероятную схему патологических процессов, запускающих ХНЗЛ и ССЗ (в частности АГ) и способствует дальнейшему уточнению патогенетической цепи, в том числе и идентификации индивидуальных особенностей метаболизма, имеющих определяющее значение как с точки зрения направления развития патологического процесса (биомаркеры чувствительности для конкретной патологии), так и тяжести течения заболевания (биомаркеры эффекта), а также дизайна исследований биомаркеров, который требует уже всестороннего сравнительного анализа доступного комплекса медико-биологических показателей в каждой отдельной страте популяций вышеуказанных сел. Решение данного вопроса является весьма актуальной проблемой с точки зрения разработки оптимальной для Грузии методологии исследования рисков для здоровья в малых географических ареалах.

На данном этапе исследований (этап предварительной верификации модели) исследовано распределение показателей редокс-статуса в крови и частоты микроядер в буккальных клетках в выборках обследованных субпопуляций сел Хрейти, Перевиса и Ргани. Показатели редокс-статуса крови использовали для верификации нашей ключевой гипотезы - рассмотрение системного воспалительного процесса и окислительного стресса в качестве запускающего механизма патологического процесса, а микроядерный тест применяли с целью идентификации возможного биологического механизма нелинейности доза-эффекта на клеточном и системном уровнях биологической организации.

Микроядра являются небольшими субклеточными структурами, состоящими из фрагментов хромосом, которые на стадии телофазы входят в дочерние клетки или формируют микроядра в цитоплазме исходной клетки. Известно, что крупные микроядра образуются при патологических митозах, а мелкие - при структурных aberrациях хромосом [12]. Повышенное количество микроядер принято считать достоверным показателем дестабилизации генома, возможно инициированной окислительным стрессом [4,17,30], повышением уровня цитокинов [6] или множеством других факторов, характерных для хронического воспалительного процесса, в том числе и органов дыхания при ингаляции воздушных поллютантов [26].

В патогенезе как хронического, так и острого воспалительных процессов значимая роль принадлежит апоптозу, в механизме регуляции которого ключевую роль играет белок p53, являющийся редокс-чувствительным сенсором, определяющим переключение клеточного метаболизма с p53-зависимой протекции на путь апоптоза [26] и тем самым, обеспечивающим сохранение генетической стабильности и однородности соматических клеток. При умерен-

ном окислительном стрессе p53 блокирует цикл деления клетки на границе фаз G1/S и G2/M (p53-зависимый G1 и G2 арест), что предотвращает репликацию поврежденной ДНК, способствует стимуляции ее репарации [17]. В условиях интенсивного окислительного стресса задержка в фазе G2/M предотвращает сегрегацию поврежденных и недореплицированных хромосом и запускает апоптоз клеток; в этом случае p53 проявляет прооксидантную активность посредством активации прооксидантных генов (PIG3, пролин оксидаза) и способствует инициации апоптоза посредством BAX и PUMA-зависимого высвобождения цитохрома из митохондрии [11] и ингибции экспрессии антиоксидантных генов [27,28]. Следует отметить, что дисфункцию как самого белка p53, так и вызванную различными факторами (окислительный стресс, действие окиси азота, состояние гипоксии и ишемии, гипероксии, изменение содержания цитокинов, нарушение клеточной адгезии, появление полиплоидных клеток, гипер- и гипотермия) [21-23,31,33] модификацию систем, контролирующих его уровень и активность можно рассматривать в качестве самостоятельного фактора дестабилизирующего геном и стимулирующего появление микроядерных клеток [3]. Следует также отметить, что апоптоз отдельных клеток сопровождается массивным накоплением кислородных радикалов, высвобождающихся в процессе фагоцитоза, которые действуют не только на апоптотные клетки, но оказывают действие и на все микроокружение, поэтому при высокой интенсивности апоптоза этот дополнительный стресс может способствовать вторичному окислению ДНК и гибели клеток паренхимы органов, развитию фиброза и других локальных тканевых патологий. С этих позиций явно вырисовывается неоднозначная роль белка p53 в формировании нелинейности зависимости доза-эффекта и изменении частоты и типов микроядер.

С целью обоснования типов применяемых в проведенном исследовании биомаркеров, и интерпретации полученных результатов, выше представлено обсуждение части патогенетических механизмов, минимально-достаточных с позиции Критериев Остина Брэдфорда Хилла (HILL'S CRITERIA OF CAUSATION) для установления причинной ассоциации между этиологическим фактором и болезнью [19].

Анализ результатов исследования общей антирадикальной активности плазмы крови пациентов выявил, что показатель общей антирадикальной активности плазмы крови лиц, проживающих в селе Перевиса (средняя степень загрязнения) значительно превышает среднее значение этого показателя у жителей Хрейти (село удаленное от источника экологического загрязнения), что может быть обусловлено адаптационной мобилизацией системы антирадикальной защиты организма в условиях умеренного экологического загрязнения (рис. 3).

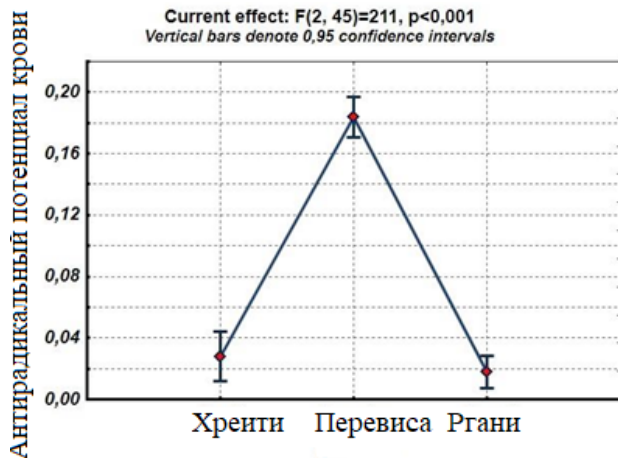


Рис. 3. Средние значения и 95% доверительный интервал уровня общей антирадикальной активности плазмы крови у лиц обследуемой популяции сел Хрейти, Перевиса и Ргани

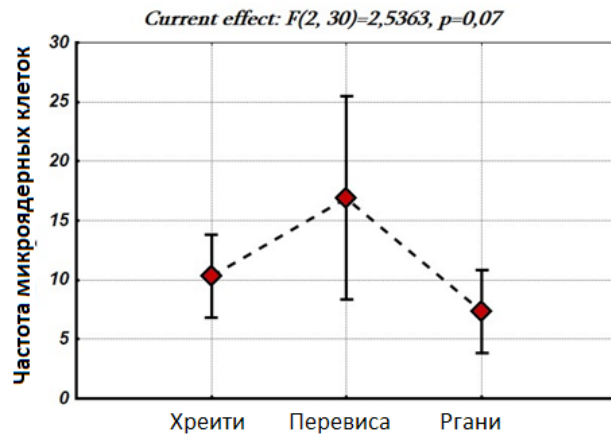
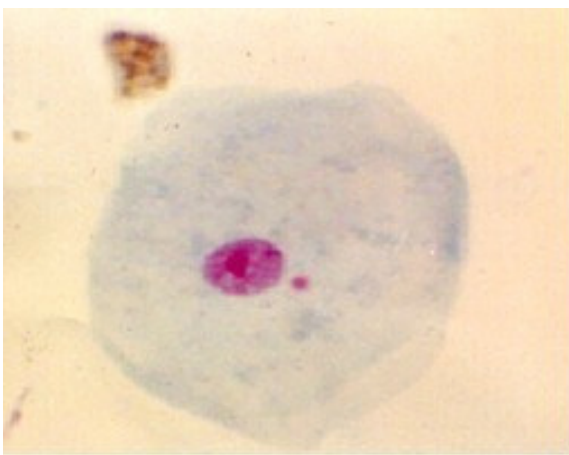
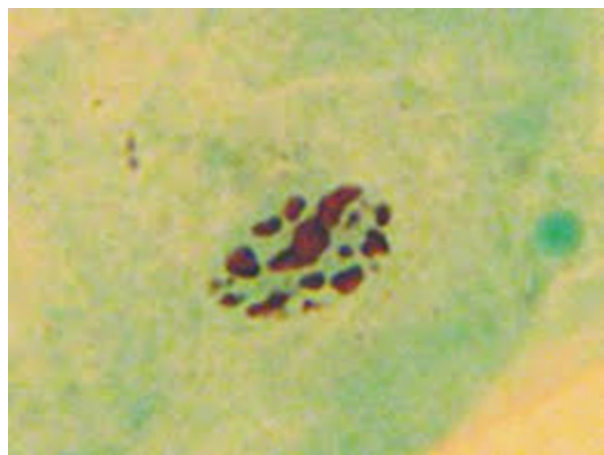


Рис. 4. Средние значения и 95% доверительный интервал частоты микроядерных клеток у обследуемой популяции сел Хрейти, Перевиса и Ргани



А



Б

Рис. 5. Клетки слизистой оболочки полости рта: микроядра (А), поврежденные ядра (Б)

Интерес представляет выявленное в ходе исследования резкое снижение уровня общей антирадикальной активности плазмы крови у жителей села Ргани, характеризующегося самым высоким уровнем загрязнения (находится в непосредственной близости к действующему карьеру). Это обстоятельство может быть обусловлено подавлением общей антирадикальной активности плазмы крови в условиях интенсивного окислительного стресса, инициированного как избытком поллютантов в окружающей среде, так и провоспалительными факторами, активированными в процессе развития системного воспалительного процесса в организме.

При исследовании микроядер выявлено сравнительное увеличение частоты микроядерных буккальных клеток в зоне умеренного экологического напряжения (село Перевиса) в сравнении с зоной низкого экологического напряжения (село Хрейти) (рис. 4, 5А). Обращает внимание уменьшение количества микроядер у жителей наиболее загрязненного села Ргани, при этом отмечается наличие различных типов повреждений ядра - ядра с насечками, конденсацией хроматина, кариолизис и непосредственно апоптозные тела (рис. 5Б), что характерно для интенсивного апоптоза. Следует отметить, что значение показателя  $p$  превышает 5% уровень достоверного различия, следовательно, на данном этапе можно судить лишь о тенденциях выявленных закономерностей.

**Заключение.** На основании анализа литературных данных и результатов проведенных исследований предлагается гипотетическая патогенетическая модель причинно-следственной зависимости рисков развития респираторных и циркуляторных заболеваний от уровня загрязнения атмосферы, создающая теоретический базис интерпретации эпидемиологических данных на основе исследованных биомаркеров. Согласно нашей гипотезе, при хронических воспалительных процессах в условиях умеренного загрязнения атмосферы у жителей сел Хрейти и Перевиса высвобождающиеся в респираторном тракте и попадающие в системную циркуляцию свободные радикалы кислорода и другие медиаторы воспаления, хотя и способствуют мобилизации защитных антирадикальных и репликационных механизмов в организме, направленных на сохранение стабильности генома соматических клеток, в тоже время выступают в роли медиаторов вторичной альтерации и развития воспалительного процесса уже в циркуляторном русле, следствием чего является повышение риска развития АГ на фоне высокого риска ХНЗЛ. Высокий уровень загрязнения окружающей среды (село Ргани) способствует развитию перманентного интенсивного окислительного стресса в пораженных тканях респираторного тракта, который способствует развитию преимущественно нерепарабельных изменений в геноме клеток, активации механизмов апоптоза



и интенсификации вторичного окислительного стресса, который в условиях истощения ресурсов антирадикальной защиты, обуславливает преимущественное поражение микроокружения апоптозных клеток, развитие фиброзов и других локальных эффектов, что вероятнее всего и отражается в резком увеличении риска развития ХНЗЛ в селе Ргани.

Предложенная патогенетическая модель причинно-следственной зависимости между рисками развития респираторных и циркуляторных заболеваний и уровнем загрязнения воздушной среды, где ведущая роль отводится окислительному стрессу, статусу системных и клеточных механизмов антирадикальной защиты и механизмам геномной стабильности организма, требует дальнейшего уточнения и перепроверки, но в тоже время обладает широкими возможностями дальнейшего развития.

## ЛИТЕРАТУРА

1. მანგანუმის სამთო-საწარმოებთან დაკავშირებული მეტალებით დაბინძურების ეკოლოგიური და ადამიანის ჯანმრთელობის რისკის შეფასება ჭიათურაში, მ. მირცხულავა, მ. უირმანი, თბ.: 2011.
2. ჭიათურის მუნიციპალიტეტში სასარგებლო წიაღისეულის მოპოვებასთან დაკავშირებული სოციალურ-ეკონომიკური და გეოეკოლოგიური პრობლემების ანალიზი, კაკასისის გარემოსდაცვითი არასამთავრობო ორგანიზაციების ქსელი (CENN). თბ.: 2015.
3. Bing Xu, et al, Oxidative stress preferentially induces a subtype of micronuclei and mediates the genomic instability caused by p53 dysfunction, *Mutat Res.* 2014 December 1; 770: 1–8.
4. Bonassi S, Ugolini D, Kirsch-Volders M, Stromberg U, Vermeulen R, Tucker JD. Human population studies with cytogenetic biomarkers: review of the literature and future perspectives. *Environmental and molecular mutagenesis.* 2005; 45:258–270. 23.
5. Buleishvili M, Lobjanidze N, Ormotsadze G, Enukidze M, Machavariani M. Estrogen related mechanisms of hypertension in menopausal women. *Georgian medical news,* 2016, 255, 45-51
6. Calvey V.L, Khan MA, Yeung I.W., Vandyk J., Hill R.P. Partial volume rat lung irradiation: temporal fluctuations of in-field and out-of-field DNA damage and inflammatory cytokines following irradiation // *Int. J. Radiat. Biol.* - 2005. – 81(12): 887-899.
7. Chrczcanowicz J., Gawron A., Zwolinska A., et al. Simple method for determining human serum 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity possible application in clinical studies on dietary antioxidants. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.* 2008; 46(3):342–349.
8. Chen W, Thomas J, Sadatsafavi M, Fitz Gerald JM. Risk of cardiovascular comorbidity in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Respir Med.* 2015; 3(8):631-9.
9. Douglas P, Bakolis I, Fecht D, Pearson C, Leal Sanchez M, Kinnersley R, de Hoogh K, Hansell AL. Respiratory hospital admission risk near large composting facilities. *Int J Hyg Environ Health.* 2016; 219(4-5):372-9.
10. de Lucas-Ramos P, Izquierdo-Alonso JL, Rodriguez-Gonzalez Moro JM, Frances JF, Lozano PV, Bellón-Cano JM. CONSISTE study group. Chronic obstructive pulmonary disease as a cardiovascular risk factor. Results of a case-control study (CONSISTE study). *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2012;7:679-86.
11. Donald SP, Sun XY, Hu CA, Yu J, Mei JM, Valle D, Phang JM. Proline oxidase, encoded by p53-induced gene-6, catalyzes the generation of proline-dependent reactive oxygen species. *Cancer Res.* 2001;61:1810–1815.
12. El-Zein R.A., Etzel CJ, Munden RF. The cytokinesis-blocked micronucleus assay as a novel biomarker for selection of lung cancer screening participants. // *Transl Lung Cancer Res.* 2018; 7(3):336-346.
13. Engström G, Melander O, Hedblad B. Population-based study of lung function and incidence of heart failure hospitalisations. *Thorax.* 2010; 65(7):633-8.
14. GLOBAL STRATEGY FOR THE DIAGNOSIS, MANAGEMENT, AND PREVENTION OF CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE, Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). (2018).
15. Gvilava I, Chkhikvishvili I, Sanikidze T, Giorgobiani M, Kipiani VN, Ormotsadze G. Study of total antioxidant status of the organism as a possible biomarker of dose and effect of radiation exposure. *Georgian Med News* 2018; 278:177-183.
16. Hansell AL, Walk JA, Soriano JB. What do chronic obstructive pulmonary disease patients die from? A multiple cause coding analysis. *Eur Respir J.* 2003;22(5):809–814.
17. Heddle JA, Cimino MC, Hayashi M, Romagna F, Shelby MD, Tucker JD, Vanparys P, MacGregor JT. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present, and future. *Environmental and molecular mutagenesis.* 1991; 18:277–291.
18. Helton, E.S., Chen, X. p53 modulation of the DNA damage response. (2007) *J. Cell Biochem.* 100; 883–896.
19. Hill AB. The Environment and Disease: Association or Causation?. *Proceedings of the Royal Society of Medicine.* 1965; 58(5): 295–300.
20. Izquierdo JL, Martinez A, Guzman E, de Lucas P, Rodriguez JM. Lack of association of ischemic heart disease with COPD when taking into account classical cardiovascular risk factors. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2010;5:387–394
21. Jessica Flöter I, Irem Kaymak I, Almut Schulzeo Regulation of Metabolic Activity by p53 Metabolites 2017; 7: 21.
22. Jiang L, Sheikh MS, Huang Y. Decision Making by p53: life versus death. *Mol Cell Pharmacol.* 2010; 2(2):69-77.
23. Kaitlyn Beyfuss, David A. Hood. A systematic review of p53 regulation of oxidative stress in skeletal muscle. *Communications in Free Radical Research.* Volume 23, 2018.
24. Kvarackhelvia G, Kverenchkhiladze R, Buleishvili M, Sharashenidze G, Sanikidze T, Ormotsadze G. Screening Level Environmental Health Risk Assessment By Health Data In Some Small Areas Of Upper Imereti (Chiatura District)]. *Georgian Medical News.* 2017;9(270):145-152.
25. Lahiri T., Roy S., Basu C., Ganguly S., Ray M.R., Lahiri P. Air pollution in Calcutta elicits adverse pulmonary reaction in children // *Indian J. Med. Res.* - 2000. - V. 112. - P. 21 - 26.34.
26. Liu B, Chen Y, StClair DK. ROS and p53: a versatile partnership. *Free radical biology & medicine.* 2008; 44:1529–1535.
27. Liu D, Xu Y. p53, oxidative stress, and aging. *Antioxidants&redoxsignaling.* 2011; 15:1669–1678.
28. Mannino DM, Doherty DE, Buist AS. Global Initiative on Obstructive Lung Disease (GOLD) classification of lung disease and mortality: findings from the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Respir Med.* 2006;100(1):115–122.
29. Norppa H, Falck GC. What do human micronuclei contain? *Mutagenesis.* 2003; 18:221–233.

30. Parkosadze G., Burkadze G., Mizandari M., Sulakvelidze M., Sanikidze T. role of proapoptotic p-53 factor in pathogenesis of nonalcoholic hepatosteatosis Georgian Medical News 2013;2(215): 55-60.
31. Ratiani L, M Khorava, M Dgebuadze, N Zhvania, T Sanikidze The role of estrogens in pathogenesis of age-related arterial hypertension. Georgian medical news 2012; 208-209: 71-76.
32. Rukhadze LSh, Gognashvili LE, Sanikidze TV, Gudzhabidze RG, Katsitadze AG. Role of morpho-functional changes of blood lymphocytes in pathogenesis of psoriasis and the possibilities for their correction. Georgian Med News 2005; 12(129):47-51.
33. Sin DD, Man SF. Chronic obstructive pulmonary disease: a novel risk factor for cardiovascular disease. Can J Physiol Pharmacol. 2005; 83(1):8-13.
34. Sin DD, Wu L, Man SF. The relationship between reduced lung function and cardiovascular mortality: a population-based study and a systematic review of the literature. Chest. 2005; 127(6):1952-9.
35. Söderholm M, Zia E, Hedblad B, Engström G. Lung function as a risk factor for subarachnoid hemorrhage: a prospective cohort study. Stroke 2012; 43(10):2598-603.
36. Stich HF, Stich W, Parida BB. Elevated of micronucleated cells in the buccal mucosis. Cancer Lett. 1982;17(2): 125-134.
37. Urquiaga I, Ávila F, Echeverria G, Perez D, Trejo S, Leighton F. A Chilean Berry Concentrate Protects against Postprandial Oxidative Stress and Increases Plasma Antioxidant Activity in Healthy Humans. Oxid Med Cell Longev 2017; 2017: 8361493.
38. Зедгинидзе А., Антелава М., Гагошидзе М. Влияние загрязнённой мышьяком среды на генетический аппарат детей и подростков. Georgian Medical News 2004; 12 (117): 59-62.

## SUMMARY

### THE STRUCTURE AND RISK OF CHRONIC MORBIDITY IN SOME VILLAGES OF THE UPPER IMERETI REGION OF WEST GEORGIA AND THEIR MOLECULAR AND CYTOGENETIC MARKERS

<sup>1</sup>Kvaratskhelia G., <sup>4</sup>Tikaradze E., <sup>2</sup>Buleishvili M., <sup>2</sup>Sharashenidze G., <sup>2</sup>Ormotsadze G., <sup>2</sup>Sanikidze T.

<sup>1</sup>David the Builder University of Georgian; <sup>2</sup>Tbilisi State Medical University; <sup>3</sup>Beritashvili Center of Experimental Biomedicine; <sup>4</sup>Sachkhere District Hospital, Georgia

The purpose of our study was to identify the nature of the cause-effect relationship between the risks of developing of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) and Cardiovascular Disease (CVD) in patients residing in the villages of Chiatura district, characterized by varying degrees of environmental stress.

The residents (n=400) of the Chiatura district living in the villages, Khreiti, Perevisa and Rgani were examined. The villages are characterized by different degrees of ecological tension (the villages differ both in their remoteness from sources of environmental pollution - manganese mining quarries and the scale of its extraction, which allows them to rank according to the degree of environmental tension: Khreiti - low, Perevis - medium, Rgani - high). In the patients the blood general redox balance and genetic parameters (the number of micronuclei in the scrapings of the oral mucosa) were studied.

In the zone of moderate environmental stress (the village of Perevisa), a significant increase in the indicator of the total anti-

radical activity of blood plasma and an increase in the frequency of micronucleated buccal cells were revealed in comparison with the zone of low environmental stress (the village of Khreiti). In residents of the village of Rgani, characterized by the highest level of pollution, the indicator of the total antiradical activity of blood plasma decreases sharply, the number of micronuclei decreases, the presence of various types of damage to the nucleus is noted, which is characteristic of intensive apoptosis.

Under the conditions of moderate air pollution, observed mobilization of protective anti-radical and replication mechanisms in the body are aimed at preserving the stability of the somatic cell genome. Identified oxidative stress can also act as mediators of secondary alteration and the development of the inflammatory process in the circulatory bed, resulting in an increased risk of arterial hypertension (AH) against the background of a relatively high risk of chronic nonspecific obstructive pulmonary diseases (COPD). High level of environmental pollution contributes to the development of permanent intense oxidative stress in the affected tissues of the respiratory tract. That contributes to the development of predominantly nonreparable changes in the cell genome, apoptosis and intensification of secondary oxidative stress, which, under conditions of depletion of antiradical protection, causes preferential defeat of the microenvironment of apoptotic cells, the development of local effects, reflected in a sharp increase in the risk of COPD.

**Keywords:** risk of chronic morbidity, environmental pollution, oxidative stress, genomic instability.

## РЕЗЮМЕ

### СТРУКТУРА И РИСК РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В СЕЛАХ ВЕРХНЕЙ ИМЕРЕТИ (ЗАПАДНАЯ ГРУЗИЯ) И ИХ РЕДОКС- И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ

<sup>1</sup>Кварацхелия Г.Дж., <sup>4</sup>Тикарадзе Э.Т., <sup>2</sup>Булеишвили М.Л., <sup>2</sup>Шарашенидзе Г.З., <sup>3</sup>Ормоцадзе Г.Л., <sup>2</sup>Саникидзе Т.В.

<sup>1</sup>Грузинский университет Давида Строителя; <sup>2</sup>Тбилисский государственный медицинский университет; <sup>3</sup>Центр экспериментальной биомедицины им. И. Бериташвили; <sup>4</sup>Районная больница, Сачхере, Грузия

Целью исследования явилось определение характера причинно-следственной зависимости между рисками развития хронических неспецифических заболеваний легких и сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов, проживающих в селах Чиатурского района, характеризующихся различной степенью экологической напряженности.

Обследованы 400 жителей Чиатурского района, проживающие в селах Хрейти, Перевиса и Ргани. Села отличаются как своей удаленностью от источников экологического загрязнения – карьеров добычи марганца, так и масштабами его добычи, что позволяет ранжировать их по степени экологической напряженности: Хрейти – низкая, Перевиса – средняя, Ргани – высокая. У жителей изучался общий редокс-баланс крови и проводились генетические исследования – определялось количество микроядер в соскобах слизистой ротовой полости.

В зоне умеренного экологического напряжения (село Перевиса) выявлено значительное увеличение показателя общей антирадикальной активности плазмы крови

и увеличение частоты микроядерных буккальных клеток в сравнении с зоной низкого экологического напряжения (село Хрейти). У жителей села Ргани с самым высоким уровнем загрязнения, показатель общей антирадикальной активности плазмы крови резко снижается, уменьшается количество микроядер, отмечается наличие различных типов поврежденных ядра, что характерно для интенсивного апоптоза.

В условиях умеренного загрязнения атмосферы наблюдается мобилизация защитных антирадикальных и репликационных механизмов в организме, направленных на сохранение стабильности генома соматических клеток; выявленный окислительный стресс выступает в роли медиатора вторичной альтерации и развития воспалительного процесса в циркуляторном русле, следствием чего является повышение риска артериальной гипертензии (АГ) на фоне относительно высокого риска хронических неспецифических заболеваний легких (ХНЗЛ). Высокий уровень загрязнения окружающей среды способствует развитию перманентного интенсивного окислительного стресса в пораженных тканях респираторного тракта, что способствует развитию нерепарабельных изменений в геноме клеток, активации механизмов апоптоза и интенсификации вторичного окислительного стресса, который в условиях истощения ресурсов антирадикальной защиты обуславливает поражение микроокружения апоптотических клеток, развитие локальных эффектов, что, по всей вероятности, отражается в резком увеличении риска развития ХНЗЛ.

#### რეზიუმე

ქრონიკული დაავადებების სტრუქტურა და რისკი საქართველოს ზემო იმერეთის სოფლებში (დასავლეთ საქართველო) და მათი რედოქს-დამოკიდებული და ციტოგენეტიკური მარკერები

<sup>1</sup>გ. კვარაცხელია, <sup>4</sup>ე. ტიკარაძე, <sup>2</sup>მ. ბულეიშვილი, <sup>3</sup>გ. შარაშენიძე, <sup>3</sup>გ. ორმოცაძე, <sup>2</sup>თ. სანიკიძე

<sup>1</sup>საქართველოს დავით აღმაშენებლის უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>3</sup>ბ. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრი; <sup>4</sup>საჩხერის რაიონული საავადმყოფო, საქართველო

კვლევის მიზანს შეადგენდა ფილტვების ქრონიკული არასპეციფიკური დაავადებების და კარდიოვასკულური დაავადებების განვითარების რისკებს შორის

მიზეზშედევობრივი კავშირების დადგენა ჭიათურის მუნიციპალიტეტის სხვადასხვა ხარისხის ეკოლოგიური დაბინძურებით სოფლებში მცხოვრებ პაციენტებში.

ჭიათურის მუნიციპალიტეტის სოფლები ხრეთი, პერევისა და რგანი განსხვავდებიან ბუნებრივი დაბინძურების წყაროსთან (მანგანუმის საბადო) დაშორებით. ამ თვალსაზრისით განხორციელდა აღნიშნული სოფლების დაყოფა გარემოს დაბინძურების ხარისხით: ხრეთი - დაბალი, პერევისა - საშუალო, რგანი - მაღალი. სოფლების მოსახლეობაში (n=400) შესწავლილია სისხლის საერთო ანტირადიკალური აქტივობა და გენეტიკური მარკერები (მიკრობირთვების რაოდენობა პირის ღრუს ლორწოვანი გარსის ეპითელიუმზე).

ზომიერი დაბინძურების ზონაში (სოფელი პერევისა) მცხოვრები მოსახლეობის სისხლის პლაზმის საერთო ანტირადიკალური აქტივობა და მიკრობირთვების სისშირე მნიშვნელოვნად იზრდებოდა დაბალი დაბინძურების ზონაში (სოფ. ხრეთი) მაცხოვრებლების ანალოგიურ მანქანებლებთან შედარებით. სოფელ რგანის მკვიდრებში (დაბინძურების ყველაზე მაღალი დონე) სისხლის პლაზმის საერთო ანტირადიკალური აქტივობის მანქანებელი და მიკრობირთვების რაოდენობა მკვეთრად მცირდება, ბირთვებში გამოვლინდა სხვადასხვა დაზიანებები, რაც დამახასიათებელია აპოპტოზისათვის.

გარემოს ზომიერი დაბინძურების პირობებში ადგილი აქვს ანტირადიკალური და რეპარაციული მექანიზმების მობილიზაციას, რაც განაპირობებს სომატური უჯრედების გენეტიკური სტაბილობის შენარჩუნებას. ოქსიდაციური სტრესი, როგორც ანთებითი პროცესის მედიატორი, ქრონიკული არასპეციფიკური ფილტვის დაავადებების შედარებით მაღალი გავრცელების ფონზე ხელს უწყობს არტერიული ჰიპერტენზიის განვითარების რისკის ზრდას.

გარემოს ჭარბი დაბინძურების პირობებში რესპირაციული ტრაქტის ქსოვილებში პერმანენტული ინტენსიური ოქსიდაციური სტრესის განვითარება ინიცირებს რესპირაციული ტრაქტის უჯრედულ გენომში არარეპარაბელური ცვლილებებს, აპოპტოზის მექანიზმების აქტივაციას და მეორეული ოქსიდაციური სტრესის ინტენსიფიკაციას. ეს კი ანტირადიკალური დაცვის რესურსების გამოლევის პირობებში უჯრედების დაზიანებას, ფიბროზის და სხვა ლოკალური ეფექტების განვითარებას უწყობს ხელს, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს ფილტვების ქრონიკული არასპეციფიკური დაავადებების განვითარების რისკის ზრდა.

## АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ С ВРЕМЕННОЙ УТРАТОЙ ТРУДОСПОСОБНОСТИ СРЕДИ РАБОТНИКОВ ХРИЗОТИЛОВОГО ПРОИЗВОДСТВА ПО ОБОГАЩЕНИЮ РУДНОГО МАТЕРИАЛА

<sup>1</sup>Ибраев С.А., <sup>2</sup>Алекберов М.М., <sup>1</sup>Жарылкасын Ж.Ж., <sup>3</sup>Отаров Е.Ж., <sup>1</sup>Тилемисов М.К.

<sup>1</sup>Карагандинский государственный медицинский университет, Научно-исследовательская санитарно-гигиеническая лаборатория, Казахстан; <sup>2</sup>Азербайджанский медицинский университет, кафедра общественного здоровья и организации здравоохранения, Баку, Азербайджан; <sup>3</sup>Республиканский научно-исследовательский институт по охране труда Министерства труда и социальной защиты населения Республики Казахстан, Караганда, Казахстан

Техническое усовершенствование и интенсификация производственных процессов во многих отраслях промышленности часто опережают уровень и темпы разработки и внедрения средств улучшения условий труда и повышают риск возникновения как общих, так и профессиональных заболеваний [11]. По мнению авторов, автоматизация управления сложными процессами и системами не освобождает человека полностью, а ставит его в новые условия, т.е. не обеспечивает оптимальных условий труда и не приводит к снижению уровня здоровья работающих [5].

По данным ряда исследователей [2,4,6-8,10], временную утрату трудоспособности (ВУТ) возможно снизить на промышленных предприятиях за счет предупреждения простудных заболеваний, которые составляют 30-35% всех случаев нетрудоспособности и повышения эффективности динамического наблюдения за диспансерными больными, инвалидами, часто и длительно болеющими, так как на эту группу приходится 35-55% всех дней нетрудоспособности.

Известно, что 40-50% населения подвергается воздействию различных вредных факторов в процессе трудовой деятельности. Несмотря на то, что профессиональные заболевания встречаются реже, чем другие основные болезни, их социальное значение велико, так как они поражают значительное число лиц трудоспособного возраста, нередко протекают тяжело и являются причиной потери трудоспособности.

Целью исследования явилось изучение заболеваемости с временной утратой трудоспособности работающих на хризотилевоом производстве АО «Костанайские минералы» по обогащению рудного материала.

**Материал и методы.** Сформированы производственно-профессиональные группы, которые подверглись воздействию производственных факторов обогатительного комплекса (ОК) цеха рудоподготовки различной интенсивности. При этом использовались данные учета работников из отдела кадров, листов ВУТ и результаты ранее проведенных гигиенических исследований по изучению условий труда работников ОК. Кроме сведений о профессии, учитывали пол, стаж работы по данной специальности. При

выборе и формировании групп исследования, в которых изучалась и сравнивалась заболеваемость, обеспечивали их сходство по всем основным признакам (возраст, пол, стаж работы) и различие согласно комплексу производственно-профессиональных факторов. Сформированы две группы исследования.

Первую (контрольную) группу составили работники управления комбината и инженерно-технические работники (ИТР) вспомогательных цехов (n=299). Условия труда ИТР оценивались как более благоприятные, так как ИТР в контакте с вредными производственными факторами находятся непродолжительное время и интенсивность факторов незначительная.

Вторую (основную) группу составили рабочие цехов рудоподготовки и обогащения (n=917). Характерной особенностью условий труда рабочих данной группы является присутствие интенсивного шума (на 10 дБА выше предельно допустимого уровня), запыленности воздуха хризотил-асбестосодержащей пылью и хризотил-асбестовыми волокнами (до 3 раз выше предельно допустимой концентрации), недостаточная производственная освещенность, перепады микроклимата, тяжесть и напряженность трудового процесса при различных производственных процессах по переработке хризотил-асбестовых руд в динамике рабочего времени.

Распределение работников изучаемых подразделений АО «Костанайские минералы» за 3 года с учетом пола представлено в таблице 1. В основной группе состав рабочих по половому признаку был примерно одинаков, а в контрольной группе преобладали женщины (1:2,8).

Средние значения состава работающих за три года (2015-2017 гг.) по возрасту и стажу приведены в таблице 2. Распределение рабочих с учетом стажа имели некоторые особенности: более половины работающих имели стаж работы до 9 лет (контроль – 53,5%, основная – 53,0%), со стажем 10-19 лет в контрольной группе было 20,0%, в основной – 26,1%, со стажем 20-29 лет – 18,3% и 13,3%, соответственно. Наименьшую часть обследованных в обеих группах составили лица со стажем более 30 лет (8,2% и 7,9%, соответственно).

Таблица 1. Гендерное распределение изучаемых групп работающих (круглогодные, в среднем за три года, в %)

Группы	Мужчины	Женщины
Контрольная	25,8	74,2
Основная	45,7	54,3

Таблица 2. Распределение по возрасту и стажу (круглогодные, в среднем за 3 года, в %)

Стаж	Контрольная	Основная
До 9 лет	53,5	53,0
10-19 лет	20,0	26,1
20-29 лет	18,3	13,3
30 и более	8,2	7,9

**Результаты и их обсуждение.** Основную часть работников АО «Костанайские минералы» составляют лица со стажем до 19 лет работы в условиях воздействия хризотил-асбестосодержащей пыли.

Стандартизация показателей заболеваемости с ВУТ по возрастным и половым различиям существенных изменений не выявила.

Проведенный анализ заболеваемости с ВУТ в изучаемых группах в зависимости от пола выявил, что мужчины основной группы имеют большие показатели заболеваемости как по числу болевших лиц (21,2±2,2), так и по случаям (39,2±6,0) и дням нетрудоспособности (514,1) на 100 круглогодичных рабочих, чем у мужчин контрольной группы – 9,1±0,2 число болевших лиц, 14,7±0,7 случаев и 203,1 дней нетрудоспособности на 100 круглогодичных рабочих (таблица 3). Показатели заболеваемости женщин контрольной группы как по числу болевших лиц (20,3±1,9), так и по случаям (31,3±1,9) и дням нетрудоспособности (474,1) несколько выше, чем у женщин основной группы (число болевших лиц - 16,7±0,7, случаев - 30,0±2,6 и 449,2 дней на 100 круглогодичных). Как следует из таблицы 3, показатели заболеваемости у мужчин основной группы выше, чем у женщин этой группы, хотя имеющиеся различия в показателях заболеваемости с ВУТ среди мужчин и женщин основной группы незначительные, что, по всей вероятности, объясняется более тяжелым и напряженным трудом лиц мужского пола и сказывается на показателях заболеваемости.

В контрольной группе, наоборот, у женщин показатели заболеваемости как по болевшим лицам, так и в случаях и днях нетрудоспособности превышают таковые у мужчин.

Анализ заболеваемости с ВУТ рабочих цеха обогащения и рудоподготовки с учетом стажа выявил снижение заболеваемости в основной и контрольных группах с увеличением стажа работы в контакте с хризотил-асбестовой пылью (таблица 4).

Наибольшие показатели заболеваемости выявлены у малостажированных рабочих (до 9 лет), которые составили в контрольной группе 24,4±1,3 случая, 368,1 дней нетрудоспособности и в основной группе - 35,1±1,6 случая, 437,2

дней на 100 круглогодичных рабочих, что следует объяснить недостаточными защитно-приспособительными резервами организма у рабочих со стажем до 5 лет в сравнении с более стажированными лицами, у которых сформированы адаптационные механизмы на воздействие производственных вредностей, что находит свое отражение в следующих показателях: у лиц со стажем 20-29 лет контрольной группы (8,9±1,8 случая и 124,4 дней нетрудоспособности) в сравнении с лицами со стажем до 9 лет (24,4±1,3 случая, 368,1 дней нетрудоспособности) показатели ниже на 2,6 и 2,9 раза, соответственно. Аналогичная картина наблюдается в основной группе: 8,9±2,3 случая, 160,0 дней нетрудоспособности у лиц со стажем 20-29 лет, а у лиц со стажем до 9 лет – 35,1±1,6 случая, 437,2 дней нетрудоспособности на 100 круглогодичных рабочих.

Обнаруженные достоверные различия между показателями заболеваемости в основной и контрольной группах у лиц со стажем 30 и более лет указывают на достаточно длительное воздействие вредных производственных факторов, при котором происходит истощение адаптационно-приспособительных возможностей организма, способствующее развитию заболеваний.

Основные показатели заболеваемости с ВУТ в зависимости от профессии (таблица 5) показали, что уровень заболеваемости рабочих основной группы выше (69,2±8,4 случая, 1127,3 дня на 100 круглогодичных рабочих) в сравнении с данными контрольной группы (46,0±2,6 случая, 677,3 дней на 100 круглогодичных рабочих).

При этом обнаруживается статистически достоверная разница в показателях уровня заболеваемости рабочих основной группы и контрольной группы по случаям и дням нетрудоспособности, где видно, что в основной группе случаи и дни выше в 1,5 и 1,7 раза уровня сравниваемых показателей контрольной группы. Число болевших лиц также в 1,3 раза больше в основной группе, нежели в контрольной, однако разница недостоверна. Вышеизложенное указывает на значимость производственных факторов хризотил-асбестового производства в формировании заболеваемости с ВУТ у работников ОК.

Таблица 3. Заболеваемость с ВУТ в зависимости от пола (на 100 круглогодичных рабочих)

Пол	Контрольная						Основная					
	Больные	ранг	случаи	ранг	дни	ранг	Больные	ранг	случаи	ранг	дни	ранг
Мужчины	9,1±0,2	2	14,7±0,7	2	203,1	2	21,2±2,2	1	39,2±6,0	1	514,1	1
Женщины	20,3±1,9	1	31,3±1,9	1	474,1	1	16,7±0,7	2	30,0±2,6	2	449,2	2

Таблица 4. Заболеваемость с ВУТ в зависимости от стажа (на 100 круглогодичных рабочих)

Стаж. группы	контрольная						основная					
	Больные	ранг	случаи	ранг	дни	ранг	Больные	ранг	случаи	ранг	дни	ранг
до 9 л	15,0±1,6	1	24,4±1,3	1	368,1	1	19,1±1,0	1	35,1±1,6	1	437,2	1
10-19 л	6,6±0,5	2	10,0±1,8	2	151,5	2	9,8±1,1	2	16,8±2,9	2	279,3	2
20-29 л	5,7±0,7	3	8,9±1,8	3	124,4	3	5,2±1,2	3	8,9±2,3	3	160,0	3
30 и бол.	2,0±0,8	4	2,7±1,1	4	46,6	4	3,3±0,7	4	5,3±0,9*	4	81,5*	4

примечание: \* -  $p < 0,05$ , достоверность различий по сравнению с контролем

Таблица 5. Заболеваемость с ВУТ в зависимости от профессии (на 100 круглогодочных рабочих)

Профессиональные группы	Больные	ранг	случаи	ранг	дни	ранг
Контрольная группа	28,9±2,4	2	46,0±2,6	2	677,3	2
Основная группа	39,0±4,4	1	69,2±8,4*	1	1127,3 *	1

примечание: \* -  $p < 0,05$ , достоверность различий по сравнению с контролем

Таблица 6. Заболеваемость с ВУТ в зависимости от класса болезней (на 100 круглогодочных рабочих)

Классы болезней	Контрольная группа						Основная группа					
	Больные	ранг	случаи	ранг	Дни	ранг	Больные	ранг	случаи	ранг	дни	ранг
Инфекции	0,8±0,001	8	0,9±0,00	8	8,9	11	1,2±0,001	9	2,9±0,09*	6	59,4*	5
Новообразования	0,0		0,0		0,0		0,6±0,001*	12	1,6±0,04*	10	38,0*	7
Болезни крови	0,1±0,00	11	0,2±0,00	12	2,4	12	1,0±0,01	10	1,1±0,01	12	16,0*	12
Б.эндокр. системы	0,0		0,0		0,0		0,5±0,001*	13	0,7±0,02*	13	13,1*	13
Псих.растройства	0,3±0,00	9	0,6±0,001	10	15,6	8	0,3±0,00	14	0,3±0,02	15	4,9	16
Б.нервной системы	0,0		0,0		0,0		0,2±0,00	15	0,3±0,01	15	5,3	15
Б.глаза	0,3±0,00	9	0,5±0,001	11	10,4	9	0,8±0,001*	11	1,3±0,01*	11	18,6*	11
Б.уха и соц.отр.	0,2±0,00	10	0,2±0,00	12	1,1	13	0,3±0,00	14	0,5±0,01	14	9,4	14
Б. ССС	2,2±0,001	5	3,1±0,001	5	51,7	5	4,6±0,01*	4	6,0±0,1	4	85,3	4
Б. орг. дыхания	11,4±0,1	1	12,3±0,04	1	144,5	1	18,7±0,2	1	22,3±0,4*	1	206,7	1
Б. ЖКТ	1,9±0,00	7	2,3±0,002	7	28,2	7	2,2±0,02	7	2,8±0,01	7	37,1	8
Б. кожи	0,8±0,00	8	0,8±0,00	9	10,0	10	2,3±0,001*	6	2,7±0,04*	8	36,4*	9
Б. костно-мыш.сист.	4,9±0,04	3	6,0±0,05	3	76,4	4	8,1±0,03*	3	8,8±0,1*	3	168*	3
Б. мочепол.сист.	2,0±0,001	6	2,5±0,002	6	45,3	6	2,7±0,003	5	3,2±0,05	5	43,7	6
Травмы	6,5±0,02	2	8,8±0,02	2	140,3	2	8,3±0,01	2	11,0±0,2	2	191,2	2
Прочие	4,5±0,11	4	5,6±0,09	4	87,7	3	1,6±0,02*	8	1,8±0,01*	9	30,5*	10

примечание: \* -  $p < 0,05$  – достоверность различий по сравнению с контролем

Исходя из вышеизложенного, согласно шкале оценки заболеваемости с временной утратой трудоспособности [3], показатели заболеваемости работников ОК, цеха рудоподготовки в основной группе можно оценивать по случаям – как ниже среднего, по дням нетрудоспособности – как выше среднего, а аналогичные показатели заболеваемости в контрольной группе по случаям оценивать как очень низкие, по дням нетрудоспособности – как ниже среднего.

В результате анализа заболеваемости по классам болезни (таблица 6) установлено, что в сравниваемых группах первое место занимают заболевания органов дыхания, при этом в основной группе они составили 22,3±0,4 случая, 206,7 дней нетрудоспособности на 100 круглогодочных рабочих, 12,3±0,04 случая и 144,5 дней нетрудоспособности на 100 круглогодочных рабочих в контрольной группе. Первализация заболеваний органов дыхания подтверждается исследованиями авторов и в других отраслях промышленности Республик и стран СНГ [1,9]. В основной группе второе место занимают болезни костно-мышечной системы (8,8±0,1 случаев, 168,0 дней), в контрольной группе – класс болезней «травмы и отравления» (8,8±0,02 случая, 140,3 дня), причем основную долю этой категории составляют случаи бытовых травм (95,2%). Третье место в структуре заболеваемости по классам болезней в основной группе занимает класс болезней «травмы и отравления», а в контрольной группе – болезни костно-мышечной системы.

Следует отметить, что в основной группе частота случаев болезней органов дыхания и костно-мышечной системы достигает статистически достоверных величин в сравнении с

контрольной группой; аналогичная картина наблюдается и в отношении болезней глаз и кожных покровов. В то же время, болезни класса «прочие» достоверно выше в контрольной группе, нежели в основной.

Таким образом, изучение заболеваемости с ВУТ работников ОК, цеха рудоподготовки АО «Костанайские минералы» выявило, что уровень заболеваемости с ВУТ рабочих ОК в сравнении с контрольной группой, т.е. работниками вспомогательных профессий является высоким и по шкале оценки уровня заболеваемости с ВУТ оценивается по числу случаев как ниже среднего, а по числу дней нетрудоспособности на 100 круглогодочных рабочих оценивается как выше среднего, в контрольной группе заболеваемость по числу случаев оценивается как очень низкая, по числу дней – ниже среднего. Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы:

- показатели заболеваемости с ВУТ среди мужчин основной группы выше таковых (число болевших лиц 21,2±2,2, 39,2±6,0 случаев и 514,1 дней нетрудоспособности на 100 круглогодочных рабочих), мужчин контрольной группы (9,1±0,2 болевших лиц, 14,7±0,7 случаев и 203,1 дней нетрудоспособности на 100 круглогодочных рабочих);

- заболеваемость с ВУТ в сравниваемых профессиональных группах снижается с увеличением стажа работы. Это, по всей вероятности, обусловлено тем, что организм у стажированных рабочих более устойчив за счет формирования защитно-приспособительных механизмов к действующим производственным вредностям. Выявленные достоверные

различия в показателях заболеваемости с ВУТ у лиц основной и контрольной групп со стажем 30 лет и более указывают на их принадлежность к группе риска;

- анализ заболеваемости по классам болезни в сравниваемых группах выявил, что первое место занимают заболевания органов дыхания. В основной группе второе место занимают болезни костно-мышечной системы, в контрольной группе – класс болезней «травмы и отравления», из них на долю бытовых травм приходится 95,2%. Третье место в основной группе занимает класс «травмы и отравления», в контрольной группе – болезни костно-мышечной системы.

**Заключение.** Исключение из производственной среды неблагоприятных факторов и, соответственно, полная ликвидация профессиональных рисков невозможна даже в тех производствах, где внедрены передовая технология процесса, современное оборудование, высокая культура производства, отличное медицинское обслуживание. Соответственно, важнейшими профилактическими мероприятиями по охране труда и профилактике профессиональных заболеваний являются исследования, направленные на установление взаимосвязи рода деятельности работников с рисками развития профессиональных заболеваний, что является необходимой мерой сохранения и укрепления здоровья работников путем разработки и внедрения научно обоснованных профилактических мероприятий.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аверин В.А., Поляков А.Д. Современные проблемы охраны здоровья рабочих горно-обогатительного производства // Санитарный врач 2013; 2: 21-22.
2. Вологодская И.А., Азизова Т.В., Фомин Е.П., Харитонов О.Е. Показатели здоровья работников, подлежащих наблюдению в системе промышленного здравоохранения, динамика показателей заболеваемости с временной утратой трудоспособности // Медицина экстремальных ситуаций. 2011; 2(36): 5-10.
3. Догле Н.В. Заболеваемость с временной утратой трудоспособности // Н.В. Догле, А.Я. Юркевич. - М.: Медицина; 1984: 183.
4. Здарова Е.Р., Черных О.А. Оценка заболеваемости работников горнорудного производства // В сборнике: Молодежь и научно-технический процесс. Международная научно-практическая конференция студентов, аспирантов и молодых ученых. 2015. 151-154.
5. Ибраев С.А., Отаров Е.Ж., Жарылкасын Ж.Ж. и др. Гигиенические аспекты допустимого стажа работы в условиях воздействия хризотил-асбестовой пыли // «Здоровье нации - XXI» Мат. межд. науч. конф. – Франция, Метц. - 2012. - 105-109.
6. Камалиев М.А., Шумбалов Н.М., Абенова АТ., Фурсенко И.А. Анализ заболеваемости с временной утратой трудоспособности работников феррохромового производства // Медицинский журнал Западного Казахстана 2008; 1(17).
7. Кучерин Н.А. Снижение временной нетрудоспособности на промышленных предприятиях // «Медицина», 1991, 256.
8. Кураш И.А., Рыбина Т.М., Кардаш О.Ф., Семенов И.П. Особенности заболеваемости с временной утратой трудоспособности работников, занятых в контакте с производственным вибродвижением фактором (на примере машиностроительных предприятий г. Минска) // Здоровье и окружающая среда 2015; 2(25): 32-37.
9. Сакебаева Л.Д., Сабырахметова В.М., Карашова Г.И. и соавт. Оценка показателей заболеваемости с временной утратой трудоспособности у рабочих основных цехов актюбинского завода хромовых соединений // Медицинский журнал Западного Казахстана 2016; 1(49): 75-81.
10. Соколова Л.А., Попова О.Н., Бузинов Р.В., Калинина М.М., Гудков А.Б. Гигиеническая оценка влияния условий труда на заболеваемость с временной утратой трудоспособности работников цеха сборки корпусов металлических судов машиностроительного предприятия // Экология человека 2016; 3: 18-23.
11. Laura Marica, Sabina Irimie, Virginia Baleanu Aspects of Occupational Morbidity in The Mining Sector // Procedia Economics and Finance 2015; 23: 146-151.

#### SUMMARY

#### ANALYSIS OF MORBIDITY WITH TEMPORARY DISABILITY OF WORKERS IN THE ORE BENEFICIATION ON CHRYSOTILE PRODUCTION

<sup>1</sup>Ibraev S., <sup>2</sup>Alekberov M., <sup>1</sup>Zharylkassyn Zh., <sup>3</sup>Otarov E., <sup>1</sup>Tilemisov M.

<sup>1</sup>Karaganda State Medical University, Scientific-research sanitary-hygienic laboratory, Kazakhstan; <sup>2</sup>Azerbaijan Medical University, Department of Public Health and Health Organizations, Baku, Azerbaijan; <sup>3</sup>Republican Scientific-research Institute for Labor Protection of the Ministry of Labor and Social Protection of Population of the Republic of Kazakhstan, Karaganda, Kazakhstan

This study is aimed at studying the morbidity with temporary disability (MTD) of employee working in ore beneficiation at chrysotile production of JSC “Kostanay Minerals”. It was found that the incidence of MTD is higher among male workers than in men in the control group, and the incidence of MTD in the compared professional groups decreases with an increase in work experience. This is possibly due to the fact that the organism of the trained workers is more stable due to the formation of protective adaptive mechanisms to the current production hazards. However, the revealed reliable differences between the main and control groups in the trainees group for 30 years or more rank them at risk. When analyzing the morbidity by class of disease in the compared groups, respiratory diseases take the first place. In the main group, the second place is occupied by diseases of the musculoskeletal system, in the control group - the class of illnesses “traumas and poisonings” with the share of domestic injuries accounting for 95,2%. The third place in the main group was occupied by the class of “trauma and poisoning”, and in the control group - diseases of the musculoskeletal system. The obtained research results allow us to conclude that in the current conditions of industrial development of industry in the Republic of Kazakhstan, the continuous improvement of the most important preventive measures for labor protection and the prevention of occupational diseases on the basis of studying the morbidity with MTD remain relevant, they should be aimed at establishing the relationship between the kind of activity of workers with risks development of occupational diseases.

**Keywords:** morbidity with temporary disability, chrysotile production, ore beneficiation.

РЕЗЮМЕ

**АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ С ВРЕМЕННОЙ УТРАТОЙ ТРУДОСПОСОБНОСТИ СРЕДИ РАБОТНИКОВ ХРИЗОТИЛОВОГО ПРОИЗВОДСТВА ПО ОБОГАЩЕНИЮ РУДНОГО МАТЕРИАЛА**

<sup>1</sup>Ибраев С.А., <sup>2</sup>Алекберов М.М., <sup>1</sup>Жарылкасын Ж.Ж., <sup>3</sup>Отаров Е.Ж., <sup>1</sup>Тилемисов М.К.

<sup>1</sup>Карагандинский государственный медицинский университет, научно-исследовательская санитарно-гигиеническая лаборатория, Казахстан; <sup>2</sup>Азербайджанский медицинский университет, кафедра общественного здоровья и организации здравоохранения, Баку, Азербайджан; <sup>3</sup>Республиканский научно-исследовательский институт по охране труда Министерства труда и социальной защиты населения Республики Казахстан, Караганда, Казахстан

Данное исследование направлено на изучение заболеваемости с временной утратой трудоспособности (ВУТ) работающих на хризотилевоом производстве АО «Костанайские минералы» по обогащению рудного материала. Установлено, что показатели заболеваемости с ВУТ выше среди работников мужского пола основной группы, чем контрольной. Заболеваемость с ВУТ в сравниваемых профессиональных группах снижается с увеличением стажа работы, что, по всей вероятности, связано с большей устойчивостью организма стажированных рабочих за счет формирования защитно-приспособительных механизмов к производственным вредностям. Выявленные достоверные различия в показателях заболеваемости с ВУТ у лиц основной и контрольной групп со стажем 30 лет и более указывают на их принадлежность к группе риска. Согласно анализу заболеваемости по классам болезни в сравниваемых группах первое место занимают заболевания органов дыхания. В основной группе второе место занимает болезни костно-мышечной системы, в контрольной группе – класс болезней «травмы и отравления», из них на долю бытовых травм приходится 95,2%, третье место в основной группе занимает класс «травмы и отравления», в контрольной группе – болезни костно-мышечной системы. Полученные результаты исследования позволяют заключить, что в современных условиях индустриального развития промышленности в Республике Казахстан постоянное совершенствование важнейших профилактических мероприятий по охране труда и профилактике профессиональных заболеваний на основе изучения заболеваемости с ВУТ являются актуальными и должны быть направлены на установление взаимосвязи рода деятельности работников с рисками развития профессиональных заболеваний.

რეზიუმე

შრომის უნარის დროებით დაკარგვასთან ასოცირებული ავადობის ანალიზი გამდიდრებული მადნეულის მასალასთან მომუშავეებში ქრიზოტილურ საწარმოში

<sup>1</sup>ს. იბრაევი, <sup>2</sup>მ. ალექბეროვი, <sup>1</sup>ჯ. ჯარილკასინი, <sup>3</sup>ე. ოტაროვი, <sup>1</sup>მ. ტილემისოვი

<sup>1</sup>ყარაგანდის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, სანიტარულ-ჰიგიენური სამეცნიერო-კვლევითი ლაბორატორია, ყაზახეთი; <sup>2</sup>აზერბაიჯანის სამედიცინო უნივერსიტეტი, საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის და ჯანდაცვის ორგანიზაციის კათედრა, ბაქო; <sup>3</sup>ყაზახეთის შრომისა და მოსახლეობის სოციალური დაცვის სამინისტროს შრომის დაცვის რესპუბლიკური სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი, ყარაგანდა, ყაზახეთი

კვლევა ეძღვნება შრომის უნარის დროებით დაკარგვასთან (შდ) ასოცირებული ავადობის შესწავლას გამდიდრებულ მადანთან მომუშავე პირებში ს/ს “კოსტნაის მინერალები” ქრიზოტილურ საწარმოში. დადგენილია, რომ შდ-ს მაჩვენებელი ძირითადი ჯგუფის მამაკაცებს შორის მეტია, ვიდრე საკონტროლო ჯგუფში. შესწავლილ პროფესიულ ჯგუფებში შდ-ს მაჩვენებელი მცირდება მუშაობის სტაჟის ზრდასთან ერთად, რაც, როგორც ჩანს, დაკავშირებულია სტაჟიანი მუშაკების ორგანიზმის მეტ მედეგობასთან დამცველობით-შემგუებლობითი მექანიზმების ფორმირების ხარჯზე. თუმცა, გამოვლენილი სარწმუნო განსხვავებანი ძირითად და საკონტროლო ჯგუფებს შორის 30 წელზე მეტი ხნის სტაჟის მქონე პირებს რისკის ჯგუფს მიაკუთვნებს. ავადობის ანალიზის შესაბამისად დაავადებათა კლასების მიხედვით პირველ ადგილზე სასუნთქი სისტემის დაავადებებია. ძირითად ჯგუფში მეორე ადგილს იკავებს ძვალ-სახსროვანი სისტემის დაავადებები, საკონტროლო ჯგუფში კი – ტრავმა და მოწამვლები; ამასთან, ყოფაცხოვრებით ტრავმებზე მოდის 95,2%. მიღებული შედეგები იძლევა საფუძველს დავასკვნათ, რომ ყაზახეთის რესპუბლიკაში ინდუსტრიული წარმოების განვითარების თანამედროვე პირობებში შრომის დაცვასა და პროფესიულ დაავადებათა პროფილაქტიკაზე მიმართული ღონისძიებების მუდმივი სრულყოფა აქტუალურ საკითხს წარმოადგენს; ასეთი ღონისძიებები მიმართული უნდა იყოს ურთიერთდამოკიდებულების დადგენაზე მუშაკების საქმიანობის სახესა და პროფესიული დაავადებების განვითარების რისკებს შორის.



## THE RELATIONSHIP BETWEEN THERMAL PAIN SENSATION, FREE TESTOSTERONE, TRPV1, MOR LEVELS AND VARIOUS DEGREES OF HOSTILITY IN YOUNG HEALTHY MALES

Apkhazava M., Kvachadze I., Tsagareli M., Mzhavanadze D., Chakhnashvili M.

*Tbilisi State Medical University, Department of Physiology, Georgia*

Studying pain mechanisms in healthy individuals opens up new possibilities to shed light on types of pain which do not fall within the remit of clinical settings or laboratories in their controlled studies of animals. These studies approach the goal by improving tools and methods of pain measurement and increasing understanding of physiological and psychological mechanisms that mediate and modulate perception of pain. Applying thermal, heat or cold, stimuli is one of the most common method of evoking experimental pain sensations via various modern thermodes [21].

Gonadal hormones are considered as factors that influence pain perception [2] as well as response to opioid analgesia [25]. Along with many other works, our recent studies reveal correlation between the level of follicle-stimulating hormone and progesterone, on the one hand, and mechanical pain threshold and tolerance, on the other. Studies also suggest correlation between the level of progesterone and decrease in heat pain threshold in the luteal phase of the ovarian-menstrual cycle [6]. Still another study shows association of testosterone with hypoalgesia in young healthy females [9]. There is also evidence of positive correlation between the level of testosterone and pain threshold within males [14,45,47], as well as of pain reducing effects of administered testosterone [19]. However, this relationship has mostly been shown in animal studies and among females and is poorly studied in healthy males under physiological conditions.

Gender differences in pain and analgesia have become a topic of tremendous scientific and clinical interest in recent years. Several studies report a greater incidence of clinical pain and increased responsiveness to experimental pain stimuli in females compared to males [16-18]. The same relation is shown in our recent study [4].

Clinical studies also reveal sex differences in response to transient receptor potential cation channel subfamily V member1 (TRPV1) involved pain [15,23]. TRPV1 allows transient influx of cations, especially  $Ca^{2+}$ , when activated. TRPV1 can be activated by a diverse variety of stimuli, including heat ( $>40^{\circ}C$ ), mechanical pressure, acids, vanilloids (e.g., capsaicin), gingerol and endocannabinoids [12].

Recent studies have identified TRPV1 as a key molecular component of pain detection and modulation in various pain models. A number of studies show an elevated thermal pain sensation due to increase in TRPV1 expression under physiological conditions as a result of administration of certain biologically active substances as well as during different pathological processes including inflammation and nerve injury [24,26,37]. Female subjects were shown to experience more pain related sensations induced by TRPV1 agonists than males [3,13,22,27]. Influence on TRPV1 expression is also detected for some sex hormones [44]. Along with others, our recent study reveals correlation between the level of progesterone and increase in TRPV1 during luteal phase of the ovarian-menstrual cycle [5]. Recent study performed in male rats indicate that testosterone plays a key role in the inhibition of TRPV1 expression in chronic inflammatory pain model [8].

The role of endogenous opioid system in acute and chronic pain syndrome formation is no less important along with noci-

ceptive system. The  $\mu$ -opioid receptor (MOR), which is a major component of opioid system, plays a pivotal role in pain biology [46]. MOR is expressed by a subset of nociceptor (noxious stimulus detecting) sensory neurons that express neuropeptide substance P and TRPV1. MOR on presynaptic axon terminals in the spinal cord reduces transmitter release by inhibiting voltage-gated calcium channels thereby diminishing sensory input from nociceptors to the central nervous system. The receptor is also located postsynaptically where it activates G protein-coupled inwardly rectifying potassium channels thereby reducing excitability [42]. Numerous studies performed during the last decade have revealed a wide array of endogenous agents, including hormones and pharmacological substances, which affect MOR gene expression and consequently receptor protein synthesis [1,29,30,48,50].

Several studies show the ability of certain gonadal hormones to regulate expression of elements of both nociceptive and antinociceptive systems. Modulating effect on MOR gene expression in laboratory animals and in females under physiological conditions is reported for estrogens and progesterone [31-33]. Studies of male gonadal hormones, particularly testosterone, in male and female rats identify testosterone as an important factor in the regulation of MOR [7].

Number of studies of recent decades focus on the correlation of pain sensation and some psychological aspects such as aggression, hostility, irritability and underscore interaction of the latter with gonadal hormones [40-42]. As it was initially hypothesized, higher pain tolerance is related to less aggressive behavior. This theory was supported by several studies which reported pain as a causative factor for triggering aggressive responses and, further, stated that increasing pain is associated with increasing aggressiveness [10,20]. However, a few later contradictory studies yielded findings that subjects with high pain threshold and tolerance have similarly high levels of aggression, hostility and anxiety [11,34,36]. Moreover, results of one work indicated that correlation between pain tolerance and trait aggression are significantly positive for men but not women [39]. Our two recent studies yield the same results: young healthy males show significantly higher mechanical tolerance, mechanical pain threshold, heat and cold pain thresholds and degree of hostility but significantly lower degree of guilt compared with healthy females; further, we didn't find any correlation between heat and cold pain thresholds, on the one hand, and hostility, on the other, among young healthy females [4]. These observations invited us to perform a multifaceted study of interconnection among various degrees of pain sensation, hormonal state, levels of main receptor proteins of nociceptive and antinociceptive systems and various degrees of hostility under physiological conditions. Therefore, the purpose of this study is to elucidate the relationship among thermal sensation, pain threshold, levels of free testosterone, TRPV1 and MOR receptor proteins and various degrees of hostility in young healthy males.

**Material and methods.** Participants: 35 healthy male volunteers of 18-25 years of age. Exclusion criteria: chronic pain, diabetes mellitus, cardiovascular diseases and other disorders that can affect pain sensation and use of pain killers 24 hours prior

to start of the study. In addition to detailed anamnesis, complete blood counts were performed prior to start of the study to confirm health status and exclude some pathologies related to pain sensation such as: various types of anemia, thrombocytopenia, inflammatory and allergic reactions.

Written informed consent was obtained from every participant prior to participation in the study.

The study was approved by Tbilisi State Medical University Biomedical Research Committee and conducted in accordance with International Association for the Study of Pain guidelines for research involving human subjects.

At the first stage of the study indices of height, weight, blood pressure and body mass index (BMI) of the subjects were obtained and a medical history forms and a psychotypical Bass-Durkee questionnaire were filled out.

The study was performed in an isolated soundproof room in comfortable conditions for the participants. Duration of the study for each subject was 1-1.5 hours. Out of 35 participants 3 were excluded from the study: one due to acute respiratory disease and the other two due to high body mass index. Consequently, all next steps of the study were performed in 32 males (n=32).

**Laboratory studies.** Blood samples of 6 ml were taken from the cubital vein in the morning before breakfast following 12-hour fasting period. Serum was extracted from the collected blood and immediately frozen at -20 °C, with a shelf life of 30 days.

Blood serum enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed using HumaReader analyzer (Germany) to detect: TRPV1 protein level using «Human TRPV1 ELISA Kit» test-systems (MyBioSource, Inc., USA), MOR protein level using «Human OPRM1 ELISA Kit» test-systems (MyBioSource, Inc., USA) and free testosterone level using HUMAN ELISA test-systems.

**Physiological procedures.** Contact thermal stimuli were delivered to subjects with the help of computer-controlled Medoc Pathway combined ATS/CHEPS system (Medoc Ltd, Ramat Yishai, Israel) which is a Peltier element-based stimulator. Temperature levels were monitored by a contactor-contained thermistor and returned to preset baseline temperature of 32 °C by active cooling at a rate of 10 °C/second. The 30-mm<sup>2</sup> contact probe was applied to the left volar forearm and affixed with velcro straps. Warmth and cold thresholds, heat and cold pain thresholds were assessed using an ascending or descending method. From the baseline temperature of 32 °C, contactor temperature increased or decreased at a rate of 0.5 °C/second until the subject responded by pressing a button. The cut-off temperature to avoid tissue damage was 55°C for heat stimuli and 0°C for cold stimuli for all trials. Interstimulus intervals of 10 seconds were maintained between successive stimuli to avoid either sensitization or habituation of cutaneous receptors. Thermal stimuli were delivered in the following order: 4 trials of cold sensation threshold (CSTh) and 4 trials of heat sensation threshold (HSTh), 3 trials of cold pain threshold (CPTh) and 3 trials of heat pain threshold (HPTh). Values for CSTh, HSTh, CPTh and HPTh were aver-

aged. The position of the thermode was slightly altered between trials to avoid sensitization or habituation.

**Psychological testing.** Psychological testing was carried out with the help of Bass-Durkee 75 item questionnaire in true-false response format where seven dimensions of aggression: assault, verbal hostility, indirect hostility, irritability, negativism, resentment, suspicion (66 statements) and guilt (autoaggression) (9 statements) were analyzed on a scale of low, medium and high.

Data were presented as mean ± standard deviations. Differences between means were acknowledged as statistically significant if p<0.05. Mean values for each of the responses for detection of various degrees of thermal sensation and thermal pain thresholds were calculated. One-way analysis of variance (ANOVA, F score) was used to assess levels of free testosterone, TRPV1, MOR and various degrees of thermal sensation and pain thresholds within and among subjects groups. Responses to Bass-Durkee questionnaire were evaluated on 8 scales. Number of scores were calculated according to the key specified for each index and multiplied by the coefficient specified for each index which allowed to get convenient for comparison (normalized) results within and among subjects groups (zero values weren't calculated).

**Results and their discussion.** The average age of participants was 21.7±2.4 years.

Based on data obtained for cold/heat pain thresholds and cold/heat sensation subjects were divided into three groups using standard mathematical formula: low, medium and high degree of pain threshold and sensation (Table). Further data analysis was performed based on the comparison of intergroup differences.

We found significant positive correlation among heat pain threshold, free testosterone (F=150.3, p<0.001) and MOR (F=16.7, p<0.001) levels (Fig. 1, 2). In addition, significant negative correlation was found between heat pain threshold (F=24.1, p<0.001) and TRPV1 level and between free testosterone and TRPV1 levels (Fig.3).

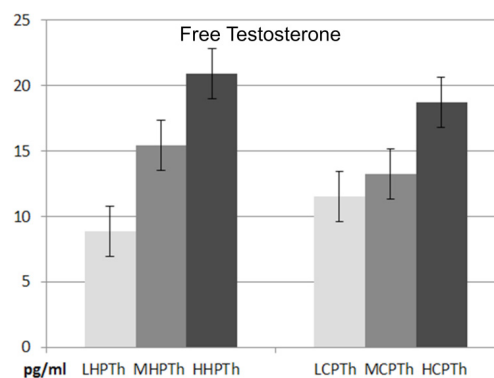


Fig. 1. Free testosterone levels in subjects with low degree of heat pain threshold (LHPTth), medium degree of heat pain threshold (MHPTth) and high degree of heat pain threshold (HHPTth), as well as low degree of cold pain threshold (LCPTth), medium degree of cold pain threshold (MCPTth) and high degree of cold pain threshold (HCPTth)

Table. Temperature dimensions of thermal sensations and thresholds

	Low degree(°C)	Medium degree(°C)	High degree(°C)
Cold sensation threshold	26,5-28,8	23,9-26,4	21,5-23,8
Heat sensation threshold	33,8-36,1	36,2-38,6	38,7-41
Cold pain threshold	14,3-20,7	7,7-14,2	1,2-7,6
Heat pain threshold	38-42,5	42,6-47,2	47,3-51,8

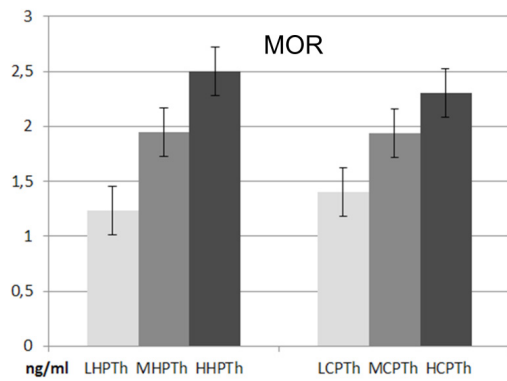


Fig. 2. MOR levels in subjects with low degree of heat pain threshold (LHPTh), medium degree of heat pain threshold (MHPTh) and high degree of heat pain threshold (HHPTh), as well as low degree of cold pain threshold degree (LCPTH), medium degree of cold pain threshold (MCPTh) and high degree of cold pain threshold (HCPTH)

Data analysis also revealed insignificant positive correlation among cold pain threshold, free testosterone ( $F=7.61, p=0.02$ ) and MOR ( $F=3.42, p=0.046$ ) levels (Fig. 1,2), as well as insignificant negative correlation of heat pain threshold ( $F=3.68, p=0.038$ ) with TRPV1 level and of free testosterone with TRPV1 levels (Fig 3).

We didn't find significant correlation between the degrees of cold/heat sensation, on the one hand, and free testosterone, MOR, TRPV1 levels, on the other.

Data analysis of aggression indices and relationship of the latter with other parameters of this investigation indicated that

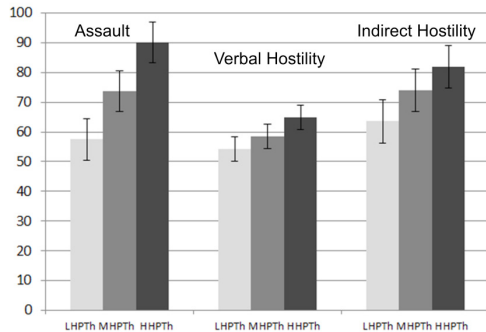


Fig. 4. Various degrees of Assault, verbal hostility and indirect hostility in subjects with low degree of heat pain threshold (LHPTh), medium degree of heat pain threshold (MHPTh) and high degree of heat pain threshold (HHPTh)

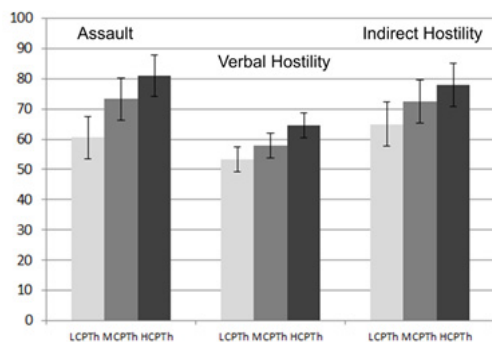


Fig. 6. Various degrees of assault, verbal hostility and indirect hostility in subjects with low degree of cold pain threshold (LCPTH), medium degree of cold pain threshold (MCPTh) and high degree of cold pain threshold (HCPTH)

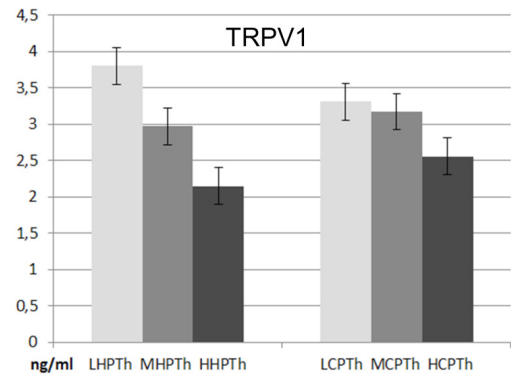


Fig. 3. TRPV1 levels in subjects with low degree of heat pain threshold (LHPTh), medium degree of heat pain threshold (MHPTh) and high degree of heat pain threshold (HHPTh), as well as low degree of cold pain threshold (LCPTH), medium degree of cold pain threshold (MCPTh) and high degree of cold pain threshold (HCPTH)

assault significantly correlates positively with heat pain threshold ( $F=8.03, p<0.001$ ), free testosterone and MOR levels and negatively with TRPV1 level. Insignificant positive correlation was found between verbal hostility ( $F=1.74, p=0.2$ ) and indirect hostility ( $F=1.72, p=0.19$ ), on the one hand, and all above parameters, on the other (Fig. 4). Significant negative correlation was identified among various degrees of irritability ( $F=7.95, p=0.002$ ), resentment ( $F=7.14, p=0.003$ ), suspicion ( $F=9.41, p<0.001$ ), guilt ( $F=5.39, p=0.009$ ), heat pain threshold, free testosterone and MOR levels (Fig. 5).

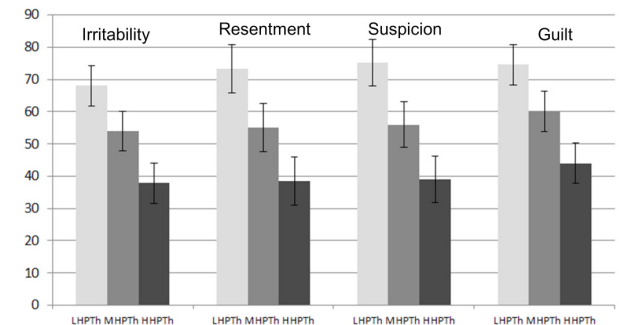


Fig. 5. Various degrees of irritability, resentment, suspicion and guilt in subjects with low degree of heat pain threshold (LHPTh), medium degree of heat pain threshold (MHPTh) and high degree of heat pain threshold (HHPTh)

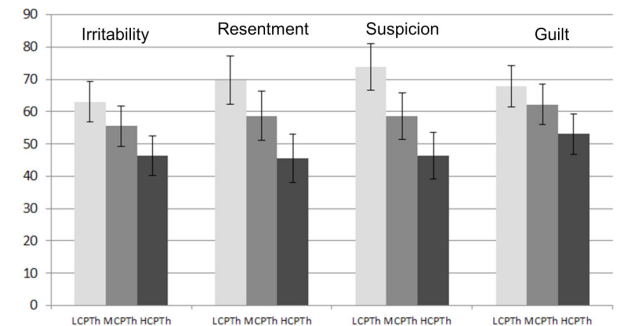


Fig. 7. Various degrees of irritability, resentment, suspicion and guilt in subjects with low degree of cold pain threshold (LCPTH), medium degree of cold pain threshold (MCPTh) and high degree of cold pain threshold (HCPTH)

As for the relationship between cold pain sensation and aggression indices, the study found insignificant positive correlation of various degrees of assault ( $F=2.05$ ,  $p=0.14$ ), verbal hostility ( $F=2.49$ ,  $p=0.1$ ) and indirect ( $F=0.73$ ,  $p=0.49$ ) hostility with cold pain threshold, as well as insignificant negative correlation of various degrees of irritability ( $F=1.73$ ,  $p=0.19$ ), resentment ( $F=2.65$ ,  $p=0.09$ ), suspicion ( $F=3.75$ ,  $p=0.03$ ) and guilt ( $F=1.64$ ,  $p=0.2$ ) with cold pain threshold (Fig. 6, 7).

We haven't found any relationship among negativism, heat/cold pain thresholds, degrees of heat/cold sensation, free testosterone, MOR and TRPV1 levels.

Given work presents study of pain sensation in healthy young males. We have recruited relatively large number ( $n=32$ ) of participants whose health status was confirmed by detailed anamnesis and complete blood counts. The study identified positive correlation between thermal pain thresholds, significant for heat pain threshold and insignificant for cold one, and free testosterone level. None of currently published works state application of methods and yield results similar to those applied and yielded by ours. However, studies, whose subject matter is closer to ours and are performed on laboratory animals using electrical and ischemic pain stimulation, show similar results [19,35]. A few studies performed on people suffering from diseases with acute pain syndrome [14,47] indicate relationship between testosterone level and pain threshold.

The relationship between thermal pain thresholds and free testosterone level detected in our investigation is also confirmed by recent study performed by Bai et al [8], which also states that testosterone plays a key role in the inhibition of TRPV1 expression through downregulation of mRNA level. Following these data, significantly higher correlation of free testosterone level with heat pain threshold rather than cold pain threshold, as was found in our study, seems more logical as TRPV1 thermal activation occurs only at temperature above 40 °C.

Significant positive correlation between heat pain threshold, free testosterone and MOR levels detected in our investigation corresponds with several studies performed on animals [7,28,29] including Zhang et al who considers testosterone as a regulator of MOR gene expression in male rats as evidenced by downregulation of MOR mRNA expression in orchidectomized male rats reversed with testosterone replacement.

Correlation of various degrees of cold/heat sensation, unlike heat pain threshold, with free testosterone, MOR, TRPV1 levels was not found, apparently, by reason of very little difference between starting "comfort" temperature of (32°C) and detected heat sensation (36,3±2,1°C) and cold sensation (27,1±2,9°C) thresholds.

The relationship among thermal pain threshold, free testosterone, TRPV1, MOR levels and hostility was, for the first time, studied and analyzed in this study.

The relationship among pain threshold, testosterone level and assault detected in our investigation corresponds with several other studies which also suggest positive correlation between pain threshold and high degree of hostility [34,43] significant and positive among men [39]. Further, testosterone level is significantly associated with high degree of hostility leading to antisocial behavior and aggressive responses [41].

Moreover, recent study, performed by Peper et al. [38], suggests that higher levels of testosterone, and overt hostility are associated with less white matter integration with fronto-temporo-subcortical network, i.e. less structural cortico-sub-

cortical connectivity. On this basis, the authors conclude that aggressive tendencies are subcortically driven, but individuals with relatively high testosterone might have lower structural connectivity within cortical control areas resulting in a stronger tendency towards aggression. These results partially shed light on the neurophysiological mechanisms of the relationship indicated in our study.

As regards to indicated in our study significant negative correlation among various degrees of irritability, resentment, suspicion, guilt, heat pain threshold, free testosterone and MOR levels, no work published so far deals with the similar topic and no work published so far yields results about the relationship among hostility, TRPV1 and MOR levels. Consequently, we consider it to the purpose to further studies in this direction including interaction among other forms of pain sensation and psychological indices.

**Conclusion.** The study indicates significant positive correlation between heat pain threshold, free testosterone and MOR levels. Each of these parameters significantly correlates positively with various degrees of assault and insignificantly with various degrees of verbal and indirect hostility; they also significantly correlate negatively with various degrees of irritability, resentment, suspicion and guilt. Significant negative correlation is detected between heat pain threshold and TRPV1 level, as well as free testosterone and TRPV1 levels. Correlation among cold pain threshold, free testosterone, TRPV1, MOR levels and hostility indices is insignificant.

## REFERENCES

1. Ahmadi S, et al. Cholestasis induced antinociception and decreased gene expression of MOR1 in rat brain // *Neuroscience*. 2015 Jan 22; 284:78-86.
2. Aloisi AM, Bonifazi M. Sex hormones, central nervous system and pain // *HormBehav* 2006; 50:1-7.
3. Aloisi AM, Sorda G. Relationship of female sex hormones with pain perception: focus on estrogens // *Pain Manage* 2011; 1:229-38.
4. Apkhazava M, Chichinadze G, Kvachadze I, et al. Gender differences in pain sensation and some characteristics of aggressiveness. Abstract Book. The 1<sup>st</sup> "Beritashvili Talks" International Conference. 2018 Jun;4-5.
5. Apkhazava M, Kvachadze I, Tsagareli M, et al. Correlation between heat pain threshold degree and TRPV1 receptor protein level over various phases of the OMC // *Georgian Medical News*. 2018 Jun;(279):137-143.
6. Apkhazava M, Kvachadze I, Tsagareli M. Correlation between mechanical pain sensitivity degree and MOR protein concentration over various phases of the ovarian-menstrual cycle. *Georgian Medical News*. 2018; 2(275):17-123.
7. Bai X, Zhang X, Li Y. Sex Differences in Peripheral Mu-Opioid Receptor Mediated Analgesia in Rat Orofacial Persistent Pain Model // *PLoS ONE* 2015;10(3): e0122924.
8. Bai X, Zhang X, Zhou Q. Effect of Testosterone on TRPV1 Expression in a Model of Orofacial Myositis Pain in the Rat // *J MolNeurosci*. 2018 Jan; 64(1):93-101.
9. Bartley EJ, et al. Natural variation in testosterone is associated with hypoalgesia in healthy women // *Clin J Pain*. 2015 Aug;31(8):730-9.
10. Berkowitz L. Pain and aggression: Some findings and implications // *Motiv Emotion* 1993;17:277-293.
11. Bernardes SF, Keogh E, Lima ML. Bridging the gap between pain and gender research: A selective literature review // *Eur J*

- Pain. 2008;12:427–440.
12. Brock T. TRPV1 Pain Peppers and Prostaglandins. Cayman Chemical. 2008;09-01.
  13. Craft RM, Mogil JS, Aloisi AM. Sex differences in pain and analgesia: the role of gonadal hormones // *Eur J Pain* 2004; 8:397–411.
  14. Duarte RV, Raphael JH, Sparkes E, et al. Long-term intrathecal drug administration for chronic nonmalignant pain // *J NeurosurgAnesthesiol* 2012;24:63–70.
  15. Ferrell WR, Wong BB, Lockhart JC, et al. Gender differences in regional cutaneous microcirculatory responses to capsaicin // *FundamClinPharmacol* 2004;18(2):195–200.
  16. Filingim R. B., King C. D., Ribeiro-Dasilva M. C., et al. Sex, gender, and pain: a review of recent clinical and experimental findings // *J. Pain.* – 2009. – 10(5):447–485.
  17. Fillingim R. B. Sex, gender and pain. – Seattle, WA: IASP Press. 2001.
  18. Gazerani P, Andersen OK, Arendt-Nielsen L. Site-specific, dosedependent, and sex-related responses to the experimental pain model induced by intradermal injection of capsaicin to the foreheads and forearms of healthy humans // *J Orofac Pain* 2007; 21(4):289–302.
  19. Gharaghozlu N, Ahmadi R, Khakpour B, et al. Effects of Testosterone on Pain Threshold. International Conference on Chemical, Agricultural and Medical Sciences (CAMS-2014) May 2-3, 2014 Antalya (inTurk.)
  20. Giancola PR, Zeichner A. Neuropsychological performance on tests of frontal-lob functioning and aggressive behavior in men // *J Abnorm Psychol.* 1994; 103:832–835.
  21. Gracely R. H. Studies of pain in human subjects // Wall and Melzack's Textbook of Pain / McMahon S. B., Koltzenburg M., Tracey I., Turk D. C. eds. – Elsevier, 2013. – P.283–300.
  22. Greenspan JD, Craft RM, LeResche L, et al. Studying sex and gender differences in pain and analgesia: a consensus report // *Pain* 2007;132:S26–45.
  23. Hartmann EM, Handwerker HO, Forster C. Gender differences in itch and pain-related sensations provoked by histamine, cowhage and capsaicin // *ActaDermVenereol* 2015;95(1):25–30.
  24. Hucho T, Levine J.D. Signaling pathways in sensitization: toward a nociceptor cell biology // *Neuron* 2007; 55:365–376.
  25. Ji Y, Murphy AZ, Traub RJ. Estrogen modulation of morphine analgesia of visceral pain in female rats is supraspinally and peripherally mediated // *J Pain* 2007; 8:494–502.
  26. Kim YS, Chu Y, Han L, Li M, et al. Central terminal sensitization of TRPV1 by descending serotonergic facilitation modulates chronic pain // *Neuron* 2014; 81(4):873–887.
  27. Kuba T, Quinones-Jenab V. The role of female gonadal hormones in behavioural sex differences in persistent and chronic pain: clinical versus preclinical studies // *Brain Res Bull* 2005;66:179–88.
  28. Kumar A, Liu N-J, Madia PA., et al. Contribution of Endogenous Spinal Endomorphin 2 to Intrathecal Opioid Antinociception in Rats Is Agonist-Dependent and Sexually Dimorphic // *J Pain.* 2015 Nov; 16(11): 1200–1210.
  29. Lee KS, Zhang Y, Asgar J, et al. Androgen receptor transcriptionally regulates  $\mu$ -opioid receptor expression in rat trigeminal ganglia // *Neuroscience.* 2016 Sep 7; 331:52–61.
  30. Maglakelidze G, Wynne1 O, Sarkar DK. A combined opiate agonist and antagonist treatment reduces prolactin secreting pituitary tumor growth // *J. Cell Commun. Signal.* 2017;11:227–232
  31. Matsuzaki S, et al. Both GnRH agonist and continuous oral progesterin treatments reduce the expression of the tyrosine kinase receptor B and mu-opioid receptor in deep infiltrating endometriosis // *Hum Reprod.* 2007 Jan; 22(1):124-8.
  32. Micevych PE, Dewing P. Membrane-initiated estradiol signaling regulating sexual receptivity. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2011 Sep 7; 2:26.
  33. Micevych PE., Meisel RL. Integrating Neural Circuits Controlling Female Sexual Behavior // *Front SystNeurosci.* 2017; 11:42.
  34. Mitchell GA, Harrison DW. Neuropsychological effects of hostility and pain on emotion perception // *J ClinExpNeuropsychol.* 2010 Feb; 32(2):174-89.
  35. Nag S, Mokha SS - Testosterone is essential for alpha-2-adrenoceptor-induced antinociception in the trigeminal region of the male rat // *Neurosci Lett,* 2009; 467:48-52.
  36. Niel KA, Hunnicut-Ferguson K, Reidy DE, et al. Relationship of pain tolerance with human aggression // *Psychol Rep* 2007; 101:141–144.
  37. Okun A, DeFelice M, Eyde N, et al. Transient inflammation-induced ongoing pain is driven by TRPV1 sensitive afferents // *Mol Pain* 2011;7:4.
  38. Peper JS, de Reus MA, van den Heuvel MP, et al. Short fused? associations between white matter connections, sex steroids, and aggression across adolescence // *Hum Brain Mapp.* 2015 Mar; 36(3):1043-52.
  39. Reidy DE, Dimmick K, MacDonald K, et al. The relationship between pain tolerance and trait aggression: effects of sex and gender role // *AggressBehav.* 2009 Sep-Oct;35(5):422-9.
  40. Reimers L, Büchel C, Diekhof EK. Neural substrates of male parochial altruism are modulated by testosterone and behavioral strategy // *Neuroimage.* 2017 Aug 1; 156:265-276.
  41. Reimers L, Diekhof EK. Testosterone is associated with cooperation during intergroup competition by enhancing parochial altruism // *Front Neurosci.* 2015 Jun 12; 9:183.
  42. Shao C et al., DNMT3a methylation in neuropathic pain // *J Pain Res.* 2017; 10: 2253–2262.
  43. Stephens R, Allsop C. Effect of manipulated state aggression on pain tolerance // *Psychol Rep.* 2012 Aug; 111(1):311-21.
  44. Vodo S, Arcelli D, Fiorenzani P, et al. Gonadal ER $\alpha$ / $\beta$ , AR and TRPV1 gene expression: Modulation by pain and morphine treatment in male and female rats // *Physiology & Behavior* 2013;110–111;80–86.
  45. Wiethoff S, Hamada M, Rothwell JC. Variability in response to transcranial direct current stimulation of the motor cortex *Brain Stimulation* 2014 May-Jun;7(3):468-75.
  46. Woolf CJ. Mu and delta opioid receptors diverge // *Cell.* 2009 Jun 12; 137(6):987-8.
  47. Yi H, Kim MA, Back SK, Eun JS, Na HS. A novel rat forelimb model of neuropathic pain produced by partial injury of the median and ulnar nerves // *Eur. J. Pain.* 2011, 15, 459-466.
  48. Zhang M, et al. Low-Dose Cannabinoid Type 2 Receptor Agonist Attenuates Tolerance to Repeated Morphine Administration via Regulating  $\mu$ -Opioid Receptor Expression in Walker 256 Tumor-Bearing Rats // *Anesth Analg.* 2016 Apr;122(4):1031-7.
  49. Zhang X, Zhang Y, Asgar J, et al. Sex differences in mu-opioid receptor expression in trigeminal ganglia under a myositis condition in rats // *Eur J Pain.* 2014; 18:151–161.
  50. Zhang Y, et al. Nerve Injury Diminishes Opioid Analgesia through Lysine Methyltransferase-mediated Transcriptional Repression of  $\mu$ -Opioid Receptors in Primary Sensory Neurons // *J Biol Chem.* 2016 Apr 15; 291(16):8475-85.

## SUMMARY

### THE RELATIONSHIP BETWEEN THERMAL PAIN SENSATION, FREE TESTOSTERONE, TRPV1, MOR LEVELS AND VARIOUS DEGREES OF HOSTILITY IN YOUNG HEALTHY MALES

Apkhazava M., Kvachadze I., Tsagareli M.,  
Mzhavanadze D., Chakhnashvili M.

Tbilisi State Medical University, Department of Physiology,  
Georgia

Large number of studies consider gonadal hormones as factors influencing pain perception by changing the activity of nociceptive and antinociceptive systems. Recent studies indicate that testosterone, along with some other gonadal hormones, plays a key role in the regulation of TRPV1 and MOR expression. In addition, some works focus on the relationship between pain sensation and hostility indices, as well as their interaction with gonadal hormones. The purpose of this study is to elucidate the relationship of thermal sensation and pain threshold with free testosterone, transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 (TRPV1) and  $\mu$ -opioid receptor (MOR) protein levels as well as various degrees of hostility in young healthy males. Significant positive correlation is found between heat pain threshold, free testosterone and MOR levels. Each of these parameters significantly correlates positively with various degrees of assault and insignificantly with that of verbal and indirect hostility. They also significantly correlate negatively with various degrees of irritability, resentment, suspicion and guilt. Significant negative correlation is detected between heat pain threshold and TRPV1 level as well as free testosterone and TRPV1 level. The relationship among cold pain threshold, free testosterone, TRPV1, MOR levels and hostility indices is insignificant. Consequently, we consider it to the purpose to further studies in this direction including interaction among other forms of pain sensation and psychological indices.

**Keywords:** transient receptor potential cation channel subfamily V member 1,  $\mu$ -opioid receptor, pain.

## РЕЗЮМЕ

### КОРРЕЛЯЦИЯ ТЕРМИЧЕСКОЙ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ, УРОВНЯ СВОБОДНОГО ТЕСТОСТЕРОНА, РЕЦЕПТОРНЫХ БЕЛКОВ TRPV1, MOR И СТЕПЕНИ АГРЕССИВНОСТИ У МОЛОДЫХ ЗДОРОВЫХ МУЖЧИН

Абхазова М.В., Квачадзе И.Д., Цагарели М.Г.,  
Мжаванадзе Д.Ш., Чахнашвили М.В.

Тбилисский государственный медицинский университет,  
департамент физиологии, Грузия

Согласно результатам множества исследований, влияние половых гормонов на восприятие боли изучено посредством изменения активности ноци- и антиноцицептивной систем. Наряду с другими половыми гормонами, установлена ключевая роль тестостерона в регуляции экспрессии TRPV1 (Transient receptor potential channeling subfamily V member 1) и  $\mu$ -опиоидного рецептора (MOR).

Целью данного исследования явилось определение корреляции степени термической чувствительности и болевого порога, уровня свободного тестостерона, рецепторных

белков TRPV1 и MOR, а также степени агрессивности у молодых практически здоровых мужчин. Выявлена значительная положительная корреляция между тепловым болевым порогом, концентрацией свободного тестостерона и уровнем MOR. Данные параметры весьма положительно коррелируют со степенью физической агрессии и незначительно – со степенью вербальной и косвенной агрессии. Отрицательно коррелируют с уровнями раздражительности, подозрительности, обидчивости и чувством вины. Достоверная отрицательная корреляция установлена между тепловым болевым порогом и TRPV1, а также между концентрацией свободного тестостерона и TRPV1. Корреляция между холодным болевым порогом, концентрацией тестостерона, уровнем MOR и психологическими характеристиками недостоверна. Авторы считают целесообразным проведение дальнейших исследований в данном направлении, в том числе по изучению других видов болевой чувствительности и психологических характеристик.

## რეზიუმე

თერმული ტკივილის მგრძობელობის, თავისუფალი ტესტოსტერონის, TRPV1 და  $\mu$ -ოპიოიდური რეცეპტორების და აგრესიულობის ხარისხის კორელაცია ჯანმრთელ ვაჟებში

მ. აფხაზავა, ი. კვაჭაძე, მ. ცაგარელი, დ. მჟავანაძე,  
მ. ჩახნაშვილი

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი,  
ფიზიოლოგიის დეპარტამენტი, საქართველო

კვლევათა უმეტესობაში სასქესო ჰორმონების გავლენა ტკივილის აღქმაზე შესწავლილია ნოცი- და ანტინოციცეპტური აქტივობის ცვლილებათა შეფასების გზით. ბოლო პერიოდის კვლევებში დადასტურებულია, სხვა სასქესო ჰორმონებთან ერთად, ტესტოსტერონის წამყვანი როლი TRPV1 (Transient receptor potential channeling subfamily V member 1) და  $\mu$ -ოპიოიდური რეცეპტორების ექსპრესიის რეგულაციაში.

წინამდებარე კვლევის მიზანს წარმოადგენდა თერმული ტკივილის მგრძობელობის და ტკივილის ზღურბლის, თავისუფალი ტესტოსტერონის, TRPV1 და  $\mu$ -ოპიოიდური რეცეპტორული ცილების, ასევე, აგრესიულობის ხარისხის შეფასება ახალგაზრდა, პრაქტიკულად ჯანმრთელ მამაკაცებში. დადგენილია გამოსატყულო დადებითი კორელაცია თერმული ტკივილის ზღურბლს, თავისუფალი ტესტოსტერონის კონცენტრაციასა და  $\mu$ -ოპიოიდური რეცეპტორული ცილის დონეს შორის. აღნიშნული პარამეტრები მნიშვნელოვნად დადებითად კორელირებს ფიზიკური აგრესიის ხარისხთან და უმნიშვნელოდ – ვერბალური და ირიბი აგრესიის ხარისხთან, მნიშვნელოვნად უარყოფითად - გაღიზიანებადობის, ეჭვიანობის, იოლად წყენის, დანაშაულის შეგრძნების ხარისხთან. მნიშვნელოვნად უარყოფითი კორელაცია დადგინდა თერმული ტკივილის ზღურბლს და TRPV1-ს, ასევე, თავისუფალი ტესტოსტერონის კონცენტრაციასა და TRPV1-ს შორის. კორელაცია სიცივის ტკივილის ზღურბლს, ტესტოსტერონის კონცენტრაციას,  $\mu$ -ოპიოიდურ რეცეპტორულ ცილას და ფსიქოლოგიურ მაჩვენებლებს შორის უმნიშვნელოა. ავტორებს მიზანშეწონილად მიანიათ კვლევის გაგრძელება აღნიშნული მიმართულებით და სხვა ტიპის ტკივილის მგრძობელობისა და ფსიქოლოგიური მახასიათებლების შესწავლა.

## ASTHMA CONTROL STATUS AND LUNG FUNCTION IN RELATION TO VITAMIN D LEVEL IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA

Bugadze L., Manjavidze N., Jorjoliani L.

David Aghmashenebeli University of Georgia, Tbilisi, Georgia

Bronchial asthma is one of the most common chronic diseases in childhood [1]. Clinically diagnosed asthma rate in children and adults over the last 20-30 years has increased from 9 to 17%.

According to the survey conducted by ISAAC (The International Study of Asthma and Allergies in Childhood) in many countries asthma frequency ranges from 1.6 to 36.8%.

Vitamin D plays an important role in regulating the immune system [1,10,12]. Reduced Vitamin D decreases the formation of Th1 cells and increases Th2 cell proliferation, which itself increases the number of IL-4, IL-5 and IL-13 quantity. Interleukins IL-4, IL-5 and IL-13 are related to the number of eosinophiles in the peripheral blood and total IgE blood serum levels [3,4].

According to a research, the 25 (OH) D low level in blood serum is correlated with increased asthma prevalence and hospitalization. In patients with bronchial asthma as a result of Vitamin D additives have been shown to improve the condition [8,12]. Studies are actively underway for determining correlation between vitamin D levels and etiological and trigger factors of bronchial asthma. (house dust, vegetable allergens as pollen allergen, tobacco smoke, environmental pollution, etc.).

Various studies have estimated vitamin D's effect on blood serum levels of immunoglobulin E. In particular, a significant reduction in the formation of immunoglobulin E by B lymphocyte cells revealed after Vitamin D. The research also found that the reduction of immunoglobulin E production by B lymphocyte cells resulted in the addition of Vitamin D and VDR agonists [1,5,7].

The aim of the study - to establish the correlation between asthma control status, lung function and vitamin D level in blood serum.

**Material and methods.** One centric clinical trial was performed on the base of Sachkhere Medical Center. The main group was formed. Fifty patients with bronchial asthma, were involved in the main group. Patients were given long-term control and/or quick-relief medicines, (which is provided by GINA guidelines) according to the asthma control status.

Inclusion criteria: age from 6 to 15 years; confirmed Bronchial asthma by using clinical- instrumental examines. Confirmation consent of a parent or a guardian about the participation in the research. Exclusion criteria: vitamin D intake within one month prior to research; associated somatic disease; severe chronic infections.

The study was performed at Sachkhere Medical Center. The persons were given the following types of tests: define the IgE serum blood level; spirometry exam- (using Spirolab II) and skin prick test using Allergopharma allergens.

According to clinical characteristics (GINA defined asthma control), that include: daytime symptoms, limitation of activity,

nocturnal symptoms/awakening, lung function (PEF or FEV1), and need for reliever/rescue treatment, asthma patients were classified as controlled and uncontrolled.

The quantitative determination of vitamin D in blood serum. (Chemiluminescensational analysis). were performed in the laboratories – “Enmedici” and “Vistamedi”. The results were evaluated by the following criteria. Vitamin D normal level - 30-100 ng/ml; Vitamin D insufficiency - 20-30 ng/ml; and vitamin D deficiency - <20 ng/ml.

Individual study map was created for each patients, which included questions as a debut of the disease, symptoms and comorbid conditions. The genetically predisposition of patients, allergic anamnesis and risk factors were also assessed.

The data was processed by the methods of variation statistics. We studied median and median squared deviation. The difference between groups was stated by the student's coefficient (t) for independent selection and for quality coefficient – by F Fisher criterion; The chances of the odds (OR) and the 95% reliability interval (95% CI) were determined.  $\chi^2$  value has been defined by the p-value. Analysis was performed using the program packet SPSS/v 20.

**Results and their discussion.** Children, involved in the study are divided according to the quality of age, sex and asthma as follows.

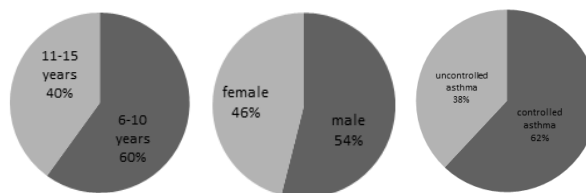


Fig. 1. Demographic information about patients

The most patients (60%) were between 6 and 10 years old (n=30; p-0.01), and only 40% was between 11-15 years (n=20; p-0.002).

The patients involved in the main group prevail in the male sex population (n=27; p-0.000), female gender was represented by 23 persons. (n=23; p-0.00).

According to the GINA definition, the individuals are divided into two subgroups: controlled bronchial asthma 62% (n=31; p-0.00) and uncontrolled bronchial asthma 38% (n=19; p-0.039). The information about exams is given in the Table 1.

As a result of statistical processing of the results, we have received the following data. According to the results of the spirometer exams, the patients had mild (n=28; p-0.001) and moderate (n=22; p-0.00) obstruction.

Table 1. Statistical data of diagnostic studies

Studies	Mean	%	F	t	p
Lung function reduction - mild obstruction	0.56	56%	24.09	5.73	0.001
Lung function reduction - moderate obstruction	0,44	44%	18.90	5.12	0.00
Skin prick test on ambrosia	0.04	4%	16.3	1.79	0.078
Skin prick test on dust mite	0.84	84%	36.2	12.04	0.000
Skin prick test on milk protein	0.10	10%	37.8	4.09	0.00
Serum IgE high level	1.00	100%	24.09	3.73	0.001

Table 2. Serum IgE level in basic group

	n	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
IgE blood serum level	50	564.26	568.68	103.82

Table 3. Vitamin D serum blood level in basic (controlled and uncontrolled asthma ) group

	n	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
<b>1 basic group</b>	<b>50</b>	<b>18.78610</b>	<b>6.044547</b>	<b>1.103578</b>
Controlled asthma	31	20.72498	5.624890	1.023454
uncontrolled asthma	19	15.04238	5.345128	1.024537

Table 4. Evaluation of the  $\chi^2$  and p-value indicators in the conditions of vitamin D deficiency

	Chi-square - X2	Sig. (2-tailed)- p
Controlled bronchial asthma	2.11	0.01
Uncontrolled bronchial asthma	6.78	0.01
Blood serum IgE level	10.90	0.54
Decreased lung function	3.12	0.039
Skin prick test on dust mite	5.12	0.50

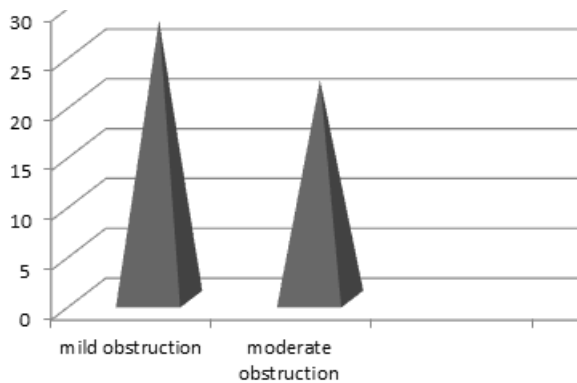


Fig. 2. Lung function indicators by spirometry test

Within the study, the patients were determined serum immunoglobulin E level. High level of immunoglobulin E has been detected in blood serum of all patients.

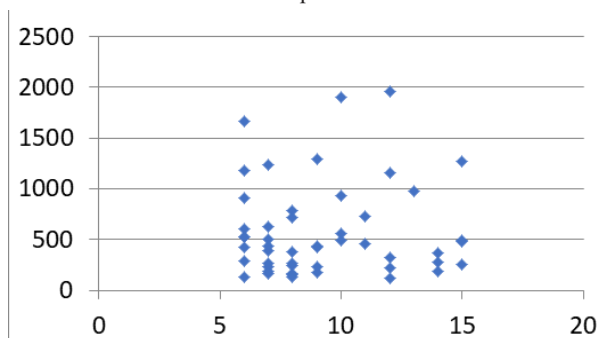


Fig. 3. IgE quantitative division by age

The patients were performed skin prick tests, using “Allergopharma”- allergens. The highest frequency allergy was revealed on dust mite- “Dermatophagoides farinae” in 84% (n=42; p=0.001). 10% of persons were allergic to ambrosia (n=5; p=0.00), and only 6% of the patients were allergic to milk protein (n=3; p=0.078) according skin prick test result.

In the main stage of the study, the patients were tested in quantitative analysis of Vitamin D in blood serum. Different cases also have been identified as sufficiency and deficiency.



Fig. 4. Skin prick test results using “Allergopharma”-s allergens

We concluded, that serum vitamin D level was significantly decreased ( $18.78 \pm 6.04$  ng/ml).

In addition, 48% of patients in the controlled bronchial asthma group (n=15), has been found with vitamin D insufficiency in blood serum, when 52% of cases (n=16) - vitamin D deficiency was revealed.

In group of uncontrolled bronchial asthma, 5% of patients (n=1) had vitamin D insufficiency, and 95% of them revealed vitamin D deficiency (n=18).

Mean level of serum vitamin D level in group of controlled asthma was: mean - 20.72 ng/ml. As for serum vitamin D level in uncontrolled asthma group, it was significantly low: mean - 15.04 ng/ml.

Using the multivariate logistic regression analysis, the presence of asthma was associated with reduced level of vitamin D in patients with uncontrolled bronchial asthma (OR = 1.35, 95% CI (1,14-1.58) P = 0.011;  $\chi^2=6.78$ ; F=0.022).

Also, by statistical analysis, serum vitamin D level is strongly associated with decreased lung function (p=0.039;  $\chi^2=3.12$ ); Exactly, in group of controlled asthma , presence of insufficiency and deficiency was almost equal, while in uncontrolled asthma group 95% of patients were found with vitamin D deficiency in blood serum.

Based on the statistical analysis of the results, there was not found correlations between serum vitamin D deficiency and IgE high level (P=0.54;  $\chi^2=10.9$ ). Also there has not been proved any association skin prick test results and vitamin D serum level (P=0.50;  $\chi^2=5.12$ ).



**Conclusion.** By using multivariable logistical regression analysis, bronchial asthma is strongly associated with low level of vitamin D in blood serum in children with uncontrolled bronchial asthma. (OR = 1.35, 95% CI (1,14-1.58) P = 0.011;  $\chi^2=6.78$ ; F-0.022).

Also, decreased pulmonary function (p - 0.039;  $\chi^2$  - 3.12 ) is strongly associated with low level of vitamin D; but neither serum IgE level (p - 0.54;  $\chi^2$  - 10.9) nor skin prick test result on dust mite (p - 0.50,  $\chi^2$  - 5.12 ) was in correlations with serum vitamin D low level.

The presence of vitamin D deficiency effectively predict increased risk of uncontrolled bronchial asthma in children. Serum vitamin D level is related to lung function, Therefore, the normalization of the serum levels of Vitamin D may have beneficial effect on improvement of asthma control in the complex of asthma management and preventive measures.

## REFERENCES

1. Batmaz SB, Arıkoğlu T, Tamer L, Eskandari G, Kuyucu S. Seasonal variation of asthma control, lung function tests and allergic inflammation in relation to vitamin D levels: a prospective annual stud // *Postepy Dermatol Alergol.* 2018;35(1):99-105.
2. Hou C, Zhu X, Chang X. Correlation of vitamin D receptor with bronchial asthma in children. // *Exp Ther Med.* 2018 Mar;15(3):2773-2776.
3. Bai YJ, Dai RJ. Serum levels of vitamin A and 25-hydroxyvitamin D3 (25OHD3) as reflectors of pulmonary function and quality of life (QOL) in children with stable asthma: A case-control study. *Medicine (Baltimore).* 2018 Feb;97(7):e9830.
4. Hall SC, Agrawal DK. Vitamin D and Bronchial Asthma: An Overview of Data From the Past 5 Years. // *Clin Ther.* 2017 May;39(5):917-929
5. Dabbah H, Bar Yoseph R, Livnat G, Hakim F, Bentur L. Bronchial Reactivity, Inflammatory and Allergic Parameters, and Vitamin D Levels in Children With Asthma. // *Respir Care.* 2015 Aug;60(8):1157-63.
6. Checkley W, Robinson CL, Baumann LM, et al. 25-hydroxy vitamin D levels are associated with childhood asthma in a population-based study in Peru // *Clin Exp Allergy.* 2015;45:273–82.
7. Alyasin S, Momen T, Kashef S, Alipour A, Amin R. The relationship between serum 25 hydroxyvitamin D levels and asthma in children // *Allergy Asthma Immunol Res* 2011;3(4):251–255.
8. Hollams EM, Hart PH, Holt BJ, Serralha M, Parsons F, de Klerk NH, et al. Vitamin D and atopy and asthma phenotypes in children: a longitudinal cohort study // *Eur Respir J* 2011;38(6):1320–1327.
9. Szymczak I, Pawliczak R. Can vitamin D help in achieving asthma control? Vitamin D “revisited”: an updated insight. // *Adv Respir Med.* 2018;86(2):103-109.
10. Konstantinopoulou S, Tapia IE. Vitamin D and the lung // *Paediatr Respir Rev.* 2017; 24: 39–43.
11. Hall SC, Fischer KD, Agrawal DK. The impact of vitamin D on asthmatic human airway smooth muscle // *Expert Rev Respir Med.* 2016; 10(2):127-135.
12. Wolsk HM, Chawes BL, Litonjua AA, Hollis BW, Waage J, Stokholm J, Bønnelykke K, Bisgaard H, Weiss ST. Prenatal vitamin D supplementation reduces risk of asthma/recurrent wheeze in early childhood: A combined analysis of two randomized controlled trials // *PLoS One.* 2017; 12(10): e0186657.
13. Igde M, Baran P, Oksuz BG, Topcuoglu S, Karatekin G. Niger Association between the oxidative status, Vitamin D levels and respiratory function in asthmatic children. // *J Clin Pract.* 2018 Jan;21(1):63-68.

## SUMMARY

### ASTHMA CONTROL STATUS AND LUNG FUNCTION IN RELATION TO VITAMIN D LEVEL IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA

Bugadze L., Manjavidze N., Jorjoliani L.

*David Aghmashenebeli University of Georgia, Tbilisi, Georgia*

The aim of the study - low circulating vitamin D level maybe related to poor asthma control status and decreased lung function. The aim of our research is to establish correlation between serum vitamin D level, asthma control status and lung function.

The study was performed in children aged 6-15 years old, including patients with asthma (n=50), who referred to Sachkhere medical center for a visit. The status of asthma control in the basic group was classified as controlled (n=31) and uncontrolled (n=19). The children underwent serum vitamin D and IgE level, spirometry and skin prick tests for the study.

Using the multivariate logistic regression analysis, the presence of asthma was associated with the reduced level of vitamin D (OR = 1.35, 95% CI (1,14-1.58) P = 0.011;  $\chi^2=6.78$ ; F-0.022) in children with uncontrolled bronchial asthma. 48% of the patients in the group- controlled asthma (n=15) had vitamin D deficit, and in 52% of the cases (n=16) was confirmed with vitamin D insufficient. In the group –uncontrolled asthma - 5% of the patients (n=1) had Vitamin D insufficiency in blood serum. In 95% (n=18) of the patients vitamin D level was significantly low <20 ng/ml.

According the results, decreased pulmonary function (p-0.039;  $\chi^2$ -3.12) is strongly associated with low level of vitamin D; but neither serum IgE level (p-0.54;  $\chi^2$ -10.9), nor skin prick test result on dust mite (p-0.50,  $\chi^2$ -5.12 ) was correlations with serum vitamin D low level.

The presence of vitamin D deficiency effectively predict increased risk of uncontrolled bronchial asthma in children. Serum vitamin D level is related to lung function too. Therefore, the normalization of the serum levels of Vitamin D may have beneficial effect on improvement of asthma control in the complex of asthma management and preventive measures.

**Keywords:** vitamin D, children, uncontrolled asthma, prick-test, spirometry, IgE.

## РЕЗЮМЕ

### СТАТУС КОНТРОЛЯ АСТМЫ И ФУНКЦИИ ЛЕГКИХ В ОТНОШЕНИИ УРОВНЯ ВИТАМИНА D У ДЕТЕЙ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

Бугадзе Л.Дж., Манджавидзе Н.Ш., Жоржоллиани Л.Д.

*Грузинский университет им. Давида Агмашенебели, Тбилиси, Грузия*

Низкий уровень витамина D в циркулирующей крови может быть связан с риском развития неконтролируемой астмы и с уменьшением функции легких.

Целью исследования явилось определение корреляции между показателями витамина D, статусом контроля астмы и функцией легки.

Исследованы дети с бронхиальной астмой в возрасте 6-15 лет (n=50), которые посещали Медицинский центр в Сачхере.

По качеству контроля над астмой пациенты были разделены на две группы: Контролируемая астма (n=31) и неконтролируемая астма (n=19). Пациенты проходили исследования: определение иммуноглобулина E и витамина D в сыворотке крови, спирометрия и кожный тест на аллергены.

Согласно многовариантному логистическому регрессионному анализу, наличие неконтролируемой астмы связано с низким уровнем витамина D в сыворотке крови (OR = 1.35, 95% CI (1,14-1.58) P = 0.011;  $\chi^2=6.78$ ; F-0.022). В группе с контролируемой астмой у 15 (48%) пациентов выявлен дефицит витамина D в сыворотке крови, у 16 (52%) - недостаток витамина D. В группе, не контролируемой астмой, у 1 (5%) больного - недостаток витамина D, у остальных

содержание витамина D в сыворотке крови было низким - <20 нг/мл.

Согласно проведенным исследованиям, низкий уровень витамина D коррелирует с нарушением функции легких. (p-0.039;  $\chi^2 - 3.12$ ). Кроме того, ни уровень иммуноглобулина E (p-0.54;  $\chi^2 - 10.9$ ) в сыворотке крови, ни результат кожных тестов (p-0.50,  $\chi^2 - 5.12$ ) не коррелируют с дефицитом витамина D.

Дефицит витамина D эффективно прогнозирует риск развития неконтролируемой астмы у детей. Уровень витамина D тесно связан с снижением функции легких. Нормализация уровня витамина D в сыворотке в комплексе лечения астмы и профилактических мер, может оказать благотворное влияние на улучшение контроля астмы.

### რეზიუმე

ვილტვის ფუნქციისა და ასთმის კონტროლის სტატუსის კავშირი ვიტამინ D-ს დონესთან ბრონქული ასთმის დროს ბავშვებში

ლ. ბუღაძე, ნ. მანჯავიძე, ლ. ჟორჯოლიანი

საქართველოს დავით აღმაშენებლის სახელობის უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანია დავადებით კორელაციური კავშირი ვიტამინ D, ასთმის კონტროლის სტატუსს და ვილტვის ფუნქციის მაჩვენებლებს შორის.

კვლევა მოიცავს 6-დან 15 წლამდე ასაკის ბრონქული ასთმით დაავადებულ ბავშვებს (n=50), რომლებიც იყვნენ ვიზიტზე სანხერის სამედიცინო ცენტრში.

ასთმის კონტროლის ხარისხის მიხედვით მოხდა პაციენტების დაყოფა ორ ქვეჯგუფად: კონტროლირებადი ასთმა (n=31) და არაკონტროლირებადი ასთმა (n=19). პაციენტებს ჩაუტარდათ კვლევები: სისხლის შრატში IgE და ვიტამინ D-ს რაოდენობრივი განსაზღვრა, სპირომეტრიული გამოკვლევა და კანის პრიკტესტი აღერენებზე.

მულტივარიაციული ლოჯისტიკური რეგრესიული ანალიზის მიხედვით, არაკონტროლირებად ბრონქული ასთმის არსებობა დაკავშირებულია სისხლის შრატში ვიტამინ D-ს დაბალ დონესთან (OR = 1.35, 95% CI (1,14-1.58) P = 0.011;  $\chi^2=6.78$ ; F-0.022). 15 (48%) პაციენტს კონტროლირებადი ასთმის ჯგუფიდან აღენიშნებოდა სისხლის შრატში ვიტამინ D-ს დეფიციტი, ხოლო 16 (52%) გამოუვლინდა ვიტამინ D-ს ნაკლებობა. არაკონ-

როლირებადი ასთმის ჯგუფში მხოლოდ 1 (5%) პაციენტს აღენიშნა ვიტამინ D-ს ნაკლებობა, მაშინ როცა 18 (95%) გამოუვლინდა სისხლის შრატში ვიტამინ D-ს მნიშვნელოვნად დაბალი დონე <20 ნგ/მლ.

მიღებული შედეგების მიხედვით, ვიტამინ D-ს დაბალი დონე კორელაციაშია ასევე ვილტვის ფუნქციის დაქვეითებასთან (p-0.039;  $\chi^2-3.12$ ). ამასთან არც სისხლის შრატში IgE დონე (p-0.54;  $\chi^2-10.9$ ), და არც კანის პრიკტესტის შედეგი მტვრის ტეიპაზე (p-0.50,  $\chi^2-5.12$ ) არაა სარწმუნო კორელაციაში ვიტამინ D-ს დეფიციტთან.

ვიტამინ D-ს დეფიციტი ეფექტურად პროგნოზირებს არაკონტროლირებად ბრონქული ასთმის გაზრდილ რისკს ბავშვთა ასაკში. ასევე სისხლის შრატში ვიტამინ D-ს დონე მჭიდროდა დაკავშირებული ვილტვის ფუნქციის დაქვეითებასთან. აქედან გამომდინარე, სისხლის შრატში ვიტამინ D-ს დონის ნორმალიზებითა და ასთმის მართვისა და პროფილაქტიკური ღონისძიებების კომპლექსური ჩატარებით, შესაძლოა გაუმჯობესდეს დაავადების კონტროლის სტატუსი ბრონქული ასთმით დაავადებულ ბავშვებში.

## ПРОБЛЕМЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ АНТЕНАТАЛЬНОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА БЕРЕМЕННЫМИ В СИСТЕМЕ ПЕРВИЧНОГО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГРУЗИИ

<sup>1</sup>Джинчарадзе Н.Г., <sup>2</sup>Казахашвили Н.А., <sup>3</sup>Сакварелидзе И.В.

<sup>1</sup>Университет Грузии; <sup>2</sup>Тбилисский государственный университет;

<sup>3</sup>Тбилисский гуманитарный учебный университет, Грузия

Защита репродуктивного здоровья женщин и предложение антенатального сервиса являются значимыми функциями первичного здравоохранения [11].

Доказано, что адекватным, качественным, интегрированным медицинским уходом до беременности, в процессе беременности, при родах и в послеродовом периоде можно

избежать 54% случаев материнской смертности ежегодно [2,6]. Однако, взаимосвязь частых визитов с хорошим исходом беременности не подтверждается. Часть исследователей предполагает, что излишнее количество визитов в процессе физиологической беременности не рекомендовано [10].

Количество антенатальных визитов в развитых странах различается. В США и Канаде рекомендовано 12-14 антенатальных визитов. Клиника Мейо в 2015 г. с целью управления беременностью, протекающей без осложнений, представила альтернативную модель, предусматривающую 8 визитов и 6 телефонных звонков вместо 12-14 визитов [10].

В Грузии до 1995 г. пренатальное обслуживание включало 12-14 визитов на протяжении беременности. В переходном периоде осуществление стандартной модели пренатального обслуживания стало невозможным ввиду малых ресурсов системы здравоохранения. С 1995 г. грузинское правительство приступило к осуществлению реформы здравоохранения. Забота о здоровье матери и ребенка является одним из основных приоритетов национальной политики здравоохранения. Основным стратегическим направлением реформы системы здравоохранения в Грузии, осуществленной при поддержке Всемирного банка, являются меры, направленные на улучшение здоровья матери и ребенка [1,3].

Задачами проекта Всемирного банка являлись: содействие реориентации системы здравоохранения, развитие общественного и первичного здравоохранения, улучшение медицинского обслуживания матери и ребенка, реабилитация амортизированных предприятий, улучшение качества акушерско-перинатального и педиатрического сервисов, создание системы подготовки кадров – врачей, медсестер, менеджеров здравоохранения путем постдипломного и непрерывного обучения. При активном участии университета Эмори (Emory University, Atlanta, Georgia, USA) подготовлена первая программа резидентуры в педиатрии (Al. Bran). Проект Всемирного банка также предусматривал разработку финансово доступных пакетов базисных медицинских сервисов [5].

В рамках первого проекта Всемирного банка по реформе здравоохранения в Грузии впервые в постсоветский период запланирована и осуществлена модель регионализации перинатальной помощи, подготовлена региональная программа, значительно сократившая нежелательный исход в процессе осложнений, связанных с беременностью и родами [5], в разработке которой принимали участие эксперты крупных университетов США, Великобритании, Канады.

С 1995 г. началось осуществление первой программы защиты здоровья матери и ребенка – «Государственная программа здоровый ребенок и защищенное материнство» («Healthy children and safe motherhood»). С 1996 г. осуществление государственной программы продолжилось на основе принципов обязательного медицинского страхования.

Первая программа антенатального ухода в постсоветской Грузии предусматривала бюджетное финансирование стоимости четырех визитов беременной к врачу общей практики, что, безусловно, было явно недостаточным, исходя из общепринятой практики патронажного наблюдения. Позже, в 2002 году, программа модифицирована в соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [1,3].

В 2002 году ВОЗ опубликовала рекомендации по антенатальному уходу беременных с низким уровнем риска для стран с низкими и средними доходами. Дорожная карта предусматривала 4 обязательных визитов для беременных в учреждения первичного здравоохранения, предоставляющих антенатальный сервис в заблаговременно определенный период и постнатальное посещение [7,9,12,13].

В 2017 году ВОЗ возобновила рекомендации по антена-

тальному уходу, в основу которых легли данные экспертов по поводу необходимости роста охвата беременных антенатальными сервисами, а также планирования визитов и улучшения качества обслуживания. Согласно новой модели ВОЗ, в случае протекания физиологической беременности определились минимум 8 антенатальных визитов [13].

Целью настоящего исследования явилось изучение тенденций состояния здоровья матерей в процессе имплементации Государственных программ антенатального наблюдения в первичных учреждениях здравоохранения Грузии за 1996-2016 гг.

**Материал и методы.** Методологической основой настоящего исследования явился так называемый метод «кабинетного исследования» (desk research): сбор статистических данных, систематизация, описание, сравнение, анализ, интерпретация, анализ данных, отображающих состояние здоровья матерей, полученных из Национального центра контроля заболеваний и общественного здравоохранения, а также из Национальной службы статистики Грузии. Изучены следующие индикаторы: общее количество родов, в том числе на дому и в медицинских учреждениях; доля принятых родов квалифицированным медицинским персоналом; доля своевременного обращения беременных, охвата 4 полными визитами, сохранения беременности до конца, своевременных родов, физиологических, патологических родов, кесаревых сечений (по неотложной помощи); количество и показатель материнской смертности. Для изучения правовой базы использовано постановление правительства Грузии, нормативные акты Министерства здравоохранения, социальной защиты и трудоустройства Грузии.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что количество родов в родильных домах в 1996-2016 гг. возросло с 52114 до 55929, а роды на дому резко уменьшились с 2365 до 11, а доля принятых родов профессиональным медицинским персоналом возросла с 95,8% до 99,8%. Улучшились индикаторы антенатального наблюдения: в 1999-2016 гг. количество обращений и взятия на учет по антенатальным наблюдениям, т.е. до 12-недельного срока беременности возросло с 54% до 84,7%, охват четыремя полноценными антенатальными визитами за тот же период возрос с 60,95% до 81,9% (рис. 1).

Сокращение числа родов на дому, рост доли принятых родов квалифицированным медицинским персоналом, количества своевременного обращения за антенатальным наблюдением, охвата четыремя полноценными антенатальными визитами в Грузии обусловлено реформами в здравоохранении с 1995 года: построены родильные дома, акушерские отделения с усовершенствованной инфраструктурой и оборудованием, внедрены государственные программы, финансово обеспечивающие, как антенатальное наблюдение, так и роды. Проведена переподготовка специалистов, в результате чего в медицинских учреждениях как больших городов так и районов/сел роды принимает квалифицированный медицинский персонал. Значительно улучшилась географическая и финансовая общедоступность сервисов учреждений первичного здравоохранения.

Несмотря на улучшение параметров программы антенатального наблюдения исход родов не улучшился: доля своевременных родов в 1996-2016 гг. снизилась с 93% до 81,9%, а доля сохраненных до конца беременностей с 93% до 89,7 % (рис. 1).

Сокращение доли несохраненных до конца беременно-

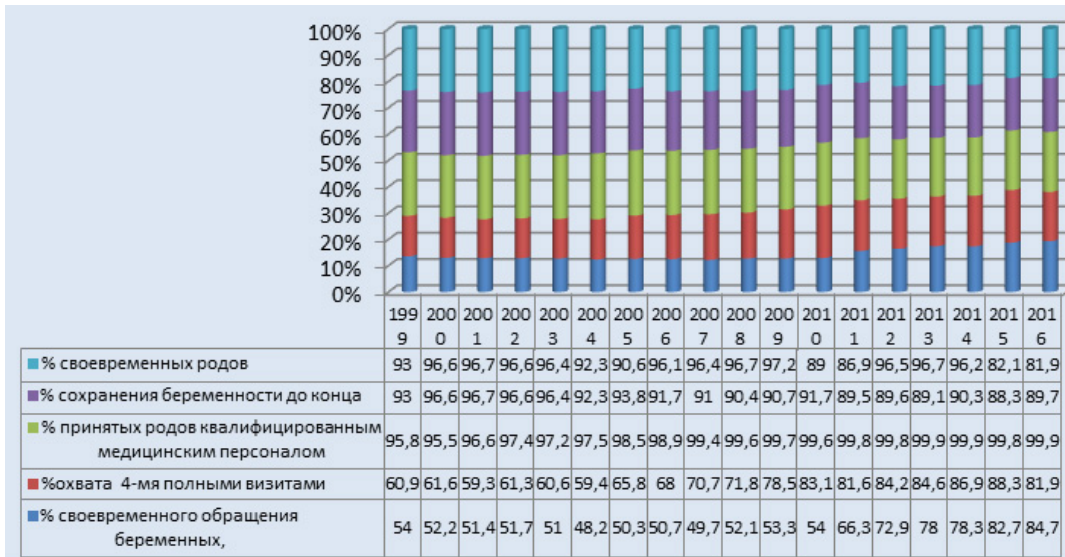


Рис. 1. Показатели статистических данных за 1999- 2016 гг. по данным Национального центра контроля заболеваний и общественного здоровья



Рис. 2. Показатели перинатальной смертности и кесарева сечения за 1996-2016 гг. по данным Национального центра контроля заболеваний и общественного здравоохранения

стей и своевременных родов на фоне улучшения географической и финансовой общедоступности сервисов первичных учреждений здравоохранения, по всей вероятности, объясняется дефицитом выявления, управления и превенции ожидаемых рисков в процессе беременности.

Доля физиологических родов в 1996-2016 гг. сократилась с 72% до 52,7%, а доля патологических родов возросла с 28% до 47,3%, число кесаревых сечений в абсолютных цифрах возросло с 3725 до 24461, процентная доля кесарева сечения в общем количестве родов увеличилась с 6,9% до 43,7%. Наряду с увеличением доли кесарева сечения наблюдается уменьшение перинатальных потерь (рис. 2).

В Грузии процентная доля кесарева сечения в общем количестве родов критически высокая, почти в три раза превышает максимальное число, рекомендованное ВОЗ (10-15%). Кесарево сечение, с одной стороны, уменьшает перинатальные потери, с другой - чрезмерное их количество увеличивает медицинские расходы, показатель задержки в больнице и отрицательное влияние на материнское здоровье: сокращаются репродуктивные способности, возрастают медицинские риски

последующих родов. В силу вышеуказанного совершенно не оправданы подобные темпы роста числа кесарева сечения.

Заслуживают внимания показатели проведения кесарева сечения. В 2000-2016 гг. доля запланированных кесаревых сечений сократилась с 46,8% до 38,6%, доля срочных кесаревых сечений возросла с 53,2% до 61,4%.

Увеличение доли срочных кесаревых сечений следует объяснить, с одной стороны, ростом заболеваний, препятствующих естественному завершению беременности - опасное состояние матери или ребенка, ожидаемые осложнения, указывающие на неэффективный антенатальный уход. С другой стороны, причины частых случаев кесаревых сечений, связаны с организационными мероприятиями - финансирование различными суммами программой всеобщего страхования и частными страховыми пакетами (запланированные/срочные кесарева сечения и кесарева сечения по требованию/естественные роды). Увеличение числа кесарева сечения значительно обусловлено недостаточной информированностью женского населения относительно преимуществ естественных родов.

В 1996-2016 гг. показатели материнской смертности в Грузии сократились с 48,4% до 23% на 100 000 живорожденных, хотя этот показатель далек от целевого показателя устойчивого развития. При этом Грузия занимает 12 место по материнской смертности среди постсоветских стран и намного превосходит показатели Турции и Европы.

Причины материнской смертности в Грузии идентичны глобальным тенденциям: превалирует кровотечение, инфекция, преэклампсия/эклампсия.

Среди заболеваний до периода беременности и в процессе протекания беременности на передний план выступают анемия, инфекции мочеполовой системы, патологии щитовидной железы.

Несмотря на то, что за последние годы с помощью Государственной программы здравоохранения возрос охват антенатальными визитами, показатель летальных исходов матерей по причинам, избежать которые было возможным, все еще остается высоким. Причины материнской смертности, структура заболеваний, развитых до периода беременности и в процессе беременности указывают, что качество медицинского наблюдения в периоды до зачатия и беременности не соответствует международным стандартам.

Таким образом, наряду с улучшением параметров, определяющих антенатальное наблюдение, финансовой и географической доступности сервисов для матери и ребенка в 1996-2016 гг. в стране наблюдался рост неблагоприятных исходов родов: возросла процентная доля патологических родов, сократилась процентная доля физиологических родов, показатели кесарева сечения растут и критически высокие, увеличилась доля преждевременных родов и незавершенной беременности. Понизился показатель материнской смертности, однако он еще далек от целевого показателя устойчивого развития.

С целью улучшения ситуации в системе здравоохранения матери и ребенка рекомендовано осуществить организационные изменения: улучшить качество антенатального ухода и внедрить непрерывное профессиональное развитие врачей/повитух; внедрить бесплатные программы на уровне первичных учреждений здравоохранения с целью выявления и лечения прекоцептуальных хронических либо протекающих латентно заболеваний и обеспечить постнатальное наблюдение в послеродовом периоде.

## ЛИТЕРАТУРА

- საქართველოს დედათა და ახალშობილთა ჯანმრთელობის ხელშეწყობის 2017-2030 წლების ეროვნული სტრატეგიისა და მისი განხორციელების 2017-2019 წლების სამოქმედო გეგმის დამტკიცების თაობაზე საქართველოს მთავრობის დადგენილება №459, 2017 წლის 6 ოქტომბერი <https://matsne.gov.ge/ka>
- ქალთა რეპროდუქციული ჯანმრთელობის კვლევა საქართველოში 2010. თბ.: 2012; 1-393.
- ქალთა რეპროდუქციული ჯანმრთელობის კვლევა საქართველოში. თბ.: 2005; 1-420.
- Bhutta ZA, Das JK, Bahl R, Lawn JE, Salam RA, Paul VK. et al. Can available interventions end preventable deaths in mothers, newborn babies, and stillbirths, and at what cost? *Lancet*. 2014; 384 (9940):347-70.
- Document of The World Bank. STAFF APPRAISAL REPORT. Report No. 15069-GE. GEORGIA. HEALTH PROJECT. APRIL 2, 1996. Municipal and Social Services Division Country Department IV Europe and Central Asia Region. P. 46-47.

6. Ending Preventable Maternal and Newborn Mortality and Stillbirths Effective interventions and strategies. 2015; 1-10.

7. Hodgins. S, D'Agostino. A. The quality-coverage gap in antenatal care: toward better measurement of effective coverage. *Global health, science and practice*. 2014; 2: 173-181.

8. Lassi. Z, Mansoor.T., Rehana. A., Salam. A., et all . Essential pre-pregnancy and pregnancy interventions for improved maternal, newborn and child health. *Reproductive Health* 2014. <http://www.reproductive-health-journal.com>

9. Miltenburg A., Eem L, Nyanz, E, Pelt. S., et all. Antenatal care and opportunities for quality improvement of service provision in resource limited settings: A mixed methods study. *Journal List PLoS One*. 2013; 12(12); 1-17.

10. Ridgeway J.L., Blanc. A.; Branda. M., Harms. R, et all. Implementation of a new prenatal care model to reduce office visits and increase connectivity and continuity of care: protocol for a mixed-methods study. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2015; 15:323.

11. Starfield, B. Primary Care: Balancing Health Needs, Services and Technology. New York, NY: Oxford University Press; 1998.

12 WHO antenatal care randomized trial: manual for the implementation of the new model. Geneva: 2002; 1-42.

13. WHO recommendations on antenatal care for a positive pregnancy experience. World Health Organization: 2016; 1-172.

## SUMMARY

### PROBLEMS OF IMPROVING ANTENATAL MONITORING OF PREGNANT WOMEN IN THE PRIMARY HEALTH CARE SYSTEM IN GEORGIA

<sup>1</sup>Jincharadze N., <sup>2</sup>Kazakhashvili N., <sup>3</sup>Sakvarelidze I.

<sup>1</sup>University of Georgia; <sup>2</sup>Tbilisi State University; <sup>3</sup>Tbilisi Humanitarian Teaching University, Georgia

The purpose of the above work is to study the trends of mothers' health condition according to the implementation of antenatal monitoring of primary healthcare programs in 1996 – 2016 in Georgia.

The methodology basis of the research is the qualitative investigation, so called Desk Research: collecting statistical data, description, systematization, comparison, analyses and interpretation. Data about mothers' health indicators were derived from National Center for Disease Control and Social Health and National Service of Georgian Statistics. Dynamic of the following indicators were studied: Number of births at home and the share of births at medical institution received by the qualified medical personnel, percentage of pregnant women's timely application, covering 4 antenatal visits, full time pregnancy, timely births, physiologic and pathologic births, Caesarean sections (planned, urgent); Number and indicator of mother's deaths. In order to study the law basis, the Statements of Georgian Government, normative acts of Labour, Health and Social Security of Georgia have been used for studying. In 1996 – 2016, as the result of Healthcare reforms, implemented in Georgia up to now, several parameters of antenatal monitoring were improved. The share of timely application and covering full, 4 antenatal visits increased; Share of births, received by qualified medical personnel increased; Number of mothers' mortality significantly decreased, but it is much higher when compared with the developed countries. Following the improvement in monitoring parameters and

financial and geographical availability of antenatal care services, the unfavorable outcome of the pregnancy was revealed: the percentage of pathologic births increased, share of physiologic births decreased. The share of Caesarean sections is increasing and critically high. The share of early deliveries and incomplete period pregnancies increased.

The above mentioned conditions indicate that there are systemic problems in the primary healthcare: In the preconception and then antenatal period, the quality of medical service does not meet the international standard. Assessment of pregnancy and fetal risks, prevention and management are inadequate.

**Keywords:** antenatal care, Caesarean section, Mothers' mortality, perinatal mortality, primary healthcare.

## РЕЗЮМЕ

### ПРОБЛЕМЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ АНТЕНАТАЛЬНОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА БЕРЕМЕННЫМИ В СИСТЕМЕ ПЕРВИЧНОГО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГРУЗИИ

<sup>1</sup>Джинчарадзе Н.Г., <sup>2</sup>Казахашвили Н.А.,  
<sup>3</sup>Сакварелидзе И.В.

<sup>1</sup>Университет Грузии; <sup>2</sup>Тбилисский государственный университет; <sup>3</sup>Тбилисский гуманитарный учебный университет, Грузия

Целью настоящего исследования является определение тенденций состояния здоровья матерей в процессе имплементации государственных программ антенатального наблюдения в первичных учреждениях здравоохранения Грузии за 1996-2016 гг. Методологической основой настоящего исследования является так называемый метод «кабинетного исследования» (desk research): сбор статистических данных, систематизация, описание, сравнение, анализ, интерпретация, анализ данных, отображающих состояние здоровья матерей, полученных из Национального центра контроля заболеваний и общественного здравоохранения и Национальной службы статистики Грузии. Изучены следующие индикаторы: общее количество родов, в том числе на дому и в медицинских учреждениях; доля принятых родов квалифицированным медицинским персоналом; доля своевременного обращения беременных и охвата четырьмя полными визитами, сохранения беременности до конца, своевременных родов, физиологических, патологических родов, кесаревых сечений (по неотложной помощи); количество и показатель материнской смертности. Для изучения правовой базы использованы постановления правительства Грузии, нормативные акты Министерства здравоохранения, социальной защиты и трудоустройства Грузии.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что в 1996-2016 гг. улучшены некоторые показатели антенатального наблюдения – своевременное обращение за антенатальным уходом и показатель охвата четырьмя полными антенатальными визитами; значительно сократилось количество родов на дому, возросла доля принятия родов квалифицированным медицинским персоналом. Показатель материнской смертности за 1996-2016 гг. понизился, однако он еще далек от целевого показателя устойчивого развития. Наряду с улучшением параметров антенатального наблюдения, финансовой и географической доступности сервисов

для матери и ребенка в 1996-2016 гг. в Грузии наблюдался рост неблагоприятных исходов родов: возросла процентная доля патологических родов, сократилась процентная доля физиологических родов, показатели кесарева сечения увеличились до критически высоких значений, выросла доля преждевременных родов и незавершенной беременности.

С целью улучшения ситуации в системе здравоохранения матери и ребенка рекомендовано осуществить организационные изменения: улучшить качество антенатального ухода и внедрить непрерывное профессиональное развитие врачей/повитух; внедрить бесплатные программы на уровне первичных учреждений здравоохранения с целью выявления и лечения преконцептуальных хронических либо протекающих латентно заболеваний и обеспечить постнатальное наблюдение в послеродовом периоде.

## რეზიუმე

პირველადი ჯანდაცვის სისტემაში ორსულთა ანტენატალური მეთვალყურეობის გაუმჯობესების პრობლემები საქართველოში

<sup>1</sup>ნ. ჯინჯარაძე, <sup>2</sup>ნ. ყაზახაშვილი, <sup>3</sup>ნ. საკვარელიძე

<sup>1</sup>საქართველოს უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი; <sup>3</sup>თბილისის ჰუმანიტარული უნივერსიტეტი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა 1996-2016 წწ. საქართველოში პირველადი ჯანდაცვის ანტენატალური მეთვალყურეობის პროგრამების იმპლემენტაციის კვალდაკვალ დედათა ჯანმრთელობის მდგომარეობის ტენდენციების შესწავლა. კვლევის მეთოდოლოგიური საფუძველია თვისებრივი კვლევა, ე.წ. “კაბინეტური კვლევის” მეთოდი (desk research): სტატისტიკური მონაცემების შეკრება, აღწერილობა, სისტემატიზაცია, შედარება, ანალიზი, ინტერპრეტაცია. დედათა ჯანმრთელობის ინდიკატორების შესახებ მონაცემები აღებულია დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანდაცვის ეროვნული ცენტრიდან, საქართველოს სტატისტიკის ეროვნული სამსახურიდან. შესწავლილია შემდეგი ინდიკატორების დინამიკა: მშობიარობათა რაოდენობა ბინაზე და სამედიცინო დაწესებულებაში, კვალიფიციური სამედიცინო პერსონალის მიერ მიღებული მშობიარობების ხვედრითი წილი, ორსულთა დროული მიმართვის, 4 ანტენატალური ვიზიტით მოცვის, ორსულობის ბოლომდე მიტანის, დროული მშობიარობის, ფიზიოლოგიური, პათოლოგიური მშობიარობების, საკეისრო კვეთის (გემიური, სასწრაფო) პროცენტული წილი; დედათა სიკვდილიანობის რაოდენობა და მაჩვენებელი. სამართლებრივი ბაზის შესასწავლად გამოყენებული იყო საქართველოს მთავრობის დადგენილებები, საქართველოს შრომის, ჯანმრთელობის და სოციალური დაცვის სამინისტროს ნორმატიული აქტები.

ჩატარებული კვლევის შედეგები მოწმობს, რომ 1996-2016 წწ. საქართველოში ანტენატალური მეთვალყურეობის განმსაზღვრელი ზოგიერთი პარამეტრი გაუმჯობესდა, კერძოდ, ანტენატალური მეთვალყურეობისათვის დროული მიმართვის და 4 სრული ანტენატალური ვიზიტით მოცვის წილი გაიზარდა; ბინაზე მშობიარობების რაოდენობა მნიშვნელოვნად

შემცირდა, კვალიფიციური მედპერსონალის მიერ მიღებული მშობიარობების წილი გაიზარდა. დედათა სიკვდილიანობის მაჩვენებელი მნიშვნელოვნად შემცირდა, მიუხედავად ამისა ბევრად აღემატება ევროპის ქვეყნების მაჩვენებელს. ანტენატალური მოვლის სერვისებზე ფინანსური და გეოგრაფიული ხელმისაწვდომობის გაუმჯობესების კვალდაკვალ გამოვლინდა ორსულობის არასახარბიელო გამოსავალი: პათოლოგიური მშობიარობების პროცენტული წილი გაიზარდა, ფიზიოლოგიური მშობიარობების წილი შემცირდა, საკეისრო კვეთის წილი ზრდადია და კრი-

ტიკულად მაღალი, ვადამდელი მშობიარობების და ორსულობის დრომდე მიუტანლობის წილი გაიზარდა.

მდგომარეობის გამოსწორების მიზნით რეკომენდებულია დედათა და ბავშვთა ჯანდაცვის სისტემაში ორგანიზაციული ცვლილებების განხორციელება: ანტენატალური მოვლის ხარისხის გაუმჯობესება, ექიმის/ბებიპელების უწყვეტი პროფესიული განვითარების და პირველადი ჯანდაცვის დონეზე უფასო პროგრამების დანერგვა ჩასახვამდე არსებული ქრონიკული ან ლატენტურად მიმდინარე დაავადებების გამოვლენისა და მეურნეობის მიზნით.

## CHARACTERISTICS OF DIARRHEAL DISEASE COMPLICATED WITH HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME AMONG CHILDREN IN GEORGIA, 2009-2016

<sup>1</sup>Chokoshvili O., <sup>2</sup>Vepkhvadze N., <sup>3</sup>Davitaia T., <sup>4</sup>Tevzadze L., <sup>1</sup>Tsertsvadze T.

<sup>1</sup>Infectious Diseases, AIDS and Clinical Immunology Research Center; <sup>2</sup>Tbilisi State Medical University; <sup>3</sup>M. Iashvili Children's Central Hospital; <sup>4</sup>National Center for Disease Control and Public Health, Tbilisi, Georgia

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) causes illness ranging from mild diarrhea, to bloody diarrhea and to the hemolytic uremic syndrome (HUS), which is a life-threatening condition manifesting with a triad of microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia, and acute renal failure [1,2]. Based on clinical presentation and probable etiology, HUS is commonly divided into diarrhea-associated HUS (D+HUS) and non-diarrhea-associated HUS (D-HUS), also called atypical HUS [3]. Usually, around 90% of cases are D+HUS, while 10% are atypical HUS [4-8]. The most common cause of D+HUS in children (under age 15 years) is infection with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) [9], although not all STEC-associated HUS (STEC-HUS) cases present with diarrhea [6,10,11]. There are two main types of Shiga toxins, Shiga toxin 1 and Shiga toxin 2 (Stx 1 and 2). The latter is more frequently found in bacteria causing HUS than Shiga toxin 1 [12]. HUS develops in approximately 6% of patients with STEC O157:H7 infection, but other non-O157 STEC strains have been implicated, particularly in the European region [5-7,13,14]. Outbreaks of STEC infection are frequently associated with meat products, such as ground beef, as well as raw produce, dairy products, contaminated water, or contact with ruminant mammals or ill persons [11].

Most countries don't perform surveillance of bloody diarrhea and HUS. A special study conducted in the US determines various species of enteropathogens as an etiological factor of bloody diarrhea, from them *Shigella* (15.3%), *Campylobacter* (6.2%), *Salmonella* (5.8%), STEC (2.6%) and other enteric pathogens (1.6%) [15]. Another study conducted in Great Britain, Wales shows that 41% of bloody diarrhea cases were caused by *Salmonella* and 39% by *Campylobacter*, only several cases of *Shigella* species were identified [16].

HUS and STEC infections are under epidemiological surveillance in the EU. In 2012, the European Commission updated the European case definition for STEC, requiring laboratory confirmation of Stx or stx gene(s), except when STEC O157 is directly isolated [17].

Georgia is a small Eastern European country situated on the black sea coast, bordering between Russia and Turkey. National

Center for Diseases, Control and Prevention in Georgia (NCDC) reports high incidence of food poisoning 921.6 per 100,000 populations. The aggregated number of diarrheal diseases is collected monthly by the national communicable disease surveillance system of Georgia and is used to produce annual reports. More than three epidemiologically-linked cases of diarrheal diseases trigger an epidemiological investigation, including collecting data of risk factors and laboratory testing results. However, country surveillance system does not register bloody diarrhea or HUS cases in the country [18]. The first outbreak of bloody diarrhea and HUS was officially registered and investigated in Georgia in 2009. From June 1 until December 11, 2009, the team of researchers investigating this outbreak was able to register 87 bloody diarrhea cases. 62 of them had uncomplicated bloody diarrhea and remaining 25 also developed HUS. Stool samples were collected for 76 patients, from which 56 with bloody diarrhea only and 20 HUS cases. Most HUS and bloody diarrhea cases occurred in summer period. From 25 HUS case patients 7 (28%) have died including 2 children at age under five years old. The investigation of this outbreak was supported by US CDC and SC/FELTP. During the study cases of *E. Coli* O104:H4, O103 and other STECs were identified first time in Georgia [19-21].

The primary objective of this study was to determine the annual incidence of bloody diarrhea and diarrhea complicated with D+HUS among children in Georgia from 2009 till 2016. The secondary objective was to assess epidemiological characteristics, etiology and risk factors of bloody diarrhea and HUS in Georgia. Study findings and recommendations for surveillance of HUS among children in Georgia will be provided to the National Center for Diseases, Control and Prevention of Georgia.

**Material and methods.** Retrospective data of bloody diarrhea and HUS among children from 2009 till 2016 years were collected at all main infectious diseases and pediatric hospitals of the republic of Georgia. Medical facilities providing specialized pediatric services for gastrointestinal, infectious and kidney disease, including providing services for dialysis were selected to collect retrospective data on HUS. Medical records were

reviewed to identify suspected diagnosis of HUS and/or other acute kidney failures accompanied with bloody or non-bloody diarrhea. All medical records with susceptible diagnosis matching our case definition of HUS were carefully reviewed and abstracted with paper form for medical record data abstraction. If the clinics were equipped with electronic data collection system the ICD 10 diagnosis: D59.3, N17 and other conditions under our case definitions were searched and reviewed.

Clinical laboratory data of general blood count, hemoglobin, platelet count, creatinine and bacteriological test results were collected for all probable cases of HUS from laboratory journals and medical records. To detect probable STEC or other enteric pathogens identified we reviewed all available laboratory journal records of the microbiological and molecular laboratories of National Center for Diseases Control and Public Health of Georgia (NCDC).

Special algorithm for detection, isolation and genetic characterization of toxigenic *E. coli* had been developed by dedicated personnel of laboratory at NCDC in collaboration with US CDC colleagues. Based on these algorithm, stool specimens received in bacteriological laboratory are enriched in broth and plated on the selective agar media. After 24-hour incubation on 37°C, samples are transferred to molecular biology lab for DNA extraction and testing on STEC confirmatory PCR (*stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*). Obtained cultures are tested with conventional multiplex PCR assays for final confirmation and detection of STEC and EAEC markers. Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) using XbaI restriction enzyme according to the PulseNet (PN) standard protocol for non-O157 STEC is conducted for molecular genotyping [22].

#### Case definition

Patients were identified based on clearly defined case definitions:

Age under 15 years.

A case of diarrhea was defined as >3 patient-reported loose stools in 24 hours.

A case of HUS was defined as laboratory confirmed anemia and kidney damage elevated:

- Creatinine,
- Hematuria,
- or Proteinuria occurring within 21 days after diarrheal illness [2].

Laboratory, clinical and epidemiological data was entered into electronic database. Data was cleaned, de-identified, coded and prepared for analysis. Descriptive statistics, proportions, incidence rates, means and medians were calculated in R statistical language using statistical package R for windows v 3.4.3 R packages “epitools” and package “ggplot” were used for incidence data analysis and epidemiological curve generation.

This study is the one of the research study of the PhD program in preventive medicine. The name of PhD program “Epidemiological characteristics of bloody diarrhea and Hemolytic Uremic Syndrome and its prevention in Georgia”. The institutional Review Board of Human Studies at the Tbilisi State Medical University provided ethical approval for the PHD program and for this study.

**Results and their discussion.** A total of 316 cases of bloody diarrhea were identified, from them 64 (20.2%) cases complicated with HUS were identified from 2009 until 2016. Median age was 3 years, with range (0 to 15). From 316 registered cases 178 (56%) were boys and 138 (44%) were girls (Table 1). Cases were unevenly distributed by regions, 269 (85.2% including 212 cases from Tbilisi) were registered in East Georgia and 47 (14.8%) in west Georgia. The incidence rate of Bloody Diarrhea and HUS was high in Eastern regions of Georgia, including Tbilisi, Kartli, Mtsketa\_Mtianeti and Samtske\_javakheti. 110 (34.8%) cases were identified at Infectious Diseases AIDS and Clinical Immunology Research Center, another 197 (62.3%) cases registered in the M. Iashvili Children’s Central Hospital and few cases at different medical centers. From total registered cases 245 (77.5%) had history of antibiotic use before collection stool samples in the clinic, among them 55 (22.4%) were patients with HUS.

From 316 patients 5 (1.6%) have died, all of them with severe complications of HUS. Average incidence rate per 100,000 populations for 2009-2016 was 0.3 for HUS and 2 for bloody diarrhea. The highest IR was identified in children at age group 1-4 years, average IR for bloody diarrhea was 8.8 and 1.8 for HUS per 100,000 children (Table 1).

Based on findings of retrospective medical record review, case detection increases since 2011 and the highest number of all cases particularly Bloody Diarrhea are registered in 2015-2016, throughout the period of active surveillance was carried out. The monitoring of trends reveals that number of cases of both conditions increases in summer and autumn, from June till October (Fig. 1).

Epidemiological data was analyzed through clinical symptoms and possible risk factors including consumption different food products. The main clinical symptoms were bloody diarrhea, vomiting 277 (87.7%), fever 59 (18.7%), weakness 244 (77.2%) and headache 115 (36.4%). A total of 132 (41.47%) patients were interviewed and specially designed open-ended questionnaires filled and entered into web based database. Diarrheal diseases at last month was reported by 11 (8.3%) patients, contact with person with diarrheal diseases was reported by 24 (18.2%) patients. 81 (61.4%) reported any contact with domes-

Table 1. Cases, percent and average incidence rates of Bloody Diarrhea and HUS in Georgia, 2009-2016

Categories	Bloody Diarrhea (n=252)			HUS (n=64)			Total (n=316)		
	N	%	IR	N	%	IR	N	%	IR
Gender/Age									
M	139	55.2		39	60.9		178	56.33	
F	113	44.8		25	39.1		138	43.67	
<1	28	11.1	6.0	0	0.0	0.0	28	8.9	6.0
1—4	151	59.9	8.8	32	50.0	1.8	183	57.9	10.7
5—9	51	20.2	2.7	19	29.7	1.0	70	22.2	3.7
10—14	22	8.7	1.1	13	20.3	0.7	35	11.1	1.8
Total	252	100.0	5.7	64	100.0	0.8	316	100.0	6.4

\* IR – incidence rate



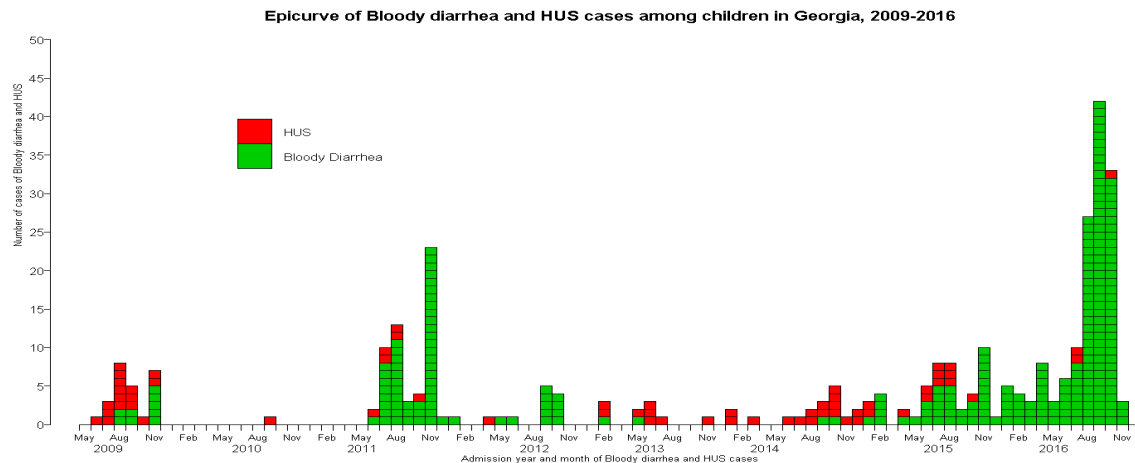


Fig. 1. Epidemiological curve for *Bl. Diarrhea* and HUS in Georgia 2009-2016

Table 2. Risk factors of Bloody diarrhea and HUS cases in Georgia, 2009-2016

Risk factors	Exposed			Unexposed			RR	P value
	HUS	N	AR %	HUS	N	AR %		
Diarrhea last month	2	11	18.2%	24	123	19.5%	0.9	1
Have animal at home	13	81	16.0%	11	51	21.6%	0.7	0.48
Hand washing	10	89	11.2%	54	227	23.8%	0.5	0.01
Sausage products consumed	5	18	27.8%	19	114	16.7%	1.7	0.32
Ice-cream	11	22	50.0%	13	110	11.8%	4.2	<0.001
Dairy products	7	17	41.2%	17	115	14.8%	2.8	0.01
Not properly washed fruits	15	28	53.6%	9	104	8.7%	6.2	<0.001
Not properly washed vegetables	11	26	42.3%	13	106	12.3%	3.5	0.001
Ground beef, undercooked	10	18	55.6%	14	114	12.3%	4.5	<0.001

tic animals, touch and/or feed them, more than 63% of those reported contact with dogs.

Additional data analysis of risk factors was done to compare different risk factors between bloody diarrhea and HUS. High risk rate ratios for food products consumed by persons with bloody diarrhea either complicated with HUS or not were ice-creams produced locally (RR 4.23 P<0.001), some dairy products (RR 2.79 P=0.01), undercooked ground beef products (RR 4.52 P<0.001). Another highest attack rate ratio was identified for fruits (RR 6.19 P<0.001) and vegetables (RR 3.45 P<0.001) used without or incomplete washing (Table 2).

Any bacteriological results were identified for 105 (33.2%) cases. From them 51 (53.7%) were various species of *Shigella*, including *Shigella Sonnei*, *Dysenteriae* and *Flexneri*. 16 (16.8%) results identified were species of *Salmonella*. Another 21 (20.0%) were different types of *shiga* toxin producing *E. coli* (STEC) species. They were typed for “O” antigen with monovalent and polyvalent sera available in laboratory at the time of testing. Results were following: *E. Coli* O26 identified in 4 (16.7%) cases, *E. Coli* 111, *E. Coli* O103 and *E. Coli* O451 (4.2%) of cases. *E. Coli* O104:H4 was detected in 2 (8.3%) cases and *E. Coli* O174 in 1 (4.2%) case. Remaining 11 *E. Coli* strains had positive results on polyvalent sera, able to detect serotypes of *E. coli* O157, O26, O103, O111, O145. Left over stool sample results were *Amoeba dysente-*

*riae* and various species of *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Proteus* in less than 5 % of cases each.

A total of 38 stool samples had positive results on the molecular methods to identify shigatoxin genes: *stx1*, *stx2*. Intimin gene (*eae*) and hemolysin (*ehxA*). Testing results revealed 2 (5.3%) *stx 1*, 22 (57.9%) *stx 2*, 23 (60.5%) *eae* and 10 (26.3 %) *ehxA* (Table 3).

From total of 64 registered Hemolytic uremic syndrome (HUS) cases 39 (60.1%) were boys. Median age was 4.5 years with IQR (6.25). 43 (67.2%) registered cases were from East Georgia including 30 cases in Tbilisi. At the early stage of diseases most common symptoms were diarrhea, vomiting, weakness and headache. Fever more than 37 degrees of Celsius was registered only in 9% of cases. Among 64 HUS patients 5 (7.8%) have died, from them four children at age under 5 years. Stool samples were collected and tested for 57 (89.0%) patients. Any bacteriological results were detected for 10 (15.6%) of cases. From them 7 (70.0%) were STEC serotypes, including 3 positive test on polyvalent sera on *E. Coli* (O157, O26, O103, O111, O145), one positive test result on *E. Coli* O26 and *E. Coli* O111 each and two positive results on O104:H4 antiserum. From remaining three samples one *Klebsiella* and two *Pseudomonas* cases were detected. 9 stool samples had any results on multiplex PCR. From them genes of *stx 2* were detected in 8 stool samples, *eae* for three and *ehxA* for three, among those some patients had positive results on more than one gene same time.

Table 3. Laboratory results of Bloody Diarrhea and HUS in Georgia, 2009-2016

Laboratory results	Bloody Diarrhea (n=95)		HUS (n=10)		Total (n=105)	
	N	%	N	%	N	%
Bacteriology results						
Shigella Spp.	51	53.7	0	0	51	48.6
Shigella Sonnei	40	78.4	0	0.0	40	78.4
Shigella Flexneri	8	15.7	0	0.0	8	15.7
Shigella Boidy	2	3.9	0	0.0	2	3.9
Shigella Dysenteriae	1	2.0	0	0.0	1	2.0
Salmonella spp.	16	16.8	0	0	16	15.2
Salmonella Enteritidis	8	50.0	0	0.0	8	50.0
Salmonella Typhimurium	8	50.0	0	0.0	8	50.0
E. coli	14	14.7	7	70.0	21	20.0
E. coli (O157,O26,O103,O111,O145)	8	57.1	3	30.0	11	45.8
E. coli O26	3	21.4	1	10.0	4	16.7
E. coli O111	0	0.0	1	10.0	1	4.2
E. coli O103	1	7.1	0	0.0	1	4.2
E. coli O104:H4	0	0.0	2	20.0	2	8.3
E. coli O45	1	7.1	0	0.0	1	4.2
E. coli O174	1	7.1	0	0.0	1	4.2
Ps. Aeruginosa	5	5.3	2	20.0	7	6.7
Proteus Mirabilis	1	1.1	0	0.0	1	1.0
Proteus Vulgaris	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Amoeba Dysenteriae	6	6.3	0	0.0	6	5.7
Klebsiella Spp.	2	2.1	1	10.0	3	2.9
Tested on virulence genes PCR	n=29		n=9		n=38	
Multiplex PCR results	N	%	N	%	N	%
stx 1	2	6.9	0	0.0	2	5.3
stx 2	14	48.3	8	88.9	22	57.9
Eae	20	69.0	3	33.3	23	60.5
Ehly	7	24.1	3	33.3	10	26.3

**Conclusions.** The results of our study suggest that bloody diarrhea and HUS affects children under 15 years, particularly at age under five years. The number of new cases increases from June until October. Use of antibiotics to treat bloody diarrhea and HUS is still high (overall 77.5%). It was principally high for HUS patients and affected detection of bacteriological culture (14.1%) in the stool samples of HUS patients. Most cases were registered at the Infectious Diseases, AIDS and Clinical Immunology Research Center and Children's Central Hospital. Majority of cases were from regions of East Georgia and from Tbilisi. The cases of death were registered mostly during outbreak of HUS in 2009 and only several cases after this period and death rate was high. We believe that treatment and outcomes of bloody diarrhea, particularly complicated with HUS improved last years and the level of fatal outcomes decreased, but underreporting of undetected death associated with HUS is also possible.

The main causes of bloody diarrhea at the age under 15 were *Shigella* species almost half (48.6%) of cases, 20.0% by *E. Coli*

and 15.2 % *Salmonella* Species. 45.8% of STEC cultures were positively reacted on polyvalent sera for *E. Coli* (O157, O26, O103, O111, O145), *E. Coli* O26 (16.7%) and O111 (4.2 %). Most prevailed STEC genes detected by multiplex PCR were *stx2*, *eae* and *ehly*. Cases of HUS are associated with different pathogenic *E. coli* species.

Epidemiological data suggests that contact with animals, lack habits of hand washing and washing fruits and vegetables, undercooked meat products, eating some ice-cream or dairy products could be a possible risk factors of exposure with enteric pathogens and developing bloody diarrhea and HUS among children in Georgia. The incidence rates of bloody diarrhea and HUS identified is high among children and requires timely detection and treatment for all cases to prevent further complications and death induced by complications of HUS.

We recommend establishing syndrome surveillance or case registration of Bloody diarrhea and HUS in Georgia, to monitor the trend of those conditions and increase timely detection of

cases. We also recommend to provide case definition and adequate information or trainings to the physicians providing care for patients with diarrheal diseases and acute kidney failures.

The main limitation of our laboratory finding was insufficient further serotyping of *E. Coli* strains positive on polyvalent sera, as well as insufficient PCR testing particularly previous years. There is lack or no information of spread of STEC, *Shigella*, *Salmonella* and other enteric pathogens in different food products. Detection enteric pathogens in the food products is difficult and are available with limited manner during outbreaks. Further limitation of our study might be consider that we were not able to collect data from all main clinics of Georgia, particularly private clinics and there are still cases not included in this data analysis. Detection of many possible sources of enteric pathogens during study, emphasizes the requirement of further investigations of food products to determine real sources of bloody diarrhea and HUS among children in Georgia.

## REFERENCES

1. Tarr, P.I., C.A. Gordon, and W.L. Chandler, Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome // *Lancet*, 2005. 365(9464): p. 1073-86.
2. Case Definitions for Infectious Conditions Under Public Health Surveillance // *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report* 1997(46(RR10)): p. 1-55.
3. Besbas, N., et al., A classification of hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and related disorders // *Kidney Int*, 2006. 70(3): p. 423-31.
4. Bitzan, M., et al., The role of *Escherichia coli* O 157 infections in the classical (enteropathic) haemolytic uraemic syndrome: results of a Central European, multicentre study // *Epidemiol Infect*, 1993. 110(2): p. 183-96.
5. Richard M. Lynn, S.J.O.B.e.a., Childhood Hemolytic Uremic Syndrome, United Kingdom and Ireland Emerging Infectious Diseases • [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid). , 2005. 11(4, April).
6. Angela Gerber, H.K.e.a., Clinical Course and the Role of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infection in the Hemolytic-Uremic Syndrome in Pediatric Patients, 1997–2000, in Germany and Austria: A Prospective Study // *The Journal of Infectious Diseases*, 2002. 186: p. 493–500
7. Alexandra Schifferli, R.O.v.V.e.a., Hemolytic-uremic syndrome in Switzerland: a nationwide surveillance 1997–2003 // *Eur J Pediatr* (2010) 169:591–598 DOI 10.1007/s00431-009-1079-9, 2010.
8. Constantinescu, A.R., et al., Non-enteropathic hemolytic uremic syndrome: causes and short-term course // *Am J Kidney Dis*, 2004. 43(6): p. 976-82.
9. Kaplan BS, M.K., Schulman SL, The pathogenesis and treatment of hemolytic uremic syndrome. // *J Am Soc Nephrol* 1998,, 1998. 9(1126-1133).
10. Caprioli, A., et al., Hemolytic-uremic syndrome and Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* infection in Italy. The HUS Italian Study Group// *J Infect Dis*, 1992. 166(1): p. 154-8.
11. Alberto E. Tozzi, A.C.e.a., Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infections Associated with Hemolytic Uremic Syndrome, Italy, 1988–2000 // *Emerging Infectious Diseases*, 2003, January. 9(1).
12. Jenssen, G.R., et al., Incidence and etiology of hemolytic-uremic syndrome in children in Norway, 1999-2008--a retrospective study of hospital records to assess the sensitivity of surveillance // *BMC Infect Dis*, 2014. 14: p. 265.
13. Emmanuelle Espie, D., PhD, Francine Grimont, PharmD. , Surveillance of Hemolytic Uremic Syndrome in Children Less Than 15 Years of Age, a System to Monitor O157 and Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infections in France, 1996–2006 // *The Pediatric Infectious Disease Journal* 2008. 27(November 7).
14. Gould, L.H., et al., Hemolytic uremic syndrome and death in persons with *Escherichia coli* O157:H7 infection, foodborne diseases active surveillance network sites, 2000-2006 // *Clin Infect Dis*, 2009. 49(10): p. 1480-5.
15. David A. Talan, G.J.M., at all Etiology of Bloody Diarrhea among Patients Presenting to United States Emergency Departments: Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and Other Enteropathogens. // *Clinical Infectious Diseases*., 2001. 32(4): p. 573-580.
16. Chalmers, R.M. and R.L. Salmon, Primary care surveillance for acute bloody diarrhea, Wales // *Emerg Infect Dis*, 2000. 6(4): p. 412-4.
- 17 The European Commission: Case Definitions of Communicable Diseases. Available from: <http://eur-lex.europa.eu/>.
18. [www.ncdc.gov](http://www.ncdc.gov) web page of National center for diseases control and prevention. National epid surveillance document.
19. Chokoshvili, O., et al., Investigation of an outbreak of bloody diarrhea complicated with hemolytic uremic syndrome // *J Epidemiol Glob Health*, 2014. 4(4): p. 249-59.
20. Ahmed, S.A., et al., Genomic comparison of *Escherichia coli* O104:H4 isolates from 2009 and 2011 reveals plasmid, and prophage heterogeneity, including shiga toxin encoding phage stx2 // *PLoS One*, 2012. 7(11): p. e48228.
21. Chokoshvili, O., New challenge for national public health, Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) Republic of Georgia, 2009. Selected Poster Presentations for 2010 TEPHINET Global Conference in Cape Town South Africa, 2010.
22. Paton AW, P.J., Detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex PCR assays for stx1, stx2, eaeA, enterohemorrhagic *E. coli* hlyA, rfbO111, and rfbO157// *J Clin Microbiol* 1998; 36:598-602.

## SUMMARY

### CHARACTERISTICS OF DIARRHEAL DISEASE COMPLICATED WITH HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME AMONG CHILDREN IN GEORGIA, 2009-2016

<sup>1</sup>Chokoshvili O., <sup>2</sup>Vepkhvadze N., <sup>3</sup>Davitaia T., <sup>4</sup>Tevzadze L., <sup>1</sup>Tsertsvadze T.

<sup>1</sup>*Infectious Diseases, AIDS and Clinical Immunology Research Center*; <sup>2</sup>*Tbilisi State Medical University*; <sup>3</sup>*M. Iashvili Children's Central Hospital*; <sup>4</sup>*National Center for Disease Control and Public Health, Tbilisi, Georgia*

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) causes illness ranging from mild diarrhea to bloody diarrhea, to the hemolytic uremic syndrome (HUS), which manifests with a triad of microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia and acute renal failure. Surveillance of HUS and bloody diarrhea is not performed in Georgia. The primary objective of our study was to determine the annual incidence of diarrheal diseases. The secondary objective was to assess epidemiological characteristics, etiology and risk factors of diarrhea and HUS in Georgia among children under 15.

We collected a retrospective data on diarrheal diseases particularly bloody diarrhea and HUS among children in Georgia in

2009-2016 years. Laboratory, clinical and epidemiological data was entered into electronic database. Descriptive statistics, proportions, incidence rates, means and medians were calculated in R statistical language using statistical package R for windows v 3.4.3.

A total of 316 cases of bloody diarrhea including 64 (20.2%) cases complicated with HUS under age 15 were identified from 2009 until 2016. From 316 patients 5 (1.6%) have died, all of them with diagnosis and severe complications of HUS. Average rate of HUS per 100,000 populations during 2009-2016 was 0.3 and for bloody diarrhea 2 per 100,000. High RR for food products consumed by children with bloody diarrhea either complicated with HUS or not were various ice-creams produced locally (RR 4.23 P<0.001), dairy products (RR 2.79 P = 0.01), ground beef products (RR 4.52 P<0.001). The another highest attack ratio was identified for fruits (RR 6.19 P<0.001) and vegetables (RR 3.45 P < 0.001). Different enteric pathogens including shiga toxin producing *E. coli* was detected as etiology of diarrheal diseases and HUS. Epidemiological data suggests that inadequately washed fruits, vegetables and eating undercooked food and ice-cream could be a possible risk factors of exposure with enteric pathogens and developing diarrhea and HUS among children. Further investigations of food products are required to determine epidemiology and source food products of bloody diarrhea and HUS among children in Georgia.

**Keywords:** HUS, Bloody diarrhea, incidence, STEC, *E. coli*.

## РЕЗЮМЕ

### ОСОБЕННОСТИ ДИАРЕЙНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ОСЛОЖНЕННЫХ ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ, У ДЕТЕЙ В ГРУЗИИ

<sup>1</sup>Чокошвили О.Н., <sup>2</sup>Вепхвадзе Н.Р., <sup>3</sup>Давитая Т.Г.,  
<sup>4</sup>Тевзадзе Л.П., <sup>1</sup>Церцвадзе Т.Н.

<sup>1</sup>Научно-практический центр инфекционной патологии, СПИДа и клинической иммунологии; <sup>2</sup>Тбилисский государственный медицинский университет; <sup>3</sup>Центральная детская больница им. М. Иашивили; <sup>4</sup>Национальный центр по контролю заболеваний и общественного здоровья, Тбилиси, Грузия

Shiga-токсин продуцирующая *Escherichia coli* (STEC) вызывает как легкую, так и осложненную гемоколитом и гемолитико-уремическим синдромом (ГУС) диарею. ГУС характеризуется триадой микроангиопатической анемии, тромбоцитопении и острой почечной недостаточности. В Грузии кровавая диарея и ГУС по сей день не находятся под должным наблюдением.

Целью исследования явилась оценка и определение эпидемиологических особенностей и факторов риска диарейных заболеваний, в том числе гемоколитов и гемолитико-уремического синдрома среди детского населения в Грузии.

Изучены ретроспективные данные о диарейных заболеваниях и ГУС среди детей до 15 лет в Грузии за 2009-2016 гг. Лабораторные, клинические и эпидемиологические данные внесены в электронную базу. Статистический анализ проведен с использованием R for windows v 3.4.3.

Изучено 316 случаев кровавой диареи, в том числе 64 (20,2%) случаев, осложненных ГУС-ом. Среди 316 паци-

ентов умерло 5 (1,6%). Причиной смерти во всех случаях явились ГУС или ассоциированные с ним состояния.

Средний показатель заболеваемости ГУС-ом за период 2009-2016 гг. составил 0,3, кровавой диареей - 2 на 100 000 населения. Сравнительный анализ факторов риска выявил, что повышенный риск развития этих заболеваний ассоциируется с употреблением мороженого различных сортов (RR 4.23 P<0.001), молочных продуктов (RR 2.79 P=0.01), термически недостаточно обработанных мясных продуктов (RR 4.52 P<0.001) и невымытых фруктов (RR 6.19 P<0.001) и овощей (RR 3.45 P<0.001).

В результате проведенного исследования установлено, что кровавые диареи среди детей до 15 лет вызваны различными энтеропатогенами, в том числе Shiga-токсин продуцирующей *E. coli*.

Анализ эпидемиологических данных свидетельствует о росте риска развития кровавых диарей и ГУС в детском возрасте при потреблении термически несоответственно обработанных мясных продуктов, мытых или невымытых фруктов и овощей, некоторых видов мороженого.

Полученные данные свидетельствуют, что для выявления пищевых продуктов, являющихся источниками распространения возбудителей вышеуказанных заболеваний, необходимо проведение дополнительных бактериологических, серологических и молекулярных исследований.

## რეზიუმე

ჰემოლიზურ-ურემიული სინდრომით გართულებული დიარეების თავისებურებები ბავშვთა ასაკში საქართველოში,

<sup>1</sup>ო. ჩოკოშვილი, <sup>2</sup>ნ. ვეფხვაძე, <sup>3</sup>თ. დავითაია, <sup>4</sup>ლ. თევზაძე,  
<sup>1</sup>თ. ცერცვაძე

<sup>1</sup>ინფექციური პათოლოგიის, შიდსისა და კლინიკური იმუნოლოგიის სამეცნიერო-პრაქტიკული ცენტრი; <sup>2</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>3</sup>მ. იაშვილის სახ. ბავშვთა ცენტრალური საავადმყოფო; <sup>4</sup>დაავადებათა კონტროლის და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრი, თბილისი, საქართველო

Shiga-ტოქსინის მაპროდუცირებელი ნაწლავის ჩხირით გამოწვეული დიარეა მერყეობს მსუბუქი დიარეიდან ჰემოკოლიტიტით და ჰემოლიზურ-ურემიული სინდრომით (ჰუს) გართულებულ დიარეამდე. ჰუს ხასიათდება მიკროანგიოპათიური ანემიის, თრომბოციტოპენიის და თირკმლის მწვავე უკმარისობის ტრიადით. სისხლიანი დიარეა და ჰუს არ მიეკუთვნება ზედამხედველობას დაქვემდებარებულ მდგომარეობას საქართველოში.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა დიარეის, მათ შორის სისხლიანი დიარეის და ჰემოლიზურ-ურემიული სინდრომის დაავადების შეფასება, ეპიდემიოლოგიური თავისებურებების და რისკის ფაქტორების განსაზღვრა საქართველოში 15 წლამდე ასაკის ბავშვებში.

შესწავლილია 2009-2016 წლების რეტროსპექტიული მონაცემები ჰემოკოლიტიტების და ჰუს-ის შესახებ ბავშვთა ასაკში საქართველოში. დამატებითი ლაბორატორიული, კლინიკური და ეპიდემიოლოგიური მონაცემები შეტანილია მონაცემთა ელექტრონულ ბაზაში.

სტატისტიკური ანალიზი ჩატარდა R for windows v 3.4.3 გამოყენებით.

დეტალურად შეწავილია 316 სისხლიანი დიარეის და მათ შორის 64 (20,2%) ჰუს-ით გართულებული დიარეის შემთხვევა, რომლებიც დაფიქსირებულია 2009-2016 წწ. 316-დან 5 (1,6%) პაციენტი გარდაიცვალა ჰუს-ით ან მასთან ასოცირებული მდგომარეობის შედეგად.

ჰუს-ით ავადობის საშუალო მანქვენებელმა 2009-2016 წლებში შეადგენდა 0,3, სისხლიანი დიარეების - 2 ყოველ 100,000 მოსახლეზე. რისკ-ფაქტორების მონაცემების შედარებითმა ანალიზმა გამოავლინა, რომ აღნიშნული დაავადებების განვითარების მომატებული რისკი ასოცირებულია ნაყინის (RR 4.23 P<0.001), რძის ნაწარმის (RR 2.79 P=0.01), თერმულად არასათანადოდ დამუშავებული ხორცის პროდუქტის (RR 4.52 P<0.001) გამოყენებასთან. სისხლიანი დიარეის განვითარების მძალა რისკი ასევე დაკავშირებულია

არასათანადოდ გარეცხილი ან გაურეცხავი ხილის (RR 6.19 P<0.001) და ბოსტნეულის (RR 3.45 P<0.001) მოხმარებასთან.

კვლევის შედეგად დადგენილია, რომ 15 წლამდე ბავშვთა ასაკში სისხლიანი დიარეები გამოწვეულია სხვადასხვა ენტეროპათოგენებით და მათ შორის - Shiga-ტოქსინის გამომყოფი ეშერიხია კოლის შტამით. ეპიდემიოლოგიური მონაცემების ანალიზმა გამოავლინა, რომ ბავშვთა ასაკში სისხლიანი დიარეების და ჰუს-ის განვითარების რისკი იზრდება თერმულად არასათანადოდ დამუშავებული ხორცის პროდუქტების, ცუდად გარეცხილი ხილის, ბოსტნეულის და ზოგიერთი სახეობის ნაყინის მიღების დროს. კვლევის შედეგად გამოიკვეთა საკვები პროდუქტების დამატებითი ბაქტერიოლოგიური, სეროლოგიური და მოლეკულური კვლევების ჩატარების აუცილებლობა აღნიშნული დაავადებების გავრცელების და ინფექციის გამომწვევი წყარო-პროდუქტების დასაზუსტებლად.

## DISTRIBUTION AND DEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF DUCTAL INVASIVE BREAST CARCINOMA SUBTYPES IN GEORGIAN POPULATION

<sup>1</sup>Mariamidze A., <sup>1,2</sup>Gogiashvili L., <sup>1,4</sup>Khardzeishvili O., <sup>3</sup>Javakhishvili T., <sup>3</sup>Makaridze D., <sup>2</sup>Jandieri K.

<sup>1</sup>David Tvildiani Medical University; <sup>2</sup>Iv. Javakhishvili Tbilisi State University, A. Natishvili Institute of Morphology;

<sup>3</sup>Pathology Research Center; <sup>4</sup>Tbilisi State Medical University, Georgia

Breast cancer represents a multi-level genetic pathology characterized by intra-neoplastic heterogeneity, different malignancy grades and respectively, by different clinical course, complications and alternating sensitivity to various treatment approaches. The clinical course and prognosis of histological entity called ductal invasive breast carcinoma depends on multiple factors, including female age, different tumor parameters, which by itself involves tumor size and presence of metastases in axillary lymph nodes [2]; phenotypic characteristics have also been indicated to be significant, according to which 5 subtypes of invasive breast carcinoma are defined: luminal A, luminal B, Her2(+) and triple-negative, including the so-called basal-like and normal breast-like tumor subtypes.

Triple-negative breast carcinoma (TNBC) is one of the histological types of invasive ductal carcinoma the prevalence of which reaches 15-20%. According to international sources, this tumor variant is observed more in the west hemisphere countries, Brazil [11,12] mostly in younger age population.

Clinically, TNBC is defined by several specificities, including ER-PR (-) negative receptors and HER2-negative amplification. Clinically it is characterized by rapid growth [7,10] and fast progression of the local alterations, due to which most of the patients are diagnosed as stage III state (NCCN Guidelines) (vol. 2017).

TNBC accounts for 10-30% of all mentioned tumors in Georgia. 25% of these cases are stage III, while 47% of the cases are graded as stage II [9,10]

TNBC is characterized by wide and extended variations of gene mutations, which are frequently associated with incomplete homogeneous gene recombinations [5], which significantly complicates the treatment scheme and increases prognostic risks [2].

Age-related distribution of breast cancer is not in correlation with regional or ethnic groups of population, which is important

to know for correct definition of age range for cancer screening program and identification of regional age risk groups.

Aim - based on all above-mentioned the aim of the study is to investigate the characteristics of age-related distribution of histological subtypes of invasive breast carcinoma in the region of Georgia.

**Material and methods.** The study involves retrospective data from National Cancer Center. The study protocol was developed according to the regulations provided by institutional group (Tbilisi National Cancer Center).

362 patients with invasive ductal breast carcinoma were selected randomly with age range from 30 to 89 years. Malignancy degree was assessed by Elston/Nottingham modification of Bloom-Richardson system. ER, PR, HER-2, CK5 positivity was evaluated by double-blind method by 2 pathologists. The acquired results demonstrated 5 subtypes of breast carcinoma: Luminal A, Luminal B, Her2(+) triple-negative and triple-negative CK5(+)-positive patterns. The age range of patients was divided into 10 year gap intervals. Accordingly, group I involved 30-39 year old patients, group II - 40-49 year old patients, group III - 50-59 year old patients, group IV - 60-69 year old patients, group V - 70-79 year old patients and group VI - 80-89 year old patients.

Statistical study was performed by SPSS21 RS-version program, confidence interval for P coefficient was defined as <0.05.

**Results and their discussion.** Analysis of the data showed that histological types of tumor was distributed in the age groups by following pattern: Luminal A subtype was seen mostly in 30-39 year old age range (62.15%) (Fig. 1, a, b).

The second most prevalent subtype was Her2(+) variant (17.4%) (Fig. 2 a, b), although it was 3-4 times less frequent compared with Luminal A type.

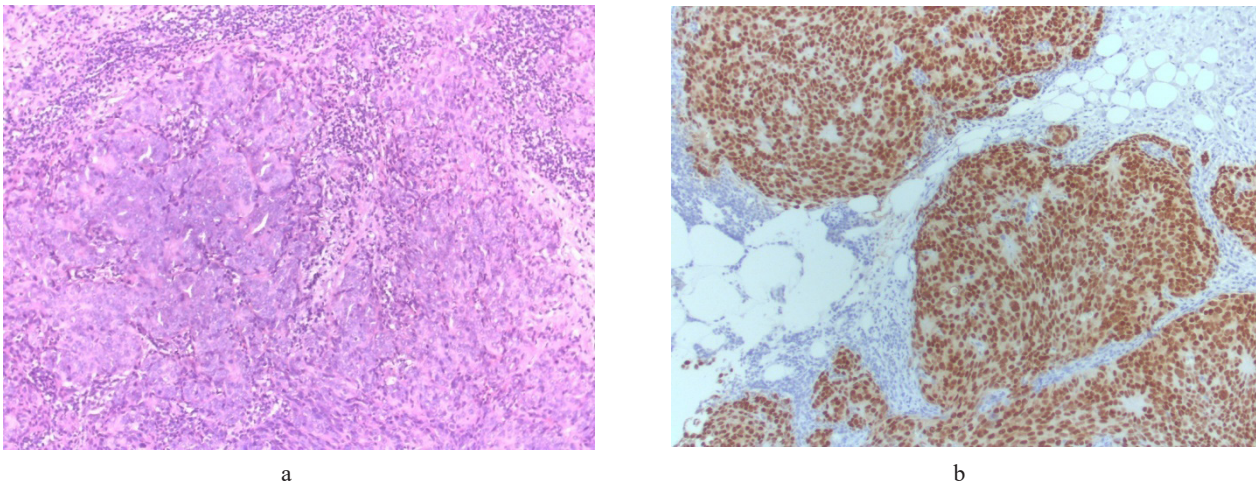


Fig. 1. Luminal A subtype carcinoma: a) ductal invasion, H@E, b) Estrogen positive malignant cells X160

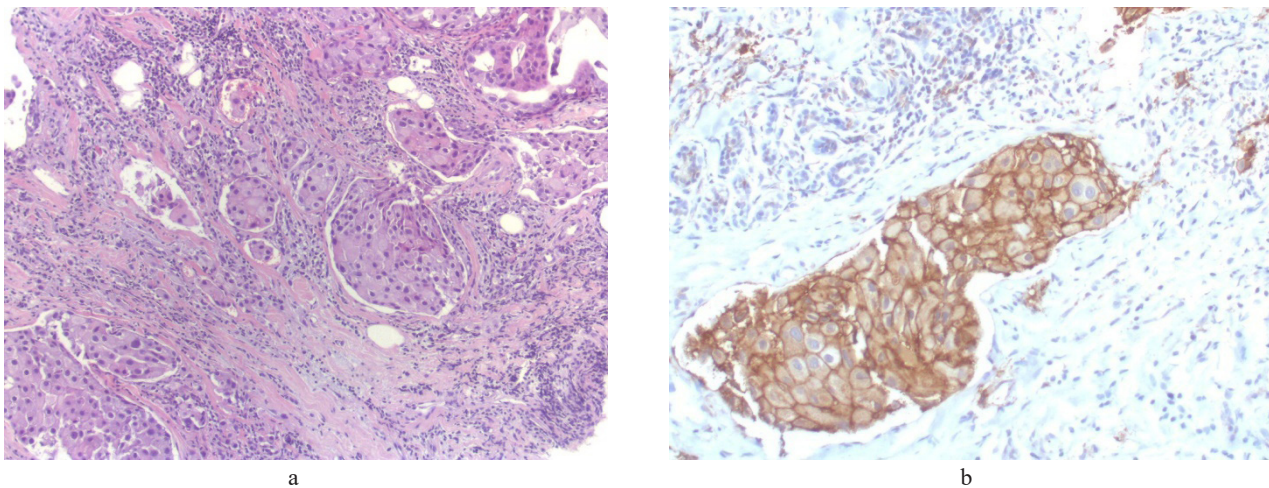


Fig.2. Her 2 (+)variant: a) H@E appearance. b) Her 2(+) positive malignant cells X160

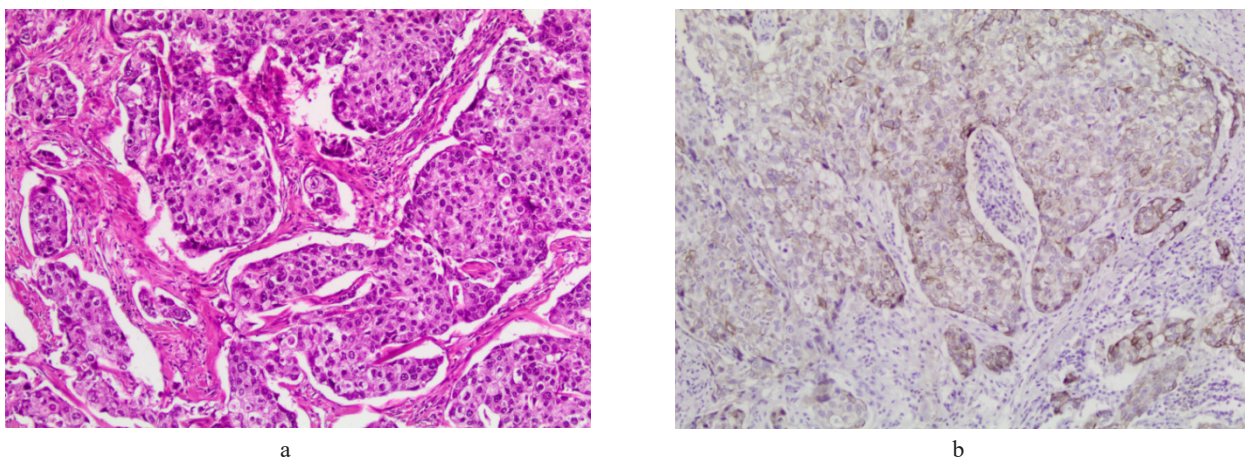


Fig. 3. Basal-like carcinoma: a) histological features demonstrate neoplastic cells accumulation in nest like structures. H&E, X160; b) diffuse expression of CK5 in malignant cells. Immunoperoxidase reaction, X160

The third most prevalent subtype was Basal-like breast carcinoma (9.8%) (Fig. 3 a, b), which was 5,8 times less frequent than Luminal A subtype, while Luminal B and Triple-negative subtype tumors are seen in almost equal frequency and about 9, 8 times less frequently than Luminal B subtype tumors (Fig. 4).

Age group I (30-39 year old) more than half of breast cancer (51.9%) is represented by Luminal A subtype, while more than one third (40.7%) is represented by Her2(+)/ER – group. Luminal subtype represented a small group (7.4%), while triple-negative and basal-like types were not observed at all. This age group Luminal A subtype is 13 times higher than Her2(+)/ER subtype and 7 times higher than Luminal B subtype.

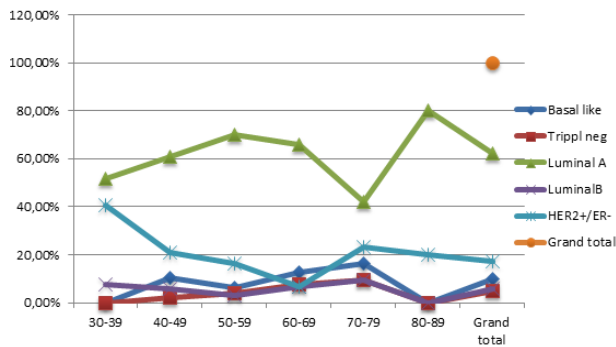


Fig. 4. Distribution of histological and immunohistochemical phenotypes of breast cancer in the age groups

Age group II (40-49 year old) the dominant subtype was Luminal A (60.92%), followed by Her2(+)/ER (20.7%), also Basal-like (10.3%), Luminal B (5.8%) and Triple-negative (2.3%) subtypes. This age group showed almost 3 times higher occurrence of Luminal A subtype. Her2(+)/ER subtype was 6 times higher than basal-like subtype, 10.5 times higher than Luminal B subtype and almost 27 times higher than Triple-negative subtype.

Age group III (50-59 year old) the dominant subtype was Luminal A, accounting for 2/3 of all cases (70.1%), the second most prevalent was Her2(+)/ER subtype (16.5%), which was 4-5 times less frequent than Luminal A subtype. Third place by prevalence was taken by Basal-like subtype (6.2%), which was almost 12 times less frequent than Luminal A subtype. Triple-negative and Luminal B subtypes were represented by almost equal number and were on average 20 times less frequently encountered than Luminal A subtype.

In age group IV (60-69 year old), the dominant subtype was still Luminal A (66.02%), however the second and third most prevalent types were Basal-like and Triple-negative tumors (12.6% and 7.8% respectively), which were 5 and 7.5 times less frequent than Luminal A subtype. Her2(+)/ER and Luminal B subtypes were present in equal prevalence (6.8%), being 8 times less frequent than Luminal A subtype.

Age group V (70-79 year old), the most prevalent subtype was still Luminal A (42%), although in much reduced amount. Her2(+)/ER was second most prevalent and almost 2 times less frequent than Luminal A subtype. Basal-like subtype was at 3<sup>rd</sup> place, accounting for 16.3%, it was 2.4 times less frequent compared with Luminal A subtype, while the Triple-negative tumor and Luminal B subtypes were seen in almost equal frequency (9.3%), being at the same time 4 times less frequent than Luminal A subtype.

In age group VI (80-89 year old), the Luminal A subtype was still dominating (80%), and second most frequently seen tumor was Her2(+)/ER (25%), which was 5 times less frequent compared with Luminal A subtype. However, this group did not demonstrate Basal-like, Triple-negative or Luminal B subtypes at all.

Thus, the analysis of prevalence of each specific subtypes of the ductal invasive breast carcinoma according to age group categories showed that Luminal A subtype is observed in every age group as dominant subtype, although in different intensity: two peaks were demonstrated in group III and group IV, and in relatively less amount, in V group as well.

Its considerable that Her2(+)/ER subtype was second most prevalent subtype in almost all age groups. It also must be noted that there was no direct correlation found between pre- or postmenopausal period and HER2+ state, except for group IV (60-

69 year old range), where it was almost 2 times less frequently found than Basal-like subtype.

The frequency of Her2(+)/ER tumor subtype was identical to Luminal A subtype frequency. In age group I (30-39 year old) and all others its frequency was found to be markedly decreasing along with the frequency of Luminal A subtype (if in age group I their frequency was 1.2, in the age group IV it accounted for 9.4, which means that Her2(+)/ER subtype prevalence decreases with increasing age until the age group V (70-79 year old), after which it increases again (age group V and VI demonstrated the frequency of 2.0 and 5.0 respectively).

Basal-like tumor was not found in age groups I and VI, and its frequency was gradually increasing except for age group II, where it was approximately 1.5 less frequent than in other age group categories.

Triple-negative subtype was not found in age groups I and VI, however, its frequency was gradually increasing with increasing age. The prevalence of triple-negative tumor in age group V was 4.5 times higher than in age group II.

The frequency of Luminal B subtype tumor was almost 2 times decreased in age group III, while in age group V it was almost 3 times increased. However, it disappeared in age group VI completely.

The analysis of the frequency of invasive ductal breast carcinoma subtypes (phenotypic subgroups) showed that the dominant subtype is Luminal A subtype, whose prevalence changes in different age groups, but it still stably remains the most frequently encountered subtype. The prevalence of Her2(+)/ER subtype is markedly decreasing with increasing age (70 years) and again increases in the age group above 80 years. Triple negative and basal-like subtypes are not observed at all in 30-39 year old and 80-89 year old age group categories.

Consideration of the age-related specificities of ductal invasive breast carcinoma subtypes (phenotypes) is important both for diagnostic aspect and treatment strategy selection, as well as adequate planning of breast cancer screening programs.

Thus, in all age groups of the studied population, IIIA and B stages of tumor were identified, with tumor sizes ranging between 2.8 – 4.7 mm.

There was no stable direct correlation between breast cancer and family history, as the presence of such data requires additional research with more focus on anamnesis details.

## REFERENCES

- Alba E., Chacon J.L., Luch A., Anton A., Estevez L. et al. A randomized phase II trial of platinum salts basal like breast cancer patients in the neoadjuvant settings. Results from the GEICAM/2006-03, multicenter study Breast Cancer Res. Treat. 2012; 136 (2): 487-93.
- Bahanassy A., Mohanand M., Ismail M.F., Shaarawy S., et al. Molecular biomarkers for prediction of response to treatment and survival in triple negative breast cancer patients from Egypt. Exp. Mol. Pathol. 2015; 99(2): 303-311.
- Carey L.A., Dee E.C., Sawyer L., Gatti L. et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. Clin. Cancer Res. 2007; 13(80): 2329-34.
- Doll R., Peto R. The causes of cancer. New York: Oxford press; 1981.
- Domagala, Yakubowska-Bieniek K., Durola K. et al. Prevalence of germline mutations in genes engaged in DNA damage repair by homologous recombination in patients with triple – negative and hereditary non-triple negative breast carcinoma. PloS One 2015; 10 (6): 0130393.

6. Fedewa S.A., Sauer A.G., Siegel R.L. Prevalence of Major Risk Factors and Use of Screening Tests for Cancer in the United States. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and prevention* 2015; 4: doi 10.1158/1055.9965
7. Ferreira A.R., Metzger-Filho O. et al. Neoadjuvant Treatment of Stage IIB/III Triple Negative Breast Cancer with Cyclophosphamide, Doxorubicin, and Cisplatin - A Single Arm, Single Center Phase II Study. *Frontiers in Oncology* 2018; 7: 329.
8. Kushi L.H., Doyle C., McCullough et al. - American Cancer Society Guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. *CA Cancer J Clin*, 2012; 62: 30-67.
9. Mariamidze A., Gogiashvili L., Khardzeishvili O., -Expression of Cyclin E in Basal-like Breast carcinoma. *Georgian Medical News* 2017; 12: 104-108.
10. Mariamidze A., Gogiashvili L.E., Khardzeishvili O., Javakhshvili T., Makaridze D. Molecular basis of epidermal growth factor receptor and cyclin E expression interdependence in basal-like subtype invasive breast carcinoma. *Georgian Medical News* 2018; 3(276): 101-107.
11. O'Brien K.M., Cole S.R., Tse C.K. et al. Intrinsic breast tumor subtypes, race and long-term survival in the Carolina breast cancer study. *Clin Cancer Res.* 2010; 16(24): 6100-10.
12. Simon S., Bines J., Barrios C., Wunnes Y. et al. Clinical characteristics and outcome of treatment of Brazilian women with breast cancer treated at public and private institutions – the Amazon Project of the Brazilian Cancer Study Group (GBECAM) *Cancer Res.* 2009; 69(24 Suppl.): 3082-82.
13. World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research; 2007.

## SUMMARY

### DISTRIBUTION AND DEMOGRAPHIC CHARACTERISTICS OF DUCTAL INVASIVE BREAST CARCINOMA SUBTYPES IN GEORGIAN POPULATION

<sup>1</sup>Mariamidze A., <sup>1,2</sup>Gogiashvili L., <sup>1,4</sup>Khardzeishvili O., <sup>3</sup>Javakhshvili T., <sup>3</sup>Makaridze D., <sup>2</sup>Jandieri K.

<sup>1</sup>David Tvildiani Medical University; <sup>2</sup>Iv. Javakhshvili Tbilisi State University, A. Natishvili Institute of Morphology; <sup>3</sup>Pathology Research Center; <sup>4</sup>Tbilisi State Medical University, Georgia

The analysis of prevalence of each specific subtypes of the ductal invasive breast carcinoma according to age group categories showed that Luminal A subtype is observed in every age group as dominant subtype, although in different intensity: two peaks were demonstrated in group III and group IV, and in relatively less amount, in V group as well.

Its considerable that Her2(+)/ER subtype was second most prevalent subtype in almost all age groups. It also must be noted that there was no direct correlation found between pre- or postmenopausal period and HER2+ state, except for group IV (60-69 year old range), where it was almost 2 times less frequently found than Basal-like subtype.

The frequency of Her2(+)/ER tumor subtype was identical to Luminal A subtype frequency. In age group I (30-39 year old) and all others its frequency was found to be markedly decreasing along with the frequency of Luminal A subtype (if in age group I their frequency was 1.2, in the age group IV it accounted for 9.4, which means that Her2(+)/ER subtype prevalence decreases with increasing age until the age group V (70-79 year old), after

which it increases again (age group V and VI demonstrated the frequency of 2.0 and 5.0 respectively).

Basal-like tumor was not found in age groups I and VI, and its frequency was gradually increasing except for age group II, where it was approximately 1.5 less frequent than in other age group categories. Triple-negative subtype was not found in age groups I and VI, however, its frequency was gradually increasing with increasing age. The prevalence of triple-negative tumor in age group V was 4.5 times higher than in age group II.

The frequency of Luminal B subtype tumor was almost 2 times decreased in age group III, while in age group V it was almost 3 times increased. However, it disappeared in age group VI completely.

Consideration of the age-related specificities of ductal invasive breast carcinoma subtypes (phenotypes) is important both for diagnostic aspect and treatment strategy selection, as well as adequate planning of breast cancer screening programs.

Thus, in all age groups of the studied population, IIIA and B stages of tumor were identified, with tumor sizes ranging between 2.8-4.7mm.

There was no stable direct correlation between breast cancer and family history, as the presence of such data requires additional research with more focus on anamnesis details.

**Keywords:** breast invasive carcinoma, phenotypes, distribution, Georgian population

## РЕЗЮМЕ

### РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОДГРУПП ДУКТАЛЬНОГО ИНВАЗИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ГРУЗИИ

<sup>1</sup>Мариамидзе А.Г., <sup>1,2</sup>Гогнашвили Л.Е., <sup>1,4</sup>Хардзеншвили О.М., <sup>3</sup>Джавахишвили Т.З., <sup>3</sup>Макаридзе Д.С., <sup>2</sup>Джандиери К.Н.

<sup>1</sup>Медицинский университет им. Д. Твильдиани; <sup>2</sup>Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, Институт морфологии им. А. Натившвили; <sup>3</sup>Центр исследования патологии; <sup>4</sup>Тбилисский государственный медицинский университет, Грузия

Цель исследования – изучение распределения подгрупп инвазивного дуктального рака молочной железы с учетом возраста пациентов и биологических особенностей экспрессии ряда иммунных маркеров.

Исследован операционный материал 362 пациенток в возрасте от 30 до 89 лет с установленным диагнозом рака молочной железы (РМЖ). После проведения иммуногистохимического исследования, в том числе оценки статуса HER2, CK5 и ER PR, степень малигнизации определяли по Eliston/Nottingham в модификации Bloom-Richardson.

Результаты. 1) Доминирующим фенотипом дуктального инвазивного РМЖ является тип Luminal A – в среднем, 62,15% в возрастной группе 30-39 лет.

2) Частота Her2(+) ER (17,4%) значительно снижается с увеличением возраста до 70 лет и повторно повышается после 80 лет.

3) Базалоидный и тройной негативный РМЖ в группе 30-39 лет и 80-89 лет не встречается.

Определение всех фенотипов с преобладающей возрастной группой и рецепторной активностью имеет важное зна-



чение в выборе наиболее оптимальной стратегии лечения и планирования скрининг-групп.

Следует отметить особенности РМЖ в исследуемой популяции, такие как стадии III A и B и размер опухолей 2,8-4,7 мм. Стабильной положительной корреляции между семейной историей и заболеваемостью РМЖ на данном этапе исследований не выявлено.

რეზიუმე

ინვაზიური სადინროვანი ძუძუს კიბოს ქვეტიპების განაწილება და დემოგრაფიული მახასიათებლები საქართველოში

<sup>1</sup>ა. მარიამიძე, <sup>2</sup>ლ. გოგიაშვილი, <sup>3</sup>ო. ხარბიშვილი, <sup>4</sup>თ. ჯავახიშვილი, <sup>5</sup>დ. მაკარიძე, <sup>6</sup>ქ. ჯანდიერი

<sup>1</sup>დავით ტვილიძის სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>ი.ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ა. ნათიშვილის მორფოლოგიის ინსტიტუტი; <sup>3</sup>პათოლოგიის კვლევის ცენტრი; <sup>4</sup>თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ინვაზიური სადინროვანი ძუძუს კიბოს ქვეტიპების ასაკობრივი განაწილებისა და ბიოლოგიური თავისებურებათა კვლევა იმუნური მარკერთა ექსპრესიის მიხედვით.

შესწავლილია 362 პაციენტის ოპერაციული მასალა, ასაკი 30-89 წელი. ძუძუს კიბოს დიაგნოზის დადასტურების შემდეგ ჩატარდა HER2, CK5 და ER PR იმუნური სტატუსის კვლევა; მალიგნიზაციის ხარისხი ვლინდებოდა Eliston/Nottingham სისტემით Bloom-Richardson მოლიფიკაციის მიხედვით.

შედეგები: 1) ინვაზიური სადინროვანი ძუძუს კიბოს ძირითად ფენოტიპს ჩვენს მასალაში წარმოადგენს Luminal A - 62,15% საშუალოდ, ასაკობრივი ჯგუფი – 30-39 წელი.

2) Her2(+) ER (17,4%) დადებითი შემთხვევების სიხშირე კლებულობს ასაკის მატებასთან ერთად 70 წლამდე, განმეორებით იმატებს 80 წლის შემდეგ.

3) ბაზალიდური და სამმაგნეგატიური ძუძუს კიბოს შემთხვევები არ გვხვდება 30-39 წლის და 80-89 წლის ასაკობრივ ჯგუფებში.

ფენოტიპების და მათი ასაკობრივი დომინანტას დადგენას რეცეპტორული სტატუსის პარალელური შეფასებით მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება მეკურნალობის ოპტიმალური სტრატეგიის შერჩევასა და სკრინინგ-ჯგუფების დაგეგმვის თვალსაზრისით. ასევე უნდა აღინიშნოს ძუძუს კიბოს თავისებურებები გამოკვლეულ პოპულაციაში, სახელდობრ, IIIA და B სტადიის მეტი სიხშირე და სიმსივნის ზომები 2,8-4,7 მმ-მდე. დადებითი კორელაცია სიმსივნის ოჯახურ ისტორიასა და ძუძუს კიბოთი ავადობის სიხშირეს შორის გამოკვლევის ამ ეტაპზე არ დადგინდა.

## CHANGES OF PROTEINURIA AND ACID-REGULATING KIDNEY FUNCTION IN MATURE RATS WITH SLOW AND RAPID ACETYLATION TYPE UNDER CONDITIONS OF SUBACUTE CADMIUM-NITRATE INTOXICATION

Kmet T., Filipets N., Hrachova T., Bulyk T., Kushnir O.

Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine

Renal pathology is in the leading position among the preconditions of unfavourable prognosis concerning the increase of sickness and mortality rate of the population in the whole world. Deterioration of the kidney functions is manifested by rather variable peculiar symptoms, although clinical signs usually result from dysfunction of a considerable amount of nephrons. Special feature of the kidneys is involvement of powerful protective mechanisms in case of their primary damage and long compensation of functional disorders from the side of other organs under conditions of comorbid pathology. Scientific-practical recognition of a prior role of the kidneys in the functional-metabolic interrelations with other organs and systems of homeostasis support promotes the search for new biological markers of nephron damage. Nowadays the role of phenotypes different by their characteristic is being actively investigated including initial levels of glomerular filtration rate (GFR), creatinine, cystatin C, proteinuria, lipocaine, associated with neutrophil gelatinase under conditions of kidney and comorbid pathology [1,12,14]. At the same time, the efficacy to use acetylation phenotype as a biomarker of susceptibility to unfavourable effect of cadmium chloride and sodium nitrate is scientifically substantiated, since genetic determination of changes

in N-acetyltransferase-2 (NAT2) metabolism plays an important role in detoxification processes of the body [3]. Toxicity of the heavy metal cadmium and nitrates should be mentioned here as a danger for the environment and human health [10,16]. Direct nephrotoxic effect of cadmium containing compounds and methemoglobin action of sodium nitrate first of all are manifested by dysfunction of the tubular portion of the nephron. Disorders of water-electrolytic balance, acid-base balance and homeostasis in general are associated with disorders of tubular reabsorption and secretion. Considering the above to determine the role of acetylation phenotype as a predictor of development and progress of toxic nephropathy caused by xenobiotics – cadmium chloride and sodium nitrate – is of a certain interest.

Objective - to determine peculiarities of subacute cadmium-nitrate effect on the parameters of proteinuria and acid-base condition of rats with slow and rapid acetylation type in order to have an idea concerning a prognostic role of acetylation phenotype in the development of nephropathy.

**Material and methods.** The experiments were conducted on laboratory non-linear albino male rats of 6 months and the body weight of 0,16-0,18 kg, kept under standard vivarium conditions on well-balanced feeding. All the experiments with animals

Table. Changes of proteinuria and acid-regulating kidney function of mature rats with slow and rapid acetylation type under conditions of subacute cadmium-nitrate intoxication ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

Indices	“Slow” acetylizers		“Rapid” acetylizers	
	Control	Cadmium chloride and sodium nitrate	Control	Cadmium chloride and sodium nitrate
Diuresis, ml/2 hour	3,5±0,21	3,4±0,38	3,3±0,18	3,8±0,09 p<0,05
Concentration of protein in urine, mg%	0,014±0,0031	0,041±0,0112 p<0,05	0,029±0,0071	0,012±0,0016 p<0,05
Excretion of protein, mg/2 hour	0,050±0,0109	0,117±0,0128 p<0,01	0,090±0,0217	0,047±0,0056
Excretion of protein, mg/100 microliter GF	0,012±0,0027	0,029±0,0050 p<0,05	0,026±0,0065	0,010±0,0014 p<0,05
pH of urine, units	6,8±0,16	7,0±0,12	6,9±0,07	6,1±0,09 p<0,01
Excretion of TA, micromole/2 hour	25,4±4,93	33,5±4,00	18,1±2,74	57,6±6,15 p<0,01
Excretion of TA, micromole/100 microliter GF	6,4±1,28	8,1±1,28	4,9±0,66	11,9±1,08 p<0,01
Excretion of NH <sub>3</sub> , micromole/2 hour	32,4±4,81	42,4±3,63	24,2±2,24	63,6±6,16 p<0,01
Excretion of NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> , micromole/100 microliter GF	8,2±1,26	10,3±1,15	6,7±0,64	13,2±1,14 p<0,01
Ammonium coefficient, units	1,3±0,08	1,3±0,11	1,4±0,11	1,1±0,02 p<0,05
Concentration H <sup>+</sup> in urine, micromole/L	0,26±0,128	0,13±0,036	0,14±0,022	0,92±0,128 p<0,01
Excretion H <sup>+</sup> , nanomole/2 hour	0,92±0,493	0,47±0,115	0,46±0,077	3,48±0,467 p<0,01
Excretion H <sup>+</sup> , nanomole/100 microliter GF	0,23±0,118	0,11±0,026	0,12±0,017	0,73±0,121 p<0,01

notes: *p* – reliability in comparison with the control rats; TA – titrated acids, GF – glomerular filtration; *n* – number of rats in every group

were conducted according to the State Standard 42 1-88 “Laboratory animals. Technological process” keeping to the main principles of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (18.03.1986), the EU Directive EC № 609 (24.11.1986) and the MPH of Ukraine № 281 (01.11.2000). A statistical group included 7 animals.

Acetylation ability was determined by means of intragastric introduction (through the probe) of sulfadimine on 1% starch solution in the dose of 100 mg/kg of the body weight. Urine was collected from the animals during three hours. N-acetyltransferase activity was determined in it by means of Prebsing-Havrylov method in Tymofeyeva’s modification [6]. The experimental animals were divided into two groups: “rapid” and “slow” acetylators on the basis of the amount of free and general sulfadimine excreted with urine. 2 subgroups were isolated in every group: I — control (intact) animals, II — animals receiving cadmium chloride and sodium nitrate.

To create the model the rats received cadmium chloride during 14 days in the dose of 0,1 mg/kg (1/150 DL<sub>50</sub>) intraperitoneally and sodium nitrate in the dose of 500 mg/kg (1/15 DL<sub>50</sub>) intragastrically (through a probe). During the whole period of the experiment the control group of rats instead of exotoxins received isotonic solution of sodium chloride intraperitoneally and settled tap water intragastrically. 24 hours after the last introduction 5%

water test was made for all the rats (tap water, intragastrically), and the animals were placed into exchange cages for collecting urine. Diuresis was registered 2 hours later. Protein concentration in urine was determined by means of sulfosalicylic method [5]. Acid-regulating function of the kidneys was assessed by pH indices (pH-meter Radelkis, Budapest) in urine, concentration of hydrogen ions, titrated acids and ammonia ions determined by titration method.

The parameters of the kidney functions standardized by 100g of the body weight and glomerular filtration rate were calculated by the common formulas [7]. The data obtained were statistically processed by means of the program «Statgrafics», confidence of the data were evaluated by Student t-criterion.

**Results and their discussion.** The obtained experimental findings demonstrated that under conditions of subacute cadmium-nitrate intoxication changes of proteinuria and acid-regulating kidney function depend on acetylation phenotype in rats (Table). In comparison with intact control animals protein concentration in the urine of rats with slow acetylation type 192,8% increased as much, protein excretion for 2 hours – 134% as much. The presence of proteinuria is indicative of nephrotoxic action of combined cadmium-nitrate effect and development of nephropathy. It should be noted that renal transport of cadmium is characterized by several mechanisms of nephron damage. First of all, cadmium sim-

ilar to other heavy metals possesses high affinity to sulfur. When cadmium compounds enter the tubular portion and are absorbed by tubular cells, similar to other heavy metals they bind sulfhydryl (-SH) groups of proteins and enzymes that normally provide energy, respiration, antioxidant protection of cells; they also induce dysfunction of tubular cells [2,4,8,11]. In addition to the damage of renal tubules and inhibition of protein reabsorption glomerular processes can be disturbed under cadmium effect. Cadmium-metalloprotein (CdMT) is a complex with the protein metalloprotein formed in the liver and containing much necessary to bind cadmium cysteine, able to change the structure of the glomerular basal membrane during filtration. CdMT is known to be partially reabsorbed and enter filtrate again from the proximal tubules [15]. It results in disturbed permeability of glomerular filtration and penetration of more amount of protein into primary urine. Although in this case nephrotoxicity of free cadmium ion and that one bound with metalloprotein is caused by damage of the transport systems of the proximal nephron portion that mainly provide protein reabsorption. In our study 141,7% increase protein excretion with standardized glomerular filtration proves tubular origin of proteinuria in rats with slow acetylation type. At the same time increased protein loss with urine also results from a negative effect of sodium nitrate on the functional kidney state. Excessive content of nitrates and nitrites in the blood plasma results in disorder of oxidative processes in the tissues, energy metabolism of nephrocytes and expressed kidney dysfunction with reduced clearance of endogenous creatinine and proteinuria intensification [9,13].

Further analysis did not find similar protein loss with urine in rats with rapid acetylation type. Under conditions of subacute cadmium-nitrate effect protein concentration in urine 58,7% decreased as much. In spite of 15,1% increase of diuresis, two-hour excretion of protein did not change. Genetic variability of acetylation rates is manifested by reduced sensibility of the kidneys to exotoxins cadmium chloride and sodium nitrate. One of the protective mechanisms can be more active formation of rapid CdMT acetylators, a detoxified cadmium form, in the liver. As it was mentioned, bound cadmium damages tubular cells considerably less including the proximal direct and medullar thick ascending part of the nephron with a big amount of -SH groups. 2,5 times decrease of the standardized by glomerular filtration protein excretion is indicative of functional ability of the proximal tubules concerning protein reabsorption in rats with rapid acetylation type under conditions of subacute cadmium-nitrate intoxication.

Analysis of acid-regulating kidney function did not find changes of indices in rats with slow acetylation type exposed to subacute cadmium-nitrate effect (Table). When heavy metals and methemoglobin agents enter the organism acid-base balance can deviate into the side of acidosis. Most likely in case of rapid acetylation the body acidity increased. pH of urine decreased ammonium coefficient 21,5% decreased, which was indicative of acidogenesis prevailing over ammoniogenesis. The concentration of hydrogen ions in urine 6,6 times increased. Increased secretion of hydrogen ions as well as proton excretion in free and bound state indicate the ability of the kidneys in rats with rapid acetylation type eliminate excessive amount of hydrogen ions from the body. In response to the development of metabolic acidosis excretion of titrated acids 3,2 times increased, ammonia – 2,6 times, hydrogen ions – 7,6 times. Increase of these indices standardized by glomerular filtration in 2,4, 1,9 and 6,1 times

respectively confirms the suggestion concerning retention of functional possibilities to maintain homeostasis of the nephron tubular portion.

**Conclusion.** Therefore, under conditions of subacute cadmium-nitrate intoxication the indices of proteinuria and acid-regulating kidney function depend on acetylation phenotype in mature rats and have variable dynamics of changes. Contrary to rapid acetylation type, increased protein loss by the body at the expense of considerable increase of concentration and excretion with urine, is indicative of greater susceptibility of rats with slow acetylation type to nephrotoxic action of cadmium chloride and sodium nitrate. Lack of proteinuria and adaptive character of changes in acid-regulating function of the kidneys directed to maintenance of acid-base balance are indicative of less harmful effect on the tubular nephron part of rats with rapid acetylation type. At the same time, it does not enable to exclude development of acute cadmium-nitrate nephropathy. In order to confirm the significance of acetylation phenotype for assessment of susceptibility and degree of cadmium-nitrate damage of the kidneys the condition of other renal functions should be examined with analysis of biochemical criteria of nephrotoxicity, which is of an important practical value for prediction of genetically determined individual susceptibility of the body to harmful xenobiotic effect with further selection of appropriate pharmacological correction.

Prospects of further studies consist of the following (comprehensive) investigation of changes of homeostatic kidney functions directed to the maintenance of water-salt balance with assessment of biochemical markers of subacute cadmium-nitrate damage of the kidneys in rats with slow and rapid acetylation types.

## REFERENCES

1. Амосова КМ, Горда П, Безродний АБ, Мостбауер ГВ, Руденко ЮВ, та ін. Особливості різних фенотипів погіршення функції нирок у хворих з гострою декомпенсованою серцевою недостатністю залежно від змін рівня ліпокаліну, асоційованого із желатиназою нейтрофілів, і вихідної функції нирок // Серце і судини. 2017;1:24-31.
2. Гоженко АІ, Луговський СП, Самохіна НА. Дослідження морфофункціонального розвитку експериментальних металонефропатій // Journal of Education, Health and Sport. 2016;6(4):287-96.
3. Кметь ТІ, Власик ЛІ. Особливості гострого впливу хлориду кадмію та нітрату натрію на деякі показники крові старих тварин з різним типом ацетилювання // Буковинський мед вісник. 2005;9(2):116-7.
4. Костенко ВО. Зміни енергетичного метаболізму в нирках білих щурів у динаміці гострої інтоксикації нітратом натрію // Фізіол журн. 1995;41(5-6):91-6.
5. Михеева АІ, Богодарова ІА. К методике определения общего белка в моче на ФЭК-Н-56 // Лаб дело. 1969;7:441-2.
6. Першин ГН, редактор. Методы экспериментальной химиотерапии. Изд. 2. Москва: Медицина; 1971. 540.
7. Рябов СИ, Наточин ЮВ. Функциональная нефрология. СПб: Лань. 1997. 304.
8. Филипец НД, Сирман ВМ, Гоженко АІ. Сравнительный анализ тубулопротективных влияний представителей различных классов модуляторов ионных каналов в условиях хронизации токсической нефропатии. Украинский биофармацевтический журнал. 2014;5(34):25-9.

9. Bahadoran Z, Mirmiran P, Ghasemi A, et al. Association between dietary intakes of nitrate and nitrite and the risk of hypertension and chronic kidney disease: Tehran Lipid and Glucose Study. *Nutrients*. 2016;8(12):811.
10. Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beer-egowda KN. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*. 2014;7(2):60-72.
11. Lunyera J, Smith SR. Heavy metal nephropathy: considerations for exposure analysis. *Kidney Int*. 2017;92(3):548-550.
12. Luttrupp K, Debowska M, Lukaszuk T, Bobrowski L, Carre-ro JJ, Qureshi AR, et al. Genotypic and phenotypic predictors of inflammation in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2016;31(12):2033-40.
13. Peng T, Hu Z, Yang X, Gao Y, Ma C. Nitrite-induced acute kidney injury with secondary hyperparathyroidism: Case report and literature review. *Medicine*. 2018;97(8):e9889.
14. Penno G, Russo E, Garofolo M, Daniele G, Lucchesi D, Giusti L, et al. Evidence for two distinct phenotypes of chronic kidney disease in individuals with type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2017;60(6):1102-13.
15. Satarug S. Dietary Cadmium Intake and Its Effects on Kidneys. *Toxics*. 2018;6(1):15.
16. Song P, Wu L, Guan W. Dietary Nitrates, Nitrites, and Nitro-samines Intake and the Risk of Gastric Cancer: A Meta-Analy-sis. *Nutrients*. 2015;7(12):9872-95.

## SUMMARY

### CHANGES OF PROTEINURIA AND ACID-REGULATING KIDNEY FUNCTION IN MATURE RATS WITH SLOW AND RAPID ACETYLATION TYPE UNDER CONDITIONS OF SUBACUTE CADMIUM-NITRATE INTOXICATION

Kmet T., Filipets N., Hrachova T., Bulyk T., Kushnir O.

*Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University», Chernivtsi, Ukraine*

The experiments conducted on non-linear mature laboratory albino rats determined that under conditions of subacute cadmium-nitrate intoxication the indices of proteinuria and acid-regulating renal function depend on acetylation phenotype. Unlike rapid acetylators considerable increase of protein concentration in urine (192,8%,  $p < 0,05$ ) and standardized by glomerular filtration protein excretion (141,7%,  $p < 0,05$ ) are indicative of higher susceptibility of rats with slow acetylation type to nephrotoxic action of cadmium chloride and sodium nitrate. Lack of protein loss with urine and adaptive-compensative character of acid-regulating renal function changes directed to elimination of hydrogen ions excess from the body give evidence concerning less intensive damage of the nephron tubular portion in rats with rapid acetylation type, and at the same time do not exclude development of nephropathy. In order to confirm the significance of acetylation phenotype for assessment of susceptibility and degree of cadmium-nitrate damage of the kidneys the condition of other renal functions should be examined with analysis of biochemical criteria of nephrotoxicity, which is of an important practical value for the selection of appropriate pharmacotherapy.

**Keywords:** cadmium-nitrate intoxication, mature rats, slow and rapid acetylation type, kidneys, acid-regulating function, proteinuria.

## РЕЗЮМЕ

### ИЗМЕНЕНИЯ ПРОТЕИНУРИИ И КИСЛОТОРЕГУЛИРУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕК ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС С МЕДЛЕННЫМ И БЫСТРЫМ ТИПОМ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ ПРИ ПОДОСТРОЙ КАДМИЕВО-НИТРАТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Кметь Т.И., Филипец Н.Д., Грачева Т.И., Булык Т.С., Кушнир О.В.

*Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет», Черновцы, Украина*

В экспериментах на нелинейных половозрелых лабораторных белых крысах-самцах установлено, что при подострой кадмиево-нитратной интоксикации показатели протеинурии и кислоторегулирующей функции почек зависят от фенотипа ацетилирования. В отличие от быстрых ацетилираторов, существенное повышение концентрации белка в моче (на 192,8%,  $p < 0,05$ ) и стандартизированной по кислоторегулирующей функции экскреции белка (на 141,7%,  $p < 0,05$ ) указывают на более выраженную склонность крыс с медленным типом ацетилирования к нефротоксическому действию хлорида кадмия и нитрата натрия. Отсутствие потерь белка с мочой и адаптивно-компенсаторный характер изменений кислоторегулирующей функции почек, направленный на выведение избытка ионов водорода из организма, свидетельствуют о меньшей степени повреждения канальцевого отдела нефрона крыс с быстрым типом ацетилирования, при этом не позволяют исключить развитие нефропатии. Подтверждение значимости фенотипа ацетилирования для оценки склонности и степени кадмиево-нитратного повреждения почек требует изучения состояния других ренальных функций с анализом биохимических критериев нефротоксичности, что имеет большое практическое значение при выборе направлений фармакотерапии.

## რეზიუმე

პროტეინურიის და თირკმლის მქავეანობამარეგულირებელი ფუნქციის ცვლილებები ზრდასრულ ვირთაგვებში აცეტილირების ნელი და სწრაფი ტიპით კადმიუმ-ნიტრატული ინტოქსიკაციის დროს

ტ. კმეტი, ნ. ფილიპეცი, ტ. გრაჩოვა, ტ. ბულიკი, ო. კუშნირი

*ბუკოვინის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ჩერნოვიცი, უკრაინა*

არახაზოვან ზრდასრულ ლაბორატორიულ მამრ ვირთაგვებზე ექსპერიმენტულად დადგენილია, რომ კადმიუმ-ნიტრატული ინტოქსიკაციის დროს პროტეინურიის და თირკმლის მქავეანობამარეგულირებელი ფუნქციის მაჩვენებლები დამოკიდებულია აცეტილირების ფენოტიპზე. სწრაფი აცეტილატორებისაგან განსხვავებით, შარდში ცილის კონცენტრაციის (192,8%-ით,  $p < 0,05$ ) და ცილის ექსკრეციის (141,7%-ით,  $p < 0,05$ ) საგარძობი მატება მიუთითებს აცეტილირების ნელი ტიპის ვირთაგვების მეტ მიდრეკილებაზე კადმიუმის ქლორიდის და ნიტრატის

ნეფროტოქსიკური მოქმედებისადმი. შარდით ცილის დაკარგვის არარსებობა და თირკმლის მეავიანობამარეკულირებელი ფუნქციის ცვლილების ადაპტაციურ-კომპენსაციური ხასიათი, მიმართული ორგანიზმიდან წყალბადის ჭარბი იონების გამოყოფაზე, მოწმობს ნეფრონის მილაკოვანი განყოფილების ნაკლები ხარისხით დაზიანებას აცეტილირების სწრაფი ტიპის ვირთაგვებში, მაგრამ, არ იძლევა ნეფროპათიის

გამორიცხვის შესაძლებლობას. აცეტილირების ფუნქციის მნიშვნელობის დადასტურება თირკმლის კადმიუმ-ნიტრატული დაზიანებისადმი მიდრეკილებისა და დაზიანების ხარისხის შეფასებისათვის მოითხოვს სხვა რენული ფუნქციების დამატებით კვლევას და ნეფროტოქსიკურობის ბიოქიმიური კრიტერიუმების ანალიზს, რასაც დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობა აქვს ფარმაკოთერაპიის მიმართულების შერჩევას.

## ЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРИ ОСТРОМ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОМ СТРЕССЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Гороховский В.Н., Ткаченко Е.К.

*Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии  
Национальной академии медицинских наук Украины», Одесса, Украина*

Эмоционально-болевой стресс (ЭБС) сопровождается стоматологические вмешательства – ортодонтические, хирургические. Использование несъемной ортодонтической аппаратуры при лечении зубочелюстных аномалий и хирургические вмешательства при имплатологии являются стрессом для организма. Ортодонтическое лечение современными аппаратами, по данным множества исследователей, нарушает гомеостаз ротовой полости, ухудшает гигиеническое состояние органов и тканей полости рта, снижает функциональную резистентность твердых тканей зубов, способствует развитию воспалительных процессов в тканях вокруг зубов [1,2,5,7,8].

Значительная часть зубочелюстных аномалий сопровождается локальными изменениями в костной ткани альвеолярного отростка и остеопорозом, местным нарушением кровообращения, травматической окклюзией, нарушением обмена веществ. Эта ситуация осложняется на фоне соматической патологии, в частности сахарного диабета и метаболического синдрома.

Стрессовое воздействие нарушает неспецифическую резистентность организма, оказывая тормозящее влияние на регенерационные процессы в тканях пародонта [4]. Стресс организма сопряжен с активацией оси гипоталамус-гипофиз-надпочечников, степень которой в значительной мере зависит от уровня психоэмоционального напряжения и психотипических особенностей личности пациента. Снимающие эти эффекты известные анксиолитики (диазепам и др.) ослабляют или устраняют субъективный ментальный стресс [11].

На сегодняшний день установлено, что полифенолы (ПФ) растительной пищи участвуют в обеспечении локальной и общей резистентности к патогенным факторам [3]. В растениях ПФ встречаются чаще в виде гликозидов, реже – агликонов [6]. Злаковые культуры богаты С-гликозидами, которые содержатся в тканях активного роста этих культур (листья, почки, цветки). Так, в листьях пшеницы выявлены трицин, лютеолин, апигенин и их гликозиды – (изо)оригенин, (изо)витексин [10]. Флавоноидные соединения в виде С-гликозидов представляют собой специфическую группу не только по структурным особенностям, но и по лекарственным свойствам.

© G.M.N.

Цель настоящего исследования – определение защитных свойств препарата растительного происхождения – биотрита и транквилизатора диазепам в условиях воспроизведения эмоционально-болевого стресса у крыс.

**Материал и методы.** Эксперимент проведен на 24 белых крысах-самцах 5-месячного возраста линии Вистар стандартного разведения. Изучено влияние полифенолов проростков листьев пшеницы (30-40 дней) – препарата биотрит, предоставленного НПА «Одесская биотехнология» и стандартного анксиолитика 0,5% раствора диазепам (ХФП «Здоров'я народу», Украина) на показатели периферической крови крыс, состоянии тест-органов и ulcerогенные эффекты при воспроизведении у них острого ЭБС по Дезидерато [9]. Все животные (по 6 крыс в группе) содержались на стандартном рационе вивария: I группа – интактная; у крыс II, III и IV групп воспроизводили острый ЭБС. За 60 минут до стрессирования крысы per os получали: II группа – воду, III группа – диазепам в дозе 1,25 мг/кг массы тела; IV группа – препарат биотрит в дозе 50 мг/кг массы тела.

Острый ЭБС тревожного ожидания болевого воздействия воспроизводили на протяжении 3 часов содержанием крыс в клетках конструкции Дезидерато, в которой подача постоянного тока силой 5-6 мА производилась со случайными интервалами времени либо на пол клетки, либо на платформу, расположенную над полом [11]. После окончания стрессирования прижизненно из хвостовой вены крыс забирали периферическую кровь и подсчитывали процентное содержание нейтрофилов, эозинофилов, моноцитов, лимфоцитов и общее число лейкоцитов (Г/л). Эксперименты проводились на основании Европейской конвенции по защите прав животных.

Крыс выводили из опыта путем тотального кровопускания из сердца (тиопентал натрия в дозе 40 мг/кг). Затем определяли относительную массу надпочечников и селезенки [масса органа (мг)/ масса крысы (г)]×100, а также ulcerогенный эффект. Выделяли желудок, вскрывали его по малой кривизне, промывали, высушивали салфеткой и подсчитывали количество поражений, возникших на слизистой оболочке желудка (СОЖ), измеряли их линейный размер (мм) при помощи штангенциркуля. Определяли частоту поражений СОЖ (%); множественность поражений – число эрозий и язв. Тяжесть поражений СОЖ оценивали по

Таблица 1. Влияние исследуемых препаратов на морфометрические показатели проявлений острого ЭБС у крыс ( $M \pm m$ ;  $p$ ;

Группы животных	Относительная масса органов (мг/100г)			Ульцерогенный эффект					
	надпочечники	селезенка	тимус	толщина СОЖ (мм)	частота поражений (%)	количество		тяжесть (в баллах)	
						эрозий	язв	эрозий	язв
Интактная	26,7±1,8	421±37,3	44,2±5,4	1,20±0,07	5,7	1,1±0,2	0,4±0,3	2,1±0,5	0,6±0,3
ЭБС (контрольная)	22,5±1,3 $p=0,08$	286±32,2 $p=0,02$	32,1±6,2	0,96±0,08 $p=0,05$	100	2,5±0,7 $p=0,08$	8,1±2,9 $p=0,02$	6,3±2,1 $p=0,08$	14,6±3,3 $p=0,001$
ЭБС+ диазепам	24,9±1,1	342±30,9	36,2±3,5	0,96±0,09 $p=0,05$	85,7	2,1±1,0	5,4±2,2 $p=0,04$	5,3±2,4	9,9±4,6 $p=0,07$
ЭБС+ биотрит	24,7±1,4	331±15,9	51,0±4,6	-	50	0,4±0,3 $p_1=0,014$	2,3±1,3 $p_1=0,09$	1,1±0,8 $p_1=0,04$	2,3±1,3 $p_1=0,004$

примечание: в таблицах 1 и 2 показатель достоверности  $p$  рассчитан в сравнении с интактной группой;  $p_1$  – с контрольной (воспроизведение острого ЭБС)

Таблица 2. Влияние исследуемых препаратов на клеточный состав крови крыс под воздействием острого ЭБС ( $M \pm m$ ;  $p$ ;

Группы животных	Форменные элементы крови					
	нейтрофилы (%)		эозинофилы (%)	моноциты (%)	лимфоциты (%)	лейкоциты (Г/л)
	палочко-ядерные	сегментоядерные				
Интактная	2,2±0,9	25,4±1,6	4,4±1,1	6,2±1,2	71,8±4,2	13,9±0,7
ЭБС (контрольная)	3,8±0,3	67,5±16,9 $p=0,03$	2,3±0,2 $p=0,08$	4,5±1,8	22,5±4,3 $p<0,001$	14,7±0,4
ЭБС+диазепам	2,7±0,4 $p_1=0,05$	62,8±2,3 $p<0,001$	2,5±0,7	6,5±0,9	26,3±2,4 $p<0,001$	10,8±0,5 $p_1<0,001$
ЭБС+биотрит	1,7±0,8 $p_1=0,04$	64,5±4,3	2,5±0,9	3,3±0,9	29,8±4,5 $p<0,001$	12,9±1,7

4-балльной системе: до 1 мм – 1 балл, 1-2,9 мм – 2 балла, 3-4,9 мм – 3 балла, 5 мм и более – 4 балла.

Результаты исследований обрабатывали общепринятыми методами с определением  $t$ -критерия достоверности различий по Стьюденту.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты морфометрических исследований СОЖ крыс с целью установления ульцерогенного эффекта, представленные в таблице 1, свидетельствуют о том, что острый ЭБС вызвал существенное снижение относительной массы селезенки ( $p=0,02$ ) и тенденцию снижения массы надпочечников ( $p=0,08$ ), соответствующие общеизвестным представлениям о последствиях воспроизведенного стрессорного воздействия.

Исследования показали, что острый ЭБС вызвал достоверное снижение (в 1,3 раза;  $p=0,05$ ) толщины слизистой оболочки желудка крыс, также 100% частоту поражений СОЖ крыс в сравнении с интактной группой (5,7%). Число эрозий под действием острого стресса увеличилось в 2,3 раза ( $p=0,08$ ), а количество язв – в 20,3 раза ( $p=0,02$ ; таблица 1). После воспроизведения стресса наблюдалось появление большого числа крупных эрозий, а также язв на слизистой желудка. Так, тяжесть поражений эрозиями в баллах увеличилась втрое ( $p=0,08$ ), язвами – в 24,3 раза ( $p=0,001$ ; таблица 1).

Прижизненное исследование форменных элементов периферической крови из хвостовой вены крыс после воспроизведения у них острого ЭБС выявило значительные изменения ее клеточного состава. Так, в 2,7 раза ( $p=0,03$ ) увеличилось число сегментоядерных нейтрофилов, в 3,2

раза ( $p<0,001$ ) снизилось число лимфоцитов ( $p<0,001$ ). Наблюдалась тенденция снижения числа эозинофилов в 1,9 раза ( $p=0,08$ ; таблица 2).

В группе крыс с введением диазепама на фоне воспроизведенного ЭБС относительная масса тест-органов крыс существенно не отличалась от таковых у интактных животных (таблица 1). Диазепам, вводимый на фоне стресса, снижал на 14,3% частоту поражений слизистой желудка в сравнении со 100% поражений в группе стрессированных крыс. Число и тяжесть поражений язвами проявляли тенденцию к снижению в сравнении с данными контрольных групп. Однако эти показатели под влиянием диазепама были существенно выше, чем в интактных группах, что свидетельствует о недостаточной защите этим препаратом последствий воспроизведенного острого ЭБС.

Под действием диазепама, вводимого на фоне острого ЭБС, нормализовалось количество палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов (таблица 2). Число сегментоядерных нейтрофилов, эозинофилов и лимфоцитов практически соответствовало уровню данных контрольных групп. Диазепам, вводимый на фоне стресса, вызвал также значительное снижение общего числа лейкоцитов (Г/л) в сравнении с контрольной группой -  $p_1<0,001$  (таблица 2). Препарат биотрит, как и транквилизатор диазепам, достоверно не изменял относительную массу тест-органов животных в сравнении с показателями интактных крыс (таблица 1).

Препарат на 50% снижал частоту поражений СОЖ в сравнении с контрольной группой (таблица 1). Число эрозий на СОЖ под действием препарата снизилось в 6,3 раза

( $p_1=0,014$ ), количество язв также проявило тенденцию к снижению в 3,5 раза ( $p_1=0,09$ ). Под влиянием биотрита значительно снизились показатели тяжести поражений СОЖ (в баллах): эрозиями - в 5,7 раза ( $p_1=0,04$ ); язвами - в 6,3 раза ( $p_1=0,004$ ) в сравнении с данными контрольных групп (таблица 1).

Результаты исследований клеточного состава крови крыс под влиянием препарата биотрит выявили: число сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов, как и под влиянием диазепама, не изменилось в сравнении с данными контрольных групп; число лимфоцитов снизилось в сравнении с интактной группой (таблица 2). Количество палочкоядерных нейтрофилов снизилось в 2,2 раза ( $p_1=0,04$ ) в сравнении с группой стрессированных крыс, которым на фоне стресса вводили воду и практически достигала их уровня в интактной группе. Число эозинофилов и лейкоцитов (Г/л) не отличалось от данных интактных групп (таблица 2).

Проведенные исследования продемонстрировали воспроизведение острого эмоционально-болевого стресса у крыс, которое проявилось в снижении относительной массы тест-органов, 100% частоте поражений слизистой оболочки желудка крыс, значительном снижении количества форменных элементов в периферической крови крыс.

Препарат растительного происхождения биотрит в условиях действия острого ЭБС проявил защитное нормализующее влияние в отношении тест-органов, слизистой оболочки желудка, а также состояния периферической крови крыс.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Скрипник І.Л., Шуминська Т.А. Дифференційований підхід до профілактики ураження твердих тканин зуба та тканин пародонта у дітей, які лікуються незнімною ортодонтичною апаратурою // Вісник проблем біології і медицини 2012; 1(91):291-293.
2. Панахов Н. А. Эпидемиология зубочелюстных аномалий и деформаций в Азербайджанской республике // Вісник проблем біології і медицини 2013; 2 (2): 230-233.
3. Ковач І. В., Штомпель Г. В., Макаренко О. А. (2010). Результати коригувальної дії біофлавоноїдів на тверді тканини зубів щурів в умовах експерименту // Медичні перспективи 2010; XV (1): 4-6.
4. Глинкин В. В., Клемин В. А., Глинкина В. В. Аспекты возникновения кариеса зубов // Инновационные процессы в науке, экономике и образовании: теория, методология, практика 2017: 191-201.
5. Рейзвих О. Э., Шнайдер С. А., Нонева Н. О. Взаимосвязь частоты стоматологических заболеваний с уровнем соматического здоровья детей (обзор литературы). // Інновації в стоматології 2014; 3: 125-133.
6. Коржевский Д. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии. Санкт-Петербург, СпецЛит 2013 : 160.
7. Huang Greg J., et al. Effectiveness of MI Paste Plus and PreviDent fluoride varnish for treatment of white spot lesions: a randomized controlled trial // American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics 2013; 143.1: 31-41.
8. Didem Nalbantgil, Mehmet Ogur Oztoprak, Derya Germec Cakan. Prevention of demineralization around orthodontic brackets using two different fluoride varnishes // European Journal of Dentistry 2013; 7: 41-47.
9. Багинская А. И. Экспериментальное моделирование в

гастроэнтерологии. Практические рекомендации. Часть III. Экспериментальные модели язв желудка, вызванных нестероидными противовоспалительными препаратами и некротирующими агентами // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии 2016; 4: 33-42.

10. Kimball Bruce Arnold, et al. Data from the Arizona FACE (Free-Air CO2 Enrichment) Experiments on Wheat at Ample and Limiting Levels of Water and Nitrogen // Open Data Journal for Agricultural Research 2017; 3: 29-38.

11. Park Junchol, et al. Anxiety evokes hypofrontality and disrupts rule-relevant encoding by dorsomedial prefrontal cortex neurons // Journal of Neuroscience 2016; 36 (11): 3322-3335.

#### SUMMARY

#### PROTECTIVE PROPERTIES OF DRUGS OF PLANT ORIGIN IN ACUTE EMOTIONAL AND PAINFUL STRESS IN RATS

Gorokhivskii V., Tkachenko E.

State Establishment «Institute of stomatology and maxilla-facial surgery National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Odessa, Ukraine

The aim of the investigation was to study the protective properties of the herbal preparation - biotrite and tranquilizer diazepam under the modeling of emotional and painful stress in rats.

Materials and methods. The experiment was conducted on 24 white male rats of 5 months of age. Animals (6 rats in the group) were kept on the standard diet of the vivarium: 1<sup>st</sup> group was intact; rats of the 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> groups were reproduced acute painful emotional stress for 3 hours. 60 minutes before the stress, rats received per os: the 2<sup>nd</sup> group - water, the 3<sup>rd</sup> group - diazepam in a dose of 1.25 mg / kg body weight of rats; 4<sup>th</sup> group - a preparation of biotrite in a dose of 50 mg / kg.

Results and conclusion. The conducted studies demonstrated significant adaptive properties of the biotrite preparation, and the degree of their manifestations was higher than the stress-protective effects of diazepam.

**Keywords:** acute emotional-painful stress, test organs, gastric mucosa, peripheral blood, biotrite, rats.

#### РЕЗЮМЕ

#### ЗАЩИТНЫЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРИ ОСТРОМ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОМ СТРЕССЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Гороховский В.Н., Ткаченко Е.К.

Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Национальной академии медицинских наук Украины», Одесса, Украина

Цель исследования – определение защитных свойств препарата растительного происхождения биотрита и транквилизатора диазепама в условиях воспроизведения эмоционально-болевого стресса у крыс.

Эксперимент проведен на 24 белых крысах-самцах 5-месячного возраста. Животные (по 6 крыс в группе) содержались на стандартном рационе вивария: I группа – интактная; у крыс II, III и IV групп в продолжении 3 часов воспроизво-

дили острый эмоционально-болевого стресс. За 60 минут до стрессирования крысы получали per os: II группа – воду, III группа – диазепам в дозе 1,25 мг/кг массы тела; IV группа – препарат биотрит в дозе 50 мг/кг.

Препарат растительного происхождения биотрит в условиях действия острого ЭБС проявил защитное нормализующее влияние в отношении тест-органов, слизистой оболочки желудка, а также состояния периферической крови крыс.

### რეზიუმე

მცენარეული წარმოშობის პრეპარატის დამცველობითი თვისებები მწვავე ემოციურ-ტოკიკილითი სტრესის დროს ვირთაგვებში

ვ. გოროხივსკი, ე. ტკანეკო

უკრაინის სამედიცინო მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის სტომატოლოგიისა და ება-სახის ქირურგიის ინსტიტუტი, ოდესა, უკრაინა

კვლევის მიზანს შეადგენდა მცენარეული წარმოშობის პრეპარატის ბიოტრიტის და დიაზეპამის დამცველობითი თვისებების შესწავლა ემოციურ-ტოკიკილითი სტრესის პირობებში ვირთაგვებში.

ექსპერიმენტი ჩატარდა 5 თვის ასაკის 24 მამრ ვირთაგვებზე. ცხოველები (თითოეულ ჯგუფში – 6) იმყოფებოდნენ ვივარიუმის სტანდარტულ რაციონზე: I ჯგუფი – ინტაქტური, II, III და IV ჯგუფის ცხოველებში 3 საათის განმავლობაში ავითარებდნენ ემო-

ციურ-ტოკიკილით სტრესს. სტრესამდე 60 წუთით ადრე ცხოველები per os იღებდნენ: II ჯგუფის ცხოველები – წყალს, III ჯგუფის – დიაზეპამს, დოზით 1,25 მგ/კგ, IV ჯგუფის – პრეპარატ ბიოტრიტს, დოზით 50 მგ/კგ. ჩატარებული კვლევებით გამოვლინდა პრეპარატ ბიოტრიტის მნიშვნელოვანი ადაპტაციური თვისებები, ამასთან, მათი გამოხატვის ხარისხი უფრო მაღალი იყო, ვიდრე დიაზეპამის სტრეს-პროტექციული ეფექტები.

## THE INFLUENCE OF SODIUM SALTS OF CARBOXYMETHYLATES OF OXYETHYLATED ISONONYLPHENOLS ON THE NEUTRALIZING FUNCTION OF THE LIVER IN A SUBACUTE TOXICOLOGICAL EXPERIMENT

Marakushyn D., Karmazina I., Isaeva I., Hloba N.

Kharkiv National Medical University, Ukraine

At present, the problem of environmental pollution is urgent and its solution is of global significance. The anthropogenic activity of the man at the modern stage of development of science and engineering has resulted in the appearance of chemical toxic substances in the biosphere. Most xenobiotics are able to form delayed effects of their (mutagenic, gonadotrophic, embryotrophic, teratogenic) influence on the organism of homoithers [7,8,10]. Chemical contaminants take a leading place among unfavourable environmental and industrial factors. Their long-term influence develops ecology-dependent pathology. The scale-up of organic synthesis chemistry results in the placement of its basic enterprises in densely populated areas, development and production of a wide spectrum of new chemicals, thereby endangering the health of people. In full measure it applies to the production of both surface-active substances (SAS) and synthetic detergents. In the opinion of many authors [4 6], a significant number of chemical compounds can modulate radiomimetic effects and are membranotropic, they develop free-radical pathology in the organism, inhibit humoral and cellular immunity. The unstudied SAS, widely used in different sectors of the national economy, include sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols of such brands as AFS 9-4 KM, AFS 9-6 KM, AFS 9-10 KM. The interest to this group of detergents is caused by a large turnout, a wide range of the production output and absence of any prognostic assessment of a potential danger for homoithers and human beings.

The purpose of the present work was to study the effects produced by a group of derivatives of oxyethylated nonylphenols - sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols of such brands as AFS 9-4 KM, AFS 9-6 KM, AFS 9-10 KM on the state of the microsomal monooxygenase system (MMS) of hepatocyte detoxification and on the conjugation reaction in conditions of a subacute experiment and to reveal a potential danger for homoithers and human beings.

**Material and methods.** Sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols of such brands as AFS 9-4 KM, AFS 9-6 KM, AFS 9-10 KM are anion-active SAS with scheduled physical-chemical properties; they are well soluble in water and organic solvents. On the basis of acute toxicity parameters they belong to moderately toxic (danger class 3) compounds, which have pronounced cumulative properties. Half-lethal doses ( $LD_{50}$ ) were determined at the levels of 6.1, 2.2 and 3.2 g/kg of the animal weight, cumulation coefficients being on the levels of 3.16, 2.2 and 2.39, respectively, for AFS 9-4 KM, AFS 9-6 KM, AFS 9-10 KM. The experimental part of the research was performed on white rats of WAG population; every day before feeding they received orally, through a metal probe, aqueous solutions of xenobiotics with 1/10, 1/100 and 1/1000 of  $LD_{50}$ . The duration of subacute influence was 45 days. The experiments on white rats were performed in compliance with the international prin-



ciples of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986). The programme of the research stipulated study of the influence of sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols on two microsomal electron transport systems: NADPH, which is bound with cytochrome P450 as the end acceptor, and NADN, which is bound with cytochrome  $b_5$  as the electron acceptor. The study involved such parameters of microsomal oxidation as respiratory activity, content of cytochromes P450 and  $b_5$ , activity of reductases. The microsomal oxidation system activity can be most fully and objectively assessed by the rate of metabolism of xenobiotics, which reflects the activity of both initial (NADPH, NADN reductases) and terminal (cytochromes P450,  $b_5$ ) sites. As a substrate of the microsomal P450-dependent system we used p-nitroanisole; this is a xenobiotic, which is subjected to oxidative methylation with formation of p-nitrophenol, the latter having a characteristic absorption spectrum in alkaline media. In this work, the following parameters of microsomal oxidation were used: activity of 0-demethylase, N-demethylase, NADPH-cytochrome c reductase, NADN-cytochrome c reductase, endogenous respiration rate of microsomes, NADPH oxidation rate, NADPH oxidation rate in the presence of EDTA, lipid peroxidation (LPO) rate, and content of cytochromes P450 and  $b_5$  [3, 6, 8]. The content of ketone bodies in blood was determined after precipitation of proteins with zinc sulphate and barium hydroxide. The essence of this method consists in displacing acetone from blood filtrate with sulphuric acid and binding acetone with salicylic aldehyde [1]. Nonesterified free fatty acids were detected by extraction of fatty acid salts in blood plasma with organic solvents followed by determination of the content of copper [2]. Glycogen in the liver was detected by the Seifter method after hydrolysis of a weighed portion of the liver in 30% solution of potassium hydroxide, ethanol precipitation of glycogen and revealing of glucose content by the anthrone method [9]. The activity of UDP-glucuronyltransferase in the microsomal fraction of the liver was assessed by the paranitrophenol conjugation rate [13, 14], that of N-acetyltransferase in the postmitochondrial fraction by the conjugation rate of para-aminobenzoic acid (PABA), whose quantity was measured by the diazo compound reaction with N-naphthylethylenediamine. The activity of glutathione S-transferase was assessed by the formation of glutathione conjugates with 1-chloro-2,4-dinitrobenzene ( $\lambda_{\text{abs}} = 340 \text{ nm}$ ) [11]. The total content of CoA (CoA-SH and acetyl-CoA) was determined by the PABA acetylation method [5]. The content of reduced and oxidized glutathione was determined with help of the glutathione transferase reaction [12], cysteines were determined by the reaction with ninhydrin in a trichloroacetic filtrate [15]. Group differences were statistically assessed by the parametric Student's t-test.

**Results and their discussion.** Results of the study on the influence of xenobiotics on the detoxification system revealed in the MMS of hepatocytes an increased activity of 0-demethylase, N-demethylase, NADPH-cytochrome c reductase, NADN-cytochrome c reductase, higher values of LPO rate and content of cytochromes P450 and  $b_5$  in the groups of animals, which were subjected to intoxication with sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols at doses of 1/10 and 1/100 of  $LD_{50}$ . The dose of 1/1000 of  $LD_{50}$  was not effective. The analysis showed that sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols of such

brands as AFS 9-4 KM, AFS 9-6 KM, AFS 9-10 KM in 1/100 of  $LD_{50}$  increased, respectively, the activity of 0-demethylase by 113.4%, 159.7% and 132.8%, the activity of N-demethylase by 54.2%, 108.7% and 95.4%, the activity of NADPH-cytochrome c reductase by 30.3%, 52.6% and 44.5%, the activity of NADN-cytochrome c reductase by 48.3%, 63.05% and 60.1%, the rate of endogenous respiration by 60%, 143% and 124%, the rate of NADPH oxidation by 85.6%, 109.3% and 92.2%, the rate of NADPH oxidation in the presence of EDTA by 92.8%, 153.6% and 144.3%, the rate of POL by 309%, 422% and 373.3%, the content of cytochrome P450 by 65.3%, 154.3% and 126.6%, the content of cytochrome  $b_5$  by 135.2%, 252.2% and 218%. The above data demonstrate that sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols are inducers of the hydroxyling MMS of hepatocytes; this system is able to modify xenobiotics and change their biological activity, providing their possible mutagenic and cancerogenic properties [6, 8, 10]. Against this background sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols increased the activity of N-acetyltransferase by 62.5%, 143.7% and 103.1%, as well as the total amount of CoA (CoA-SH and acetyl-CoA) by 71.4%, 128.6% and 112%, respectively, in cases of subacute influence of 1/100 of  $LD_{50}$  of AFS 9-4 KM, AFS 9-6 KM and AFS 9-10 KM. This fact makes it possible to conclude that sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols activate the processes, which are engaged in the formation of acetyl conjugation. Besides, we observed a reduction in the activity of UDP-glucuronyl transferase, glutathione-S-transferase and in the content of reduced glutathione in the liver (Table 1). Thus, sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols AFS 9-4 KM, AFS 9-6 KM and AFS 9-10 KM decreased, respectively, the activity of UDP-glucuronyl transferase by 37.4%, 57.6% and 54.9%, the activity of glutathione-S-transferase by 45.5%, 54.3% and 51.2%, the content of reduced glutathione by 27.2%, 57.3% and 36.6% and that of cysteine by 39.3%, 57.1% and 50.0%. Sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols in 1/100 of  $LD_{50}$  inhibit the mechanisms of formation of glucuronid and glutathione conjugations, which are associated with inhibition of the antioxidant defence system, as it is demonstrated by decreases of cysteine and reduced glutathione and an increase of glutathione disulphide by 74.2%, 151.6% and 116%, respectively, when influenced by AFS 9-4 KM, AFS 9-6 KM and AFS 9-10 KM.

Our results revealed increases in the content of free fatty acids in blood serum and ketone bodies in blood against a background of a decrease of glycogen in the liver (Table 2). Studies detected higher levels of free fatty acids by 83.6%, 135.8% and 117.9%, and ketone bodies by 332.4%, 529.4% and 464.7%; these facts demonstrate an activation of lipolysis and ketogenesis against a background of a lower content of glycogen in the liver by 53.4%, 67% and 61.2%, respectively, during intoxication in a subacute experiment with sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols of such brands as AFS 9-4 KM, AFS 9-6 KM and AFS 9-10 KM. These data show that studied compounds in 1/100 of  $LD_{50}$  activate catabolic processes of breakdown of glycogen and triacylglycerols, which may be associated with an acid-base imbalance and development of metabolic acidosis, as it was confirmed by a significant increase in the content of ketone bodies in blood by 4.2, 6.3 and 5.6 times, respectively, when influenced by AFS 9-4 KM, AFS 9-6 KM and AFS 9-10 KM.

Table 1. The state of the system of xenobiotic detoxification in the liver in conditions of a subacute experiment under the influence of sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols at a dose of 1/100 of LD<sub>50</sub>

Indices	Group M ± m			
	Control	AFS 9-4 KM	AFS 9-6 KM	AFS 9-10 KM
0-demethylase (nmol of p- nitrophenol/min·mg of protein)	6.70 ± 0.58	14.3 ± 0.9*	17.4 ± 1.8*	15.6 ± 1.4*
NADPH-cytochrome c reductase (nmol of cytochrome c/min·mg of protein)	180.4 ± 17.3	235.2 ± 12.4*	275.3 ± 10.5*	260.8 ± 9.3*
NADN-cytochrome c reductase (nmol of cytochrome c/min·mg of protein)	865.2 ± 57.8	1283.5 ± 18.7*	1410.7 ± 56.3*	1385.6 ± 42.7*
Endogenous respiration rate (nmol of O <sub>2</sub> /min·mg of protein)	1.50 ± 0.21	2.40 ± 0.17*	3.65 ± 0.34*	3.37 ± 0.28*
NADPH oxidation rate (nmol of O <sub>2</sub> /min·mg of protein)	3.20 ± 0.34	5.94 ± 0.48*	6.70 ± 0.53*	6.15 ± 0.42*
NADPH oxidation rate in the presence of EDTA (nmol of O <sub>2</sub> /min·mg of protein)	2.80 ± 0.32	5.40 ± 0.62*	7.10 ± 0.83*	6.84 ± 0.76*
Lipid peroxidation rate (nmol of O <sub>2</sub> /min·mg of protein)	0.44 ± 0.05	1.80 ± 0.14*	2.30 ± 0.15*	2.10 ± 0.18*
Content of cytochrome P-450 (nmol/mg of protein)	0.865 ± 0.07	1.43 ± 0.04*	2.20 ± 0.16*	1.96 ± 0.13*
Content of cytochrome b <sub>5</sub> (nmol/mg of protein)	0.582 ± 0.06	1.37 ± 0.05*	2.05 ± 0.07*	1.85 ± 0.06*
N-demethylase (nmol of formaldehyde / min·mg of protein)	3.45 ± 0.18	5.32 ± 0.48*	7.20 ± 0.65*	6.74 ± 0.56*
UDP-glucuronyl transferase (nmol/min·mg of protein)	2.97 ± 0.23	1.86 ± 0.05*	1.26 ± 0.05*	1.34 ± 0.03*
N-acetyltransferase (nmol/mg of protein/60 min)	0.32 ± 0.04	0.52 ± 0.02*	0.78 ± 0.03*	0.65 ± 0.04*
Glutathione-S-transferase (nmol/min·mg of protein)	29.7 ± 2.36	16.2 ± 1.40*	13.6 ± 0.94*	14.8 ± 1.23*
Reduced glutathione (mcmol/g)	6.70 ± 0.43	4.83 ± 0.42*	3.10 ± 0.46*	4.25 ± 0.56*
Glutathione disulphide (mcmol/g)	0.31 ± 0.02	0.54 ± 0.03*	0.78 ± 0.05*	0.67 ± 0.08*
Cysteine (mcmol/g)	0.28 ± 0.012	0.17 ± 0.006*	0.12 ± 0.007*	0.14 ± 0.005*
CoA, total amount (nmol/g)	297.6 ± 14.3	510.5 ± 30.4*	680.3 ± 27.8*	630.4 ± 22.5*

note: \*- differences are reliable, p<0.05

Table 2. Effects of sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols on the state of carbohydrate and fat metabolism in conditions of a subacute experiment under the influence of 1/100 of LD<sub>50</sub>

Indices	Group m ± τ			
	Control	AFS 9-4 KM	AFS 9-6 KM	AFS 9-10 KM
Free fatty acids (mmol/l), serum	0.67 ± 0.05	1.23 ± 0.08*	1.58 ± 0.12*	1.46 ± 0.14*
Ketone bodies (mol/l), blood	0.34 ± 0.016	1.47 ± 0.15*	2.14 ± 0.18*	1.92 ± 0.16*
Glycogen (mcmol/g), liver	137.8 ± 9.4	64.22 ± 5.74*	44.5 ± 3.73*	53.6 ± 4.25*

note: \*- differences are reliable, p<0.05

**Conclusions.** Our analysis shows severe disruptions in the neutralizing function of the liver and predominance of catabolic processes over anabolic syntheses in groups of animals, which were subjected to the influence of sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols at a dose of 1/100 of LD<sub>50</sub>.

Results of our researches showed that during their subacute influence in a toxicological experiment on white rats sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols AFS 9-4 KM, AFS 9-6 KM and AFS 9-10 KM stimulated the hydroxyling MMS of hepatocytes and inhibited reactions of the formation of gluc-

uronid and glutathione conjugations against a background of more active processes of the formation of acetyl conjugation, higher levels in the content of CoA-SH, acetyl-CoA and ketone bodies.

These violations are believed to be caused by structural and functional disorders inside hepatocytes, such as impairments of plasma membrane and proteins of cytoskeleton, mitochondria dysfunctions as well as activation of catabolic enzymes and misbalance of ionic homeostasis.

The effect of xenobiotics at a dose of 1/100 of LD<sub>50</sub> was accompanied by an increased disintegration of triacylglyc-

erols and glycogen and inhibition of the antioxidant defence system, which was accompanied by decreases of reduced glutathione, cysteine and glutathione-S-transferase. These results suggest the misbalance between prooxidant and antioxidant systems towards prevalence of prooxidants and activation of processes with the involvement of free radicals which probably leads to the oxidative stress. Eventually, the harmful effect of xenobiotics might result in mutation of cells genome, progression of malignization, cellular necrosis and overgrowth of connective tissue. Therefore, compensation of oxidative stress, which is accepted as an important reason of pathology caused by environmental factors in persons who was dealing with manufacture chemicals for a long time, is of great practical importance. Obtained results are highly relevant to be taken in account in laboratory tests as early diagnostic criteria indicating misbalance of oxidative homeostasis of an organism in conditions of sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols effecting.

## REFERENCES

1. Щербань НГ, Жуков ВИ, Мясоедов ВВ, Капустник ВА. Биохимические механизмы радиомиметических эффектов поверхностно-активных веществ. Харьков: Раритеты Украины; 2012. 120 с.
2. Тутельян ВА, Шандала МГ. Химическая безопасность как токсиколого-эпидемиологическая проблема медицинской науки и практики // Токсикологический вестник. – 2014. - № 6. – С. 2-7.
3. Цудзевич БО, Столяр О Б, Калініна ІВ, Юкало ВГ. Ксенобіотики: накопичення, детоксикація та виведення з живих організмів. Тернопіль: Видавництво ТНТУ ім. І. Пулюя, 2012. – 384 с.
4. Кацнельсон БА, Варакин АН, Панов ВГ и др. Экспериментальное моделирование и математическое описание хронической комбинированной токсичности как основа анализа многофакторных химических рисков для здоровья // Токсикологический вестник. – 2015. - № 5. – С. 31-36.
5. Ребезов МБ, Чупракова АМ, Зинина ОВ и др. Оценка методов исследования ксенобіотиків // Международный журнал экспериментального образования. – 2015. – № 8 – С. 249-249.
6. Клименко НА, Кучерявченко МА, Багмут ИЮ и др. Состояние функции детоксикации и основных видов обмена веществ у животных, подвергавшихся пероральному субтоксическому влиянию лапроксидами // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Вип. 3, Т. 2 (111). – С. 138-144.
7. Демченко АВ. Стан глутатіонового ланцюга тіолдисульфідної системи мозку білих щурів після корекції цитоколіном модельованої хронічної ішемії / А. В. Демченко, І. Ф. Беленічев // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. - № 3 (44). – С. 28-34.
8. Карпищено АИ, редактор. Медицинские лабораторные технологии: Руководство по клинической лабораторной диагностике. Т.2. – Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2013. 792 с.
9. Чиркин АА. Редактор. Современные проблемы биохимии. Методы исследований. Учебное пособие. Минск: Высшая школа; 2013. 491 с.
10. Hanioka N, Isobe T, Ohkawara S, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Glucuronidation of 4-tert-octylphenol in humans, monkeys, rats, and mice: an in vitro analysis using liver and intestine microsomes // Arch Toxicol. 2017;91(3):1227-1232. PMID: 26514348.
11. Hanioka N, Kinashi Y, Tanaka-Kagawa T, Isobe T, Jinno H. Glucuronidation of mono(2-ethylhexyl) phthalate in humans: roles of hepatic and intestinal UDP-glucuronosyltransferases. Arch Toxicol. 2017;91(2):689-698. PMID: 27071666.
12. Axarli I, Muleta AW, Chronopoulou EG, Papageorgiou AC, Labrou NE. Directed evolution of glutathione transferases towards a selective glutathione-binding site and improved oxidative stability// Biochim Biophys Acta. 2017;1861(1 Pt A):3416-3428. PMID:27612661
13. Петров С.А., Данилова А.О. Карпов Л.М. Влияние комплексов водорастворимых витаминов на активность некоторых ферментов при диабете // Биомедицинская химия. - 2014. Вып. 6, Том 60. - С. 623-630.
14. Cappiello M, Peroni E, Lepore A, Moschini R, Del Corso A, Balestri F, Mura U. Rapid colorimetric determination of reduced and oxidized glutathione using an end point coupled enzymatic assay// Anal Bioanal Chem. 2013;405(5):1779-85. PMID: 23203508.
15. Radic N., Kukoc-Modun L., Biocic M. Kinetic spectrophotometric determination of N-acetyl-L-cysteine based on the reduction of copper(II)-neocuproine reagent// Croatica Chemica Acta. 2013; 86(1):65-71.

## SUMMARY

### THE INFLUENCE OF SODIUM SALTS OF CARBOXYMETHYLATES OF OXYETHYLATED ISONONYLPHENOLS ON THE NEUTRALIZING FUNCTION OF THE LIVER IN A SUBACUTE TOXICOLOGICAL EXPERIMENT

Marakushyn D., Karmazina I., Isaeva I., Hloba N.

Kharkiv National Medical University, Ukraine

The study was conducted as a part of research work “Biochemical mechanisms of the development of dismetabolic processes under the influence of chemical environmental factors”. The purpose of the present work was to study the effects produced by sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols on the state of the microsomal monooxygenase system of hepatocyte detoxification and on the conjugation reaction in conditions of a subacute experiment and to reveal a potential danger for homoithers and human beings. The object of the study were the white rats of WAG population.

The effects produced by sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols of such brands as AFS 9-4 KM, AFS 9-6 KM, AFS 9-10 KM on the state of the microsomal monooxygenase system of hepatocyte detoxification and on the conjugation reaction in conditions of a subacute experiment were studied.

It was set that studied compounds during their subacute influence in a toxicological experiment stimulated the hydroxyling microsomal monooxygenase system of hepatocytes and inhibited reactions of the formation of glucuronid and glutathione conjugations against a background of more active processes of the formation of acetyl conjugation, higher levels in the content of CoA-SH, acetyl-CoA and ketone bodies.

**Keywords:** sodium salts of carboxymethylates of oxyethylated isononylphenols, microsomal monooxygenase system, isononylphenols, liver.

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ НАТРИЕВЫХ СОЛЕЙ КАРБОКСИМЕТИЛАТОВ ОКСИЭТИЛИРОВАННЫХ ИЗОНИЛФЕНОЛОВ НА ОБЕЗВРЕЖИВАЮЩУЮ ФУНКЦИЮ ПЕЧЕНИ В ПОДОСТРОМ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Маракушин Д.И., Кармазина И.С., Исаева И.Н., Глоба Н.С.

Харьковский национальный медицинский университет, Украина

Целью исследования явилось изучение влияния натриевых солей карбоксиметилатов оксиэтилированных изононилфенолов на состояние микросомальной монооксигеназной системы детоксикации гепатоцитов и реакции конъюгации в условиях подострого эксперимента и определение потенциальной опасности для теплокровных животных и человека.

Объектом исследования были белые крысы популяции WAG. Изучено влияние натриевых солей карбоксиметилатов оксиэтилированных изононилфенолов марок АФС9-4 КМ, АФС9-6 КМ, АФС9-10 КМ на состояние микросомальной монооксигеназной системы детоксикации гепатоцитов и реакции конъюгации в условиях подострого эксперимента.

Установлено, что изучаемые вещества при подостром воздействии в токсикологическом эксперименте стимулируют гидроксиллирующую микросомальную монооксигеназную систему гепатоцитов печени, ингибируют реакции образования глюкуронидной и глутатионовой конъюгации на фоне усиления процессов образования ацетильной конъюгации, повышения уровней содержания КоА-SH, ацетил – КоА, кетоновых тел.

Исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы Харьковского национального медицинского университета «Биохимические механизмы развития дисметаболических процессов в условиях влияния химических факторов окружающей среды».

## რეზიუმე

ოქსიეთილირებულ იზონონილფენოლთა კარბოქსიმეთილატ ნატრიუმის მარილების ზეგავლენა ღვიძლის გაუვნებლობის ფუნქციაზე ქვემწვავე ტოქსიკოლოგიური ექსპერიმენტის დროს

დ. მარაკუშინი, ი. კარმაზინა, ი. ისაევა, ნ. გლობა

ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ოქსიეთილირებული იზონონილფენოლთა კარბოქსიმეთილატ ნატრიუმის მარილების ზეგავლენის შესწავლა ჰეპატოციტების დეტოქსიკაციის მიკროსომალური მონოქსიგენაზური სისტემის მდგომარეობაზე და კონიუგაციის რეაქციებზე ქვემწვავე ექსპერიმენტის პირობებში, პოტენციური საფრთხის განსაზღვრით თბილსისხლიანი ცხოველები-სა და ადამიანებისთვის.

კვლევის ობიექტი იყო WAG პოპულაციის თეთრი ვირთაგვები. შესწავლილია ოქსიეთილირებული იზონონილფენოლთა კარბოქსიმეთილატ ნატრიუმის მარილების AΦC9-4 KM, AΦC9-6 KM, AΦC 9-10 KM მარკების ზეგავლენა ჰეპატოციტების დეტოქსიკაციის მიკროსომალური მონოქსიგენაზური სისტემის მდგომარეობაზე და კონიუგაციის რეაქციებზე ქვემწვავე ექსპერიმენტის პირობებში.

დადგენილია, რომ შესასწავლი ნივთიერებები, ტოქსიკოლოგიური ექსპერიმენტის პირობებში ქვემწვავე ზემოქმედების დროს იწვევენ ღვიძლის ჰეპატოციტების ჰიდროქსილირებულ მიკროსომალურ მონოქსიგენაზურ სისტემის სტიმულაციას და გლუკურონიდური და გლუტათიონური კონიუგაციის რეაქციების ინგიბირებას აცეტილირებული კონიუგაციის წარმოქმნის პროცესების გაძლიერების, კეტონის სხეულებში KoA-SH, KoA – აცეტილის შემცველობის დონის ამაღლების ფონზე.

კვლევა ჩატარდა ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტის სამეცნიერო-კვლევითი სამუშაოს «დისმეტაბოლური პროცესების განვითარების ბიოქიმიური მექანიზმები გარემოს ქიმიური ფაქტორების ზეგავლენის პირობებში» ფარგლებში.

## THE INFLUENCE OF MONOSODIUM GLUTAMATE ADMINISTRATION ON GENERATION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND APOPTOSIS OF BLOOD LEUKOCYTES IN RATS

<sup>1</sup>Delibashvili D., <sup>1</sup>Dumbadze Z., <sup>2</sup>Krynitska I., <sup>2</sup>Marushchak M., <sup>2</sup>Habor H., <sup>3</sup>Holovatiuk L.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, Georgia; <sup>2</sup>I. Horbachevsky Ternopil State Medical University;

<sup>3</sup>Taras Shevchenko Humanitarian Pedagogical Academy of Kremenets, Ukraine

The use of food additives in food manufacturing has been a public health issue for many years. Currently, more than 3000 food additives have been approved by The Food and Drug Administration of the United States and estimates has shown that each person may consume 3.6 to 4.5 kg of food additives per year on average, but these values may be even greater [5,8,10]. The business of food additives is thriving and may reach \$45 billion by 2020. Perhaps the most significant trend driving growth in additives is a general increase in processed foods consumption across the world [18].

One of the most common food additives in Ukraine and in Europe is monosodium glutamate (MSG,  $C_5H_8NO_4NaH_2O$ ). Encoded E621, it is a food additive from a group of flavor enhancers, used in a wide range of foods, such as soups, sauces, mixed condiments, chips, meat products, and puddings. Despite its widespread use and generally considered safety, there are reports which indicate that MSG is toxic to humans and laboratory animals especially at high doses [21].

Total intake of glutamate from food in European countries is generally stable and ranged from 5 to 12 g/day. A maximum intake of

6.000 mg/kg body weight is regarded as safe [2]. However, some studies suggest that MSG intake at a dose of 3 g per day is dangerous to human health [6]. Another researches argue that even at low doses daily administration of MSG to rats is toxic. For instance, Tawfik and Al-Badr (2012) show that MSG at low doses (0.6 and 1.6 mg/g body weight for 14 days) affects rats body weight and liver and kidney functions [20]. According to Onyema et al., [14] rats treated with MSG (0.6 mg/g body weight) for consecutive 10 days start to develop symptoms of liver damage. Significant increase in lipid peroxidation (LPO) and activities of liver enzymes including glutathione-s-transferase (GST), catalase, and superoxide oxidase (SOD) in rat livers were observed. In addition, level of reduced glutathione was decreased in liver.

Hyperproduction of reactive oxygen species (ROS) is a universal mechanism that plays a key role in realizing the action of most toxic agents is the activation of free-radical processes and. At the same time, it is known that ROS are intracellular messengers that participate in the modulation of cell survival, cell differentiation, cell signaling, and inflammation-related factor production [11]. Excess cellular levels of ROS cause damage to proteins, nucleic acids, lipids, membranes and organelles, which can lead to activation of cell death processes such as apoptosis [16].

This paper reports the effect of monosodium glutamate administration at “safe” (allowed) doses on the generation of reactive oxygen species (ROS) and apoptosis in leukocyte blood suspension of rats.

**Material and methods.** Experimental studies were conducted on 32 nonlinear, white male rats weighing 180- 200 g, that were housed at 25±3°C and humidity of 55±2%, under a 12 h light and dark cycle. Water was available *ad libitum*. Our study and manipulations complied with the international principles of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes [4].

MSG was purchased from Sigma-Aldrich (USA). Laboratory animals were divided into 3 groups. The first experimental group was administered MSG at a dose of 15 mg/kg body weight (corresponds dose 1 g per day in humans) for 30 days. The second experimental group was administered MSG at a dose of 30 mg/kg body weight (corresponds dose 2 g per day in humans) for 30 days. The third experimental group was administered MSG at a dose of

45 mg/kg body weight (corresponds dose 3 g per day in humans) for 30 days. The control group of animals was given normal saline.

Analysis of cell samples to determine ROS was evaluated by the flow laser cytometry method on flow cytometer Epics XL (Beckman Coulter, USA), using 2.7-dichlorodihydrofluorescein diacetate. The value of the studied parameter was expressed as a percentage (the ratio of the number of leukocytes with increased intracellular contents of ROS (ROS<sup>+</sup> cells) to the total number of cells) [1].

To determine the level of apoptosis the leukocyte blood suspension was resuspended in a pre-diluted (1:10) binding buffer from the kit of reagents “ANNEXIN V FITC” (“Beckman Coulter”, USA). The number of cells was counted by the help of Goryaev’s calculating camera under the microscope and adjusted to the number of 1x10<sup>6</sup> cells/ml. Then 100 µL of cell suspension was taken to test tube and 1 µL of annexin V-FITC solution and 5 µL of dissolved propidium iodide (PI) were added. Cells were mixed and incubated in binding buffer at room temperature. As a negative control we have used unlabeled cells. The determination of apoptosis was conducted on flow cytometer Epics XL (Beckman Coulter, USA), using a software system. Results are expressed as a percentage of cells which have attached FITC Annexin V or PI. The cells are alive when they are FITC Annexin V and PI negative. The cells are apoptotic when they are FITC Annexin V positive and PI negative. The cells are in stage of irreversible apoptosis (necrosis) when they are FITC Annexin V positive and PI positive.

All of the data were processed using the software package Statistica 6.1 for Windows. Intergroup comparisons were performed using Mann–Whitney–Wilcoxon U test. The median (Me) and interquartile range (IQR [Q25–Q75]) were deduced. Differences with p-value < 0.05 were considered as significant.

**Results and their discussion.** We have established that MSG consumption at a “safe” dose can induce oxidative stress (Table). The percentage of ROS increased in leukocyte blood suspension of rats with 15 mg/kg MSG consumption by 19.5% (p<0,05), 30 mg/kg MSG consumption by 41.9 % (p<0,05), 45 mg/kg MSG consumption by 2.9 times (p<0,001) vs control group. A comparison of ROS percentage in rats of 1st and 2nd experimental groups showed its prevalence by 18.8% (p<0,05) in rats with 30 mg/kg MSG consumption (Fig.). A comparison

Table. The indices of ROS and apoptosis/necrosis in blood leukocytes of rats with MSG consumption, Me [Q25-Q75]

Index \ Group of animals	Control group (n=8)	1st experimental group (n=8)	2nd experimental group (n=8)	3rd experimental group (n=8)
The percentage of reactive oxygen species	12.28 [11.89; 12.46]	14.67 [13.82; 15.41] p <sub>1</sub> <0,05	17.43 [16.82; 17.89] p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,05	35.91 [33.14; 39.42] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,001 p <sub>4</sub> <0,001
The percentage of FITC Annexin V- positive leukocytes	4.68 [4.15;4.97]	5.42 [5.01;5.83] p <sub>1</sub> >0,05	6.81 [6.22;7.34] p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>2</sub> <0,05	9.67 [9.23;10.02] p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>3</sub> <0,01 p <sub>4</sub> <0,001
The percentage of PI-positive leukocytes	1.27 [0.94;1.41]	1.33 [1.06;1.52] p <sub>1</sub> >0,05	1.47 [1.33;1.59] p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> >0,05	1.98 [1.66; 2.21] p <sub>1</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,01 p <sub>4</sub> <0,01

note: p<sub>1</sub> - significant difference compared to the control group; p<sub>2</sub> - significant difference between the 1st and 2nd experimental groups; p<sub>3</sub> - significant difference between the 2nd and 3rd experimental groups; p<sub>4</sub> - significant difference between the 1st and 3rd experimental groups

of ROS percentage in rats of 2nd and 3rd experimental groups showed its prevalence by 2.1 times ( $p < 0,001$ ) in rats with 45 mg/kg MSG consumption.

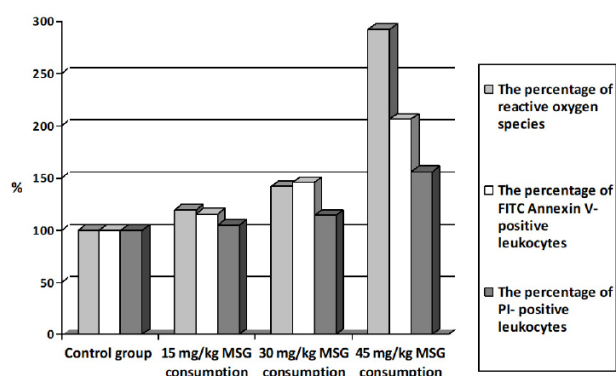


Fig. A comparison of the percentage of ROS and apoptosis/necrosis in blood leukocytes of rats with different doses of MSG consumption

It has been established that MSG consumption caused the significant increasing of the percentage of FITC Annexin V- positive leukocytes in all rats except 1st experimental group (15 mg/kg MSG consumption): 30 mg/kg MSG consumption - by 45.5% ( $p < 0,01$ ), 45 mg/kg MSG consumption - by 2.1 times ( $p < 0,001$ ) vs control group. A comparison of the percentage of leukocytes with early signs of apoptosis in rats of 1st and 2nd experimental groups showed its prevalence by 25.6 % ( $p < 0,05$ ) in rats with 30 mg/kg MSG consumption. A comparison of the percentage of leukocytes with early signs of apoptosis in rats of 2nd and 3rd experimental groups showed its prevalence by 42.0% ( $p < 0,01$ ) in rats with 45 mg/kg MSG consumption.

The percentage of leukocytes with signs of necrosis also increased in all rats except animals of the 1st experimental group: 30 mg/kg MSG consumption - by 15.7% ( $p < 0,05$ ), 45 mg/kg MSG consumption - by 55.9% ( $p < 0,01$ ) vs control group. A comparison of the percentage of leukocytes with signs of necrosis in rats of 1st and 2nd experimental groups showed its prevalence by 10.5 % in rats with 30 mg/kg MSG consumption, but the difference was not significant ( $p > 0,05$ ). A comparison of the percentage of leukocytes with signs of necrosis in rats of 2nd and 3rd experimental groups showed its prevalence by 34.7% ( $p < 0,01$ ) in rats with 45 mg/kg MSG consumption.

ROS are produced at a low level as a normal part of cellular metabolism and play a physiologically important role in the regulation of cell signaling, proliferation, and differentiation [22]. It is predicted that 0.2% to 2% of oxygen consumed in the cell is emitted as ROS [13]. In physiological conditions the main sources of intracellular ROS are mitochondria, the endoplasmic reticulum, peroxisomes, microsomes, and NOX complexes in cell membranes. Specifically, mitochondria represent the main intrinsic source of ROS generation via the mitochondrial electron-transport system. Increased accumulation of calcium ( $Ca^{2+}$ ) in the cytoplasm results in activation of the mitochondrial electron-transport chain and ROS generation. During mitochondrial production of adenosine triphosphate and water, small concentrations of oxygen are produced, resulting in the early stages of ROS production. The superoxide anion, the first ROS element generated by mitochondria, is produced by complex I (NADH ubiquinone oxidoreductase) and complex III (co-enzyme Q, bc1 complex,

and ubiquinone/cytochrome c reductase) activity in the mitochondrial matrix and intermembrane space, respectively [3].

Excess generation of ROS in cells is known to damage DNA, lipids, and proteins resulting in several biological effects, ranging from alterations in signal transduction, gene expression, mutagenesis, and apoptosis. Moreover, the activation of lipid peroxidation processes (direct effect of increased generation of ROS) is an important biochemical mechanism for the development of endogenous intoxication. Excessive lipoperoxidation is accompanied by the accumulation of peroxide oxidation products and the depletion of antioxidant system reserves, which causes hyperenzymemia and accumulation of toxic substances [1,12].

In case of MSG administration, the mitochondrial respiratory chain also is the main source of ROS. In addition, an increase in the extracellular level of glutamate increases the production of hydroxyl radicals. Studies of Sharma A. showed increased activity of  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase under the conditions of MSG administration, which can activate oxygen and the formation of superoxide anion and hydrogen peroxide [17]. However, most scientists associate the occurrence of oxidative stress with glutamate receptors. Glutamate receptors include three families of ionotropic receptors (iGluR) (NMDA - N-methyl-D-aspartate, AMPA -  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid and kainate) and three groups of metabotropic receptors (mGluR) [7]. iGluR form ion channels permeable to particular cations, while mGluR activate intracellular signaling mechanisms via several associated G proteins [15]. Activation of metabotropic receptors leads to an increase in the level of cAMP and releasing of calcium from intracellular stores. The level of calcium changes and this causes various cellular reactions, including activation of NO-synthase and protein kinase C. Glutamate induced  $Ca^{2+}$  influx and disruption of the inner transmembrane potential of the mitochondria, which resulted in opening the mitochondria permeability transition pore. When permeability transition pore is out of control, several essential players of apoptosis, including pro-caspases, cytochrome c, apoptosis-inducing factor and apoptosis protease-activating factor 1 are released into the cytosol. They have the ability to activate caspases, which results in apoptosis [9,15].

**Conclusion.** Thus, our results indicate that administration of MSG at a low doses of 15, 30 and 45 mg/kg body weight was associated with development of excessive ROS generation and apoptotic processes in blood leukocytes of rats. Therefore it is advisable not only to investigate the established dangerous doses of E621, but also to study the molecular mechanisms of the "safe" (allowed) doses of MSG effect on a living organism.

## REFERENCES

1. Bass D.A., Parce J.W., Dechatelet L.R., Szejda P., Seeds M.C., Thomas M. Flow cytometric studies of oxidative product formation by neutrophils: a graded response to membrane stimulation // *J Immunol* 1983; 130:1910-17.
2. Beyreuther K., Biesalski H.K., Fernstrom J.D., Grimm P., Hammes W.P., Heinemann U., Kempinski O., Stehle P., Steinhart H., Walker R. Consensus meeting: monosodium glutamate - an update // *Eur J Clin Nutr* 2007; 61(3):304-13.
3. Dayem A.A., Hossain M.K., Lee S.B., Kim K., Saha S.K., Yang G.-M., Choi H.Y., Cho S.-G. The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Biological Activities of Metallic Nanoparticles // *Int J Mol Sci* 2017; 18:120.
4. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of Europe Strasbourg 1986; 123: 52.

5. Food and Drug Administration of the United States of America. <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/ucm094211.htm#foodadd>
6. Geha R., Beiser A., Ren C. Review of alleged reactions to monosodium glutamate and outcome of a multicenter double blind placebo-controlled study // *J Nutritional* 2000, 130:1058-62.
7. Husarova V., Ostatnikova D. Monosodium Glutamate Toxic Effects and Their Implications for Human Intake: A Review // *JMED Research* 2013; 2013:608765.
8. Krynytska I., Marushchak M., Svan O., Akimova V., Mazur L., Habor H. The indices of endogenous intoxication in rats with carrageenan solution consumption // *Georgian Med News* 2018; (279):196-200.
9. Kurnianingsih N., Utami J.P., Lyrwati N.D. Monosodium glutamate exposure at early developmental stage increases apoptosis and stereotypic behavior risks on zebrafish (*danio rerio*) larvae // *Indonesian J Pharm* 2016; 27(3): 128-38. 22.
10. Linke B.G.O., Casagrande T.A.C., Cardoso L.A.C. Food additives and their health effects: A review on preservative sodium benzoate // *African Journal of Biotechnology* 2018; 17(10):306-11.
11. Marushchak M., Krynytska I., Petrenko N., Klishch I. The determination of correlation linkages between level of reactive oxygen species, contents of neutrophils and blood gas composition in experimental acute lung injury // *Georgian Med News*. – 2016; 253:98-103.
12. Marushchak M., Lisnianska N., Krynytska I., Chornomydz I. The mechanisms of apoptosis initiation in rats with chronic enterocolitis combined with streptozotocin-induced diabetes // *Georgian Med News* 2017; (270):125-130.
13. McMurray F., Patten D.A., Harper M.-E. Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in Obesity- Recent Findings and Empirical Approaches // *Obesity* 2016; 24(11):2301-10.
14. Onyema O.O., Farombi E.O., Emerole G.O., Ukoha A.I., Onyeze G.O. Effect of Vitamin E on Monosodium Glutamate Induced Hepatotoxicity and Oxidative Stress in Rats // *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics* 2006; 43:20-4.
15. Pavlović V., Cekić S., Kocić G., Sokolović D., Živković V. Effect of Monosodium Glutamate on Apoptosis and Bcl-2/Bax Protein Level in Rat Thymocyte Culture // *Physiol Res* 2007; 56:619-626.
16. Redza-Dutordoir M., Averill-Bates D.A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica // Acta* 2016; 1863:2977-92.
17. Sharma A. Monosodium glutamate-induced oxidative kidney damage and possible mechanisms: a mini-review // *Journal of Biomedical Science* 2015; 22:93.
18. Shukla P., Akshay S., Ashok S. Food additives from an organic chemistry perspective // *MOJ Biorg Org Chem* 2017; 1(3):70-9.
19. Siniscalco D., Sapone A., Giordano C. The expression of caspases is enhanced in peripheral blood mononuclear cells of autism spectrum disorder patient // *J Autism Dev Disord* 2012; 42:1403-10.
20. Awfik M.S., Al-Badr N. Adverse effects of monosodium glutamate on liver and kidney functions in adult rats and potential protective effect of vitamins C and E // *Food and Nutrition Sciences* 2012, 3:651-9.
21. Umukoro S., Oluwole G.O., Olamijowon H.E., Omogbiya A.I., Eduviere A.T. Effect of Monosodium Glutamate on Behavioral Phenotypes, Biomarkers of Oxidative Stress in Brain Tissues and Liver Enzymes in Mice // *World Journal of Neuroscience* 2015; 5:339-49.
22. Wellen K.E., Thompson C.B. Cellular Metabolic Stress:

Considering How Cells Respond to Nutrient Excess // *Molecular Cell* 2010; 40:323-32.

## SUMMARY

### THE INFLUENCE OF MONOSODIUM GLUTAMATE ADMINISTRATION ON GENERATION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND APOPTOSIS OF BLOOD LEUKOCYTES IN RATS

<sup>1</sup>Delibashvili D., <sup>1</sup>Dumbadze Z., <sup>2</sup>Krynytska I., <sup>2</sup>Marushchak M., <sup>2</sup>Habor H., <sup>3</sup>Holovatiuk L.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, Georgia; <sup>2</sup>I. Horbachevsky Ternopil State Medical University; <sup>3</sup>Taras Shevchenko Humanitarian Pedagogical Academy of Kremets, Ukraine

The use of food additives in food manufacturing has been a public health issue for many years. Currently, more than 3000 food additives have been approved and estimates has shown that each person may consume 3.6 to 4.5 kg of food additives per year on average. One of the most common food additives in Ukraine and in Europe is monosodium glutamate (MSG). This paper reports the effect of monosodium glutamate administration at “safe” (allowed) doses on the generation of reactive oxygen species and apoptosis in leukocyte blood suspension of rats. Experimental studies were conducted on 32 non-linear, male, white rats weighing 180-200 g. The experimental animals were administered MSG (Sigma-Aldrich, USA) at a dose of 15, 30 and 45 mg/kg body weight. Control group of animals received normal saline. We have found that consumption of MSG at low dosage was associated with development of excessive reactive oxygen species generation and apoptotic processes in blood leukocytes of rats. Therefore it is advisable not only to investigate the established dangerous doses of E621, but also to study the molecular mechanisms of the “safe” (allowed) doses of MSG effect on a living organism.

**Keywords:** monosodium glutamate, reactive oxygen species, apoptosis, rats.

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ НАТРИЯ ГЛУТАМАТА НА ГЕНЕРАЦИЮ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И ПРОЦЕССЫ АПОПТОЗА В ЛЕЙКОЦИТАХ КРОВИ КРЫС

<sup>1</sup>Делибашвили Д.Г., <sup>1</sup>Думбадзе З.Н., <sup>2</sup>Крыницкая И.Я., <sup>2</sup>Марушак М.И., <sup>2</sup>Габор Г.Г., <sup>3</sup>Головатюк Л.М.

<sup>1</sup>Тбилисский государственный медицинский университет, Грузия; <sup>2</sup>Государственное высшее учебное заведение Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского; <sup>3</sup>Кременецкая гуманитарная педагогическая академия им. Тараса Шевченко, Украина

На сегодняшний день для использования одобрено более 3000 пищевых добавок. Установлено, что человек потребляет, в среднем, от 3,6 до 4,5 кг пищевых добавок в год. Одной из наиболее распространенных пищевых добавок в Украине и в Европе является натрия глутамат. В исследовании изучено влияние потребления натрия глутамата в допустимых дозах на образование активных форм кислорода и процессы

апоптоза в лейкоцитарной суспензии крови крыс. Экспериментальные исследования проведены на 32 нелинейных белых крысах-самцах весом 180-200 г. Экспериментальным животным вводили натрия глутамат (Sigma-Aldrich, США) в дозе 15, 30 и 45 мг/кг массы тела. Контрольная группа животных получала нормальный физиологический раствор.

Установлено, что потребление натрия глутамата в небольших дозах вызывает избыточную генерацию активных форм кислорода и апоптотические процессы в лейкоцитах крови крыс, что ставит перед необходимостью исследования влияния установленных "опасных" доз натрия глутамата и молекулярных эффектов разрешенных доз на живой организм.

### რეზიუმე

მონონატრიუმ გლუტამატის გავლენა რეაქციული ჟანგბადის აქტიურ ფორმების გენერაციის პროცესზე და სისხლის თეთრი უჯრედების აპოპტოზი ვირთხებში

<sup>1</sup>დ. დელიბაშვილი, <sup>1</sup>ზ. დუმბაძე, <sup>2</sup>ი. კრინიცაია, <sup>2</sup>მ. მარუშჩაკ, <sup>2</sup>გ. ჰაბორ, <sup>3</sup>ლ. ჰოლოვატიუკი

<sup>1</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, საქართველო;  
<sup>2</sup>ი. გორბაჩევსკის სახ. ტერნოპოლის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი;  
<sup>3</sup>ტ. შევჩენკოს სახ. კრემენცკის ჰუმანიტარული პადაგოგიური აკადემია, უკრაინა

მრავალი წლის განმავლობაში სურსათის წარმოებაში კვებითი დანამატების გამოყენება საზოგადოებრივი ჯანდაცვის პრობლემას წარმოადგენდა. დღესდღეობით, მიღებულია და გამოიყენება 3000-ზე მეტი დასახელების კვებითი დანამატი. თითოეული ადამიანისთვის ჩვენების მიხედვით დაშვებულია, საშუალოდ, 3,6-დან 4,5 კგ-მდე კვების დანამატის მოხმარება წელიწადში. ნატრიუმის გლუტამატი ითვლება ერთ-ერთ ყველაზე გავრცელებულ საკვებ დანამატად უკრაინაში და ევროპაში.

აღნიშნული კვლევის მიზანია ნატრიუმის გლუტამატის «უსაფრთხო» (დასაშვები) დოზების მოხმარების გავლენის განსაზღვრა ჟანგბადის აქტიური ფორმების წარმოქმნასა და ვირთხების სისხლის ლეიკოციტურ სუსპენზიაში აპოპტოზის პროცესებზე. ექსპერიმენ-

ტული კვლევა ჩატარდა 32 არასწორხაზოვან თეთრ მამრობითი სქესის ვირთხებზე წონით 180-200 გ. ექსპერიმენტულ ცხოველებისთვის შეკვდათ ნატრიუმის გლუტამატი (Sigma-Aldrich, აშშ) დოზით 15, 30 და 45 მგ/კგ სხეულის წონაზე, ხოლო საკონტროლო ჯგუფის ცხოველებისათვის - ნორმალური ფიზიოლოგიური ხსნარი. აღმოჩნდა, რომ დაბალი დოზებით გლუტამატ ნატრიუმის მიღება დაკავშირებულია ჟანგბადის აქტიური ფორმების ჭარბ გენერაციასთან და სისხლის თეთრი უჯრედებში აპოპტოზური პროცესების განვითარებასთან. აქედან გამომდინარე, მიზანშეწონილია ნატრიუმის გლუტამატის არა მხოლოდ საშიში დოზების გავლენის კვლევა, არამედ, მისი «უსაფრთხო» (დაშვებული) დოზების მოლეკულური ეფექტების შესწავლა ცოცხალ ორგანიზმზე.

## EXPERIMENTAL STUDY OF PAIN-RELIEVING MECHANISMS OF 4-[4-OXO-(4H)-QUINAZOLIN-3-YL]-BENZOIC ACID (PK-66 COMPOUND)

<sup>1</sup>Kramar H., <sup>1</sup>Stepaniuk H., <sup>1</sup>Voloshchuk N., <sup>1</sup>Taran I., <sup>2</sup>Kovalenko S.

<sup>1</sup>Vinnitsia National M. Pirogov Memorial Medical University; <sup>2</sup>Zaporizhzhya State Medical University, Ukraine

The problem of pain and analgesia occupies one of the central places in modern medicine and is a subject of a large-scale multidisciplinary study [1]. Since modern non-narcotic analgesics do not always satisfy the demands of clinicians and have a number of side effects (acute -, nephrotoxic- and hepatotoxicity), the search for and development of highly effective and safe medicines for treatment of pain syndromes of various origins remains one of the priorities of modern pharmacology [2]. Among the various classes of chemicals, derivatives of 4-oxo (amino) quinazoline have proven to be quite promising ones. According to the literature, compounds of this class have shown cerebro-, cardio-, acto-protective and antinociceptive properties, and appeared to be low toxicity substances [3-6]. Among the specified class of chemical compounds is quite attractive 4-[4-oxo-(4H)-quinazolin-3-yl]-benzoic acid (compound PK-66) which is characterized by a rather high analgesic action on somatic and

neuropathic pain syndrome models. By the antinociception efficacy, PK-66 was similar to Diclofenac and Ketorolac, and by activity - even surpassed them [7]. Interest in this compound is due to the fact that PK-6, unlike classical non-narcotic analgesics, practically did not create any ulcerogenic effect on the stomach of both intact rats and animals with a model inflammatory process (adjuvant arthritis), which suggested that its action mechanisms had not been related to antiprostaglandin action [8]. It appeared PK-66 had other mechanisms of antinociception, which became the basis for the study.

Study objective was to study the mechanisms of analgesic action of PK-66 compound in rats using the pharmacological analyzers.

**Material and methods.** Substance 4- [4-oxo-(4H)-quinazolin-3-yl]-benzoic acid (PK-66 in the laboratory font) was used in the research. Its structural formula is presented in Fig. 1.



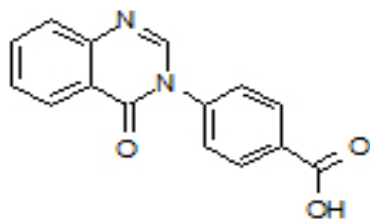


Fig. 1. Structural formula PK-66

The compound was synthesized at the department of organic and bioorganic chemistry of Zaporizhzhya State Medical University [9]. PK-66 is white powder slightly soluble in water and in alcohols and soluble in DMF solution, this solution is stable.

We conducted experiments on 175 male Vistar rats, weighing 200-220 g, obtained from the vivarium of the Institute of Pharmacology and Toxicology of the Academy of Medical Sciences of Ukraine. All stages of the research were carried out in accordance with the rules of humane treatment of experimental animals, approved by the Committee on Bioethics of the Pyrogov Memorial Vinnytsia National Medical University (Minutes No. 7 of June 08, 2015) and the international animal welfare rules harmonized with the regulations of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. The animals were kept on a standard diet with *ad libitum* water, at a temperature of  $22^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$  with 12-hour illumination. The animals were identified using a system of individual colored labels on the body; seasonal and circadian animal rhythms were taken into account throughout the study.

The action of the PK-66 compound was investigated during its single intraperitoneal administration to the animals in the conditionally therapeutic dose 1 mg/kg which equals its ED<sub>50</sub> by its analgesic action. The indicated dose of PK-66 constitutes 0,04% from its LD<sub>50</sub>.

The evaluation of the PK-66 compound's analgesic action mechanisms was carried out on a "tail-flick" thermal irritation model by recording changes in the latent period (LP) of the tail flick (sec.) following a focused light beam [10]. Baseline LP duration indicators and changes thereof at Hours 1, 2, 4 and 6 after administration of the study compounds were compared.

To evaluate the mechanisms of PK-66 compound analgesia, we determined changes in its efficacy with underlying effects of pharmacological analyzers – the medicines that influence on various receptors, which, according to literature [11], are involved in the nociception processes: Naloxon (1 mg/kg IP), Tramadolium (33 mg/kg IP), Clophelinium (0.01 mg/kg IP), Yohimbine (5 mg/kg IG), Noradrenaline (15 mg/kg IP), Reserpinium (2.5 mg/kg IP), Chlorpromazine (2 mg/kg IP), Levodopa (100 mg/kg IG), Diazepam (3 mg/kg IP), and Memantine (10 mg/kg IP). Pharmacological analyzers were intraperitoneally administered 0.5 hours before injection of the PK-66 compound, and intragastrically - 1 hour before introduction of the study medicine. Animals of the control group received equivalent amounts of solvents.

All computations were performed with STATISTICA 8.0 software. All quantitative data were tested for normality using a Shapiro-Wilk test. Non-parametric data are reported as median (IQR). Statistical significance of differences between groups was performed using Kruskal-Wallis ANOVA criterion in case when multiple independent samples were compared, and using

Mann-Whitney U test in case when two independent samples were compared. The difference between mean values was considered to be statistically significant with  $P < 0,05$ .

**Results and their discussions.** According to the methodical guidelines for the pre-clinical study of potential medicinal products with analgesic activity, the mandatory step is to establish the presence of a central component in the mechanisms of action of the compound. Therefore, at the first stage, we estimated the involvement of the opioidergic system in the analgesic action of PK-66 [12]. The results showed that the antinociceptive effect of PK-66 compound practically did not change throughout the study with underlying previous administration of Naloxon opioid receptor antagonist (Fig. 2). In contrast, Naloxon practically neutralized the pharmacological effect of Tramadolium, an agonist of mu- and kappa opioid receptors. The obtained data provide the basis for attributing PK-66 to non-narcotic analgesics.

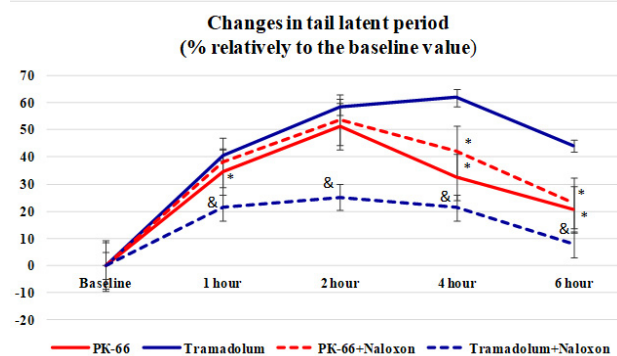


Fig. 2. Trends in duration of the tail-flick latent period (% relatively to the baseline value) with underlying PK-66, Tramadolium and combination thereof with Naloxon.

\* -  $P < 0,05$  between PK-66 and Tramadolium; # -  $P < 0,05$  between PK-66 and Naloxonum; & -  $P < 0,05$  between Tramadolium and Naloxon

In subsequent studies, it was found that adrenergic system was involved in the mechanism of PK-66 action. As an example, sympatolytic Reserpinium was used as a pharmacological analyzer. It is known that 2 phases are observed in the mechanism of its action - initially it promotes the release of catecholamine from the depot, and soon - reduces reuptake and boosts its degradation, thus depleting the reserves of catecholamines [13]. Our data show that monotherapy with this medicine caused an increase in LP (+ 24.7%) at Hour 2, and in later terms of the study (at Hours 4 and 6) - on the contrary, lowered the pain threshold (-13.5 and -21.3%, respectively). The previous administration of Reserpinium at Hour 1 slightly increased the analgesic activity of PK-66, and at Hour 2, on the contrary, significantly decreased and made up 13.2% versus 57% under separate introduction. Neutralizing of analgesic activity was observed in the later terms of study (Fig. 3).

For more detailed understanding of the involvement of the adrenergic system in the mechanism of analgesic effect of the studied compound, we used the adrenergic agonist Noradrenaline, as well as central  $\alpha 2$  receptor agonist Clophelinium, and receptor antagonist Yohimbine (Fig. 4). The results demonstrated that prior administration of Noradrenaline virtually did not change the strength and duration of PK-66 action (Fig. 4a) and their interaction could be disregarded. However, the data obtained cannot exclude the involvement of Noradrenaline system in the mechanisms of action of the compound being studied.

For example, it is known that Noradrenaline is involved in the internal control of pain by influencing on  $\alpha$ 1- and  $\alpha$ 2-adrenergic receptors at both spinal and supraspinal levels [14]. However, the peripheral Noradrenaline, which is largely excreted by the sympathetic nervous system, has little effect on healthy tissues, whereas in damaged or inflamed tissues it causes various effects, including exacerbation of pain in neuropathy [15]. Therefore, it is quite obvious that the effect did not manifest itself in the thermal irritation, which proves the absence of influence on a pain threshold by this neurotransmitter. Some evidence of involvement of adrenergic innervation in the analgesic effect of PK-66 has been obtained with the additional administration of medicines that affect  $\alpha$ 2-adrenergic receptors and have proven effect in transmission of nociceptive stimuli [16-18]. Concomitant administration of quinazoline derivative and Clophelinum (Fig. 4b) caused a combination of analgesic effects at Hours 1 and 6, whereas at Hour 2, the effect of the compound was less than with monotherapy with the study medicine (+40.9% vs. +51.2% with monotherapy). At that period of the study, prior administration of  $\alpha$ 2-adrenergic blocker Yohimbine, on the contrary, contributed to a significant increase in the anti-nociceptive effect of PK-66: LP grew by 65.9% (Fig. 4c). All above mentioned suggests

that the adrenergic system, in particular, alpha-2 adrenergic receptors, is involved in the PK-66 action mechanisms.

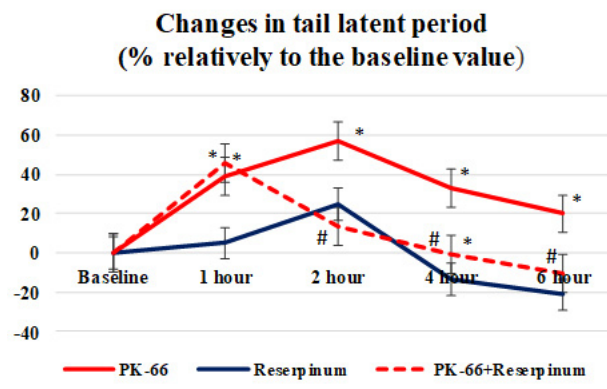
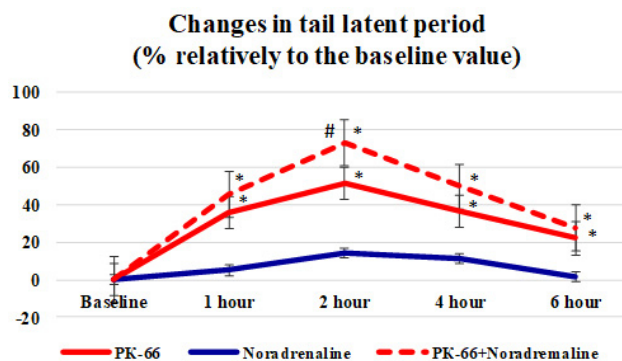


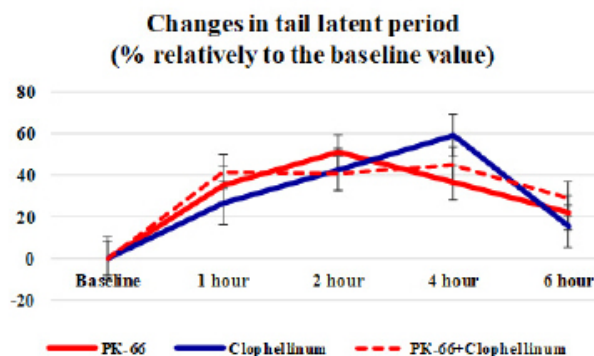
Fig. 3. Trends in duration of the latent period tail-flick in rats (% relatively to the baseline value) with underlying PK-66, Reserpine and combination thereof.

\* -  $P < 0,05$  in comparison with "Reserpine"; # -  $P < 0,05$  between "PK-66" and "PK-66+Reserpine"



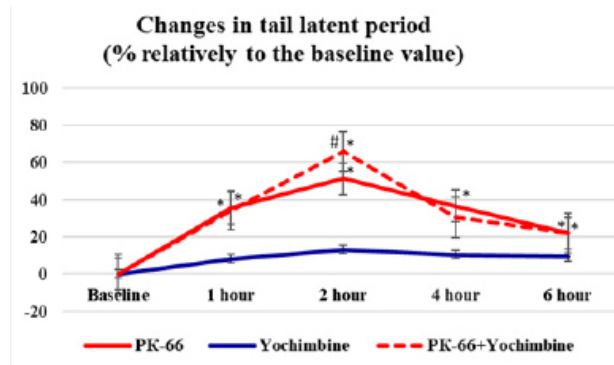
A

\* -  $P < 0,05$  in comparison with "Noradrenaline"  
# -  $P < 0,05$  between "PK-66" and "PK-66+ Noradrenaline"



B

\* -  $P < 0,05$  in comparison with "Clophellinum"  
# -  $P < 0,05$  between "PK-66" and "PK-66+ Clophellinum"



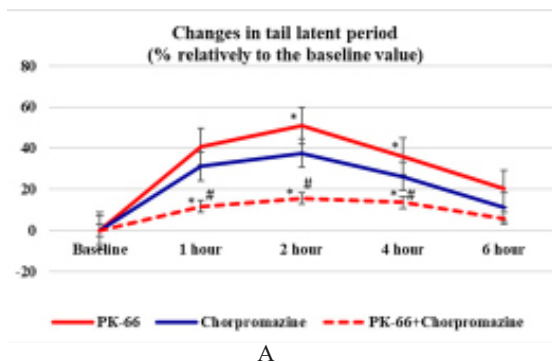
C

\* -  $P < 0,05$  in comparison with "Yohimbine"  
# -  $P < 0,05$  between "PK-66" and "PK-66+ Yohimbine"

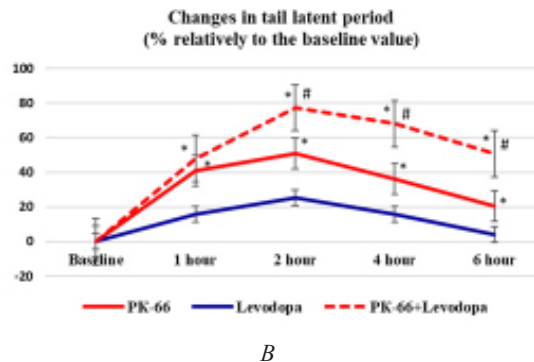
Fig. 4. Effect of Noradrenaline (Fig. 3a), Clophelinum (Fig. 3b), Yohimbine (Fig. 3c) and combination thereof with PK-66 on the duration of tail-flick latent period in rats

It is known that dopamine is also involved in monoamine regulation of pain transmission and anesthetic processes [16,17]. Therefore, in the next step, we investigated changes in the effect of PK-66 compound with prior administration of Levodopa and Chlorpromazine (Fig. 5). Based on the results obtained, it can be argued that this system is undoubtedly involved in the action being studied.

Thus, the blockade of dopamine D2 receptors by Chlorpromazine caused a statistically significant reduction in the analgesic activity of the PK-66 compound, almost up to complete neutralization thereof (Fig. 5a). On the contrary, administration of Levodopa potentiated the analgesic effect and substantially prolonged it, which was particularly evident at Hours 2-6 (Fig. 5b).

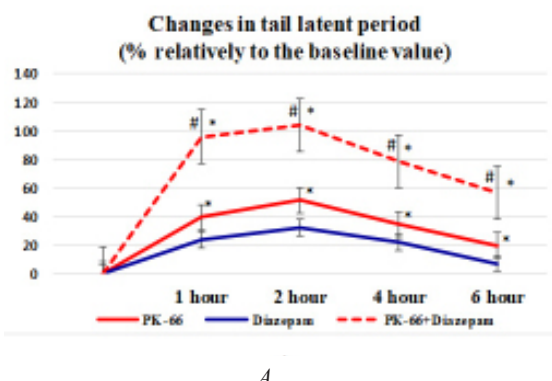


\* -  $P < 0,05$  in comparison with "Chlorpromazine"  
# -  $P < 0,05$  between "PK-66" and "PK-66+ Chlorpromazine"

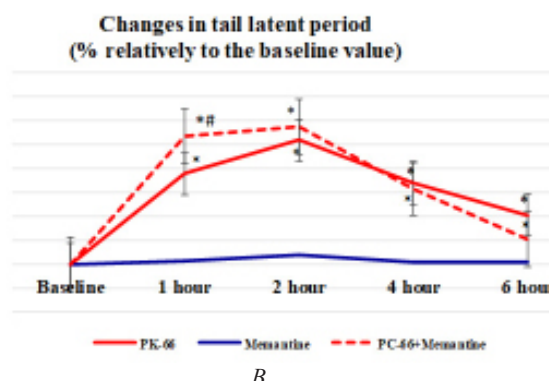


\* -  $P < 0,05$  in comparison with "Levodopa"  
# -  $P < 0,05$  between "PK-66" and "PK-66+ Levodopa"

Fig. 5. Effect of Chlorpromazine (Fig. 4a), Levodopa (Fig. 4b) and combination thereof with PK-66 on the duration of tail-flick latent period in rats (%)



\* -  $P < 0,05$  in comparison with "Diazepam"  
# -  $P < 0,05$  between "PK-66" and "PK-66+ Diazepam"



\* -  $P < 0,05$  in comparison with "Memantine"  
# -  $P < 0,05$  between "PK-66" and "PK-66+Memantine"

Fig. 6. Effect of Diazepam (Fig. 5a), Memantine (Fig. 5b) and combination thereof with PK-66 on the duration of tail-flick latent period in rats

The pharmacodynamics of chlorpromazine, as is known today, includes effects on various types of chemical neurotransmission that relate to the monoamine system (dopamine, norepinephrine, serotonin, histamine, etc.). However, as noted in the thorough inspection [19] Chlorpromazine, like haloperidol in low threshold doses (2.5 and 0.2 mg / kg intraperitoneal, respectively), is able to block dopamine receptors, and underlies their antipsychotic action, whereas in large doses (15-30 mg/kg) Chlorpromazine exerts a modulating effect on the catecholamine and tryptamine system, thereby showing vascular and other effects. In our study, it was the low dose of aminazine (2 mg/kg) that, taken together and compared with the effect of levodopa, suggests that the dopaminotropic effect of the compound was studied.

In neurochemical mechanisms of pain stimuli transmission, special attention is paid to the role of inhibitory and excitatory amino acids, GABA and glutamate, in particular to the balance between activity in these systems, which is known to determine the level of transmission of pain stimuli and to influence sensitization of nociceptors. The NMDA receptor is involved in generation and maintenance of central (spinal) hypersensitivity states, and its activation plays a decisive role in a neuropathic pain. NMDA receptor antagonists prevent or block hyperalgesic pain states caused by damage to tissues, nerves, inflammation and ischemia [19]. Equally important is the role of braking systems, including the GABA-receptor complex [19].

We conducted the study of involvement of these systems using administration of GABA structure activator Diazepam and partial NMDA receptor antagonist Memantine (Fig. 6). The results showed that Diazepam potentiated and prolonged the effect of PK-

66 on the model of thermal nociception at all terms of the study: the analgesic activity of the compound was increased 2.5-3.5 times against administration of the benzodiazepine agonist (Fig. 6a). At the same time, with underlying prior administration of Memantine, the potentiation of antinociception effect was observed only at Hour 1 and less - at Hour 2 after administration of PK-66 (Fig. 6b). However, this cannot be a proof against the effect of the study compound on the system of excitatory amino acids, since Memantine is a non-competitive blocker of a phencyclidine site of these receptors, whereas their structure and function of NMDA receptors is quite complicated and not well understood. It is known, for example, that NMDA receptors are heteromeric complexes consisting of four subunits, each of which contains various isoforms: GluN1, GluN2 (GluN2A-GluN2D) and GluN3 (GluN3A and GluN3B). The individual subunits, being a part of NMDA receptors, reveal various properties associated with cerebral distribution and regulation. Due to different structure of heteromeric subunits, NMDA receptors have heterogeneous functionality and pharmacological characteristics [10]. Moreover, earlier studies have proved the presence of cerebroprotective effect [3] in quinazoline derivatives, including PK-66, which largely depends on the effect on the brain structures [21].

Thus, evaluating the results of the conducted research, we can consider that adrenergic and GABA-ergic systems as well as NMDA receptors of CNS are to an extent involved in the mechanism of the analgesic effect of PK-66. At the same time the ability of PK-66 to cause significant analgesic and moderate anti-inflammatory action in the conditions of carrageenan edema of hindlimb of the rats [22] at the first hour of inflammation (ki-

nin phase) and at the third hour of the experiment (prostaglandin phase) [23], can give evidence of the existence of antikinin and antiprostaglandin effects in the quinazoline derivative.

The existence of other mechanisms in the realization of the analgesic activity of the compound under study cannot be ruled out as well, in particular, modulating influence on the synthesis of NO and leukotrienes which also take part in nociceptive processes, but this requires further investigation.

**Conclusions.** The antinociceptive effect of this compound 4-[4-oxo-(4H)-quinazolin-3-yl]-benzoic acid (PK-66), is not mediated by opioid mechanisms, because Naloxon does not reverse its effect.

The ability of Clophelinum, Yohimbine, Noradrenaline, Reserpine to modulate the degree of analgesic effect of PK-66 shows that the adrenergic system, in particular, alpha-2 adrenergic receptors take part in the mechanisms of analgesic action of this compound.

The dopaminergic system is also involved in anti-nociceptive effects of PK-66, as the blocking agents of dopamine D2 receptors, in particular, Aminazine reduced the analgesic effect of PK-66, and the administration of Levodopa, on the contrary, potentiated it.

The introduction of GABA structures activator Diazepam potentiates and prolongs the analgesic action of PK-66 on the model of thermal nociception at all terms of the research.

**Perspectives for further studies.** At the same time, the involvement of glutamate receptors in anti-nociceptive effects of quinazoline derivative, as well as other neurochemical mechanisms and peripheral mechanisms of pain formation, requires further study.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Clarke T.C. Use of Complementary Health Approaches for Musculoskeletal Pain Disorders Among Adults / T.C. Clarke, R.L. Nahin, P.M. Barnes, B.J. Stussman // United States, 2012. Natl Health Stat Report. – 2016. – Vol. 98. – P. 1-12.
2. Palmer G.M. Pain management in the acute care setting: Update and debates / G.M. Palmer // Journal Paediatr Child Health – 2016. – Vol. 52(2). – P. 213-20.
3. Ходаківський О. А. Нейропротекторна дія похідних 4-оксо(аміно-) хіназоліну при експериментальній ішемії головного мозку : автореф. дис. канд. мед. наук: 14.03.05 / О.А. Ходаківський; Одес. держ. мед. ун-т. - О., 2009. - 21.
4. Характеристика впливу 4-[4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл] бензойної кислоти (ПК-66) на перебіг адреналінової міокардіодистрофії В шурів за даними біохімічних досліджень / О. В. Джигалок, Г. І. Степанюк, Н. В. Заїчко, С. І. Коваленко, К. П. Шабельник // Медична та клінічна хімія. – 2016. – Т. 18., № 4. – С. 16-22. Режим доступу: <http://nbuv.gov.ua>
5. Альчук О. І. Вплив 4(4-оксо-4Н-хіназолін-3-іл)бензойної кислоти на функціональний стан печінки шурів за умов щоденного фізичного навантаження / О. І. Альчук // Фармакологія та лікарська токсикологія. - 2016. - № 3. - С. 28-33. - Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/ft\\_2016\\_3\\_4](http://nbuv.gov.ua/UJRN/ft_2016_3_4).
6. Юрченко А. І. Скринінг анальгетичної дії похідних 4-оксо(аміно-) хіназоліну / А. І. Юрченко // Фармакол. та лікарська токсикологія. – 2013. – №2 (33). – С. 89-91.
7. Kramar H.I. Experimental study of analgesic effect of new 3-(2-R1-6-R2-4-oxoquinoline-3(4H)-yl)alkyl (alkaryl, aryl) carboxylic acid derivative (PC-66 compound) / H.I. Kramar // Curierul medical. – 2017. – № 1. - P. 32-34.
8. Kramar H.I. Experimental study of state of gastric mucosa in rats under introduction of new derivate of 4-[4-oxo-4h-quinazoline-3-yl] benzoic acid (pc-66) / H.I. Kramar // ScienceRise: Pharmaceutical Science. – 2017. – Vol. 2(6). - P. 53-58
9. Шабельник К.П. Односторонній синтез 4-[4-оксо-(4Н)-хіназолін-3-іл]бензойної кислоти / К.П. Шабельник, С.І. Коваленко, І.П. Колісниченко // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки. – Запоріжжя, 2006. - № 15: 24-29.
10. Gregory N.S. An overview of animal models of pain: disease models and outcome measures / N.S. Gregory, Harris A.L., C.R. Robinson // The Journal Of Pain. 2013; 14(11): 1255-1269.
11. Ядловський О.Є. Експериментально-теоретичне обґрунтування розробки потенційних ненаркотичних анальгетиків серед конденсованих похідних азотистих гетероциклів та їх аналогів : автореф. дис. на здобуття наук. ступення докт. біолог. наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» / О.Є. Ядловський. – Київ, 2014. – 20 с.
12. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / А.Н. Миронов – М., 2012. – 939 с.
13. Antkiewicz-Michaluk L. Antidepressant-like Effect of Tetrahydroisoquinoline Amines in the Animal Model of Depressive Disorder Induced by Repeated Administration of a Low Dose of Reserpine: Behavioral and Neurochemical Studies in the Rat / L. Antkiewicz-Michaluk, A. Wąsik, E. Możdżeń, I. Romańska, J. Michaluk // Neurotox Res – 2014. – Vol.26(1). – P. 85–98.
14. Pertovaara A. The noradrenergic pain regulation system: a potential target for pain therapy / A. Pertovaara // Eur J Pharmacol. – 2013. – Vol. 716(1-3). – P. 2-7.
15. Seibt F. Noradrenaline-mediated facilitation of inhibitory synaptic transmission in the dorsal horn of the rat spinal cord involves interlaminar communications / F. Seibt, R. Schlichter // European Journal Of Neuroscience. – 2015. – Vol. 42(9). – P. 2654-2665.
16. Khalid S. Neuroanatomy and Neuropsychology of Pain / S. Khalid, R. Tubbs // Cureus. – 2017 – Vol. 9(10).
17. Mitsi V. Modulation of pain, nociception, and analgesia by the brain reward center / V. Mitsi, V. Zachariou // Neuroscience. – 2016 – Vol. 338 - P. - 81-92.
18. Chabot-Doré, A. Analgesic synergy between opioid and  $\alpha$ 2-adrenoceptors / A. Chabot-Doré, D. Schuster, L. Stone, G. Wilcox // British Journal Of Pharmacology 2014; 172(2):388-402.
19. Baumeister A. A. The Chlorpromazine Enigma / A. A. Baumeister // Journal of the History of the Neurosciences. - 2013; 22(1):14–29.
20. Tonsfeldt K.J. Beeson KA, et al. Sex Differences in GABAA Signaling in the Periaqueductal Gray Induced by Persistent Inflammation / K.J. Tonsfeldt, K.A. Beeson, et al. // The Journal Of Neuroscience. – 2016. – Vol. 36(5). – P. 1669-1681.
21. Gonda X. Basic pharmacology of NMDA receptors / X. Gonda // Current Pharmaceutical Design. – 2012. – Vol. 18. - №12. P. – 1558-1567.
22. Vizi E.S. Role of nonsynaptic GluN2B-containing NMDA receptors in excitotoxicity: evidence that fluoxetine selectively inhibits these receptors and may have neuroprotective effects / E.S. Vizi, M. Kisfali, T. Lorincz // Brain Research Bulletin. – 2013. – Vol. 93. – P. 32-38.
23. Степанюк Г.І. Порівняльна характеристика протизапальної дії 4-[4-оксо-(4Н)-хіназолін-3-іл] бензойної кислоти та диклофенаку натрію / Г.І. Степанюк, Г.І. Юрченко, О.І. Альчук // Матеріали VIII наук.-практ. конф. з міжнародною участю «Досягнення клінічної фармакології та фармакотерапії на шляхах доказової медицини» (9-10 листопада 2015 р. Вінниця): тези доп. – Вінниця: ВНМУ ім. М.І. Пирогова, 2015. – С. 161.
24. Di. Rosa M. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine / M. Di. Rosa, Giround J. P., Willoughby D.A. // J. Pathol. – 1971. – Vol. 104, № 15. – P. 29.

SUMMARY

EXPERIMENTAL STUDY OF PAIN-RELIEVING MECHANISMS  
OF 4-[4-OXO-(4H)-QUINAZOLIN-3-YL]-BENZOIC ACID (PK-66 COMPOUND)

<sup>1</sup>Kramar H., <sup>1</sup>Stepaniuk H., <sup>1</sup>Voloshchuk N., <sup>1</sup>Taran I., <sup>2</sup>Kovalenko S.

<sup>1</sup>Vinnitsia National M. Pirogov Memorial Medical University; <sup>2</sup>Zaporizhzhya State Medical University, Ukraine

An in-depth study of the pharmacological properties of 4-[4-oxo-(4h)-quinazolin-3-yl]-benzoic acid as an analgesic agent established that it had a sufficiently high analgesic effect on models of somatic and neuropathic pain syndromes.

Study objective was to study the mechanisms of analgesic action of PK-66 compound in rats using the pharmacological analysis.

We evaluated the mechanisms of analgesic effect of PK-66 (1 mg/kg, intraperitoneal) compound on the thermal irritation model on Hours 1, 2, 4 and 6 after administration of study compounds. To evaluate the mechanisms of PK-66 compound pain killing, we determined the changes in its efficacy against the effects of pharmacological analyzers - Naloxon, Tramadolom, Clophelinum (Clonidine), Yohimbine, Noraepinephrine, Reserpinum, Chlorpromazine (Aminazin), Levodopa, Diazepam, and Memantine).

The anti-nociceptive effect of PK-66 compound was virtually unchanged during all study terms with underlying administration of Naloxon, an opioid receptor antagonist. The results of administration of Reserpinum in rats and the concomitant administration of Noradrenaline, Clophelinum, Yohimbine and

quinazoline derivative demonstrated that the adrenergic system, in particular alpha-2 adrenergic receptors, was involved in the mechanisms of PK-66 activity. Changes in the PK-66 compound effect with underlying previous administration of Levodopa and Chlorpromazine suggested that the dopaminergic system was unquestionably involved in the analgesic activity of the compound. Further study of the involvement of inhibitory and exhilarating amino acids, GABA and glutamate, showed that administration of Diazepam potentiated and extended the PK-66 analgesic effect on the thermal nociception models throughout the experiment. At the same time, increased antinociception with underlying Memantine administration preceding PK-66 was observed only in the first hours of the experiment.

Therefore, the studies conducted have shown that the adrenergic system, in particular alpha-2 adrenergic receptors, dopaminergic and GABAergic systems, is involved in the mechanisms of analgesic action of 4-[4-oxo-(4h)-quinazolin-3-yl]-benzoic acid (PK-66) without any effect of PK-66 on opioid receptors.

**Keywords:** 4-[4-oxo-(4H)-quinazolin-3-yl]-benzoic acid, nociception, analgesic action, adrenergic system.

РЕЗЮМЕ

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ОБЕЗБОЛИВАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ 4- [4-ОКСО-(4H)-ХИНАЗОЛИН-3-ИЛ] БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ (СОЕДИНЕНИЕ ПК-66) В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

<sup>1</sup>Крамар А.И., <sup>1</sup>Степанюк Г.И., <sup>1</sup>Волощук Н.И., <sup>1</sup>Таран И.В., <sup>2</sup>Коваленко С.И.

<sup>1</sup>Винницкий национальный медицинский университет им. М.И. Пирогова;

<sup>2</sup>Запорожский государственный медицинский университет, Украина

При углубленном изучении фармакологических свойств 4- [4-оксо (4H) -хиназолин-3-ил] бензойной кислоты в качестве обезболивающего средства установлено наличие у нее достаточно высокого анальгезирующего действия на моделях соматического и нейропатического болевых синдромов.

Цель исследования - определить механизмы анальгезирующего действия соединения ПК-66 у крыс с помощью фармакологических анализаторов.

Оценку механизмов анальгезирующего действия соединения ПК-66 проводили на модели термического раздражения хвоста крыс в течение 1, 2, 4 и 6 часов после введения исследуемых соединений. Для оценки механизмов обезболивающего действия соединения ПК-66 определяли изменения его эффективности на фоне влияния фармакологических анализаторов (налуксон, трамадол, клофелин, йохимбин, норадреналин, резерпин, хлорпромазин, леводоба, диазепам, мемантин).

На фоне предварительного введения антагониста опиоидных рецепторов налоксона антиноцицептивный эффект соединения ПК-66 практически не изменялся на протяжении всех сроков исследования. Результаты резерпинизации

крыс и совместное применение производного хиназолина с норадреналином, клофелином, йохимбином продемонстрировало, что в механизмах действия ПК-66 принимает участие адренергическая система, в частности, альфа-2 адренорецепторы. Изменения эффекта соединения ПК-66 на фоне предварительного введения леводобы и аминазина указывают, что дофаминергическая система бесспорно задействована в обезболивающем действии указанного соединения.

Дальнейшее исследование участия тормозных и возбуждающих аминокислот, ГАМК и глутамата, показало, что введение диазепамы потенцирует и продлевает обезболивающее действие ПК-66 на модели термической ноцицепции в течение всего эксперимента. На фоне введения мемантина перед ПК-66 усиление антиноцицепции наблюдалось только в первые часы опыта.

Проведенные исследования показали, что в механизмах анальгезирующего действия 4-[4-оксо(4H)-хиназолин-3-ил] бензойной кислоты (ПК-66) принимает участие адренергическая система, в частности альфа2-адренорецепторы, дофаминергическая и ГАМК-ергическая системы и отсутствует влияние ПК-66 на опиоидные рецепторы.

## რეზიუმე

ბენზომეჟავას (PK-66) (4-[4-ოქსო-(4H-ხინაზოლინ-3-ილ)-ის]გაუტკივარების მექანიზმის ზემოქმედების გამოკვლევა ექსპერიმენტში

<sup>1</sup>ა. კრამარი, <sup>1</sup>გ. სტეპანიუკი, <sup>1</sup>ნ. ვოლოშჩუკი, <sup>1</sup>ი. ტარანი, <sup>2</sup>ს. კოვალენკო

<sup>1</sup>მ. პიროგოვის სახ. ვინიცის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>2</sup>ზაპოროჟიეს სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

ბენზომეჟავას (4-[4-ოქსო-(4H-ხინაზოლინ-3-ილ)-ის]გაუტკივარების თვისების შესწავლის შედეგად აღმოჩნდა მისი საკმაოდ მაღალი გამაუტკივარებელი თვისების არსებობა.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა PK-66 ნაერთის გამაუტკივარებელი მოქმედების მექანიზმის შესწავლა ფარმაკოლოგიური ანალიზატორების მეშვეობით ვირთაგვებში.

PK-66 ნაერთის გამაუტკივარებელი მექანიზმის ზემოქმედების შეფასება ხდებოდა ვირთაგვების კუდის თერმული გაღიზიანების მოდელზე შენაერთის შეყვანიდან 1,2,4,6 საათის შემდეგ. PK-66 ნაერთის გამაუტკივარებელი მექანიზმის შეფასების მიზნით ხდებოდა მისი ეფექტურობის განსაზღვრა ფარმაკოლოგიური ანალიზატორების - ნალქსონი, ტრამადოლი, კლოფელინი, იოხიმბინი, ნორადრენალინი, რეზერპინი,

ამინაზინი, ლევოდოპა, დიაზეპამი, მემანტინის ზემოქმედების ფონზე.

ოპიოიდური რეცეპტორების ანტაგონისტის ნალქსონის შეყვანის ფონზე PK-66 ნაერთის ანტინოციცეპტური ეფექტი პრაქტიკულად არ შეცვლილა კვლევის მოთვლ მსვლელობაში. ვირთაგვების რეზერპინიზაციის და ხინაზოლინის კლოფელინთან, ნორადრენალინთან და იოხიმბინთან ერთობლივად მოხმარებამ გამოავლინა, რომ PK-66 ზემოქმედების მექანიზმში მონაწილეობს ადრენერგული სისტემა, კერძოდ, კი  $\alpha$ -2 ადრენორეცეპტორები. ლევოდოპას და ამინაზინის წინასწარი შეყვანის ფონზე PK-66 ნაერთის ეფექტის ცვლილებები მიუთითებს, რომ აღნიშნული ნაერთის გამაუტკივარებელ მოქმედებაში დოფამინერგული სისტემა უდაოდ არის ჩართული. შემაფერხებელი და აღმზნებადი ამინოჟანგების, გამკის და გლუტამატის მონაწილეობის გამოკვლევამ გამოავლინა, რომ დიაზეპამის შეყვანა აძლიერებს და ახანგრძლივებს PK-66 თერმულ ნოციცეპციაზე გამაუტკივარებელ ზემოქმედებას მთელი ექსპერიმენტის განმავლობაში. მემანტინის შეყვანის ფონზე ანტინოციცეპცია აღინიშნებოდა ექსპერიმენტის მხოლოდ პირველ საათებში.

ავტორებს გამოტანილი აქვთ დასკვნა, რომ ბენზომეჟავას (4-[4-ოქსო-(4H-ხინაზოლინ-3-ილ)] PK-66 ნაერთის გამაუტკივარებელ მექანიზმებში მონაწილეობას ღებულლობს ადრენერგული სისტემა, კერძოდ,  $\alpha$ -2 ადრენორეცეპტორები, დოფამინერგული და გამკერგული სისტემები, PK-66-ს გავლენა ოპიოიდურ რეცეპტორებზე არ აღინიშნება.

## MEDICAL BASIS OF DIABETIC NEUROPATHY FORMATION (REVIEW)

<sup>1</sup>Archvadze A., <sup>1</sup>Kistauri A., <sup>2</sup>Gongadze N., <sup>3</sup>Makharadze T., <sup>2</sup>Chirakadze K.

*Tbilisi State Medical University, <sup>1</sup>Department of internal diseases, <sup>2</sup>Department of medical pharmacology, <sup>3</sup>Department of internal diseases management and geriatrics, Georgia*

Nowadays, chronic diseases are the main cause of death worldwide. A majority of these diseases are result of poor lifestyle, metabolic disorders or/and gene abnormalities. For effective treatment management clear understanding of medical basis of diseases formation are required. One of popular chronic disease of 21 century is Diabetes Mellitus (DM). Diabetes refers to a complicate metabolic disorder characterized by comparative or complete deficiency of insulin secretion and/or insulin resistance. The disorder presents a major health problem that currently affects 382 million people around the world including 316 million patients with impaired glucose tolerance; its prevalence is expected to increase to 592 million by the year 2035 [35].

Uncontrolled chronic hyperglycemia resulting from absolute insulin deficiency (type 1 diabetes) or insulin resistance with or without insulin deficiency (type 2 diabetes) is one of the primary causes of diabetic complications in a number of organs which include retinopathy, nephropathy, cardiomyopathy, hepatopathy, and neuropathy [2,74]. It affects the quality of patients' life with a variety of symptoms, which include pain, weakness, ataxia, impotence, and sensory loss [5].

Diabetic neuropathy (DN) seems to be the most common and least understood complication being present in over 50% of chronic diabetics [12,37] and is the leading cause of diabetes-

related hospital admissions and nontraumatic amputation [6]. It can be found late in type 1 diabetes but early in type 2 diabetes and the cause of this occurrence is still not clear [60]. DNs are heterogeneous and affect different parts of the nervous system with various clinical manifestations [6].

As the latest date explain the pathogenesis of DN is not fully understood. Commonly DN progresses on a background of hyperglycemia, which can be resulted in metabolic imbalance and oxidative stress leading to inflammation and cell death. Generally two mechanisms have been suggested to be involved in the pathogenesis of diabetic neuropathy. The first mechanism is the activation of the Renin Angiotensin Aldosterone System (RAAS) in the presence of hyperglycemia with increased tissue level of Angiotensin II (Ang II). Ang II stimulates Nicotine Adenine Dinucleotide (Phosphate) (NAD (P)) oxidase which enhances oxidative stress and vascular damage and leading to DN [66]. The other mechanism is linked with disturbance in the metabolism and vasculature of nerve tissue in the presence of excessive uptake of glucose [48]. The majority of related pathways like RAAS, polyol, advanced glycation end products (AGE), poly-ADP-ribose polymerase (PARP), hexosamine, and Protein Kinase C (PKC) all originated from initial oxidative stress [29].

As a result of activation of mentioned mechanisms free-rad-

ical formation is increased and/or antioxidant defenses is depleted that result in oxidative stress have been implicated in the pathogenesis of DN [77]. It can now be postulated that a sudden change in glycemic control can cause flux effects that result in structural and functional changes in the epineural blood vessels of nerves, which, in turn, can lead to neuropathic pain or "insulin neuritis" [1]. Additionally, several risk factors are associated with DN including worsening glucose tolerance, older age, longer diabetes duration, alcohol consumption and cigarette smoking [23].

From clinical point of view DN can be broadly divided into generalized polyneuropathies and focal/multifocal varieties [6]. The generalized form can be further classified into typical and atypical in terms of difference in onset, course, associations, clinical manifestations, and pathophysiology [90]. The distal symmetrical polyneuropathy (DSPN) is the commonest clinical form of diabetic neuropathy, affecting more than 90% of the patients. Generally, DSPN affects the toes and distal foot, but slowly progresses proximally to involve the feet and legs in a stocking distribution. It is also characterized by a progressive loss of nerve fibers affecting both the autonomic and somatic divisions, thereby diabetic retinopathy and nephropathy can occur [69]. Foot ulceration and painful neuropathy are the main clinical consequences of DSPN, linked with higher morbidity and mortality [7].

One of the severe symptoms of neuropathy is pain and its pathophysiological mechanisms are not yet fully identified [59]. As it is known nociceptive pain is the normal, protective response to different noxious insult or injury of tissues such as skin, muscles, visceral organs, and joints. On the other hand, neuropathic pain arises as a direct consequence of a lesion or disease affecting the somatosensory system without any noxious stimuli [70]. Several theories have been proposed to explain the pain related to the diabetic neuropathy, such as changes in the blood vessels that supply the peripheral nerves; metabolic and autoimmune disorders accompanied by glial cell activation, changes in sodium and calcium channels expression and more recently, central pain mechanisms, such as increased thalamic vascularity and imbalance of the facilitatory/inhibitory descending pathways [69]. In general, researchers seek to elucidate neuropathy-underlying mechanisms as a bigger consequence, and include pain and other sensorial manifestations as direct consequences of neuropathy. However, interestingly, pain intensity normally is not associated with neuropathy severity, and can occur even in the absence of nerve injuries [61]. Clinically, neuropathic pain manifestation can be focal, multifocal, or generalized depending on the involvement of peripheral or central origin and cause of the disease [1].

DN continues to represent a therapeutic challenge as its pathophysiology is not yet fully understood and pain relief is still unsatisfactory. No single treatment exists to prevent or to provide total pain relief. Currently, only several agents are approved for pain control in DN, such as: duloxetine, a selective serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor, pregabalin, an anticonvulsant, and the dual-effect drug tapentadol, an opioid receptor agonist and norepinephrine reuptake inhibitor, though it does not change pathogenic pattern [21,36].

Therefore treatment of DN is a real challenge and needs further investigation of complex pathological basis to find new therapeutic targets.

#### *Pathogenesis of DN: Interaction of Oxidative Stress with Other Physiological Pathways*

Nowadays, the latest research results indicate that the development of DN is multifactorial and the exact pathogenic mecha-

nism is yet to be understood, a number of pathological changes can be described. Although there is a consensus that toxic effects of hyperglycemia represent an important factor for the development of this complication [17]. So, the current belief is that hyperglycemia, activation of AGEs, hexosamine, PKC, oxidative stress, nitric oxide, and inflammation all play key roles in DN [29].

As the clinical trials indicate hyperglycemia leads to generation of free radicals due to autooxidation of excess glucose in different pathways and resulting glycosylation of proteins [3,51]. The persistent increase in reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) accompanied by a decrease in antioxidant activity by reducing of glutathione level leads to the occurrence of oxidative and nitrosative stress which can cause endothelial dysfunction, insulin resistance, alterations in number and functions of pancreatic cells which eventually leads to diabetic microvascular and macrovascular complications [8]. Particularly, excess ROS and RNS cause the structural worsening of macromolecules such as carbohydrates, proteins, lipids, and DNA leading to their instability and consequently loss of function [50]. In the latest clinical studies ROS and RNS have also been reported to induce several intracellular signaling cascades that ultimately lead to the transcription of stress-related and proinflammatory genes, which promote the development of diabetic complications [4].

The main factor involved in DN formation is nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- $\kappa$ B). As it is known NF- $\kappa$ B is activated by an elevation in ROS resulting in the transcription of proinflammatory proteins that exacerbates the conditions of the disease. Proinflammatory chemokines and cytokines like macrophage chemotactic protein (MCP-1), tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), and interleukins (IL-1 and 6) have been recently implicated in the progression of diabetes to diabetic complications through activation of cell death mechanisms [4]. In the same time, hyperglycaemia-induced elevations of ROS have been reported to be capable of inducing apoptosis in tissues. In addition of that the Bax-caspase pathway of apoptosis can be activated by ROS also leading to a reduction in the electrochemical gradient across the mitochondrial membrane causing a leakage of mitochondrial cytochrome C into cytoplasm that activates caspases leading to apoptosis [24].

As noted above, hyperglycemia is a fundamental factor in DN. Also dyslipidemia and changes in insulin signaling come after hyperglycemia in T2D [12]. Free fatty acids have systemic effects such as release of inflammatory cytokines (TNF $\alpha$ , IL6,) from adipocytes and macrophages. In the same time plasma lipoproteins, especially low-density lipoproteins (LDLs), can be modified by glycation or oxidation where then binds to extracellular receptors comprising the oxidized LDL receptor 1 (LOX1), toll-like receptor 4 (TLR4), and RAGEs that activate NADPH oxidase. All these result in oxidative stress. Additionally, cholesterol can be simultaneously oxidized to oxysterols to cause neuronal apoptosis [12].

In addition of above-mentioned mechanisms, the latest research studies indicate that insulin has neurotrophic effects and promotes neuronal growth and the survival while it is not involved in uptake of glucose into the neurons. Reduction of this neurotrophic signaling due to insulin resistance (T2D) or insulin deficiency (T1D) contributes to the pathogenesis of DN. [12]. Particularly, in neurons, insulin resistance occurs by inhibition of the PI3K/Akt signalling pathway. Disruption of this pathway leads to mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and dysfunction or death of the nerve. Tight glucose control is not as efficacious in patients with T2D, whereas it can reduce neuropathy in patients with T1D. This

divergence is most likely related to differences in the underlying mechanisms in terms of hyperglycemia, dyslipidemia, and insulin resistance in T1D and T2D [12].

*Pathogenesis of DN: Polyol pathway hyperactivity*

Also it is very important to examine the concept of polyol pathways in the formation of DN. Namely, Hyperglycemia, as a result of hypoinsulinemia or insulin receptor resistance, leads to activation of the polyol pathway. Normally, the most of the glucose that enters a cell through GLUT transporters is metabolized via glycolysis to give pyruvate; only about 3% is converted to sorbitol through the polyol pathway. However, in hyperglycemic conditions such as diabetes, there is an increased flux of glucose into the nerves. When glucose becomes overload, it leads to the saturation of the glycolytic pathway, which consequently increases the activity of the polyol pathway to about 30% by activation of enzymes, such as aldose reductase to convert the extra glucose to sorbitol with the oxidation of NADPH to NADP+. [53]. Accumulated Sorbitol is further oxidized to fructose by sorbitol dehydrogenase, which is coupled with the reduction of NAD<sup>+</sup> to NADH. However, the current accepted hypothesis states that polyol pathway hyperactivity is pathogenic primarily by increasing the turnover of cofactors such as NADPH and NAD<sup>+</sup>, which leads to a decrease in the reduction of glutathione, as well as to an increase of Advanced Glycation end products (AGEs) production and activation of diacylglycerol and PKC isoforms. As a result of glutathione depletion the oxidative stress and the accumulation of toxic species can be detected. In addition of that since sorbitol cannot cross cell membranes, it accumulates in cells causing hyperosmolarity and concomitant efflux of taurine, myoinositol, and adenosine. This inhibits the biosynthesis of ATP resulting in reduced activity of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase and PKC, impaired axonal transport, and structural breakdown of nerves. [52].

On the other hand fructose-6-phosphate is an intermediate of the glycolytic pathway, which is formed from glucose-6-phosphate by the enzyme phosphoglucosomerase. Moreover, as we mentioned already, excess sorbitol can be converted into fructose by enzyme sorbitol dehydrogenase and into fructose-6-phosphate by hexokinase. However, in the presence of high glucose, fructose-6-phosphate can accumulate, that is utilized by the hexosamine pathway. Here, fructose-6-phosphate is converted to glucosamine-6-phosphate by catalytic action of the enzyme glutamine-fructose-6-phosphate aminotransferase (GFAT). Glucosamine is well documented to increase oxidative stress in cells via the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [19]. In the same time glucosamine-6-phosphate is further processed via conjugation reactions with uridine triphosphate (UTP) to form uridine diphosphate-N-acetylglucosamine (UDPGlcNAc). UDPGlcNAc thus formed can attach to the amino group of serine and threonine residues of proteins relevant to the elevation of transcription factor SpI which in turn activates the transcription of growth factors like TGF and TGF1 and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) [11]. These proteins are involved in the pathogenesis of diabetes-induced vascular complications especially in the nerve [25,44]. Similarly, GFAT enzyme has been associated with insulin resistance and hyperinsulinaemia in type 2 DM [22].

In addition of above mentioned excess glucose in the intracellular medium results in the accumulation of an intermediate of the glycolytic pathway, such as dihydroxyacetone phosphate (DHAP). DHAP and glyceraldehyde-3-phosphate (GA3P) are interconvertible by triose phosphate isomerize. They can lead to the formation of methylglyoxal, resulting in advanced glycation end-product. This process also increases the formation of glycerol-3-phosphate which upon conjugation with fatty acids

yields diacylglycerol (DAG). DAG is the most important activator of 9 isoforms out of 11 of PKC although AGE-RAGE (receptor for advanced glycated end-products) interaction has also been shown to activate it [68]. In the same time the continuous conversion of glycerol-3-phosphate (G-3-P) to DHAP results in concomitant transfer of electrons from reduced cytosolic NADH to mitochondrial oxidized Flavine Adenine Dinucleotide (FAD), which can generate high mitochondrial membrane potentials and inhibition of the electron transport chain at complex III. The oxidation of NADH by NADH oxidase produces reactive oxygen species (ROS), which can attack the mitochondrial membrane [56].

Furthermore, hyperglycemia induced PKC activation is important in the pathogenesis of diabetic neuropathy probably through triggering an intracellular signaling cascade resulting in the elevation of the expression of transcription factors like NF-κB, proinflammatory cytokines like transforming growth activator beta (TGF), blood clotting inhibitors like plasminogen activator inhibitor (PAI), and extracellular matrix proteins [13]. Additionally, the activation of PKC also induces the overproduction of ROS and AGEs by the NADPH oxidase system causing deleterious effects to the cell [27]. PKC can be structurally regulated depending on the redox status of the cell; increased oxidants bind to the regulatory domain promoting its activity while elevated reductants bind to the catalytic domain inhibiting its activity [25]. PKC activation has been suggested to play dual roles in diabetic neuropathy, altering nerve conduction by restricting blood flow when its activity is low or causing impairment of nerve functions by affecting the activity of neurochemicals when its own activity is high [22].

Besides of above-mentioned hyperglycemia leads to the glycosylation through the Maillard reaction, in which the primary amino group of protein reacts nonenzymatically with the carbonyl group of glucose forming Schiff base intermediate products. The rearrangements of these intermediates yield Amadori products. Further intra- and intermolecular cross-linking reactions with proteins, lipids, or DNA lead to the formation of stable, covalent, and irreversible adducts collectively referred to as advanced glucose end-products (AGEs) that accumulate within cells with age [50]. As it is mentioned already, increased formation of AGEs leads to the elevation of oxidative stress and subsequently damage to cells and tissues, an occurrence that has been found in experimental animals and in humans [40,44]. Similarly, AGEs can bind to RAGE activating it and triggering several downstream signaling and inflammatory pathways ultimately contributing to oxidative stress through NADPH oxidase activation, NFκB gene expression, and the induction of proinflammatory cytokines activities [24,72].

Finally, in an environment where hyperglycaemia is prevalent, excess glucose can pass through enediol rearrangement to form an enediol radical which is capable of reducing molecular oxygen to form superoxide anion, a potent radical implicated in the pathogenesis of diabetes. Furthermore, The enediol radical can also form AGEs directly by modifying lysine or arginine amino residues in proteins through the help of transition metal-catalyzed autoxidation. In addition of that glucose can also generate •HO radicals to contribute to the elevation of nucleophile prooxidants that can attack DNA forming stable covalent adducts that are damaging to the cell [73].

*Pathogenesis of DN: Oxidative and nitrosative stress*

The different pathways all seem to have a central recurring effect of oxidative stress in diabetes. Increased ROS and RNS together with significant reductions in the antioxidant defense



mechanisms within the neurons contribute to the manifestations of diabetic neuropathy which include nerve blood flow impairment, endoneurial hypoxia, motor and sensory nerve conduction impairment, peripheral nerve degeneration, DNA damage, increased vibration and thermal perception, sensory loss, axonal atrophy of large myelinated fibers, and neuropathic pain [40,53]. Moreover oxidative damage to peripheral nerves causes hyperexcitability in the afferent nociceptors and central neurons leading to the generation of spontaneous impulses within the axons and dorsal root ganglions of the nerves contributing to the neuropathic pain associated with DN [41,55].

Experimental studies revealed that high glucose induces apoptosis via a mitochondria-dependent route in embryonic sensory neurons. Actually, mitochondrial damage takes place due to surplus formation of ROS or reactive nitrogen species (RNS) and oxidant electrons. Hyperglycemia induces mitochondrial changes such as release of cytochrome C, activation of caspase 3, altered biogenesis and fission, which all lead to a programmed cell death. Reduced mitochondrial action potentials (MMP) with modest ATP are resulted from thrilling entrance of glucose [20,75].

In addition to the aforementioned pathways, hyperglycaemia-induced oxidative stress also triggers other multiple, interconnected signal transduction cascades including poly-ADP ribose polymerase (PARP) induction, mitogen activated protein kinase (MAPK) overactivation [78], activation of downstream signaling pathways involving NF- $\kappa$ B [50], calcium signaling, growth factors induction, phosphoinositide pathway, and stimulating the enzymes of arachidonic acid metabolism [54,63] which are all involved in the pathogenesis of diabetic neuropathy. This process continues by a link to nuclear proteins and results in changes of gene transcription and expression, NAD<sup>+</sup> depletion, oxidative stress, and diversion of glycolytic intermediates to other pathogenic pathways such as PKC and AGEs [20,50].

#### *Pathogenesis of DN: Nitric Oxide Deficiency/Impaired Endothelial Function*

As we discussed earlier high glucose was shown to cause an increase in superoxide anion and peroxy nitrite ion, which can damage nerves in diabetic neuropathy. Namely, overproduction of superoxide anion by the mitochondrial electron transport chain in DN leads to binding of this anion to NO to form the strong oxidant peroxy nitrite which is right lethal to endothelial cells. The NO also defends against inflammation by adjusting (Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>)-ATPase or inhibiting the production of potent vasoconstrictor peptide endothelin (ET)-1 [34,67]. All of mentioned leads to vascular factors include, impaired nerve perfusion, hypoxia, and nerve energetic defects, which are all implicated in the pathogenesis of DN [76]. In addition of that genetic variation in neuronal nitric oxide synthase associated protein (NOS1AP) is associated with lower extremity amputation (LEA) and diabetic peripheral neuropathy (DPN) [49]. This gene encodes a cytosolic protein that binds to the signaling molecule, neuronal nitric oxide synthase (nNOS). The researchers identified the correlation between the formation of a certain protein in the cell (NOS1AP) and the transmission of neurological pain. By disrupting the formation of this protein and the resultant biological pathway, pain is reduced [33].

#### *Pathogenesis of DN: Inflammation*

Complex molecular network and processes are involved in the expression of inflammation, which is cardinal pathogenic mechanism of DN. As the studies indicate common inflammatory agents such as C-reactive protein, TNF- $\alpha$ , IL6 are present in the blood of both type T1DM and T2DM patients. Clinical studies have shown increased TNF- $\alpha$  plasma protein and mRNA

levels in diabetic patients compared to controls. In addition of that increased TNF $\alpha$  macrophage expression and plasma levels were also demonstrated in DN patients compared to controls and was correlated to pain intensity. The levels of C-reactive protein and TNF $\alpha$  correlate with the incidence of neuropathy [18,57].

As it is mentioned hyperglycemia induced several pathways initiate production of the inflammatory mediators such as TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , and NF- $\kappa$ B. As a result of up regulation NF- $\kappa$ B the enzyme cyclooxygenase-2 (COX-2) is activates and consecutively generates prostaglandin E2 and ROS that trigger NF- $\kappa$ B. In the same time inducible nitric oxide synthase (iNOS) is an additional inflammatory enzyme, which is regulated by NF- $\kappa$ B. Similar to COX-2, iNOS either induces NF- $\kappa$ B or is induced by it. This gives the impression that chronic NF- $\kappa$ B activation is in the center of all the inflammatory elements operating in DN. All of these lead to an extensive and modest infiltration of macrophages and granulocytes takes place in diabetic peripheral nerves. Accumulation of Macrophages promotes DN via a variety of mechanisms, including making of cytokines, ROS, and proteases, which all result in cellular oxidative damage and myelin breakdown. [20,75]. Excessive cytokines and chemokines not only enhance existing inflammatory and immune responses but also promote activation of the wide array of downstream cellular oxidative/nitrosative stresses, promoting even more neuronal damage. On the other hand hyperglycemia coupled with loss of insulin signaling and insulin resistance, along with dysregulation of lipid metabolism and dyslipidemia, lead to systemic inflammation and vicious cycles of oxidative/nitrosative stress, endoplasmic and mitochondrial stress, and accumulating cellular damage [57]. The NF- $\kappa$ B-derived cytokine TNF- $\alpha$  induces cyclooxygenase-2 (COX-2) overexpression and mitogen activated protein kinase (MAPK) activation [18].

#### *Pathogenesis of DN: Channels sprouting*

One of the undesired symptoms of DN is pain, contributed by damaged nerve endings. There are several mechanisms explaining pain formation, but the most accepted hypothesis states that abnormal action potentials can be produced by damaged nerve endings, being interpreted by central nervous system as pain or dysesthesias. In this regard, up-regulation of voltage-gated sodium channels (Nav) involved in the depolarization process has been widely demonstrated in neuropathic pain models [26]. These channels are involved in generation and transmission of action potential, and can be classified into sensitive (TTX-S) or resistant (TTX-R) to tetrodotoxin [58]. Thus, both abnormal expression and function of TTX-R and TTX-S sodium channels is linked to abnormal activity of nociceptive fibers [28]. As latest clinical trials results show in DN patients, nodal Na<sup>+</sup> currents increase which can contribute to hyperexcitability in peripheral nerves [45].

In addition of that a new concept about genetic mutation in Nav1.7 proposed by Hoeijmakers et al [30], links the beginning of pancreatic beta cells failure and DN with genetic disruptions on Nav1.7 channels. Since both pancreatic beta cells and peripheral neurons express Nav1.7 channels, a susceptible genetic background could facilitate generation of Nav1.7 mutations, leading to gain-of-function that evokes beta cell lesions, and thereafter, diabetes and hyperexcitability in neurons [31]. These results are also important to understand why some patients have neuropathy before diabetes onset [30].

It is also important to discuss calcium channels involvement in neuronal impulse formation and transmission which can also be misregulated in a diabetic condition, leading to an enhanced calcium influx in sensory neurons, what can deflagrate the pain mediators substance P and glutamate release [32].

Finally, resting membrane potential can also be altered by voltage dependent potassium channels (Kv), which are also participating in the maintaining of electrical properties of neurons [38]. It was verified that the total density of Kv currents as well as the mRNA of IA subunits of KV 1.4, 3.4, 4.2 and 4.3 were reduced in large and medium size DRG (dorsal root ganglion) neurons of diabetic rats. So, this downregulation can increase neuronal excitability and peptide release, which might also participate in neuronal damages of diabetic subjects [14].

#### *Pathogenesis of DN: Microglial activation*

Normally, the microglia cells are mainly responsible for maintain of homeostasis, form myelin, and provide support and protection for neurons from both central and peripheral nervous system [46]. These cells comprise less than 20% of spinal glial cells but in response to dorsal root ganglia and spinal cord after nerve injury there is a strong proliferation at spinal level [39]. Peripheral nerve injury leads to activation of microglia and production of several inflammatory mediators as cytokines, chemokine, and cytotoxic substances such as nitric oxide and free radicals, prompting to a proinflammatory milieu [46]. This microglial activation has been associated with sensorial changes and up-regulation of Nav1.3 sodium channels in the DRG [15], possible through p38 mitogen activated protein kinase dependent mechanism [16,64].

#### *Pathogenesis of DN: Central sensitization*

It was well described that during DN, primary afferents are sensitized, inducing dorsal horn hyperactivity and neuroplastic changes in central sensory neurons. The common occurrence of allodynia in DNP patients supports the idea that CNS pain processing is altered [1]. Among the factors that can lead to the hyperactivity of spinal neurons in diabetic neuropathy is the increased glutamate release from primary afferents in the spinal cord [42]. Moreover, spinal N-Methyl-D-aspartate (NMDA) receptor expression is augmented in this condition, thus, it is plausible that augmented NMDA expression and glutamate release might contribute to spinal cord hyperactivity. On the other hand, GABAB (Gamma Amino Benzoic Acid Beta) receptors seem to be down regulated in the spinal cord in diabetic neuropathy [9].

Some studies have also addressed the levels of the main neurotransmitters of the endogenous pain control system in different areas of the CNS in diabetic rats, but they have shown discrepant results. While some researchers found reduced release of norepinephrine in the spinal cord in diabetic rats, others have described opposite findings [47]. Additionally, impaired spinal opioid-induced release of serotonin (5HT) has been demonstrated in diabetic rats, and this finding may be related to opioid hyporesponsiveness in experimental DNP [65].

**Conclusion.** In our review we discussed that DN is developed on a background of hyperglycemia and is associated with metabolic imbalances and mainly with oxidative stress. Hyperglycemia-induced overproduction of free radicals has been recognized as the source of further complications as a result of inflammation, apoptosis and tissues damages [51] through the activation of several pathogenic pathways induced by TNF $\alpha$ , AgII, (pro)renin, PKC, glycolysis intermediated products, COX2 and RNS .

The treatment of DN still remains unresolved. The pharmacological treatments, with exception to those targeted to the glycemic control, are symptomatic, not focused on the pathophysiological mechanisms, limited by side effects and by the development of tolerance [10,69]. Therefore to use drugs linked with above discussed pathological processes would be effective solution in the treatment of DM and its complications. With reference to oxidative stress and the related pathways, the following

new drugs are under study such as taurine, acetyl-L-carnitine, alpha lipoic acid, protein kinase C inhibitor (ruboxistaurin), aldose reductase inhibitors (fidarestat, epalrestat, ranirestat), advanced glycation end product inhibitors (benfotiamine, aspirin, aminoguanidine), the hexosamine pathway inhibitor (benfotiamine), inhibitor of poly ADP-ribose polymerase (nicotinamide), and angiotensin-converting enzyme inhibitor (trandolapril) [29]. Also the researchers were able to demonstrate that an experimental molecule with this modified pathway of NOS1AP was able to reduce the pain in rodents [33].

Finally, considering all above mentioned, it is vital to continue the intensive long-term investigation of DN pathophysiology and find new therapeutic strategies for development of modern drugs to treat DN but also to prevent complications as well as optimize pain control.

## REFERENCES

1. Aslam A, Singh J, Satyan Rajbhandari S. "Pathogenesis of Painful Diabetic Neuropathy, Pain Research and Treatment". Volume 2014, Article ID 412041.
2. Aljabri K.S, Bokhari S.A, and Khan M.J, "Glycemic changes after vitamin D supplementation in patients with type 1 diabetes mellitus and vitamin D deficiency," *Annals of Saudi Medicine* 2010; vol. 30, no. 6, pp. 454–508.
3. Al-Faris N.A, Al-sawadi A.D, and Alokail M.S, "Effect of samh seeds supplementation (Mesembryanthemum forsska-lei Hochst) on liver enzymes and lipid profiles of streptozotocin (STZ)-induced diabetic Wistar rats," *Saudi Journal of Biological Sciences* 2010; vol. 17, no. 1, pp. 23–28.
4. Ayepola O.R, Chegou N.N, Brooks N.L, and Oguntibeju O.O, "Kolaviron, a Garcinia biflavonoid complex ameliorates hyperglycemia-mediated hepatic injury in rats via suppression of inflammatory responses," *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2013; vol. 13, article 363.
5. Algaidi S, "The effect of antioxidants on experimentally induced diabetic peripheral neuropathy in adult male albino rats," *Journal of American Science* 2011; vol. 7, no. 12: 671–677.
6. Boulton A.J.M, A. I. Vinik, J. C. Arezzo et al., "Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association," *Diabetes Care* 2005; vol. 28, no. 4: 956–962.
7. Boulton AJ, Kirsner RS, Vileikyte L. Clinical practice. Neuropathic diabetic foot ulcers. *N Engl J Med.* 2004;351:48–55.
8. Bandeira S.D.M, Da Fonseca L.J.S, G. D. S. Guedes G.D.S et al, "Oxidative stress as an underlying contributor in the development of chronic complications in diabetes mellitus," *International Journal of Molecular Sciences* 2013; vol. 14, no. 2: 3265–3284.
9. Bai HP, Liu P, Wu YM, Guo WY, et al "Activation of spinal GABAB receptors normalizes N-methyl-D-aspartate receptor in diabetic neuropathy". *J Neurol Sci.* 2014;341:68–72.
10. Boyle J, Eriksson ME, Gribble L, Gouni R, et Al "Randomized, placebo-controlled comparison of amitriptyline, duloxetine, and pregabalin in patients with chronic diabetic peripheral neuropathic pain: impact on pain, polysomnographic sleep, daytime functioning, and quality of life". *Diabetes Care.* 2012;35:2451–2458.
11. Buse M.G, "Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status," *The American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2006; vol. 290, no. 1: 1–8.
12. Callaghan B.C, Cheng H.T, Stables C.L, Smith A.L et al. "Diabetic neuropathy: clinical manifestations and current treatments," *The Lancet Neurology* 2012; vol. 11, no. 6: 521–534.
13. Ceriello A, "Oxidative stress and diabetes-associated complications," *Endocrine Practice,* vol. 12, no. 1, pp. 60–62, 2006

- 14. Cao XH, Byun HS, Chen SR, Cai YQ, Pan HL. "Reduction in voltage-gated K<sup>+</sup> channel activity in primary sensory neurons in painful diabetic neuropathy: role of brain-derived neurotrophic factor". *J Neurochem*. 2010;114:1460–1475.
15. Cheng KI, Wang HC, Chuang YT, et al. "Persistent mechanical allodynia positively correlates with an increase in activated microglia and increased P-38 mitogen-activated protein kinase activation in streptozotocin-induced diabetic rats". *Eur J Pain*. 2014;18:162–173.
16. Crown ED. "The role of mitogen activated protein kinase signaling in microglia and neurons in the initiation and maintenance of chronic pain. *Exp Neurol*". 2012;234:330–339.
17. Dobretsov M, Hastings SL, Romanovsky D, Stimers JR, Zhang JM. "Mechanical hyperalgesia in rat models of systemic and local hyperglycemia". *Brain Res*. 2003;960:174–183.
18. Douglas Wright, "Inflammatory Mediators in Diabetic Neuropathy", *J. Diabetes and Metabolism* 2011;S5:004. doi:10.4172/2155-6156.S5-004.
19. Evans J.L, Goldfine I.D, Maddux B.A, and Grodsky G.M, "Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes," *Endocrine Reviews*, 2002; vol. 23, no. 5, pp. 599–622.
20. Edwards J.L, Vincent A.M, Cheng H.T, and Feldman E.L, "Diabetic neuropathy: mechanisms to management," *Pharmacology & Therapeutics* 2008; vol. 120, no. 1: 1–34.
21. Freeman R. "New and developing drugs for the treatment of neuropathic pain in diabetes". *Curr Diab Rep*. 2013;13:500–508
22. Feldman E.L, Vincent A, "The prevalence, impact, and multifactorial pathogenesis of diabetic peripheral neuropathy," *Advanced Studies in Medicine* 2004; vol. 4, no. 8A: S642–S649.
23. Gore M, Brandenburg NA, Dukes E, Hoffman DL, Tai KS, Stacey B. "Pain severity in diabetic peripheral neuropathy is associated with patient functioning, symptom levels of anxiety and depression, and sleep". *J Pain Symptom Manage*. 2005;30:374–385.
24. Graves D.T, Liu R, and Oates T.W, "Diabetes-enhanced inflammation and apoptosis—impact on periodontal pathosis," *Periodontology* 2007; vol. 45, no. 1: 128–137.
25. Hosseini A. and Abdollahi M, "Diabetic neuropathy and oxidative stress: therapeutic perspectives," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2013; ID 168039, 15 p.
26. He XH, Zang Y, Chen X, Pang RP, Xu JT, Zhou X, et al. "TNF- $\alpha$  contributes to up-regulation of Nav1.3 and Nav1.8 in DRG neurons following motor fiber injury. *Pain*". 2010;151:266–279.
27. He Z., Rask-Madsen C, and King G.L, "Managing heart disease mechanisms of cardiovascular complications in diabetes and potential new pharmacological therapies," *European Heart Journal, Supplement* 2003; vol. 5: B51–B57.
28. Hong S, Morrow TJ, Paulson PE, Isom LL, Wiley JW. "Early painful diabetic neuropathy is associated with differential changes in tetrodotoxin-sensitive and -resistant sodium channels in dorsal root ganglion neurons in the rat". *J Biol Chem*. 2004;279:29341–29350.
29. Hosseini A. and Abdollahi M "Diabetic Neuropathy and Oxidative Stress: Therapeutic Perspectives", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume 2013, Article ID 168039.
30. Hoeijmakers JG, Faber CG, Merckies IS, Waxman SG. "Channelopathies, painful neuropathy, and diabetes: which way does the causal arrow point?" *Trends Mol Med*. 2014;20:544–550.
31. Han C, Hoeijmakers JG, Ahn HS, Zhao P, et al. Nav1.7-related small fiber neuropathy: impaired slow-inactivation and DRG neuron hyperexcitability. *Neurology*. 2012;78:1635–1643.
32. Hall KE, Liu J, Sima AA, Wiley JW. "Impaired inhibitory G-protein function contributes to increased calcium currents in rats with diabetic neuropathy". *J Neurophysiol*. 2001;86:760–770.
33. Hohmann A. Counteney M. "International Collaboration between U.S. and Finnish Researchers Identifies New Approach for Treating Neuropathic Pain" *AJ*, Announcement of University Turku, Published date 5/4/2018 1:00 PM, Modified date 5/7/2018; <http://www.utu.fi/en/news/news/Pages/International-Collaboration-between-U.S.-and-Finnish-Researchers-Identifies-New-Approach-for-Treating-Neuropathic-Pain.aspx>
34. Head K.A, "Peripheral neuropathy: pathogenic mechanisms and alternative therapies," *Alternative Medicine Review*, 2006; vol. 11, no. 4: 294–329.
35. International Diabetes Federation, *IDF Diabetes Atlas, International Diabetes Federation, Brussels, Belgium*: 2013; 6th edition.
36. Javed S, Petropoulos I.N, Alam U. et al. Treatment of painful diabetic neuropathy 2015 Jan; 6(1): 15–28.
37. Kasznicki J, Kosmowski M, Sliwinska A. et al., "Evaluation of oxidative stress markers in pathogenesis of diabetic neuropathy," *Molecular Biology Reports* 2012; vol. 39, no. 9: 8669–8678.
38. Kim J, Wei DS, Hoffman DA. Kv4 potassium channel subunits control action potential repolarization and frequency-dependent broadening in rat hippocampal CA1 pyramidal neurons. *J Physiol*. 2005;569:41–57.
39. Kettenmann H, Verkhratsky A. "Neuroglia: the 150 years after". *Trends Neurosci*. 2008;31:653–659.
40. Kalousova M, Skrha J, and Zima T, "Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus," *Physiological Research* 2002; vol. 51, no. 6, pp. 597–604.
41. Ko S.H and Cha B.Y, "Diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes mellitus in Korea," *Diabetes and Metabolism Journal* 2012; vol. 36, no. 1: 6–12.
42. Li JQ, Chen SR, Chen H, Cai YQ, et al. "Regulation of increased glutamatergic input to spinal dorsal horn neurons by mGluR5 in diabetic neuropathic pain". *J Neurochem*. 2010;112:162–172.
43. Leininger G.M, Vincent A.M, and Feldman E.L, "The role of growth factors in diabetic peripheral neuropathy," *Journal of the Peripheral Nervous System* 2004; vol. 9, no. 1: 26–53.
44. Lal M.A, Brismar H, Eklöf A.C, and Aperia A, "Role of oxidative stress in advanced glycation end product-induced mesangial cell activation," *Kidney International* 2002; vol. 61, no. 6: 2006–2014.
45. Misawa S, Sakurai K, Shibuya K, Iose S, et al. "Neuropathic pain is associated with increased nodal persistent Na<sup>(+)</sup> currents in human diabetic neuropathy". *J Peripher Nerv Syst*. 2009;14:279–284.
46. Mika J, Zychowska M, Popiolek-Barczyk K, Rojewska E, Przewlocka B. "Importance of glial activation in neuropathic pain". *Eur J Pharmacol*. 2013;716:106–119.
47. Morgado C, Silva L, Pereira-Terra P, Tavares I. "Changes in serotonergic and noradrenergic descending pain pathways during painful diabetic neuropathy: the preventive action of IGF1". *Neurobiol Dis*. 2011;43:275–284.
48. Mansoor Q, Javid A, Bilal N, Ismail M. Angiotensin-converting enzyme (ACE) gene II genotype protects against the development of diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes*. 2012;4:257–61.
49. Margolis DJ, Gupta J, Thom SR, et al "Diabetes, lower extremity amputation, loss of protective sensation, and neuronal nitric oxide synthase associated protein in the chronic renal insufficiency cohort study". *Wound Repair Regen*. 2013 Jan-Feb;21(1):17-24.

50. Negre-Salvayre A, Coatrieux C, Ingueneau C, and Salvayre R, "Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors," *British Journal of Pharmacology* 2008; vol. 153, no. 1: 6–20.
51. Negi G, Kumar A, Joshi R.P, Ruby P.K, and Sharma S.S, "Oxidative stress and diabetic neuropathy: current status of antioxidants," *Institute of Integrative Omics and Applied Biotechnology Journal* 2011; vol. 2, no. 6: 71–78.
52. Oates PJ. "Polyol pathway and diabetic peripheral neuropathy". *Int Rev Neurobiol.* 2002;50:325–392.
53. Oyenih A.B, Ayeleso A.O, Mukwevho E, et al. "Antioxidant Strategies in the Management of Diabetic Neuropathy"; *BioMed Research International* Volume 2015, Article ID 515042.
54. Obrosova I.G, Stavniichuk R, Drel V.Ret et al., "Different roles of 12/15-lipoxygenase in diabetic large and small fiber peripheral and autonomic neuropathies," *The American Journal of Pathology* 2010; vol. 177, no. 3: 1436–1447.
55. Obrosova I.G, Ilnytska O, Lyzogubov V.V et al., "High-fat diet-induced neuropathy of pre-diabetes and obesity: effects of "healthy" diet and aldose reductase inhibition," *Diabetes* 2007; vol. 56, no. 10:2598–2608.
56. Pop-Busui R, Boulton Andrew J.M., Feldman Eva L. et al. "Diabetic Neuropathy": A Position Statement by the American Diabetes Association, *Diabetes Care* 2017 Jan; 40(1): 136-154.
57. Pop-Busui R. Lynn Ang, Holmes K, Inflammation as a Therapeutic Target for Diabetic Neuropathies, 2016. doi: 10.1007/s11892-016-0727-5.
58. Roy ML, Narahashi T. "Differential properties of tetrodotoxin-sensitive and tetrodotoxin-resistant sodium channels in rat dorsal root ganglion neurons". *J Neurosci.* 1992;12:2104–2111.
59. Schreiber A.K. Carina FM Nones, Renata C Reis, et al. "Diabetic neuropathic pain: Physiopathology and treatment" *World J Diabetes.* 2015 Apr 15; 6(3): 432–444.
60. Shaikh A.S. and R. S. Somani, "Animal models and biomarkers of neuropathy in diabetic rodents," *Indian Journal of Pharmacology* 2010; vol. 42, no. 3: 129–134.
61. Sorensen L, Molyneaux L, Yue DK. The relationship among pain, sensory loss, and small nerve fibers in diabetes. *Diabetes Care.* 2006;29:883–887.
62. Stavniichuk R, Shevalye H, Hirooka H, Nadler J.L, and Obrosova I.G, "Interplay of sorbitol pathway of glucose metabolism, 12/15-lipoxygenase, and mitogen-activated protein kinases in the pathogenesis of diabetic peripheral neuropathy," *Biochemical Pharmacology* 2012; vol. 83, no.7: 932–940.
63. Stavniichuk R, Drel V.R, Shevalye H, et al., "Role of 12/15-lipoxygenase in nitrosative stress and peripheral pre-diabetic and diabetic neuropathies," *Free Radical Biology and Medicine* 2010; vol. 49, no. 6: 1036–1045.
64. Suzuki N, Hasegawa-Moriyama M, Takahashi Y, Kamikubo Y, et al. "Lidocaine attenuates the development of diabetic-induced tactile allodynia by inhibiting microglial activation". *Anesth Analg.* 2011;113:941–946.
65. Suh HW, Song DK, Wie MB, Jung JS, et al. "The reduction of antinociceptive effect of morphine administered intraventricularly is correlated with the decrease of serotonin release from the spinal cord in streptozotocin-induced diabetic rats". *Gen Pharmacol.* 1996;27:445–450.
66. Seshiah PN, Weber DS, Rocic P, Valppu L, et al. "Angiotensin II stimulation of NAD(P)H oxidase activity: Upstream mediators". *Circ Res.* 2002;91:406–13.
67. Shakher J and Stevens M.J, "Update on the management of diabetic polyneuropathies," *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity* 2011; vol. 4: 289–305.
68. Scivittaro V, Ganz M.G, and Weiss M.F, "AGEs induce oxidative stress and activate protein kinase C-β(II) in neonatal mesangial cells," *American Journal of Physiology: Renal Physiology* 2000; vol. 278, no. 4: F676–F683.
69. Tesfaye S, Boulton AJ, Dickenson AH. "Mechanisms and management of diabetic painful distal symmetrical polyneuropathy". *Diabetes Care.* 2013;36:2456–2465.
70. Treede R.D, Jensen T.S, Campbell J.N et al., "Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes," *Neurology* 2008; vol. 70, no. 18: 1630–1635.
71. Tesfaye S, A. Boulton A.J, Dyck P.J et al., "Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments," *Diabetes Care* 2010; vol. 33, no. 10: 2285–2293.
72. Toth C, Rong L.L, Yang C et al., "Receptor for advanced glycation end products (RAGEs) and experimental diabetic neuropathy," *Diabetes* 2008; vol. 57: 1002–1017.
73. Turko I.V, Marcondes S, and F. Murad F, "Diabetes-associated nitration of tyrosine and inactivation of succinyl-CoA:3-oxoacid CoA-transferase," *American Journal of Physiology—Heart and Circulatory Physiology* 2001; 281(6): H2289–H2294.
74. Wang W.T, Lee P, Yeh H.W, Smirnova I.V, and Choi I.Y, "Effects of acute and chronic hyperglycemia on the neurochemical profiles in the rat brain with streptozotocin-induced diabetes detected using in vivo 1H MR spectroscopy at 9.4 T," *Journal of Neurochemistry* 2012; vol. 121, no. 3: 407–417.
75. Yagihashi S, Mizukami H, and Sugimoto K, "Mechanism of diabetic neuropathy: where are we now and where to go?" *Journal of Diabetes Investigation* 2011; vol. 2, no. 1: 18–32.
76. Ziegler D, Sohr C.G.H, and Nourooz-Zadeh J, "Oxidative stress and antioxidant defense in relation to the severity of diabetic polyneuropathy and cardiovascular autonomic neuropathy," *Diabetes Care* 2004; vol. 27, no. 9: 2178–2183.
77. Zatalia S.R and Sanusi H, "The role of antioxidants in the pathophysiology, complications, and management of diabetes mellitus," *The Indonesian Journal of Internal Medicine* 2013; vol. 45, no. 2: 141–147.

## SUMMARY

### MEDICAL BASIS OF DIABETIC NEUROPATHY FORMATION (REVIEW)

<sup>1</sup>Archvadze A., <sup>1</sup>Kistauri A., <sup>2</sup>Gongadze N., <sup>3</sup>Makharadze T., <sup>2</sup>Chirakadze K.

*Tbilisi State Medical University, <sup>1</sup>Department of internal diseases, <sup>2</sup>Department of medical pharmacology, <sup>3</sup>Department of internal diseases management and geriatrics, Georgia*

Nowadays, chronic diseases are leading cause of death worldwide. One of popular chronic disease of 21 century is Diabetes Mellitus (DM) that affected 422 million people around the world in 2014; its prevalence is expected to increase to 592 million by the year 2035.

Diabetic neuropathy (DN) seems to be the most common and least understood complication being present in over 50% of chronic diabetics. As the latest date explain the pathogenesis of DN is not fully understood. Therefore, considering the widespread of DN, severity of its consequences, it is vital to investigate details of its pathophysiology and find therapeutic strategies to improve patients' condition. Generally two mechanisms have been suggested to be involved in the pathogenesis of diabetic neuropathy. The first mechanism is the activation of the

Renin Angiotensin Aldosterone System (RAAS) in the presence of hyperglycemia with increased tissue level of Angiotensin II (Ang II). Ang II stimulates Nicotin Adenine Dinucleotide (Phosphate) (NAD (P)) oxidase which enhances oxidative stress and vascular damage and leading to DN. The other mechanism is linked with disturbance in the metabolism and vasculature of nerve tissue in the presence of excessive uptake of glucose.

Conclusion: In our review we have discussed different mechanisms involved in formation of DM and DN. Based on the latest research studies the main component in the big picture of DN formation is hyperglycemia. The list of mechanisms are associated with high glucose level leading inflammation, oxidative stress, hypoxia and apoptosis through the activation of several pathogenic pathways induced by Tumor Necrosis Factor alfa (TNF $\alpha$ ), AgII, (pro)renin, Protein Kinase C (PKC), glycolysis intermediated products, Cyclooxygenase 2 (COX2) and reactive nitrogen species (RNS). Therefore to use drugs linked with above discussed pathological processes would be effective solution in the treatment of DM and its complications.

**Keywords:** diabetes mellitus, diabetic neuropathy, hyperglycemia, oxidative stress, RAAS, NAD (P) oxidase, TNF $\alpha$ , COX2, RNS.

## РЕЗЮМЕ

## МЕДИЦИНСКИЕ ОСНОВЫ ФОРМИРОВАНИЯ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕЙРОПАТИИ (ОБЗОР)

<sup>1</sup>Арчвадзе А.Ш., <sup>1</sup>Кистаური А.Г., <sup>1</sup>Гонгадзе Н.В.,

<sup>2</sup>Махарაძე Т.Г., <sup>3</sup>ჭირაკაძე К.Т.

*Тбилисский государственный медицинский университет, <sup>1</sup>департамент внутренних болезней; <sup>2</sup>департамент медицинской фармакологии; <sup>3</sup>департамент менеджмента внутренних болезней и гериатрии, Грузия*

В настоящее время хронические заболевания являются основной причиной смертности во всем мире. Одним из распространенных хронических заболеваний XXI века является сахарный диабет (СД), которым страдали 422 миллиона лиц во всем мире в 2014 году; его превалентность, как ожидается, возрастет до 592 миллионов к 2035 году.

Диабетическая нейропатия (ДН), по всей вероятности, является наиболее распространенным и наименее понятным осложнением, присутствующим у более чем 50% хронических диабетиков. Согласно последним данным, патогенез ДН не до конца выявлен. Поэтому, учитывая широкое распространение ДН и серьезность его последствий, крайне значимым является исследование интимных механизмов его патфизиологии с целью разработки новой терапевтической стратегии для улучшения состояния пациентов. Для рассмотрения предложено два механизма объяснения патогенеза диабетической нейропатии: первым является активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) в присутствии гипергликемии, приводящей к повышению уровня ангиотензин II (AngII) в тканях, что, в свою очередь, стимулирует никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфатоксидазу, усиливающую оксидативный стресс с повреждением сосудов, что ведет к развитию ДН. Другой механизм связан с нарушениями метаболизма в сосудистой системе нервной ткани в присутствии избыточного поглощения глюкозы.

В обзоре обсуждаются различные механизмы, связанные

с формированием СД и ДН. Основываясь на последних исследованиях, основным компонентом в глобальном процессе формирования ДН является гипергликемия. Ряд механизмов связан с высоким уровнем глюкозы, что ведет к развитию воспаления, оксидативному стрессу, гипоксии и апоптозу путем активации различных патогенных путей, индуцированных с помощью фактора некроза опухоли-альфа, AgII, (pro) ренина, протеин киназы C, промежуточных продуктов гликолиза, циклооксигеназы 2 и реактивных форм азота. Поэтому использование препаратов, оказывающих влияние на вышеуказанные патологические процессы, представляется целесообразным при лечении СД и его осложнений.

## რეზიუმე

დიაბეტური ნეიროპათიის ფორმირების სამედიცინო საფუძვლები (მიმოხილვა)

<sup>1</sup>ა. არჩვაძე, <sup>1</sup>ა. ქისტაური, <sup>1</sup>ნ. გონგაძე, <sup>2</sup>თ. მახარაძე,

<sup>3</sup>ქ. ჭირაკაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, <sup>1</sup>შინაგან სნეულებათა დეპარტამენტი; <sup>2</sup>სამედიცინო ფარმაკოლოგიის დეპარტამენტი; <sup>3</sup>შინაგან სნეულებათა მენეჯმენტის და გერიატრიის დეპარტამენტი, საქართველო

სადღეისოდ ქრონიკული დაავადებები სიკვდილის მთავარ მიზეზს წარმოადგენენ მსოფლიოში. შაქრიანი დიაბეტი (შდ) XXI საუკუნის ერთ-ერთი გავრცელებული ქრონიკული დაავადებაა, რომლითაც 2014 წელს მსოფლიოში დაავადებული იყო 422 მილიონი პირი. ბოლო მონაცემებით, მოსალოდნელია, რომ მისი პრევალენტობა 2035 წლისთვის გაიზრდება 592 მილიონამდე.

დიაბეტური ნეიროპათია (დნ) ყველაზე გავრცელებული და ნაკლებად ხსნილი გართულებაა, რომელიც ვლინდება ქრონიკულ დიაბეტით დაავადებულთა 50%-ში. ბოლო წლების მონაცემებით დნ-ის პათოგენეზი არ არის მთლიანად გარკვეული. ამიტომ, დნ-ის ფართო გავრცელებისა და მისი შედეგების სიმძიმის გათვალისწინებით, სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვანია ამ გართულების პათოფიზიოლოგიური მექანიზმების გამოკვლევა და ახალი თერაპიული სტრატეგიების შემუშავება პაციენტების მდგომარეობის გასაუმჯობესებლად. ამჟამად, შემათავაზებულია ძირითადად ორი მექანიზმი, რომელიც ჩართულია დნ-ის განვითარებაში: პირველი მექანიზმი ასოცირდება რენინ-ანგიოტენზინ-ალდოსტერონის სისტემის (რაას) აქტივობასთან ჰიპერგლიკემიის დროს, რაც იწვევს ქსოვილოვანი ანგიოტენზინ II (ანგII) გაზრდას. ანგII ასტიმულირებს ნიკოტინამიდ-ადენინ-დინუკლეოტიდ-ფოსფატ ოქსიდაზას, რაც ზრდის ოქსიდაციურ სტრესს, სისხლძარღვოვან დაზიანებას და იწვევს დნ-ს. მეორე მექანიზმი დაკავშირებულია ჰიპერგლიკემიის დროს მეტაბოლურ და ნერვული ქსოვილის სისხლძარღვოვან დარღვევებთან.

მიმოხილვაში წარმოდგენილია მექანიზმები, რომლებიც ჩართულია შდ-ის და დნ-ის განვითარებაში. უკანასკნელ კვლევებზე დაყრდნობით, დნ-ის განვითარების ვრცელ სურათში ჰიპერგლიკემია წარმოადგენს მთავარ კომპონენტს. ამავე დროს, რიგი მექანიზმები

ასოცირებულია გლუკოზის მაღალ დონესთან, რაც იწვევს ანთების, ოქსიდაციური სტრესისა და აპოპტოზის განვითარებას სხვადასხვა პათოგენეზური პროცესების აქტივაციით, კერძოდ, სიმსივნის მანეკროზირებელი ფაქტორი ალფა-ს, ანგII-ის, (პრო)რენინის, პროტეინკინაზა C-ს, გლიკოლიზის შუალედური პროდუქტების, ციკლოოქსიგენაზა 2-ს და აზოტის

რეაქტიული ნაერთების მეშვეობით. ზემოთქმულის გათვალისწინებით, შდ და დნ მკურნალობაში მიზანშეწონილია იმ პრეპარატების გამოყენება, რომელთა მოქმედება დაკავშირებულია ზემოთ აღწერილ პათოლოგიურ პროცესებთან, ეფექტური გამოსავალისა და წარმატებული თერაპიული ინტერვენციის თვალსაზრისით.

## ISOLATION OF FLAVONOID EXTRACT FROM GEORGIAN CITRUS SINENSIS PEEL AND ITS ANTIOXIDATIVE PROPERTIES

Atanelov N., Arutinashvili N., Burjanadze G., Kuprava G., Koshoridze N.

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

Chronic psycho-emotional stress is an inseparable part of modern lifestyle that includes any kind of emotional impact on living organism followed by various biochemical and physiological changes. It is well-known that consequences may induce several disorders, including cardiovascular pathologies. So, prevention of those pathological conditions is one of the main goals of modern biomedical sciences. The historical data shows close relation between chronic stress and several disorders of cardiovascular system, including hypertension, blood lipid metabolism disorder, atherosclerosis, coronary artery disease and etc. It is believed that response is mainly induced by malfunction of specific antioxidant system, accompanied by altered cellular metabolism, for instance: intensification of lipid peroxidation, emergence of active radicals, shortage of cellular energy and etc.[2,4,7].

These amendments are mainly present because of enhanced synthesis of different type active radicals due to the influence of chronic stress, that adversely affects cellular metabolism and several biochemical processes. These are reactive oxygen species (ROS), reactive nitrogen species (RNS), hydrogen peroxide and others. Hence, one of the main approaches of modern medicine is to generate preventive tools towards this problem and implementation them in practice. Thus, in a perspective several types of natural compounds with antioxidant activity can be used for prevention pathological processes induced by chronic psycho-emotional stress. In this regard, it is noteworthy to mention plant derived, biologically active compounds - Flavonoids, with notable antioxidant properties. In biological systems, they can neutralize free radicals, thereby protecting cellular membrane and intracellular components from damage. It is estimated that flavonoids have protective capabilities against various diseases [8]. They inhibit the oxidation of low-density lipoproteins in the blood, also increase number of high-density lipoproteins, reduce blood pressure and improve dyslipidemia [3]. In addition, flavonoids can inhibit enzymes that directly or indirectly take part in peroxidation pathways, namely cyclooxygenase, NO-synthase and NADH-oxidase [9].

Hence, the goal of the present study was to investigate potentially preventive properties of polyphenol extract with significant amounts of flavonoids compounds (GOF) isolated from precocious Georgian Citrus sinensis peel (*Citrus sinensis* (L.), towards oxidative processes, induced by chronic psycho-emotional stress that was induced by long-term social isolation and disturbance of natural circadian rhythm.

**Material and methods.** Experiments were conducted on 200-

250 g male Wistar rats. The animals were divided into 4 main groups prior to the experiment:

(1) Control group – were kept in a common cage under natural conditions (dark/light ratio = 10/14);

(2) Stressed group – were kept in individual cages in the dark (dark/light ratio = 23.5/0.5) for 30 days;

(3) GOF-treated stressed – were kept in individual cages in the dark (dark/light ratio = 23.5/0.5) for 30 days and were daily intraperitoneal treated with OF (7.5 mg/kg rat) along this period;

(4) Nobiletin-treated stressed – were kept in individual cages in the dark (dark/light ratio = 23.5/0.5) for 30 days and were daily intraperitoneal treated with nobiletin (7.5 mg/kg rat) along this period. All animals were given water and a standard laboratory chow ad libitum.

The polyphenol extract from Georgian orange skin with significant amount of flavonoid compounds (GOF) was isolated according to the method described by Kuchukashvili et al [6] that is done by the multistage extraction that includes formation of water-associated fraction from which the insoluble salt is precipitated and then converted back to the soluble condition.

Subcellular fractions from cardiac samples were obtained according to the already published methodology by our scientific group, as well as superoxide dismutase (SOD) and catalase activity [5] and NO<sub>x</sub> levels [1].

Concentration of active products of thiobarbituric acid, including malondialdehyde, was determined in experimental samples by means of thiobarbituric acid test at the wavelength of 532 nm [10].

The calcium concentration was determined using a commercial colorimetric kit (Sigma-Aldrich, cat. #MAK022, St. Louis, MO, USA). The calcium ion concentration was determined by the chromogenic complex formed between Ca<sup>2+</sup> and O-cresolphthalein. Absorbance of the Ca<sup>2+</sup>-O-cresolphthalein complex was measured at 575 nm and was proportional to the concentration of calcium ions present.

Concentration of blood cholesterol, high (HDL) and low-density lipoproteins (LDL), as well as triglycerides (TG) were estimated by commercially available kits from Antibodies-online GmbH, Germany.

All statistical analyses were conducted using SPSS software (version 23, SPSS, Chicago, IL, USA). One-way ANOVA was used to assess group differences in all physiological and biochemical values. Tukey HSD or Games-Howell *post hoc* test was performed to assess the differences between groups. The

values are expressed as the mean±SEM. P values less than 0.05 were considered as statistically significant

**Results and their discussion.** During initial stage of experiments we have studied blood lipid spectrum among all four groups of animals by estimating concentration of free cholesterol, TGs, as well as LDLs and HDLs (Fig. 1). Data indicates that during long-term psycho-emotional stress changes in blood lipids are statistically significant. In particular, concentrations of cholesterol, LDLs and TGs are increased, while number of HDLs is reduced, that is relevant to the literature data.

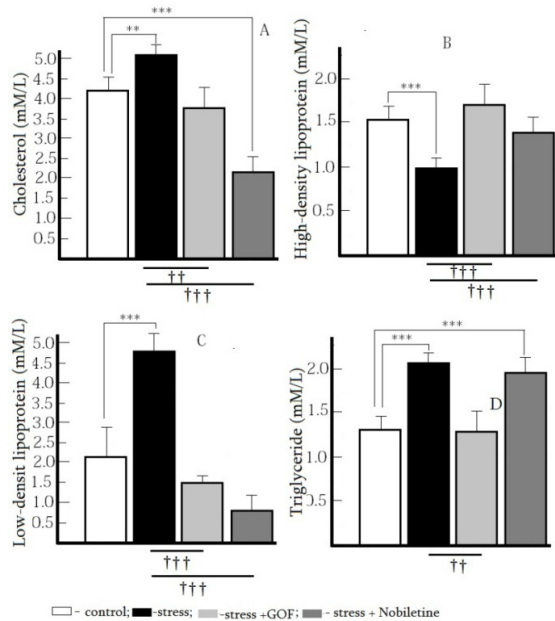


Fig. 1. Changes in free cholesterol (A), high (B) and low density (C) lipoproteins, and triglycerides (D) in blood of naïve, stressed, GOF- and nobiletin-treated animals.  
\*\*\*-  $p < 0.001$ ; \*\*-  $p < 0.01$ ; †††-  $p < 0.001$ ; ††-  $p < 0.01$

It was shown that daily administration of GOF in stressed individuals significantly reduces concentration of free cholesterol ( $\approx 25\%$ ), LDLs ( $\approx 60\%$ ) and TGs ( $\approx 40\%$ ), while the HDLs level was increased. It should be noted that GOF has similar effects to the nobiletin. Moreover, towards some parameters, GOF discloses

a better effect than Nobiletin. For instance, As a result of chronic stress, concentration of triglycerides in blood does not change after nobiletin treatment, while it is significantly reduced by GOF.

The observed findings led us to study the level of lipid peroxidation in blood and cardiac tissue by estimating concentration of malondialdehyde. Figure 2 shows that during the stress, treatment with GOF significantly normalizes this parameter. In particular, even though the concentration on malondialdehyde is significantly increased compared to control group and this index is significantly reduced compared to stressed group. Similar patterns have been observed after nobiletin administration.

It was observed significant up-regulation of lipid peroxidation during the long-term psycho-emotional stress in cardiac tissue samples. At this point, administration of nobiletin doesn't have trustful effect, whilst daily i.p. treatment with GOF significantly normalized concentration of malondialdehyde hence GOF supposedly decreases the level oxidation stress.

Similar results have been observed during studies of  $Ca^{2+}$  concentration (Fig 2. C, D). As expected, levels of  $Ca^{2+}$  ions is significantly increased not only in blood, but also in cardiac tissue of stressed group, while administration of both, GOF and nobiletin significantly reduces this parameter. It is known that  $Ca^{2+}$  ions are one of the promoters of NO synthase. In the stressed animals the level of NO is increased by about 45% that was significantly reduced after GOF and nobiletin treatment (Fig. 2E).

The aforementioned data points out the up-regulation of oxidative pathways by the prolonged disruption of circadian rhythm and social isolation and as a result formation of chronic psycho-emotional stress and the positive action of natural flavonoids on such alterations. In addition the functional state of antioxidant systems was evaluated; by means of differences in SOD and catalase activity. As Fig. 3 shows, activity of SOD in blood, cytosolic and mitochondrial fractions of cardiac muscle cells have been significantly reduced, while administration of different flavonoids had diverse effects on this parameter. In particular, it was observed significant increase in SOD activity in blood and mitochondria from cardiac muscle tissue under the 30-day treatment with GOF, while there were no reliable differences in cytosolic fraction. Dissimilar effects were found in nobiletin treated group. Markedly, the daily i.p. supplementation of nobiletin significantly increased activity of SOD only in mitochondrial fraction of cardiac tissue, while in blood and cytosolic fraction the activity of enzyme wasn't practically changed.

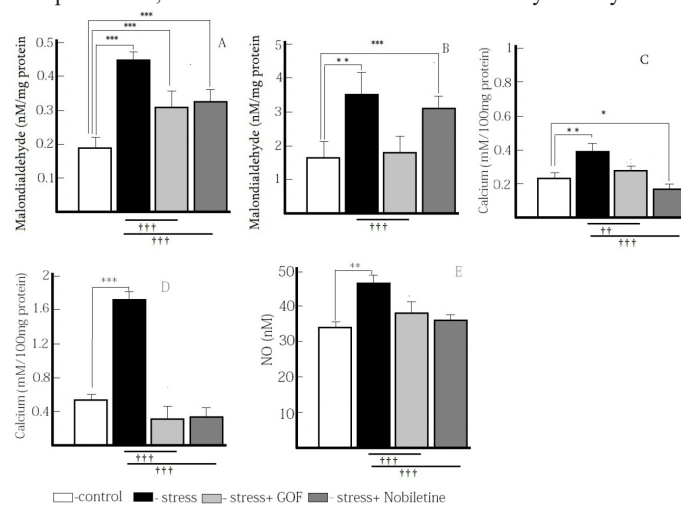


Fig. 2. Changes in concentration of malondialdehyde in blood plasma (A) and cardiac muscle cells (B); Changes in concentration of  $Ca^{2+}$  in blood plasma (C) and cardiac muscle cells (D); Concentration of NO in blood plasma (E).  
\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; † $p < 0.05$ ; †††  $p < 0.001$

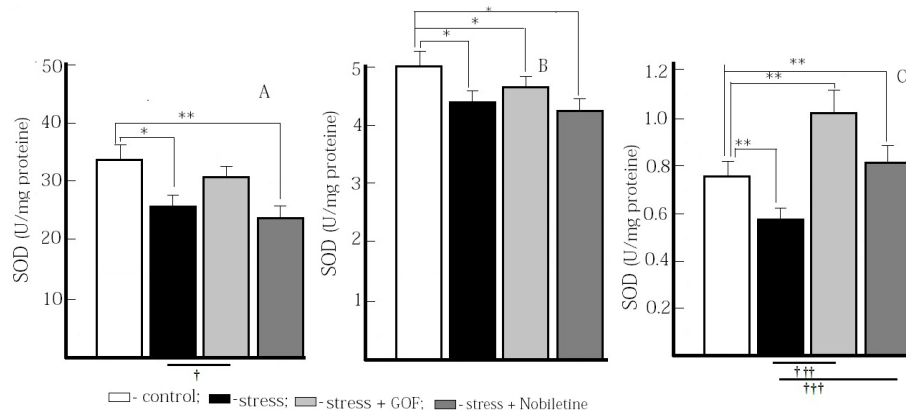


Fig. 3. Changes in activity of superoxide dismutase (SOD) in blood (A), cytoplasm (B) and mitochondria (C) of cardiac muscle cells.  
\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; † $p < 0.05$ ; †† $p < 0.001$

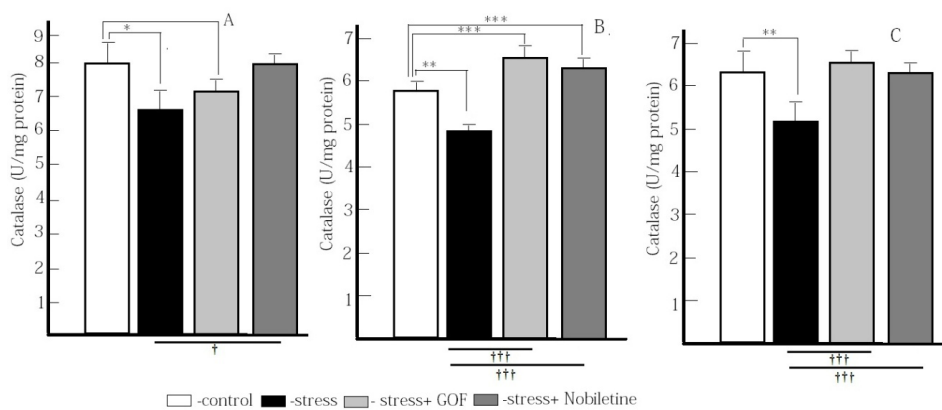


Fig. 4. Changes in activity of Catalase in blood (A), cytoplasm (B) and mitochondria (C) of cardiac muscle cells.  
\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; † $p < 0.05$ ; ††† $p < 0.001$

The data presented on the figure 4 show decreases in activity of catalase under the stress that was increased under the daily treatment with GOF as well as nobiletin just in subcellular fractions from cardiac muscle tissue, while just the administration of nobiletin had positive influence on the blood catalase activity.

**Conclusion.** To sum up all the above-mentioned, polyphenol extract with significant amounts of flavonoid compounds extracted from precocious Georgian *Citrus sinensis* peel (GOF) is characterized by high antioxidant properties, that is reflected in normalized activity of enzymes involved in antioxidant system, hence down-regulation of oxidative processes, initially induced by long-term psycho-emotional stress.

## REFERENCES

- Burjanadze G., Shengelia M., Dachanidze N., M. Mikadze, K. Menabde, N. Koshoridze. Creatine-facilitated protection of stress caused by disrupted circadian rhythm. *Biol. Rhythm Res.* 2017; 49: 61-75.
- Dachanidze N.T., Kuchukashvili Z.T., Menabde K.O., Koshoridze N.I. Circadian rhythm disorders and dynamic changes of energy metabolism in rat heart muscle cells, *Biol. Rhythm Res.* 2015; 46: 39-51.
- Peterson J.J., Dwyer J.T., Jacques P.F., McCullough M.L. Do Flavonoids Reduce Cardiovascular Disease Incidence or Mortality in US and European Populations? *Nutr Rev.* 2012; 70: 491-508.
- Mihalas B.P, De Iulius G.N., Redgrove K.A., McLaughlin E.A.

- The lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal contributes to oxidative stress-mediated deterioration of the ageing oocyte. *Scientific Reports* 2017; 7, doi:10.1038/s41598-017-06372-z
5. Kuchukashvili Z., Burjanadze G., Menabde K., Chachua M., Dachanidze N., Mikadze, M., Koshoridze N. Long-lasting stress, quantitative changes in nitric oxide concentration and functional state of brain mitochondria, *Acta Neurobiol. Exp. (Wars)*. 2012; 72: 40-50.
6. Balderas-Villalobos J., Molina-Muñoz T., Mailloux-Salinas P., Bravo G., Carvajal K., Gómez-Viquez N.L. Oxidative stress in cardiomyocytes contributes to decreased SERCA2a activity in rats with metabolic syndrome. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2013; 305:1344-13453.
7. Kuchukashvili Z., Menabde K., Chachua M., Burjanadze G., Chipashvili M., Koshoridze N. Functional state of rat cardiomyocytes and blood antioxidant system under psycho-emotional stress. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*. 2011; 43: 480-486.
8. Koutsos A., Tuohy K.M., Lovegrove J.A. Apples and cardiovascular health -- is the gut microbiota a core consideration? *Nutrients*. 2015; 7: 3959-3998.
9. Procházková D., Boušová I., Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*. 2011; 82: 513-523.
10. Faizan M., Esatbeyoglu T., Bayram B., Rimbach G. A Fast and Validated Method for the Determination of Malondialdehyde in Fish Liver Using High-Performance Liquid Chromatography with a Photodiode Array Detector. *J. Food Science*. 2014. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12412>



SUMMARY

ISOLATION OF FLAVONOID EXTRACT FROM GEORGIAN CITRUS SINENSIS PEEL AND ITS ANTIOXIDATIVE PROPERTIES

Atanelov N., Arutinashvili N., Burjanadze G., Kuprava G., Koshoridze N.

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

A method for isolation of polyphenol extract with significant amounts of flavonoid compounds (GOF) from precocious Georgian Citrus sinensis peels (Citrus sinensis (L.) Osbeck „Seike Navel”, form N26) was established by multistage process based on producing water-associated fraction (WAF). Recent study describes the impact of GOF on altered cellular metabolism patterns of cardiac muscle cells and changes in blood induced by psycho-emotional stress. Markedly, GOF-treated animals show positive changes in certain antioxidant enzymes (SOD, catalase) activity and normalization of lipid peroxidation, whereas the concentration of Ca<sup>2+</sup> and nitric oxide are approximated to the control value. Similar impacts were also observed in comparison with nobiletin, mainly found in citrus peels. It is notable that in terms of certain parameters, implication of GOF shows more effectiveness than nobiletin.

**Keywords:** flavonoids, psycho-emotional stress, lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase,

РЕЗЮМЕ

ВЫДЕЛЕНИЕ ФЛАВИНОИДНОГО ЭКСТРАКТА ИЗ КОЖУРЫ МЕСТНЫХ СОРТОВ АПЕЛЬСИНА И ИЗУЧЕНИЕ ЕГО АНТИОКСИДАТНЫХ СВОЙСТВ

Атанелов Н.З., Арутинашвили Н.В., Бурджанадзе Г.М., Куправа Г.В., Кошоридзе Н.И.

Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, факультет естествознания и точных наук, департамент биологии, Грузия

Выделена флавиноидная фракция (GOF) из кожуры грузинских местных сортов апельсина (sinensis (L.) Osbeck N26). Метод выделения основан на получении с помощью многоступенчатой экстракции водорастворимой полифе-

нольной фракции. Проведенные исследования свидетельствуют, что под воздействием GOF в клетках сердечной мышцы и крови меняются метаболические процессы под воздействием продолжительного психо-эмоционального стресса. Необходимо отметить, что в условиях стресса введение GOF положительно действует на активность некоторых ферментов (СОД, каталаза) антиоксидантной системы и на процесс перекисного окисления липидов. Параллельно отмечается нормализация концентрации ионов кальция и оксида азота. Изученные данные сравнены с эффектом известного коммерческого флавиноида апельсиновой кожуры - нобилетина. Выявлено, что на ряд параметров GOF проявляет более положительное действие, чем нобилетин.

რეზიუმე

ადგილობრივი ფორთოხლის კანიდან ფლავინოიდური ექსტრაქტის გამოყოფა და მისი ანტიოქსიდანტური თვისებების შესწავლა

ნ. ათანელოვი, ნ. არუთინაშვილი, გ. ბურჯანაძე, გ. კუპრავა, ნ. კოშორიძე

ივ. ჯავახიშვილის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი, ბიოლოგიის დეპარტამენტი, საქართველო

ადგილობრივი ქართული ფორთოხლის (sinensis (L.) Osbeck N26) კანიდან გამოყოფილია ფლავინოიდების შემცველი ფრაქცია (GOF). გამოყოფის მეთოდი დამყარებულია მრავალსაფეხურიანი ექსტრაქციით წყალში ხსნადი პოლიფენოლური ფრაქციის მიღებაზე. ჩატარებული კვლევები ადასტურებს, რომ GOF იწვევს ხანგრძლივი ფსიქო-ემოციური სტრესის შედეგად შეცვლილი მეტაბოლური პროცესების ცვლილებას გულის კუნთის უჯრედებსა და სისხლში. აღსანიშნავია, რომ სტრესის პირობებში GOF-ის შეყვანა დადებითად მოქმედებს ანტიოქსიდანტური სისტემის ზოგიერთი ფერმენტის (სოდ, კატალაზა) აქტივობასა და ლიპიდების ზეჟანგური ჟანგვის პროცესებზე. პარალელურად აღინიშნება Ca<sup>2+</sup>-ის იონებისა და აზოტის ოქსიდის რაოდენობის ნორმალიზაცია. შესწავლილი პარამეტრები შედარებულია ასევე ფორთოხლის კანიდან გამოყოფილი ისეთი ფლავინოიდების ეფექტთან, როგორიცაა ნობილეტინი. უნდა აღინიშნოს, რომ GOF-ის მოქმედება ზოგიერთ პარამეტრებზე ხასიათდება უკეთესი მონაცემებით ნობილეტინთან შედარებით.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДАВНОСТИ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ДВУХМЕРНОГО КАРТОГРАФИРОВАНИЯ РАСПРЕДЕЛЕНИЙ СТЕПЕНИ ВЗАИМНОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ ИЗОБРАЖЕНИЙ ПОЛИКРИСТАЛЛИЧЕСКИХ ПЛЕНОК СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ С МЕЛКОМАСШТАБНОЙ ПРОСТРАНСТВЕННО-ЧАСТОТНОЙ ФИЛЬТРАЦИЕЙ

Гараздюк М.С., Бачинский В.Т., Ванчулак О.Я., Гараздюк А.И., Нечитайло Е.Ю.

Высшее государственное учебное заведение Украины  
 «Буковинский государственный медицинский университет», Черновцы, Украина

Одним из значимых вопросов, которые ставят судебно-следственные органы перед экспертом, является установление времени, прошедшего после наступления смерти. Решением данного вопроса занимается судебно-медицинская танатология. В течение всего времени существования судебной медицины как науки предложено множество различных методов определения давности наступления смерти (ДНС) [1,3,5,6]. Они базируются на изучении динамики развития ранних трупных явлений, в частности акцентируется внимание на значении трупных пятен и трупного охлаждения, изучаются изменения биохимического состава и ферментативной активности различных тканей и жидкостей организма, учитывается развитие энтомофауны трупа и многое другое. Однако по сей день лучшие методы демонстрируют точность в пределах нескольких часов, что не всегда удовлетворяет требованиям судебно-следственных органов, в частности при раскрытии убийств [1].

Сравнительно недавно в ряде научных работ продемонстрирована и доказана перспективность использования для определения ДНС оптических методов диагностики структуры биологических тканей (БТ), которые включают совокупность фотометрических, поляризационных и корреляционных методов [7-10]. Указанные методы базируются на изучении явления светорассеяния БТ и их макронеоднородностей, что позволяет выявить и установить взаимосвязи между данными динамики посмертных изменений исследуемых тканей тех или иных органов организма с совокупностью объективных параметров их оптических изображений. На основе этого открываются новые возможности объективного и более точного определения ДНС человека.

Однако в отечественной и зарубежной литературе практически отсутствуют данные о возможности объективного определения ДНС путем исследования посмертных изменений структуры поляризационно-неоднородных микроскопических изображений биологических жидкостей человека.

Целью исследования являлась разработка и апробация метода двухмерного стокс-поляриметрического простран-

ственно-частотного картографирования мелкомасштабных составляющих биологических слоев для установления интервала и точного определения давности наступления смерти путем статистического анализа динамики посмертных изменений координатных распределений значений комплексной степени взаимной поляризации микроскопических изображений поликристаллических пленок спинномозговой жидкости.

**Материал и методы.** Объектом исследования являются поликристаллические пленки (ПП) спинномозговой жидкости (СМЖ) 69 трупов (основная группа исследования) в возрасте 23-91 гг. с предварительно известным временем наступления смерти в период от 1 до 42 ч; группу сравнения составили 20 здоровых добровольцев. Забор ликвора осуществлялся методом субокципитальной пункции из большой затылочной цистерны у трупов и при спинальной анестезии во время подготовки к плановой операции у здоровых добровольцев [4]. В основной группе ликвор забирали у трупов, умерших вследствие сердечно-сосудистой патологии - 54 (78,3%) случая, туберкулеза легких - 7 (10,1%) случаев, опухолей различных отделов желудочно-кишечного тракта - 8 (11,6%) случаев.

Для изготовления ПП СМЖ каплю СМЖ наносили на оптически однородное стекло в идентичных условиях. Образованная пленка высушивалась при комнатной температуре (22°C). Для последующего исследования образцы направлялись в специальную лабораторию кафедры корреляционной оптики Черновицкого национального университета им. Ю. Федьковича, где исследовались с помощью лазерного поляриметра, затем проводили математическую обработку и анализ полученных поляризационных изображений ПП СМЖ с целью установления временной динамики посмертных изменений СМЖ.

*Методика экспериментальных исследований*

На рис. 1 представлена оптическая схема лазерного стокс-поляриметра с пространственно-частотной фильтрацией [9,10].

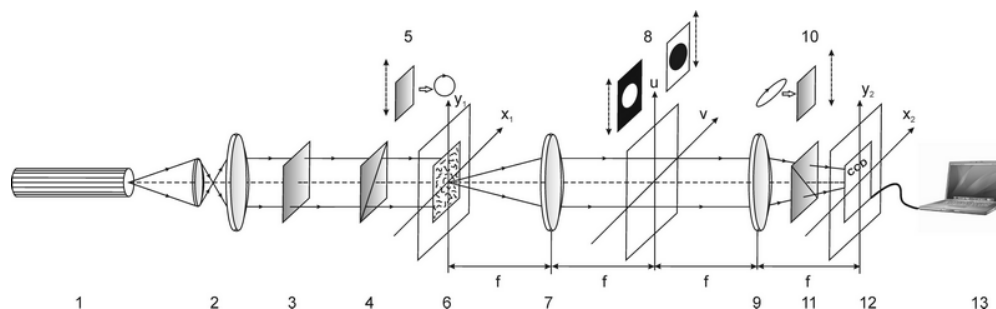


Рис. 1. Оптическая схема лазерного стокс-поляриметра с пространственно-частотной фильтрацией, где 1 – He-Ne лазер; 2 – коллиматор; 3 – стационарная четвертьволновая пластинка; 5,10 – механически подвижные четвертьволновые пластинки; 4,11 – поляризатор и анализатор, соответственно; 6 – поликристаллическая пленка СМЖ; 7,9 – поляризационные микрообъективы; 8 – низкочастотный и высокочастотный фильтры-диафрагмы, 12 – CCD камера; 13 – персональный компьютер

Облучение образца 6 проводилось параллельным ( $E = 10^4$  мкм) пучком света He-Ne лазера ( $\lambda=632,8$  нм, мощность  $W=5$  мВт). Поляризационный осветитель состоит из четвертьволновых пластинок 3, 5 и поляризатора 4. Образцы ПП 6 размещались в фокальной плоскости поляризационного микрообъектива 7 (Nikon CFI Achromat P, фокусное расстояние – 30 мм, апертура – 0,1, увеличение – 4x). В задней фокальной плоскости микрообъектива 7 размещался пространственно-частотный (низкочастотный или высокочастотный) фильтр-диафрагма 8. Поляризационный микрообъектив 9 (Nikon CFI Achromat P, фокусное расстояние – 30 мм, апертура – 0,1, увеличение – 4x) устанавливался на фокусном расстоянии от частотной плоскости объектива 7, и реализовывал обратное фурье-преобразование пространственно-частотно отфильтрованного поля лазерного излучения.

Координатные распределения (КР) интенсивности такого поля регистрировались в плоскости светочувствительной CCD-камеры 12 (The Imaging Source DMK 41AU02.AS, monochrome 1/2" CCD, Sony ICX205AL - progressive scan; разрешение – 1280x960; размер светочувствительной площадки - 7600x6200 мкм; чувствительность–0.05 lx; динамический диапазон - 8 bit), которая находилась на фокальном расстоянии от поляризационного микрообъектива 9.

Итак, основными информационными объектами для совокупности оптико-физических методов диагностики ДНС в данном исследовании является совокупность непосредственно измеренных КР поляризационных параметров  $\alpha_k (m \times n)$  пространственно - частотно отфильтрованных поляризационных карт  $F(\alpha_k (m \times n))$  поликристаллического слоя СМЖ:

$$F(\alpha_k (m \times n)) = F \left( \begin{pmatrix} (\alpha_k)_1 & \dots & (\alpha_k)_{1n} \\ \dots & \dots & \dots \\ (\alpha_k)_{m1} & \dots & (\alpha_k)_{mn} \end{pmatrix} \right) \quad (1)$$

В качестве основного аналитического инструмента для оценки распределений значений КСВП разномасштабных составляющих микроскопических изображений ПП СМЖ (далее  $q(m \times n)$ ) использовались статистические моменты первого ( $Z_1$ ), второго ( $Z_2$ ), третьего ( $Z_3$ ) и четвертого ( $Z_4$ ) порядков, которые рассчитывались по следующим алгоритмам [8-10]:

$$\begin{aligned} Z_1 &= \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N q_j; \\ Z_2 &= \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (q^2)_j}; \\ Z_3 &= \frac{1}{Z_2} \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (q^3)_j; \\ Z_4 &= \frac{1}{Z_2} \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (q^4)_j, \end{aligned} \quad (2)$$

где  $N$  - количество пикселей светочувствительной площадки CCD-камеры.

Методика экспериментальных измерений КР модуля  $|V|$  комплексной степени взаимной поляризации (КСВП) следующая:

1. Измеряется (без анализатора 8, рис. 1) КР  $\begin{pmatrix} r_{11}, \dots, r_{1m} \\ \dots \\ r_{n1}, \dots, r_{nm} \end{pmatrix}$  интенсивности изображения БТ  $I \begin{pmatrix} r_{11}, \dots, r_{1m} \\ \dots \\ r_{n1}, \dots, r_{nm} \end{pmatrix}$ ,

где  $m \times n$  - совокупность пикселей цифровой камеры 9 (рис. 1).

2. Далее устанавливают анализатор 8, плоскость пропускания которого последовательно ориентируют под углами  $\Theta=0^0$ ,  $\Theta=90^0$  и измеряют соответствующие множества значе-

$$\begin{pmatrix} r_{11}, \dots, r_{1m} \\ \dots \\ r_{n1}, \dots, r_{nm} \end{pmatrix}; I^{(90)} \begin{pmatrix} r_{11}, \dots, r_{1m} \\ \dots \\ r_{n1}, \dots, r_{nm} \end{pmatrix}.$$

3. Вращением плоскости пропускания анализатора в пределах  $\Theta = 0^0 \div 180^0$  определяют множества значений минимальной и максимальной интенсивности  $I_{\min} \begin{pmatrix} r_{11}, \dots, r_{1m} \\ \dots \\ r_{n1}, \dots, r_{nm} \end{pmatrix}$ ;

$$I_{\max} \begin{pmatrix} r_{11}, \dots, r_{1m} \\ \dots \\ r_{n1}, \dots, r_{nm} \end{pmatrix};$$

микроскопического изображения для каждого отдельного пикселя (m,n) CCD-камеры и соответствующие им углы поворота.

$$\Theta \begin{pmatrix} r_{11}, \dots, r_{1m} \\ \dots \\ r_{n1}, \dots, r_{nm} \end{pmatrix} \left( I \begin{pmatrix} r_{11}, \dots, r_{1m} \\ \dots \\ r_{n1}, \dots, r_{nm} \end{pmatrix} \right) \equiv I_{\min}$$

4. Рассчитывается поляризационная карта микроскопического изображения ПП СМЖ, используя следующие соотношения:

$$\begin{aligned} \alpha \begin{pmatrix} r_{11}, \dots, r_{1m} \\ \dots \\ r_{n1}, \dots, r_{nm} \end{pmatrix} &= \Theta(I_{\min}(r)) - \frac{\pi}{2}; \\ \beta \begin{pmatrix} r_{11}, \dots, r_{1m} \\ \dots \\ r_{n1}, \dots, r_{nm} \end{pmatrix} &= \arctg \frac{I(r)_{\min}}{I(r)_{\max}}. \end{aligned} \quad (3)$$

5. Рассчитываются координатные распределения фазовых сдвигов  $\delta \begin{pmatrix} r_{11}, \dots, r_{1m} \\ \dots \\ r_{n1}, \dots, r_{nm} \end{pmatrix}$

$$\text{с использованием соотношения } \delta(r_{ik}) = \arctg \left[ \frac{\tg 2\beta(r_{ik})}{\tg \alpha(r_{ik})} \right]. \quad (4)$$

6. Рассчитывают КР модуля  $|W| \begin{pmatrix} r_{11}, \dots, r_{1m} \\ \dots \\ r_{n1}, \dots, r_{nm} \end{pmatrix}$  КСВП:

$$\begin{aligned} W &= \frac{(I_x^{0.5}(r_1)I_y^{0.5}(r_2) - I_y^{0.5}(r_1)I_x^{0.5}(r_2))^2 + 16I_x(r_1)I_x(r_2)I_y(r_1)I_y(r_2) +}{I(r_1)I(r_2)} + \\ &+ \frac{8I_x^{0.5}(r_1)I_x^{0.5}(r_2)I_x^{0.5}(r_1)I_x^{0.5}(r_2)(I_x^{0.5}(r_1)I_x^{0.5}(r_2) - I_y^{0.5}(r_1)I_y^{0.5}(r_2))^2 \cos \delta_{12}}{I(r_1)I(r_2)} \end{aligned} \quad (5)$$

где  $I_x(r_1, r_2)$ ;  $I_y(r_1, r_2)$  - значение интенсивности в точках микроскопического изображения ПП СМЖ с координатами  $r_1, r_2$  для поворотов оси пропускания анализатора 9 (рис. 1) относительно плоскости падения на углы  $0^0$  и  $90^0$ , соответственно.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследования возможностей метода поляризационно-корреляционного картографирования ПП СМЖ с целью определения интервала и точности установления ДНС путем применения высокочастотной пространственно-частотной фильтрации, что обеспечивается непосредственным анализом проявлений мелкомасштабных молекулярных структур, приведены на рис. 2 и 3.

С фундаментальной точки зрения, полученные данные о КР значений КСВП совокупности точек микроскопического изображения несут более подробную информацию о посмертных биохимических изменениях СМЖ на концентрационном или первичном уровне его поликристаллической структуры. Это обеспечивает повышение чувствительности и точности определения ДНС на краткосрочных промежутках после наступления смерти.

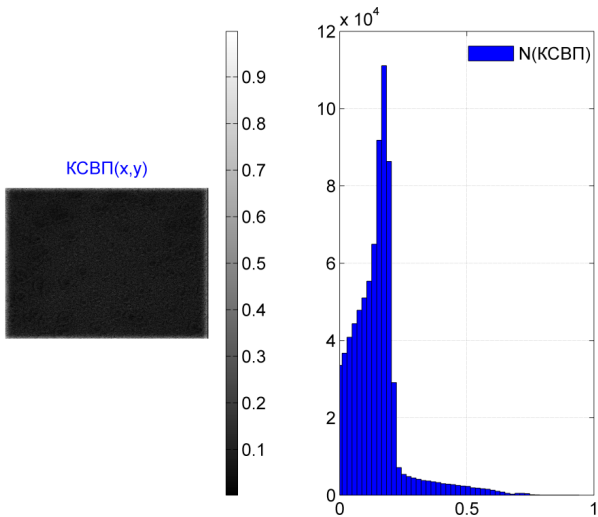


Рис. 2. Координатная структура (левая часть) и гистограмма распределения (правая часть) значений КСВП микроскопического изображения мелкомасштабной составляющей ПП СМЖ. ДНС 1 час

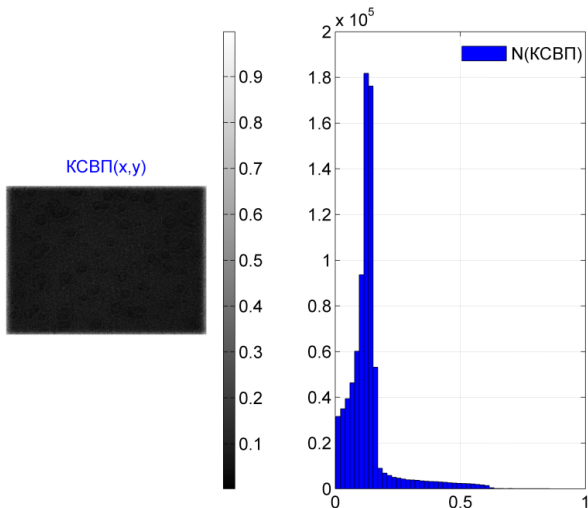


Рис. 3. Координатная структура (левая часть) и гистограмма распределения (правая часть) случайных значений КСВП микроскопического изображения мелкомасштабной составляющей ПП СМЖ. ДНС 12 часов

Сравнительный анализ результатов картографирования с низкочастотной пространственно-частотной фильтрацией микроскопических изображений ПП СМЖ выявил высокую эффективность методики корреляционного исследования дегенеративных изменений мелкомасштабных поликристаллических сетей в разное время наблюдения после наступления смерти (рис. 2 и 3, левые части). Поляризационно-корреляционные карты оптически активных молекулярных соединений, которые формируют КР значений КСВП, представляют собой совокупность мелкомасштабных зон (поляризационных доменов), количество которых существенно уменьшается с увеличением ДНС. Данный факт, по всей вероятности, связан с тем, что дегенеративные биохимические изменения по уменьшению оптически анизотропных доменов возникают за счет разрушения высокомолекулярных соединений и формирования

низкомолекулярных оптически изотропных (не меняющих поляризацию) молекулярных комплексов [2]. Подобный сценарий количественно иллюстрирует значительные изменения (уменьшение в 10 раз) нулевых значений КСВП, характеризующих максимальную декорреляцию состояний поляризации в близко расположенных точках ПП СМЖ, за счет чего гистограммы распределения случайных значений КСВП очень быстро меняются в смысле трансформации величины асимметрии и эксцесса (рис. 2 и 3, правые части) за первые 6 часов после наступления смерти (таблица 1).

Анализ временной динамики трансформации статистической структуры КР значений КСВП микроскопических изображений мелкомасштабной составляющей поликристаллических сетей пленок СЖ выявил, что наиболее отчетливо и динамично такие изменения проявляются в вариациях значений статистических моментов высшего порядка, в частности на промежутке 3 часа после наступления смерти величина асимметрии гистограмм распределения КСВП увеличивается в 1,9 раза; эксцесс такого распределения увеличивается в 1,88 раза.

Нами разработан аналитический алгоритм определения давности наступления смерти. Из анализа модельной схемы, приведенной на рис. 4, можно получить следующие соотношения для определения ДНС:

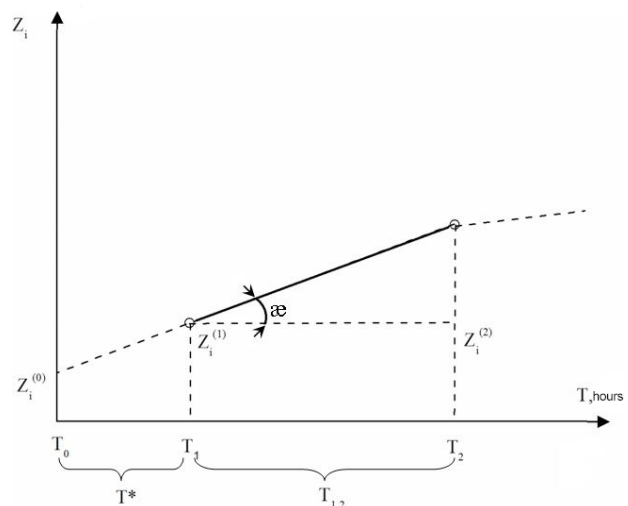


Рис. 4. Анализ алгоритма аналитического определения ДНС

$T_1$  - время начала измерений показателя  $Z_i^{(1)}$ ;  $T_2$  - время завершения измерений показателя  $Z_i^{(2)}$  на этапе “стабилизации” изменения его величины ( $Z_i^{(2)}(T) \approx const$ );  $T_0$  - время наступления смерти;  $\xi$  - угол наклона информационной зависимости  $Z_i(T)$ .

$$tg \xi = \frac{Z_i^{(2)} - Z_i^{(1)}}{T_2 - T_1} = \frac{\Delta Z_i^{(1,2)}}{\Delta T_{12}} \quad (8)$$

Используя соотношение (8), возможно получить выражение для определения ДНС

$$T^* = Z_i^{(0)} \frac{\Delta T_{12}}{\Delta Z_i^{(1,2)}} \quad (9)$$

где  $Z_i^{(0)}$  - значение объективного параметра, определенное путем прижизненного забора ликвора у донора (таблица 2).

Таблица 1. Временные зависимости величины статистических моментов III-IV порядков, характеризующих распределения значений КСВП микроскопического изображения мелкомасштабной составляющей ПП СМЖ трупа человека

T, ч	1	2	4	6	8	10
Z <sub>3</sub>	1,09±0,085	1,26±0,105	1,43±0,11	1,6±0,12	1,77±0,14	1,94±0,16
p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Z <sub>4</sub>	1,06±0,086	1,23±0,1	1,4±0,11	1,57±0,12	1,7±0,14	1,91±0,16
p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Таблица 2. Статистические моменты III и IV порядков, которые характеризуют карты КСВП микроскопических изображений, прижизненно полученных ПП СМЖ

Z <sub>i</sub> <sup>0</sup>	W*	W**
Z <sub>3</sub> <sup>0</sup>	0,79±0,064	0,31±0,023
p	<0,001	<0,001
Z <sub>4</sub> <sup>0</sup>	0,64±0,053	1,43±0,12
p	<0,001	<0,001

W\* - значение КСВП в плоскости высокочастотной (мелкомасштабной) составляющей цифровых микроскопических изображений поликристаллических пленок СМЖ; W\*\* - значение КСВП в плоскости низкочастотной (крупномасштабной) составляющей цифровых микроскопических изображений поликристаллических пленок СМЖ

**Выводы.** 1. Методику двухмерного стохастического картографирования распределений комплексной степени взаимной поляризации с пространственно-частотной фильтрацией микроскопических изображений пленок спинномозговой жидкости во временном мониторинге посмертных изменений оптических проявлений поликристаллических сетей с целью определения давности наступления смерти можно считать успешно апробированной. 2. Исследована динамика посмертных изменений величины статистических моментов I и IV порядков, характеризующих распределения значений комплексной степени взаимной поляризации мелкомасштабных составляющих микроскопических изображений поликристаллических пленок. 3. Выявлены наиболее чувствительные к посмертным изменениям оптические проявления поликристаллических сетей спинномозговой жидкости - статистические моменты III и IV порядков, характеризующих асимметрию и эксцесс (остроту пика) распределений значений комплексной степени взаимной поляризации мелкомасштабных составляющих микроскопических изображений поликристаллических пленок спинномозговой жидкости. 4. Установлен интервал T=10 ч и точность определения ДНС ΔT=±12,5 мин методом двухмерного картографирования распределений значений комплексной степени взаимной поляризации мелкомасштабной составляющей микроскопических изображений пленок спинномозговой жидкости.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бачинський В, Мішалов В, Ванчуляк О, Гараздук М, Андрійчук А, Саркісова Ю. Сучасні діагностичні можливості судової медицини у вирішенні питання встановлення давності настання смерті. Клінічна та експериментальна патологія. 2015(14, № 2):12-5.  
2. Эделев НС, Обухова ЛМ, Эделев ИС, Катиркина АА. Анализ веществ низкой и средней молекулярной массы для

дифференциальной диагностики смерти в результате острого мелкоочагового инфаркта миокарда и других форм патологии сердца. Судебно-медицинская экспертиза. 2017;60(2): 7-10.  
3. Campell ZK, Kwon I, Finley SJ, Lee Y, Javan GT, Talin. A potential protein biomarker in postmortem investigations. J Forensic Leg Med. 2016 Nov;44:188-91.  
4. Moghtaderi A, Alavi-Naini R, Sanatinia S. Lumbar puncture: techniques, complications and CSF analyses [Internet]. [cited 2017 Dec 22]. Available from: <http://cdn.intechopen.com/pdfs>  
5. Morikawa K, Hyodoh H, Matoba K, Mizuo K, Okazaki S, Watanabe S. Time-related change evaluation of the cerebrospinal fluid using postmortem CT. Leg Med (Tokyo). 2016;22:30-5.  
6. Pittner S, Ehrenfellner B, Zissler A, Racher V, Trutschnig W, Bathke AC, et al. First application of a protein-based approach for time since death estimation. Int J Legal Med. 2017 Mar;131(2):479-83.  
7. Ushenko, VO., Olar, OV., Ushenko, YO., Gorsky, MP., & Soltys, IV. (2015, November). Polarization correlometry of polycrystalline films of human liquids in problems of forensic medicine. In 12th International Conference on Correlation Optics (pp. 98091B-98091B). International Society for Optics and Photonics.  
8. Ushenko AG, Pashkovskaya NV, Dubolazov OV, Ushenko YuA, Marchuk YuF, Ushenko VA. Mueller matrix images of polycrystalline films of human biological fluids. Rom Rep Phys. 2015;67(4):1467-79.  
9. Ushenko YA, Bachynsky VT, Vanchulyak OY, Dubolazov AV, Garazdyuk MS, Ushenko VA. Jones-matrix mapping of complex degree of mutual anisotropy of birefringent protein networks during the differentiation of myocardium necrotic changes. Appl Opt. 2016 Apr 20;55(12):B113-9.  
10. Ushenko YA, Trifonyuk LY, Dubolazov AV, Karachevtsev AO. Fourier-domain Jones-matrix mapping of a complex degree of mutual anisotropy in differentiation of biological tissues' pathological states. Appl Opt. 2014 Apr 1;53(10):B205-14. doi: 10.1364/AO.53.00B205.PMID: 24787205.

## SUMMARY

### TIME SINCE DEATH ESTIMATION BY USING THE METHOD OF POLYCRYSTALLINE CEREBROSPINAL FLUID FILMS IMAGES MUTUAL POLARIZATION DEGREE LEVELS DISTRIBUTIONS TWO-DIMENSIONAL MAPPING WITH FINE-SCALE SPATIAL FREQUENCY FILTRATION

Garazdiuk M., Bachinskyi V., Vanchuliak O., Garazdiuk O., Nechytailo O.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine

Objective - to develop a method of two-dimensional Stokes-polarimetric spatial-frequency mapping of small-scale components of cerebrospinal fluid to improve the accuracy of post-mortem interval estimation.

The object of the study was polycrystalline cerebrospinal fluid films taken from 69 corpses (the main study group) and 20 healthy volunteers (comparison group). For each sample, the coordinate distribution of the values of the complex degree of mutual polarization was determined in the optical arrangement of the Stokes polarimeter. The value of the statistical moments of 1 - 4 orders with further statistical processing was calculated. Time dependences of the variation of the value of the most sensitive statistical moments were built to achieve values stabilization.

The interval and the accuracy of the post-mortem interval were estimated by generalizing of the time dependences of the third and fourth order statistical moments of the polarization maps obtained by the two-dimensional mapping of the values distributions of the complex degree of mutual polarization of the small-scale component of polycrystalline networks of cerebrospinal fluid films.

An interval of 10 h and the accuracy of post-mortem interval estimation  $\Delta T = \pm 12.5$  min was established.

**Keywords:** post-mortem interval, cerebrospinal fluid, laser polarimetry.

## РЕЗЮМЕ

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДАВНОСТИ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ДВУХМЕРНОГО КАРТОГРАФИРОВАНИЯ РАСПРЕДЕЛЕНИЙ СТЕПЕНИ ВЗАИМНОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ ИЗОБРАЖЕНИЙ ПОЛИКРИСТАЛЛИЧЕСКИХ ПЛЕНОК СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ С МЕЛКОМАСШТАБНОЙ ПРОСТРАНСТВЕННО-ЧАСТОТНОЙ ФИЛЬТРАЦИЕЙ

Гараздюк М.С., Бачинский В.Т., Ванчуляк О.Я., Гараздюк А.И., Нечитайло Е.Ю.

Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет», Черновцы, Украина

Цель исследования - разработка метода двухмерного стокс-поляриметрического пространственно-частотного картографирования мелкомасштабных составляющих спинномозговой жидкости для повышения точности определения давности наступления смерти.

Объект исследования - поликристаллические пленки спинномозговой жидкости от 69 трупов (основная группа) и

20 здоровых добровольцев (группа сравнения). Для каждого образца в оптическом расположении стокс-поляриметра определялись координатные распределения значений комплексной степени взаимной поляризации. Проводилось вычисление величины статистических моментов I-IV порядков с дальнейшей статистической обработкой. Строились временные зависимости изменения величины наиболее чувствительных статистических моментов до достижения стабилизации значений.

Путем обобщения временных зависимостей статистических моментов III и IV порядков поляризационных карт, полученных методом двухмерного картографирования распределений значений комплексной степени взаимной поляризации мелко-масштабной составляющей поликристаллических сетей пленок спинномозговой жидкости, определены интервалы и точность установления давности наступления смерти.

Установлен интервал  $T=10$  ч и точность определения ДНС  $\Delta T=\pm 12,5$  мин.

## რეზიუმე

სიკვდილის დადგომის ვადის განსაზღვრა თავზურგტვინის სითხის პოლიკრისტალური აპკების გამო-სახელებათა ურთიერთპოლარიზაციის განაწილების ორგანოზომილებიანი კარტოგრაფირების და წვრილ-მასშტაბური სივრცით-სისშირული ფილტრაციის მეთოდის გამოყენებით

მ. გარაზდიუკი, ვ. ბაჩინსკი, ო. ვანჩულიაკი, ა. გორაზდიუკი, ე. ნეჩიტაილო

ბუკოვინის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ჩერნოვიცი, უკრაინა

კვლევის მიზანს შეადგენდა თავზურგტვინის სითხის წვრილმასშტაბური შემადგენელი ელემენტების ორგანოზომილებიანი სტოკს-პოლარიმეტრიული სივრცით-სისშირული კარტოგრაფირების მეთოდის შემუშავება სიკვდილის დადგომის ვადის (სდვ) განსაზღვრის სიზუსტის გაზრდისთვის.

კვლევის ობიექტს შეადგენდა თავზურგტვინის სითხის პოლიკრისტალური აპკები 69 გვამიდან (ძირითადი ჯგუფი) და 20 მოხალისის ორგანოზომიდან (შედარების ჯგუფი). თითოეული ნიმუშისათვის სტოკს-პოლარიმეტრის ოპტიკურ მდგომარეობაში განისაზღვრებოდა ურთიერთპოლარიზაციის კომპლექსური ხარისხის მნიშვნელობათა კოორდინატული განაწილებები. სდვ-ბოლა I-IV რიგის სტატისტიკური მომენტების სიდიდეების გამოთვლა შემდგომი სტატისტიკური დამუშავებით და ყველაზე მგრძობიარე სტატისტიკური მომენტების სიდიდეების ცვლილების დროითი მრუდების აგება მნიშვნელობათა სტაბილიზაციის მიღწევამდე.

თავზურგტვინის სითხის პოლიკრისტალური ქსელების წვრილმასშტაბური შემადგენელი ელემენტების კარტოგრაფირების მეთოდით განსაზღვრული ურთიერთპოლარიზაციის კომპლექსური ხარისხის მნიშვნელობათა განაწილებით მიღებული პოლარიზაციული რუკების III და IV სტატისტიკური მომენტების დროითი დამოკიდებულებების განხილვების მეთოდის საფუძველზე განსაზღვრულია სდვ-ის ინტერვალები და სიზუსტე. დადგენილია სდვ-ის ინტერვალი  $T=10$  სთ და განსაზღვრის სიზუსტე  $\Delta T=\pm 12,5$  წთ.

## CLINICAL ETHICS COMMITTEES: OVERVIEW OF THE EUROPEAN EXPERIENCE

Pitskhelauri N.

*I. Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia*

Decision-making in health care is an extremely complex phenomenon. Medical professionals face ethical dilemmas and difficult multifaceted ethical issues in their daily practice [14,20,29,38]. Making appropriate medical decisions in the best interest of the patient and in a line with the patient's autonomy, rights, dignity and plurality of values, are very important. In order to reach those goals and develop patient-oriented health service, Clinical Ethics Committees support could make a great contribution. Among other innovations, Clinical Ethics Committees (CECs) have been established in order «to assist health care providers and patients to find their way out of the maze created by modern, technological medicine» [34]. Most Western European countries are experiencing an exponential rise in the number of CECs as a mechanism to address the new ethical dilemmas in clinical settings. The development and practice of different types of ethics committees has been studied quite thoroughly in the United States and in the Western European Countries [1,6,10,11,15,20,22,27,31,32,37]. Despite the previous studies of CECs development in different countries many questions still remain. For example: what are the common groundwork trends and facilitators in the European countries with CECs long and successful experience that could be considered during the construction of appropriate strategies in transitional countries? The main aim of the paper is to explore the experience of European countries regarding the development of CECs.

**Material and methods.** Literature review of published relevant papers (articles, legislative documents, conference proceedings, etc.) was carried out. Related publications have been searched through PubMed, MedLine, Hinari, Google Scholar. The list of key terms, which describes Clinical Ethics Committees practice («Ethics Committee», «Clinical Ethics Consultation», «Hospitals Ethics Committees», «Institutional Ethics Committees», «Bioethics Committees») was used. Conventional content analysis was used in order to screen publications against exclusion criteria and to identify papers relevant to our research question.

**Results and their discussion.** In the Netherlands CECs are structurally integrated in health care organizations through CECs, ethics consultation, and MCD. Hospital Ethics committees have been in existence since the beginning of the 1970s [31]. In 1984 Dutch Government added the Institutional Review boards to the list of Federal requirement [19]. Initially most of Committees were «combined ethics committee» with dual mission evaluation research protocol that involved human subjects and addressed ethical issues raised in clinical practice. The first impetus for the development of CECs was ethical issues arising in daily practice, among them: decisions on forgo life-sustaining treatment, protective measure for patients, patients' autonomy, organ transplantation etc. [19]. These ethical issues needed a platform for debate and resolution. Health care institutions began to address existing IRB with care related problem and the range of IRB activities has been expanding. IECs have been established in various health care institutions. Since the 1990s large Hospitals and University hospitals have IEC, middle-size hospitals have established mixed committees with multiple responsibilities, combining «enhancing the moral quality of the service» and research review [19]. In following years independent HEC have been established. CECs responsibilities included the development of guidelines about moral questions in healthcare organizations (e.g. the hospital, the nursing home etc.), educative programs for members, healthcare providers, patients and public,

and moral deliberation on the ward [31]. In 1998 the Centre for Ethical and Philosophical Aspects of Care (CELAZ) suggested transforming HECs into steering groups to improve integration of moral deliberation into the management, quality assurance programmes, and healthcare delivery on the ward. In 1999, the Dutch Association of Bioethicists (NVB) recommended to improve the connection of HECs to daily practice by maintaining the concept of ethics committees [3]. In 2004, a «platform on moral deliberation» was set up by the Ministry of Health. In 2007, working group of the Ministry of Health was discussing implementation of healthcare ethics committees. According the Meijburg the main lessons which should be learnt from the growing development of CECs in the Netherlands are: institutional attitude towards the care, professional interests, patients demands and development within society [19], and also a Dutch «polder model» of consensus for decision-making process, which is characterized by «cooperation despite the differences» and «pragmatic recognition of pluriformity.» [19]. Nowadays, in the Netherlands CECs are the feature of Hospitals as well as Nursing Homes. CECs in the Netherlands are almost self-regulated.

In Belgium in 1984 the National Board of physicians initiated creation of regulatory structural ethics committee with multidisciplinary structure. A guideline about the functioning of ethics committees for evaluation of research protocol that involved human subjects was published. In 1992 a second guideline about the functioning of ethics committees by the Physicians' National Council was published. In this guideline the role of ethics committees was significantly extended and included systematic reflection on the ethical aspects of healthcare practice. Ethics committees had to combine the tasks of both the REC and HEC [31]. In 1994 the Royal Decree (12 August) was released, which obliged all general and psychiatric hospitals to establish a so-called «local ethics committee», and according to the law the existing ethics committees should perform ethics [12]. Among the most important ethical issues were: end of life care, organ transplantation, fertility treatment, confidentiality etc. CECs founded «in order to promote the ethics discussion at all level of health care» and «genuine pluralism of debates in medical ethics» both in terms of scientific research and hospital care. The stimulus has been created for establishing CECs at local and not regional level, in order to avoid centralizing consideration of ethics» [4]. Nowadays, CECs are already regulated on a national level. Every hospital has an ethics committee performing a dual mission: evaluation of protocols and addressing the ethical issues arising from clinical activities. In CECs with «mixed» functions Clinical ethics have drastically receded. According to the annual activity reports of the CECs (1998–2001), committees spend most of their time on revision process of protocols, and they spend only 7–10% of their time to perform the tasks of a healthcare ethics committee. Belgian CECs are suffering from a lack of focus on the Clinical ethics activities [17]. According to Carbonnelle there is no legal requirement in terms of training committee's members. By the initiative of some university hospitals and large hospital groups RECs and CECs have been divided and CECs were established as separate structures.

In Germany in 1997 the first recommendation about implementation of CECs (Klinisches Ethik-Komitee) was published in the joint statement of Christian Hospital Association German organization of Roman Catholic and Protestant hospitals [24,30]. According to it a committee should serve as a place for discussion about the

ethical conflicts and provide the best solution to the issue. The focus of committees was on ethical problems taking place in daily practice, related to the development of modern medicine. The development of CECs was supported by the Academy for Ethics in Medicine. The main aim of the Academy for Ethics in Medicine was to promote discourse on ethical issues in Medicine. According to the survey conducted in 2000, 30 hospitals among 795 members of the Christian Churches' Association declared having an ethics committee or a comparable structure (1720). Development of CECs in Germany was significantly influenced by requirements of Accreditation Organizations of Health Care [25]. In 1999 collaboration between the federal medical chamber, insurers and Health Care managers led to the establishment of accreditation programme for Hospitals settings [37]. According to the standards hospitals should have policies and procedures to cope with ethical issues. Since that time the number of CECs has significantly grown and in 2003 there were 77 CECs in German hospitals. The Survey conducted in 2002 revealed the most relevant ethical issues in daily clinical practice in German hospitals, among them: limitation of treatment, conflict between beneficence and autonomy and informed consent [23,33]. In 2006 the Central Ethics Commission of German Medical Association (ZEKO) has recommended to establish CECs at hospitals. Commission published a call in order to promote implementation of CECs, but ZEKO has provided neither clear guidance and standards nor the most effective procedures and models for the implementation. The number of committees was rapidly growing, but there was diversity in their structure and practices. According to the nationwide survey in 2005, 149 CECs did already exist, 86 other forms of ethics consultations, and 77 hospitals were in the implementation stage of ethics consultation service, which covered about 14% of all German hospitals [7,13]. Nowadays, leading institutions in terms of developing programs in Clinical Ethics are Universities' Hospitals.

In Italy CECs have been established «spontaneously» as a «specialty» committees [17,36]. Some Italian regions decided to create a regional EC with advisory functions by law, and in one case, local CEC [8]. According to the Regional Law and CECs statutes CEC have following functions: to help health professionals in medical decision making regarding ethical dilemmas or conflicts, to develop ethics guidelines focusing on organizational ethics and to promote public discussion on bioethical issues on society level and to provide CPD/CME for Committee's members [10]. One of the first CECs was established in Padua in 1996, by the support of General Hospital Board and Catholic Center of Studies in Bioethics. In 2004, in Veneto Region a law defined to have a separate CEC. The composition and functions of CEC was defined by the law. In Italy we can notice that there is a diversity from the point of view of structure and composition of CECs across the clinical settings. For example, in Hospital of Padua committees consists of 17 members, and among them seven members are external. Members represent different professions, with philosopher, lawyer, sociologist, psychologist, chaplain, patient organization representative among them. In most parts of Italy there are mixed committees, which combine the following functions: review research protocols and CECs functions. The experience of Veneto Region, and especially Padua Hospital have very positive outcomes with regard to the CECs practice: «preventing legal action, promoting dialogue among and between clinicians and patients, and increasing bioethical debate in the clinical setting» [10]. According to the Deliberation n. 4049/2004 in Veneto region clear distinction between RECs (Research Ethics Committees) and CECs was made.

In Norway the first CEC was established in 1996. In 2007 all

hospital trusts had one CE [9]. The Ministry of Health and Care Services of Norway recommended establishing a CEC in every major hospital. This recommendation was initiated by the study based on a triple experience with CECs conducted in 1993-1998 [26]. Pioneer hospitals where first CECs started to practice were: Gjøvik, Ullevål and Rikshospitalet. The major impetus for the creation of CECs was coming from health professionals (both clinicians and managers), bottom up initiatives, also from the Medical Association and government. All Committees in Norway are interdisciplinary. The manual about CECs' work mentions that the CECs practice «will contribute to raising ethical consciousness and to ensuring the quality of difficult value judgments in Norwegian health trusts, in the best way possible for health care workers, patients and relatives» (Institute of Health and Society, 2008). The main functions of the CECs are: to give advice and to consult health professionals regarding the ethical issues and organizational values questions [22], dilemmas relating to patients and their family members and to elaborate guidelines. In 2004 CECs work was evaluated and according to health professionals they found CECs as useful tools and «worthwhile doing» [9]. In 2008 survey was conducted by section for medical ethics and the results revealed once again the importance of CECs. According to another qualitative study there is «substantial need for clinical ethics support services», but at the same time it explored significant barriers in CECs practice [6]. The Center for medical ethics (University of Oslo) (SME) is responsible for coordination of CECs at national level. SME receives an annual amount of US\$335,000 from the Ministry of Health and Care Services for running their activities, including supporting core competence building for committee members through CPD/CME. At the same time all Norwegian hospitals are publicly funded through taxes. Inpatient treatment in Norway is free of charge [6]. In 2011 the National Mandate for CECs has passed and the Ministry of Health and Care Services has signaled that the CECs must promote and encourage quality and equal treatment for the patients and follow main ethical principles. In 2015 the results of new qualitative study were published. Nine categories of novel CEC activities were identified, which promote ethical reflection among clinicians. SME elaborated the manual, which gives practical advice to already established CECs and advocates for creation of new CECs in the best possible way.

In the UK the first description of CECs appeared in the 1990s (Network-UKCEN). CECs development was initiated in Leeds, Northwick Park, Great Ormond Street and the Oxford Radcliffe NHS Trust. Health professionals faced difficult ethical dilemmas related to new opportunities in medicine (life-support mechanisms, the mapping of the human genome, techniques for assisted reproduction and treatment genetic disorders) and societal development (development of innovative but expensive treatment, an ageing population, increase in number of chronic diseases, difficult choices in allocation of limited resources and the questions of priority setting). These aspects provided initial impetus for the development of CECs [16,26-28]. Public awareness regarding the ethical issues raised and reporting of Court cases through media (case of Re Wyatt) was intensively discussed [27]. Health professionals and National Health Services stressed out the great demand for public accountability in order to meet high ethical standards of patient's care. Within the NHS trust different models of clinical ethics support have been developed using both new and existing structures. Some NHS trusts have established CECs. CECs became more common phenomenon primarily in England and Wales [18].

In 1994 The independent King's Fund considered the need for existence of «essential practice» for resolving ethical dilemmas and in its «Organizational Audit programme» described the mechanism for this kind of practice as a «forum» [28]. In 1999 in order to sup-



port health professionals two guidelines were elaborated and published by two national health professional organizations.

Before 2000 there was very little information available about CECs. According to the survey, which was conducted in 2000, only 20 (4%) of National Health Service Trust (NHS) Hospitals had a formal method of addressing ethical issues arising from clinical practice within the hospital.

The development of CECs has been fostered by establishment of UK Clinical Ethics Network (UKCEN) in 2001. Since that time the growing number of CECs has been described. According to the survey, which was conducted by UKCEN, 60 of the 315 acute NHS had CECs, 68 and 89 in 2004 and 2010 [27], respectively. UKCEN is an independent organization and has no regulatory authority. However, it encourages the ethical debates among health professionals and sharing best practice between CECs [28]. UKCEN provides a guideline for already established committees as well as practical information in order to promote process of setting up new committees.

Health Care Commission Standards require «that organizations have systems in place so that patients and their relatives are treated with dignity and respect», but they don't define the mechanism (Department of Health, 2004) [31]. In 2005 Royal College of Physicians published the recommendations supportive of the future development of CECs. The RCP recommendations state that: «Health care institutions should review their existing arrangements for providing advice and education, and implementing guidelines on the recognition and handling of ethical uncertainties and dilemmas in clinical practice» (Royal College of Physicians of). In the UK there is no regulatory framework for CECs.

Despite the differences across the countries we have found many similarities in groundwork trends of CECs development in studied countries, which have the most important impetus in the implementation and development of CECs. They can be categorized in six groups in accordance to the following levels: societal level, governmental level, professional association level, health care and medical science level, health care institutions level and medical professional level. The most important and common ones are: enforcement of human rights doctrine, pluralistic civil movement, progressive development of medical science and new technologies, transfer of human rights movement in health care, development of bioethics, CECs educational capacity building, arising of complex moral, legal and ethical dilemmas in physicians' daily clinical practice, shifting medical care paradigm from the physician's single obligation to the shared responsibilities with respect of patient's rights, autonomy and dignity.

The basis for the creation of ethical committees in some transitional countries and in Georgia as well is determined by the national legislation. In Croatia in the 1990s, ethics committees became required by law, with articles 51 and 52 of the 1997 Law on Health Protection devoted to setting the framework for their duties [2]. In Lithuania the establishment of CECs is based on two legal documents. First, the Health Care System Law of the Republic of Lithuania, passed by the Parliament in the early 90s, which requires the establishment of CECs in the largest health care institutions. The «Model Guidelines for Medical Ethics Commissions», issued by the Ministry of Health in 1997, defines the mission, functions, establishment and composition of CECs [35]. In Georgia the first legislative act where the definition of a «medical ethics committee» can be found is the law on Health Care of 1997. The global goals of a medical ethics committee are defined as «protection of patients' rights and the norms of medical ethics» (The law on Health Care, 1997). In 2000 the Minister of Labour, Health and Social Affairs confirmed a charter for the regulation of medical ethics committees (Order of the Minister of Labour, Health Care and Social Protection no. 128/n 2.10.2000). The charter includes criteria for the creation

of the medical ethics committees, their membership and composition, the functions of the medical ethics committee etc. Despite the considerable legal developments related to the establishment and development of clinical ethics committees in above mentioned transitional countries, there are shortcomings in functioning of the CECs [5].

**Conclusion.** Past and latest history of CECs has shown that there are considerable differences in approaches of foundation, in regulation, structure, membership, educational background of members and type of functioning, frequency of cases, etc. Although, we can notice that there are many similarities in groundwork trends and driving forces for CECs foundation, which can be categorized at different levels across the countries. Exploring those trends will lead to the opportunity to identify the most important factors that impact on the strengthening of the CECs practice in transitional countries.

The Publication has been made possible by financial support from the Shota Rustaveli National Science Foundation (SRNSF) grant number: №YS-2016-72 (12.12.2016), Project: Ethics Consultation Practice in Hospitals: Survey of Clinical Ethics Committees' Experience.

## REFERENCES

1. Aulisio MP. Advance directives and the physician-patient relationship: a surprising metamorphosis? In: Lack P, Biller-Andorno N, Brauer S, eds. *Advance Directives*. Dordrecht, The Netherlands: Springer Netherlands, 2014; 127-132.
2. Borovečki, Ana, Orešković, Stjepan, & Ten Have, Henk. Ethics and the structures of health care in the European countries in transition: hospital ethics committees in Croatia. *BMJ*, 2005; 331(7510), 227-229.
3. Brom F.W.A. Verweij M.F. Huibers A. *Ethiek in Commissie*. Groningen: Nederlandse Vereniging voor Bioethiek. 1999.
4. Carbonnelle S. Belgian hospital ethics committees: from law to practice. *Biomedical and Health Research-Commission of the European Communities*, T. IOS Press: 2002; 51: 19-34.
5. Chikhladze N, Pitskhelauri N. Demands and Needs in Clinical Ethics Consultation in Georgia. In: Schildmann J, Gordon J, Vollmann J (eds). *Clinical Ethics Consultation: theories and methods, implementation, evaluation*. Ashgate Publishers: 2010; 131-137.
6. Courtwright A. Jurchak M.. The evolution of American Ethics Committees: Systematic Review. *Journal Clinical Ethics* 2016; 27(4):322-340.
7. Dörries A. Simon A. Neitzke G. & Vollmann J. Implementing clinical ethics in German hospitals: content, didactics and evaluation of a nationwide postgraduate training programme. *Journal of Medical Ethics* 2010; 36(12): 721-726.
8. Durante V. *Presentation*. Padova: Italy; 2016.
9. Forde R. et all. Clinicians' evaluation of clinical ethics consultations in Norway: a qualitative study. *Medicine, Health Care and Philosophy* 2008; 11(1): 17-25.
10. Fournier V. Forde R. Neitzke G. Pegoraro R. & Newson A. Clinical ethics consultation in Europe: a comparative and ethical review of the role of patients. *Clinical Ethics* 2009; 4(3):131-138.
11. Gasparetto A. et all. The Notion of Neutrality in Clinical Ethics Consultation. *J. Philosophy, Ethics, and Humanities in Medicine* 2018; 13:3.
12. Gastmans C. Towards an integrated clinical ethics approach. caring, clinical and organizational. In the Book: *Healthy Thoughts: European Perspective in HealthCare Ethics*. 2002.
13. Gefenas E. Clinical Ethics Committees and Ethics Support Infrastructure: A European Perspective. *Asian Bioethics Review* 2011; 3(3): 293-298.

14. Grigorova A, Aleksandrova-Yankulovska S. Institutional benefits of clinical ethics consultation. *European Journal of Public Health* 2017; 27, Issue suppl\_3.
15. Hem MH, Pedersen R, Norvoll R, Molewijk B. Evaluating clinical ethics support in mental health care. A systematic literature review. *Nursing Ethics*. 2015; 22(4):452–66.
16. Larcher V. The development and function of CECs in the UK. *Diametros* 2009 ; (22), 47-63.
17. Lebeer G. Clinical Ethics Committees in Europe: assistance in medical decisions, fora for democratic debates, or bodies to monitor basic rights. 2007.
18. McLean S. What and who are CECs for? *Journal of Medical Ethics* 2007; 33(9): 497-500.
19. Meijburg HH.&Ter Meulen RHJ. Developing standards for institutional ethics committees: lessons from the Netherlands. *Journal of Medical Ethics* 2001; 27(suppl 1):i36-i40.
20. Molewijk B. at all. Fostering the Ethics of Ethics Consultants in Health Care: An Ongoing Participatory Approach. *Am J Bioeth*. 2015; 15(5):60–2.
21. Molewijka B, Slowther A., Schildmann J. The European Clinical Ethics Network (ECEN): the professional development of clinical ethics support in Europe and the importance of quality assessment through evaluation research. *J. Bioethica Forum* 2016; 9(2):86-89.
22. Pedersen R, Akre V.&Førde R. Barriers and challenges in clinical ethics consultations: the experiences of nine clinical ethics committees. *Bioethics* 2009; 23(8):460-469.
23. Reiter-Theil S. The Freiburg approach to ethics consultation: process, outcome and competencies. *Journal Medical Ethics* 2001; 27 Suppl 1: 21-23.
24. Schildmann J, Vollmann J. Evaluation of clinical ethics consultation: A systematic review and critical appraisal of research methods and outcome criteria. In: Schildmann J, Gordon J, Vollmann J (eds). *Clinical Ethics Consultation: theories and methods, implementation, evaluation*. Ashgate Publishers: 2010; 203–215.
25. Simon A. Quality standards for clinical ethics consultation. *Diametros* 2009; 22: 105-115.
26. Slowther A. Focusing clinicians on ethics. *Clinical Ethics* 2009; 4(4): 163-164.
27. Slowther AM, McClimans L., Price C. Development of clinical ethics services in the UK: a national survey. *Journal of Medical Ethics* 2012; 38(4):210.
28. Slowther A., Johnston C., Goodall J., Hope T. Development of clinical ethics committees. *BMJ*, 2004; 28(7445):950-952.
29. Slowther A, Aulisio M. Clinical ethics support. In: Ten Have H (ed.). *Encyclopedia of Global Bioethics*. Dordrecht: Springer Science and Business Media. Living Reference Work Entry, *Encyclopedia of Global Bioethics* 2016; 1–8.
30. Steinkamp N.&Gordijn B. HECs in Germany: Clinical ethics consultation in development. Paper presented at the HEC Forum. 2001.
31. Steinkamp N. et all. Regulation of healthcare ethics committees in Europe. *Medicine, Health Care and Philosophy* 2007; 10(4):461-475.
32. Stolper M, Molewijk B, Widdershoven G. Learning by doing. Training health care professionals to become facilitators of moral case deliberation. *HEC Forum* 2018; 27(1):47–59.
33. Thela W. CECs in German Hospitals A practical guide for clinical ethics support. 2011.
34. UNESCO. Establishing Bioethics Committee. 2008.
35. Vasiljeviene, N. *Etikos infrastruktūros diegimas sveikatos priežiūros organizacijose* [Implementation of ethics infrastructure in health care organizations]. Vilnius: Vilnius University, 2004
36. Viafora C, Gobber D.&Drigo P. Of the Bioethics Committee

- of the Department of Paediatrics, University of Padua. *Ethical Function in Hospital Ethics Committees* 2002; 51:67.
37. WHO. Quality and accreditation in Health care services-A Global Review. Geneva: 2003.
38. WMA. *Medical Ethics Manual*. 2015; 3<sup>rd</sup> edition, 7-12.

## SUMMARY

### CLINICAL ETHICS COMMITTEES: OVERVIEW OF THE EUROPEAN EXPERIENCE

Pitskhelauri N.

*I. Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia*

Making appropriate medical decisions in the best interest of the patient and in a line with the patient's autonomy, rights, dignity and plurality of values, are very important. In order to reach those goals and develop patient-oriented health service, Clinical Ethics Committees (CECs) support could make a great contribution. European countries (Netherlands, Belgium, Italy, Germany, Norway, UK) are experiencing an exponential rise in the number of CECs as a mechanism to address the new ethical dilemmas in clinical settings, however the practice of CECs are facing barriers in transitional countries in central, eastern, and southeastern Europe. Despite the differences across the European countries we have found many similarities in groundwork trends of CECs development in studied countries, which have the most important impetus on the implementation and development of CECs. The most important and common ones are: enforcement of human rights doctrine, pluralistic civil movement, progressive development of medical science and new technologies, transfer of human rights movement in health care, development of bioethics, CECs educational capacity building, arising of complex moral, legal and ethical dilemmas in physicians' daily clinical practice, shifting medical care paradigm from the physician's single obligation to the shared responsibilities with respect of patient's rights, autonomy and dignity. Exploring those trends will lead to the opportunity to identify the most important factors that impact on the strengthening of the CECs practice in transitional countries as well.

**Keywords:** clinical ethics committee, patients' rights, clinical ethics consultations.

## РЕЗЮМЕ

### КЛИНИЧЕСКИЕ КОМИТЕТЫ ПО ЭТИКЕ: ОБЗОР ЕВРОПЕЙСКОГО ОПЫТА

Пицхелаури Н.В.

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

Принятие решения с учетом автономии, достоинств и ценностей пациента представляет ключевой компонент обеспечения высокого качества медицинского обслуживания. В этом процессе значимую роль играют клинические этические комитеты. В Европейских странах отмечается развитие этических комитетов в госпитальных учреждениях. Несмотря на разнообразие этических комитетов в разных странах, следует выделить некоторые факторы, которые особенно повлияли на их развитие: усиление доктрины прав человека, трансфер этих прав в систему здравоохранения, развитие медицинской науки,

новых технологий, биоэтики и возникновение в клинической практике новых этических дилемм, гражданское плюралистическое движение, изменение парадигмы медицинского обслу-

живания. Изучение данных факторов позволит определить пути развития этических комитетов в госпитальных учреждениях стран с переходной экономикой.

რეზიუმე

კლინიკური ეთიკის კომიტეტები: ევროპული გამოცდილების მიმოხილვა

ბ. ფიცხელაური

ო. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო

გადაწყვეტილების მიღება პაციენტის ავტონომიის, ღირსებისა და ღირებულებების დაცვით სამედიცინო მომსახურების მაღალი ხარისხის უზრუნველყოფის ერთ-ერთ საკვანძო კომპონენტს წარმოადგენს. ამ პროცესში მნიშვნელოვანი როლის შესრულება შეუძლია კლინიკური ეთიკის კომიტეტს (კეკ). აღნიშნული სტრუქტურული ერთეულების ჩამოყალიბება აქტიურად მიმდინარეობს ევროპული ქვეყნის კლინიკურ დაწესებულებებში ყოველდღიური ეთიკური დილემების გადასატრიალად, თუმცა გარდამავალ ქვეყნებში მათი განვითარება კვლავ შეფერხებით მიმდინარეობს. მიუხედავად სხვადასხვა ქვეყანაში არსებული განსხვავებებისა, მაინც არის შესაძლებელი გამოიყოს კეკ-ის განვითარების ხელშეწყობი

მნიშვნელოვანი ფაქტორები: ადამიანის უფლებათა დოქტრინის და პლურალისტული სამოქალაქო მოძრაობის გაძლიერება, სამედიცინო მეცნიერებისა და ახალი ტექნოლოგიების განვითარება, ადამიანის უფლებების დოქტრინის გაძლიერება და მათი შეტანა ჯანდაცვის სისტემაში, ბიოეთიკის განვითარება, ყოველდღიურ პრაქტიკაში ახალი ტიპის ეთიკური დილემების აღმოცენება, სამედიცინო მომსახურების პარადიგმის ცვლილება. ყოველივე ზემოაღნიშნულის შესწავლა საშუალებას იძლევა იდენტიფიცირდეს ის ფაქტორები, რომლებსაც შეუძლია მნიშვნელოვანი გავლენა მოახდინოს გარდამავალ ქვეყნებში კლინიკური ეთიკის კომიტეტების ტრადიციის დამკვიდრებასა და განვითარებაზე.

## СОСТОЯНИЕ МЕЖДУНАРОДНОГО ПРАВОВОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ ПОСМЕРТНОГО ДОНОРСТВА: НА ПУТИ К УНИФИКАЦИИ (ОБЗОР)

Слипченко С.А., Шишка А.Р., Булеца С.Б., Синегубов О.В., Грынько Р.В.

*Харьковский национальный университет внутренних дел; Ужгородский национальный университет, Украина*

Жизнь каждого человека, его здоровье являются главными ценностями любого государства и мирового сообщества в целом. Поэтому, медицина, перед которой стоит непосредственная задача сохранения таких ценностей, выступает флагманом, а государство – гарантом. Вместе с тем, нет необходимости дополнительно объяснять и то обстоятельство, что не менее значимую роль, кроме накопленных знаний и опыта в сфере медицины, играет стабильность правового регулирования отношений. Известно, что право способно как стимулировать, так и сдерживать развитие в том или ином направлении медицинской отрасли и осознанно или неосознанно установить запрет на развитие тех или иных отношений в этой сфере. Поэтому перед мировой юриспруденцией возникает задача выработать определенные стандарты правового регулирования отношений в сфере медицины в целом и донорства и трансплантации – в частности. Это позволило бы не только наработать единый международный правовой массив, но и создать ориентиры при формировании и реформировании внутреннего законодательства тем странам, которые движутся в направлении универсализации единого правового поля.

Одной из этих проблем является унификация правового регулирования посмертного донорства, как определенная часть медицины, чему и посвящена данная статья.

Проблема посмертного донорства является предметом исследований многих ученых, в частности: М. Брюховецкой

[2], Н. Маргацкой [9], Е. Степановой [13], Е. Алсинбаевой [1], К. Сангстером [30], К. Новотна [28], Т. Годаловой [21], Л. Йирмаржов [24], А. Невечержаловой [27], Н. Дивайн [19], Т. Ву [34]. В целом обзор литературы указывает, что эта тема, хотя достаточно и исследована, однако нуждается в комплексном научном поиске. Несмотря на то, что унификации в подходах к регулированию посмертного донорства, перспективам и вектору его дальнейшего развития, обобщениям и уяснению существующего опыта уделяли внимание представители различных отраслей науки еще в прошлом столетии, выработка единых стандартов правового регулирования отношений в сфере посмертного донорства еще далека от завершения.

Целью данного исследования является оценка современного состояния международного правового регулирования посмертного донорства для определения возможности его дальнейшей унификации.

Методологическую основу исследования составили различные методы научного познания. Исторический метод позволил установить тенденции развития правового регулирования посмертного донорства. Благодаря философскому методу удалось определить причины религиозного, культурного, национального, этического восприятия посмертного донорства в целом и его отдельных составляющих. Сравнительно-правовой метод познания позволил выделить особенности национального регулирования отношений,

связанных с посмертным изъятием органов, в некоторых отдельно взятых странах и соотнести их с международным правовым опытом. Статистический метод предоставил возможность установить эффективность применения той или иной правовой конструкции, способность этой конструкции преодолевать «дефицит» органов и справедливо распределять между реципиентами. На основании диалектического метода сделан вывод о возможности выработки единых стандартов правового регулирования отношений в сфере посмертного донорства. В работе использованы и другие методы, в частности: формально-логический, догматический, моделирования, анализа и синтеза.

Как отмечается в юридической литературе проблема посмертного донорства остро ощущается в каждом государстве [2]. Более того, она ощущается даже на международном уровне [34], чему посвящена не одна научная работа. Это связано с тем, что сегодня пересадка кожи, сердца, почек, легких, печени, поджелудочной железы, желудка не у кого не вызывает удивления. Больные, большинство из которых еще недавно могли едва лишь ожидать смерти или мириться со своим беспомощным и болезненным состоянием, получают «вторую жизнь» или «шанс на жизнь». Вместе с тем, одна из основных проблем проведения таких операций – это недостаточное количество донорских органов. Частично устранить существующий «дефицит» может посмертное донорство. Однако, решить эту проблему в отдельно взятой стране не невозможно и очень сложно. И это зависит не только от наличия квалифицированных специалистов и клиник, для этого необходима единая система международных стандартов правового регулирования отношений в сфере посмертного донорства и соответствующее этой системе национальное законодательство. Этот вопрос можно решить посредством установления единой системы международных стандартов правового регулирования таких отношений. В резолюциях WHA40.13 и WHA42.5 Всемирной ассамблеи охраны здоровья указано, что закрепление разными странами неодинаковых правовых подходов, а иногда и противоречивых, усложняет создание единого правового поля, что проявляется не только в том, какие основные аспекты концепта посмертного донорства внедрены в том или ином государстве (альтруистическая и/или компенсаторная идея посмертного донорства; посмертное донорство основано на презумпции согласия или не согласия; смерть человека определяется исходя из концепции церебральной смерти или на основании остановки сердца), но и какие именно нормативные предписания (запреты, ограничения, дозволения, рекомендации, поощрения, стимулы) применены при регулировании таких отношений. От вышеизложенного зависит: 1) стабильность или нестабильность таких отношений; 2) уровень правовой охраны и защиты целостности личности, здоровья, уважение достоинства человека, в том числе надлежащая охрана прав на неприкосновенность частной жизни; 3) мотивация донора на предоставление своих анатомических материалов и/или органов, а реципиента - получать или не получать лечение, в своей стране или в другой; 4) дефицит или профицит анатомических материалов и/или органов в стране. Необходимо отметить, что уровень правовой регламентации может формировать и определенные рыночные отношения в государстве, независимо от того оформляются такие отношения юридически или нет, находятся они под запретом или нет. Ведь спрос формирует предложение, поэтому, развитие рыночных отношений подчинено объективным законам. Причем возможны три варианта развития

таких отношений. Заурегулированность неминуемо приведет к их упадку, невозможности прогрессивно развиваться, внедряя передовой опыт, технологии, знания. Недостаточная и бессистемная правовая регламентация порождает развитие и функционирование таких отношений вне правового поля, когда посмертное донорство мало чем отличается от преступной деятельности. Подтверждением последнего является, что человеческий орган нередко рассматривается как товар, даже вопреки тому, что в большинстве стран мира они находятся за пределами гражданского оборота: в Индии и Китае существует чёрный рынок человеческих органов, развивается трансплантологический туризм. Системное правовое регулирование отношений в сфере посмертного донорства и трансплантологии, основанное на сбалансированности публичных (общественных) и частных интересов будет способствовать их прогрессивному развитию.

Анализ международного законодательства, а также некоторых государств позволяет оценить тенденции его формирования. С этой точки зрения законодательство США является одним из передовых: среди всех стран первое место по количеству операций по пересадке органов занимает именно США, ежегодно в этой стране совершаются тысячи операций по пересадке почек, печени, сердца, легких [4]. По предварительным данным американской некоммерческой организации частного сектора "Сеть по забору, хранению и пересадке донорских органов" (OPTN), в течение 2017 года в США зарегистрировано 10 281 случаев посмертного донорства, что на 3,1% больше, чем 2016 году, и на 27% - в 2007 году [33]. Исходя из этого, законодательство США может быть основой для создания единой системы международных стандартов правового регулирования посмертного донорства, включая контроль за национальной регистрацией доноров, и порядок получения органов реципиентами, и оформление анатомического подарка [16].

Для создания единых международных стандартов правового регулирования отношений в сфере посмертного донорства целесообразно использовать опыт не только США, но и других передовых стран мира, в частности, Израиля где, благодаря успешному комплексному нормативному регулированию, система охраны здоровья поднялась на высокий уровень и при этом осталась доступной для населения. В частности, в израильском Законе «Об анатомии и патологии» все лица, которые ожидают пересадки органов, разделены на три очереди. И такая очередность стимулирует привлечение граждан к донорству [2]. От этого зависит предоставление налоговых льгот, бесплатный проезд в общественном транспорте, грант на учебу, почетный сертификат [26]. Дифференцировано подходит законодатель и к самому согласию на изъятие органов и/или тканей у трупа [7], разрешено изъятие органов умершего, однако в присутствии раввина, что указывает на необходимость учитывать религиозные и культурные особенности, социальные взаимоотношения и специфику воспитания той или иной социальной общности.

Не менее значимым для моделирования единого правового подхода представляется и опыт Испании, которая является лидером в Европе по количеству случаев посмертного донорства [3]. Испанская модель регулирования донорства органов рекомендована Всемирной организацией охраны здоровья как наиболее эффективная [14]. В этой стране на один миллион населения приходится, в среднем, 39,5 изъятий органов для дальнейшей трансплантации. Для сравнения, в Германии – 10,4, в Англии – 20,6, в России – 3 [6], в

Украине – 0 [8]. В Белоруссии, благодаря удачной модели правового регулирования в год проводится 20 изъятий органов на миллион населения [6]. Белоруссия на сегодняшний день является лидером среди постсоветских стран.

По-особому регулируются отношения посмертного донорства в Китае, где национальное законодательство, начиная с 1984 г., закрепило возможность изымать органы для трансплантации у казненных преступников, что значительно снижает дефицит органов для последующей трансплантации в этой стране [17,18], а министерство юстиции Саудовской Аравии предложило узаконить не только изъятие органов из тел казненных, но даже у тех лиц, которые приговорены к смертной казни [11]. Представляет интерес и опыт Ирана. Это единственное государство, которое приняло официально урегулированную систему продажи почек [26] и тем самым практически ликвидировало в стране «дефицит» донорских органов.

Вышеуказанные правовые подходы отличаются от принятых в большинстве стран мира. Но очевидно, что при разработке единых международных стандартов правового регулирования отношений в сфере посмертного донорства необходимо учитывать как позитивный, так и негативный опыт. Более того, как представляется авторами данной статьи, унификация должна допускать определенные отступления с учетом культурных, социальных, религиозных и правовых факторов, которые традиционно устоялись в той или иной социальной группе, мировое сообщество уже развивается в этом направлении.

Так, в 1967 г. в Европе создана некоммерческая организация «Евротрансплант», которая не только аккумулирует информацию о потенциальных донорах и реципиентах, но и о наличии донорских органов умерших, а также способствует международному обмену как этой информацией, так и наличными донорскими органами. В состав этой организации входит восемь стран: Германия, Австрия, Люксембург, Нидерланды, Бельгия, Словения, Хорватия, Венгрия. На их территории находится 1601 донорская больница и 72 трансплантационных центра. Ежегодно «Евротрансплант» обеспечивает потребность реципиентов в более 7000 органов [20].

В рамках Совета Европы в 1978 году принята Рекомендация R (1978) 28 в отношении трансплантации органов и гармонизации законодательства, связанного с изъятием, пересадкой органов. В 1985 году Международная организация «Общество трансплантации» на уровне норматива разработала рекомендацию по распределению и использованию органов, изъятых у трупов [25]. А в 1987 году снова в рамках Совета Европы издается Рекомендация по поводу международного обмена органами для трансплантации. В этом же году Совет министров охраны здоровья арабских государств принимает унифицированный для всех арабских стран проект закона о трансплантации человеческих органов [31], а на Конференции министров охраны здоровья европейских стран принят документ о некоммерческом подходе к донорству человеческих органов [23]. В 1991 году Всемирная организация здоровья, учитывая неоднородность систем охраны здоровья и права, а также особенности функционирования этих систем в разных странах - социальные, культурные, религиозные, после множества консультаций разработала «Свод основополагающих принципов о трансплантации человеческих органов» [10]. В этом же году XLIV сессия Всемирной ассамблеи охраны здоровья одобряет эти принципы и рекомендует государствам-членам учитывать их при формировании правовой политики

в данной сфере. Учитывая, что различное лицензирование, аккредитация центров по использованию человеческих тканей также стоят на пути свободного продвижения посмертного донорства, в рамках Европейского сообщества разработаны Международные стандарты аккредитации центров трансплантации, услуг переливания крови, банков тканей и лабораторий [22]. В 2002 году принимается Дополнительный протокол к Конвенции о правах человека и биомедицине в отношении трансплантации органов и тканей человеческого происхождения [15], а в 2008 году - «Стамбульская декларация о трансплантационном туризме и торговле органами», в которой предложены стандарты регулирования трансплантационного туризма и пути преодоления дефицита донорских органов [32].

Очевидно, что это далеко не весь спектр усилий, направленных на формирование единых международных стандартов по правовому регулированию отношений в сфере посмертного донорства, однако в достаточной мере иллюстрирует результат титанического труда международного сотрудничества. Вышеуказанное касается не только организационных вопросов, контроля и обмена информацией, опытом, но и критериев оценки допустимости изъятия органов. Так, например, в 1968 году Гарвардским комитетом приняты критерии смерти, основывающийся на необратимом прекращении деятельности не сердца и легких, а мозга, в том числе и необратимой комы [29]. В этом же году Всемирная медицинская ассоциация принимает декларацию о смерти, в которую в 1983 году вносятся правки [12]. В 1972 году Американская неврологическая ассоциация признала базовой концепцию смерти мозга, как единственно возможного факта, по которому определяется смерть человека. В 1983 году принимается Венецианская декларация о терминальном состоянии [5].

**Выводы.** Таким образом, необходимость и возможность формирования единых международных стандартов правового регулирования посмертного донорства очевидны и соответствуют тенденциям развития современного права на глобальном уровне, его универсализации и унификации. Определенные шаги в этом направлении предприняты. Однако в условиях глобализации возникла острая необходимость в создании всемирного модельного кодекса о донорстве и трансплантации, что не только позволит избежать юридических коллизий, но и укажет на необходимость и пути совершенствования национального законодательства, изменения некоторых подходов в межгосударственных отношениях, определит единую международную терминологию понятийного аппарата.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Алсынбаева Э. М. Гражданско-правовое регулирование оказания медицинских услуг по трансплантации органов и тканей человека : дисс. ... канд. юрид. наук : 12.00.03. Уфа, 2013. 164 с.
2. Брюховецька М. С. Цивільно-правове регулювання посмертного донорства в Україні : дис. ... канд. юрид. наук : 12.00.03. К., 2017. 230 с.
3. В Швейцарии введут донорство органов по умолчанию? URL: [https://www.swissinfo.ch/rus/politics/вопросы-этики\\_в-швейцарии-введут-донорство-органов-по-умолчанию-/43828310](https://www.swissinfo.ch/rus/politics/вопросы-этики_в-швейцарии-введут-донорство-органов-по-умолчанию-/43828310)
4. Васильева Л. И. Основы трансплантології. Посібник. Дніпропетровськ : Акцепт ПП. 2015. 144 с.

5. Венеційська декларація про термінальний стан. 35-я Всемирная Медицинская Ассамблея. Венеция, Италия, 1983. URL: <http://new.z-1.com.ua/ua/new321/>
6. Врачи Гродненской области: «Медики недостаточно информированы о посмертном донорстве». URL: <https://grodno.in/news/18514/>
7. Дорфман Марат. Трансплантация органов и тканей человека с точки зрения израильского права. Право и жизнь. 2003. № 4. С. 199–204.
8. Жизнь после смерти: донорство и трансплантация в Беларуси. URL: <http://www.ctv.by/zhizn-posle-smerti-donorstvo-i-transplantaciya-v-belarusi>
9. Маргацкая Н. А. Гражданско-правовые проблемы донорства и трансплантации : дисс. ... канд. юрид. наук : 12.00.03. М., 1984. 180 с.
10. Резолюция XXXX ассамблеи ВОЗ 40.13, май 1987 г. International Digest of Health legislation. 1991; 42(3): 393–394.
11. Саудовская Аравия разрешила донорство органов приговоренным к казни. РИА Новости. 18.06.2009. URL: <https://ria.ru/society/20090618/174724563.html>
12. Сиднейская декларация относительно смерти. Всесвітня медична асоціація. 22-я Всемирная медицинская ассамблея. Сидней, Австралия, 1968. URL: <https://законодавство.com/medichna-asotsiatsiya-vsесvitnya/sidneyskaya-deklaratsiya-otnositelno-smerti193296.html>
13. Степанова Е. Н. Трансплантация органов человека: мировой опыт и Россия : гражданско-правовой аспект : дисс. ... канд. юрид. наук : 12.00.03. Москва, 2004. 228 с.
14. Шестакова Г.Н., Лысак М.М., Дарвин В.В., Краснов Е.А., Колесников С.Д. Донорство органов в мире и Российской Федерации. Состояние проблемы сегодня. Здравоохранение Югры: опыт и инновации. № 3. 2015. С. 27–32.
15. Additional Protocol to the Convention on Human Rights and Biomedicine concerning Transplantation of Organs and Tissues of Human Origin: [Explanatory Report]. Council of Europe. URL: <http://conventions.coe.int/Treaty/EN/Reports/Html/186.htm> (Date of access : 28.10.2016)
16. Anatomical Gift Act (UAGA), July, 2006 // National Conference of Commissioners on Uniform State Laws (NCCUSL). URL: <http://www.uniformlaws.org>
17. Beholz S., Kipke R. (2007) The death penalty and organ transplantation in China: the role of academic heart surgeons. Journal of Heart Lung Transplant, 26: 873-5.
18. Curtis E. Harris, M. S., M. D., J. D. and Stephen P. Alcorn, J. D. To Solve a Deadly Shortage: Economic Incentives for Human Organ Donation // ISSUES L. & MED. 2001. № 16. 213–233.
19. Divine Ndonbi Banyubala. Organ transplants in ghana: finding a context-appropriate and practically workable ethico-legal policy framework (2014). URL: [https://www.research.manchester.ac.uk/portal/files/54561032/FULL\\_TEXT.PDF](https://www.research.manchester.ac.uk/portal/files/54561032/FULL_TEXT.PDF)
20. Eurotransplant region. Eurotransplant. Eurotransplant International Foundation. URL: [http://www.eurotransplant.org/cms/index.php?page=et\\_region](http://www.eurotransplant.org/cms/index.php?page=et_region). (21.01.2018)
21. Godalová T. Transplantační zákon – právní a etické problémy při jeho aplikaci (2012). URL: <https://is.cuni.cz/webapps/zpp/detail/116519/28550916>
22. H.D.C. Roscam Abbing, Human tissue and consumer protection from a European perspective. European Journal of Health Law. 1995. № 2. P. 298.
23. International digest of health legislation. 1988; 39: 274–278.
24. Jirmářová L. Transplantační zákon; etické a právní aspekty. Teorie a praxe v České republice v komparaci s právní úpravou ve Spolkové republice Německo (2013). URL: <https://is.cuni.cz/webapps/zpp/detail/96280/28550916/>
25. Пересадка человеческих органов. World Health Organization A44/11. Organisation Mondiale De La Sante 15 марта 1991. Сорок четвертая сессия всемирной ассамблеи здравоохранения. С.8. URL: <http://apps.who.int/iris>
26. Michael Hentrich. Health Matters: Human Organ Donations, Sales, and the Black Market. URL: <https://arxiv.org/vc/arxiv/papers/1203/1203.4289v1.pdf>
27. Nevečeřalová A. Soukromoprávní dispozice s lidskými orgány (2010). URL: <https://is.cuni.cz/webapps/zpp/detail/87239/28550916/>
28. Novotná K. Transplantační zákon - právní a etické problémy při jeho aplikaci (2012) URL: <https://is.cuni.cz/webapps/zpp/detail/97991/28550916/>
29. Report of the Ad Hoc Committee of the Harvard Medical School to examine the definition of brain death. A definition of irreversible coma. JAMA. 1968. Vol. 205. P. 337–340.
30. Sangster C. A legal assessment of the impact of the Human Tissue Act 2004 upon unplanned non-heart beating donation and elective ventilation (2007). URL: <http://ethos.bl.uk/OrderDetails.do?uin=uk.bl.ethos.486449> (access 15.06.2018)
31. Sev S. Fluss. Торговля человеческими органами и реакция ВОЗ. Всемирный форум здравоохранения. 1991. № 3. Т. 12. С. 49–50.
32. The Declaration of Istanbul on Organ Trafficking and Transplant Tourism. Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 2008 sep. № 3(5). P. 1227–1231. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4571160/>
33. U.S. Department of Health & Human Services, Organ Procurement and Transplantation Network. – Organ Procurement & Transplantation Network URL: <https://optn.transplant.hrsa.gov/news/deceased-organ-donors-in-us-exceeded-10-thousand-for-first-time-in-2017>. Published on: Tuesday, January 9, 2018.
34. Voo Teck Chuan. Altruism and ownership: justifying payment for organ donation (2014). URL: [https://www.research.manchester.ac.uk/portal/files/54556226/FULL\\_TEXT.PDF](https://www.research.manchester.ac.uk/portal/files/54556226/FULL_TEXT.PDF)

## SUMMARY

### THE STATE OF INTERNATIONAL LEGAL REGULATION OF CADAVERIC DONATION: ON THE PATH TO UNIFICATION (REVIEW)

**Slipchenko S., Shyshka O., Buletsa S., Sinegubov O., Hryanko R.**

*Kharkiv National University of Internal Affairs; Uzghorod National University, Ukraine*

The purpose of this study is to assess the current state of international legal regulation of cadaveric donation and determine the possibility of its further unification.

Therefore, the subject of the study was the legal regulation of cadaveric donation as a certain part of medicine. In particular, the work examined the norms of international law, as well as the separate provisions of the national legislation of different countries, aimed at regulating relations in the field of cadaveric donation. Also analyzed the results of scientific research on this subject. During the study, different methods of cognition were used. In particular, the historical method allowed to establish

trends in the development of legal regulation of cadaveric donation. The comparative-legal method has given an opportunity to highlight the peculiarities of national regulation of relations associated with cadaveric retrieval of organs in some individual countries and correlated them to international legal experience. The statistical method has given an opportunity to establish the effectiveness of the application of a legal construct, its ability to overcome the “deficit” of the bodies and a fair distribution between the recipients. On the basis of the dialectical method, the conclusion was drawn about the possibility of developing common standards for the legal regulation of relations in the area of cadaveric donation. Other methods were used in this work, including: formal-logical, dogmatic, modeling, analysis and synthesis. The result of the study was the conclusion about the need and the possibility of forming a single international standards for the legal regulation of cadaveric donation, and in the context of globalization, there is an urgent need to create a universal Model code on donation and transplantation.

**Keywords:** transplantation, donor, recipient, legal standards, unification.

## РЕЗЮМЕ

### СОСТОЯНИЕ МЕЖДУНАРОДНОГО ПРАВОВОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ ПОСМЕРТНОГО ДОНОРСТВА: НА ПУТИ К УНИФИКАЦИИ (ОБЗОР)

Слипченко С.А., Шишка А.Р., Булеца С.Б.,  
Синегубов О.В., Грынько Р.В.

*Харьковский национальный университет внутренних дел;  
Ужгородский национальный университет, Украина*

Целью данного исследования является оценка современного состояния международного правового регулирования посмертного донорства для определения возможности его дальнейшей унификации.

Материалом исследования является правовая регламентация посмертного донорства как определенной части медицины. В частности, исследованы нормы международного права и отдельные положения национального законодательства различных стран, призванные регулировать отношения в сфере посмертного донорства. Проанализированы результаты научных поисков по данной тематике. В ходе исследования использованы различные методы: исторический метод позволил установить тенденции развития правового регулирования посмертного донорства, сравнительно-правовой метод - выделить особенности национального регулирования отношений, связанных с посмертным изъятием органов, в некоторых отдельно взятых странах и соотнести их с международным правовым опытом. Статистический метод предоставил возможность установить эффективность применения той или иной правовой конструкции и способность этой конструкции преодолевать «дефицит» органов и справедливо распределять между реципиентами. На основании диалектического метода сделан вывод о возможности выработки единых стандартов правового регулирования отношений в сфере посмертного донорства. В исследовании

использованы и другие методы: формально-логический, догматический, моделирования, анализа и синтеза.

Авторами делается вывод о необходимости и возможности формирования единых международных стандартов правового регулирования посмертного донорства и создания всемирного модельного кодекса о донорстве и трансплантации.

## რეზიუმე

სიკვდილშემდგომი დონორობის საერთაშორისო სამართლებრივი რეგულირების მდგომარეობა: გზა უნიფიკაციისკენ (მიმოხილვა)

ს. სლიპჩენკო, ა. შიშკა, ს. ბულეცა, ო. სინეგუბოვი,  
რ. გრინკო

ხარკოვის შინაგან საქმეთა ეროვნული უნივერსიტეტი;  
უჟგოროდის ეროვნული უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სიკვდილშემდგომი დონორობის საერთაშორისო სამართლებრივი რეგულირების თანამედროვე მდგომარეობის შეფასება, მისი შემდგომი უნიფიკაციის შესაძლებლობის განსაზღვრით.

საკვლევი მასალა გახდა სიკვდილშემდგომი დონორობის, როგორც მედიცინის გარკვეული დარგის, სამართლებრივი რეგულაციის. გამოკვლეულია სიკვდილშემდგომი დონორობის სფეროში ურთიერთობის მარეგულირებელი საერთაშორისო სამართლის ნორმები და სხვადასხვა ქვეყნის ეროვნული კანონმდებლობის ცალკეული დებულებები. გაანალიზებულია მოცემულ თემატიკაზე არსებული მეცნიერული კვლევის შედეგები. კვლევის ჩატარების პროცესში გამოყენებული იყო შემეცნების სხვადასხვა მეთოდი: ისტორიული მეთოდი უზრუნველყოფს სიკვდილშემდგომი დონორობის სამართლებრივი რეგულირების განვითარების ტენდენციების დადგენას; შედარებით-სამართლებრივი მეთოდი ავტორებს შესაძლებლობა აძლევს გამოიყონ ორგანოების სიკვდილშემდგომ ამოღებასთან დაკავშირებული ურთიერთობის ზოგ ქვეყანაში ეროვნული რეგულირების თავისებურებანი და შეადარონ იგი საერთაშორისო სამართლებრივ გამოცდილებასთან. სტატისტიკური მეთოდის მეშვეობით დადგინდა ამა თუ იმ სამართლებრივი კონსტრუქციის გამოყენების ეფექტურობა ორგანოების “დეფიციტის” გადალახვის უნარიანობისა და რეციპიენტებს შორის სამართლიანი განაწილების გათვალისწინებით. დიალექტიკური მეთოდის საფუძველზე გაკეთებულია სიკვდილშემდგომი დონორობის სფეროში ურთიერთობის სამართლებრივი რეგულირების ერთიანი სტანდარტების შემუშავების შესაძლებლობის შესახებ დასკვნა. ნაშრომში გამოყენებულია სხვა მეთოდებიც: ფორმალურ-ლოგიკური, დოგმატური, მოდელირების, ანალიზისა და სინთეზის. კვლევის შედეგი გახდა სიკვდილშემდგომი დონორობის სამართლებრივი რეგულირების ერთიანი საერთაშორისო სტანდარტების ფორმირების აუცილებლობისა და შესაძლებლობის არსებობაზე დასკვნა და ტრანსპლანტაციის მსოფლიო მოდელური კოდექსის შექმნის აუცილებლობა.

## PROBLEM-ORIENTED MEDICAL RECORD AS A CHALLENGE FOR NARRATOLOGICAL ANALYSIS

<sup>1</sup>Lysanets Yu., <sup>1</sup>Bieliaieva O., <sup>1</sup>Znamenska I., <sup>1</sup>Nikolaieva N., <sup>1</sup>Efendiieva S., <sup>2</sup>Hutsol M.

<sup>1</sup>Ukrainian Medical Stomatological Academy, Department of Foreign Languages with Latin and Medical Terminology, Poltava;  
<sup>2</sup>Ivano-Frankivsk National Medical University, Department of Linguistics, Ukraine

A Problem Oriented Medical Record (POMR) is an effective method of registering and subsequent assessing of information about the patient's health status. The POMR was suggested by Dr. Larry Weed in 1968 and is widely used in clinical practice nowadays.

The aim of this research is to examine the narrative arrangement of POMRs as one of the central genres in medical written discourse. At present, the structure of POMR in terms of narratological analysis constitutes a relevant research gap and therefore needs careful examination. The paper will analyze the narrative strategies within this context, the types of narrators, their communicative intentions towards the narratee, the peculiarities of focalization, and the interaction of narrative levels. The study of narrative framework in the genres of English medical discourse will ensure the development of professional and terminological competence in future healthcare, which is one of the priority tasks of higher medical education [4,16]

**Material and methods.** The narrative (from the Latin *narrare* – “to tell”) is a linear presentation of related events and facts. In a broad sense, the concept of narrative is used in terms of any oral or written form of discourse. Narratology as a modern and relevant branch of literary studies examines the specific features of narratives, the hierarchy of narrative levels, and the mechanisms of information transfer from the narrator (the presenter of the story) to the narratee (the recipient). This branch of study was substantiated in Roland Barthes's Introduction to the Structural Analysis of Narratives (1966); Tzvetan Todorov's Grammaire du Décaméron (1969) provided it with terminological apparatus; and finally the conceptual arrangement of narratology was accomplished in Gérard Genette's Figures I-III (1967-1970).

At the present stage of development, narratology demonstrates an interdisciplinary tendency, i.e., modern narratologists examine the non-literary fragments of discourse [8]. Narratives are the universal mechanisms of arrangement and the regulation of human experience. Narratives permeate everyday life: “We dream in narrative, daydream in narrative, remember, anticipate, hope, despair, believe, doubt, plan, revise, criticise, construct, gossip, learn, hate and love by narrative” [10]. In recent decades, researchers have begun to consider the epistemological, emotional and evaluative dimensions of medical discourse as a narrative phenomenon [1,4,12].

Our research is largely based on methodological instruments developed by Gérard Genette, who differentiates between the two main narrative modes: “one with the narrator absent from the story he tells ... and the other with the narrator present as a character in the story he tells” [9]. The first is defined as heterodiegetic and the second as homodiegetic narrator. The heterodiegetic mode is grammatically implemented in the third-person account of events whereas homodiegetic – in the first-person narration. Another important narratological concept used in this research is focalization – the view-point from which the narrated world is perceived. There are three types of focalization: internal (information is provided through the consciousness of a character, referred to as “focalizer”), external (the narrator provides only observable information, “the narrative is focused on a character, not through him”) [9], and transient (the deliber-

ate combination of narratives from different focalizers). Further, Genette distinguishes between the intradiegetic level (the level of the story itself, “any event a narrative recounts”), and the extradiegetic level, i.e., the level of telling a story, “the narrating act producing this narrative” [9].

Medical discourse as an object of narratological analysis offers a range of narratives generated in the context of the physician's clinical practice. In terms of the narratological approach, attention is focused on the two basic forms of discourse:

1) the patient's account of illness, or the so-called “pathography” (S. Freud), i.e., “autobiographical account” of the disease onset, past illnesses, causes of referral to the doctor, incidents, lifestyle problems and so on [11]. The patient's description of their illness is narrated through the first-person narration.

2) the physician's account (third-person), represented by narratives of treatment, examination, patient's assessment, etc. In this regard, the concept of the doctor's “narrative competence” becomes relevant. It implies “the capacity to recognize, absorb, metabolize, interpret and be moved by stories of illness” [7], as well as the ability to influence the narratives of another person.

POMR, as one of the most important methods of medical writing, provides a standard set of data: information collected during patient's interview (the main complaint, history of present illness, history of past illnesses, surgical history, allergies, family history, social history); information from family members; review of symptoms; physical examination of the patient; results of laboratory tests; assessment of the patient's status and development of the treatment plan. As one can easily observe, POMR contains both physician's and patient's narratives, and therefore this method has been selected as the focus of the research. In particular, for narratological analysis we used the POMR samples from training materials from the University of North Carolina School of Medicine ([www.snjourney.com](http://www.snjourney.com)), SNjourney (Online Community of Nursing Students: [www.snjourney.com](http://www.snjourney.com)) and guidelines for writing POMR by Lois Brenneman (2001).

**Results and their discussion.** The structure of POMR is relatively standard in different health care settings, with clinical data arranged into four sections (often abbreviated as “SOAP”): “Subjective Observation”, “Objective Observation”, “Assessment” and “Plan”.

In “Subjective Observation”, the physician is represented by hetero-extradiegetic narrator (third-person) who gives an account of the patient's condition. The physician's aim is to carefully record the patient's subjective feelings: “She is worried she may have poison ivy”; “She is worried she has pneumonia” [19]; “She is concerned that there is something seriously wrong” [18]. In this part of POMR, the patient's “voice” is also directly incorporated into the discourse. The patient narrates what forced him to see a doctor (“the main complaint”), and gives an account of the sequence of events and personal experiences associated with the disease. The homo-intradiegetic narrator is introduced by inclusion of the patient's quotations:

- “She began to experience severe pain *“like being stung by a bee”* [17]; “Patient reports that he had a cardiac cath at NYU Medical Center in 1994 after which *“they told me that 3 of my vessels were clogged”* [6];



- "Sexually active, new partner beginning 4 months ago. He told her the relationship is monogamous: she *"hopes it is"*. Previous sexual partner over 1 year ago. New partner irregularly uses condoms; *"He gets mad when I ask him to and says I don't trust him"*. Did not press the issue because *"I am afraid of losing him"*. No other contraception" [6].

The patient's narrative of illness optimizes the communication. It helps the doctor to understand the problem, to determine how and why a person has fallen ill, and then to select the appropriate strategy and tactics of treatment. Where a patient is physically incapable of direct communication, the so called hetero-anamnestic narrative of another person is possible. Family members are also quoted where relevant: "Her husband states that she has *"always snored"* quite loudly" [19]. As a result, the discourse risks becoming "contaminated" with narratives from different people affected by and connected to patient's condition.

Thus, this section is composed of interchangeable modes of heterodiegetic and homodiegetic narration which complement each other and form a coherent scenario of the patient's pathography. By quoting the information from other people, the physician's heterodiegetic narration is characterized as transient internal focalization which constructs the story through the prism of patient, family members or caregivers and thus creates a narrative polyphony. The technique of transient focalization develops the action from different points of view and thus the physician is able to see the broad picture of the problem. Further on, the doctor asks a series of questions designed to study the general health status of the patient (surgical history, allergies, etc.). The interview is completed with the patient's examination, during which the physician focuses on specific body systems that correlate with the symptoms.

"Objective Observation" includes the results of laboratory tests, findings of physical examinations, measurements and vital signs of patient's body, such as heart beat, pulse, temperature, etc. Objective Observation is characterized by narrative conciseness by means of paratactic syntax (compound sentences with no conjunctions) and extensive use of medical abbreviations. The omniscient narrator is eliminated; instead, the cinematic sequences of clinical findings and laboratory tests are juxtaposed. The narrator adopts the position of spectator (external focalization) who registers the events and records the empirical data (i.e., the symptoms that can be measured and observed) in a neutral, abrupt and "telegraphic" manner. The physician documents such objective data as "raised weight index (WI), arterial hypertension, increased concentration of triglycerides in blood serum, of glucose, of HbA1c level and S-peptide, and also high level of endothelin (1-38) and CD32+CD40+circulating particles of endothelium" [13]. Thus, the narrator shifts to the periphery of the diegesis beyond the narrative framework, and becomes unidentified and invisible. The situation of external focalization provides the physician's impartial glance from the outside. Whilst the narrator's purpose in the first section was to "immerse" themselves in the patient's problem, the second unit is aimed at "estrangement" in order to perceive it from another perspective.

It is necessary to bear in mind that POMRs are usually addressed to other physicians. It is assumed that the narratee (i.e., the recipient of the discourse) is also versed in medicine. Consequently, the narrative structure of the "Objective Observation" section allows the extensive use of abbreviations and elliptical (partial) sentences. This peculiarity is due to the communicative purpose of this method: the author's primary objective is to transfer the maximum amount of clinical information using the

minimum number of linguistic tools. For instance: "CV: JVP is 6cm above the right atrium, PM1 non-displaced, RRR, no murmurs, normal SI" [19]; "Neck no JVD, Lungs clear. Abd Bowel sounds present, mild RLQ tenderness, less than yesterday" [18]; "Heart: S1>S2 at apex, RRR without murmurs, clicks or gallops, pulses 2+/equal bilaterally" [6].

The "Assessment" section usually contains the narrator's differential diagnosis and clinical reasoning. All possible causes of the disorder are carefully considered and weighed. As a rule, the narrator does not use abbreviations in this section. Instead of this, extensive reasoning is provided: "Patient is a 37 year old man on post-operative day 2 for laparoscopic appendectomy" [17]. This section is dominated by the "dubious" narrator who does not exclude any possible etiology of the condition and sets forth all probable causes, from most to the least likely:

- "Re-nset of cough. Most likely represents bronchitis complicated by bronchospasm given acute onset, fever and exam findings of diffuse wheezes. CXR and exam confirm no bacterial pneumonia, though a viral or atypical pneumonia is still possible" [19];

"A new onset painful rash in a dermatomal distribution. This is most likely secondary to herpes zoster because of the location, distribution and associated pain. A less likely possibility is contact dermatitis, given her recent gardening. She may also have a cellulitis, but the lack of temperature doesn't support this" [19]. Thus, this section is characterized by a special type of "uncertain" narrator does not make a unified conclusion as to the patient's condition.

The "Plan" section switches to the imperative mode of narration which implies clear directions:

- "Treat with albuterol inhaler 2 puffs QID"; "#1 Check TSH to rule out hypothyroidism. #2 Check CBC to rule out anemia. #3 Check K to rule out hypokalemia" [19];

- "Continue to monitor labs" [18].

It is necessary to point out that this section often contains Latin terms and terminological collocations, such as QID in the above-mentioned sample ("quater in die": "four times a day"). The use of Latin terminological collocations contributes to the conciseness and brevity of POMR [14,15]. This also enables the doctors to transfer their messages to colleagues within the shortest possible time [2,3,5].

Since the previous section provides multiple versions of the patient's condition, the "Plan" part supplies each of these variants with a specific plan of actions. The narrator's instructions are often conditional:

- "Return to clinic in 3 weeks for reevaluation. To call sooner if there are problems in the interim" [6];

- "If the above are unremarkable, consider sleep study to rule out sleep apnea"; "Mary should return to clinic if the pain becomes more severe or if she develops warm, redness or a fever" [19].

**Conclusions.** The narrative arrangement of POMR is characterized by a specific type of narration in each particular section. The "Subjective Observation" section demonstrates the combination of the physician's hetero-extradiegetic narration and homo-intradiegetic stories from patients, family members, or caregivers. The omniscient heterodiegetic (third-person) narrator with transient internal focalization risks the contamination of discourse with homodiegetic (first-person) inclusions thus providing the kaleidoscopic change of focalizers. Transient internal focalization provides insights into the consciousness of each person involved which renders it possible to "grasp" the clinical problem from all directions. The estranged heterodiegetic narrator, with external focalization in the "Objective Observa-

tion” part, registers the events and empirical data (such as results of laboratory tests, findings of physical examinations, etc.) in a neutral manner. The “Assessment” section demonstrates the “uncertain” type of narrator with fluctuating viewpoint who conducts differential diagnostics, shares all possible etiologies and eventually does not decide upon a single variant. The “Plan” section is characterized by the imperative narrator who provides instructions for treatment in terms of each possible etiology and stimulates the narratee (i.e., another physician) to undertake certain actions.

The major strategy of POMR as a complex of verbal practices is to “intertwine” the events, scattered in time and space, into one coherent narrative to ensure the effective communication between physicians and successful treatment of patients. Within the structure of POMR, the patient’s pathography presents a verbatim report of experiences associated with the disease and the process of treatment. On the other hand, the process of structuring the information on the patient’s condition forms the epistemological basis of doctor’s practice (i.e., perception and comprehension of a medical case). For future physicians, it is highly important to develop the “narrative competence”, that is, the ability to accurately record the findings of physical examination and eventually arrange the patient’s “pathography” in a coherent story. Acquiring the narrative literacy skills in writing POMRs enables the effective communication of clinical data between doctors, and therefore should be an integral element of training future medical professionals. Therefore, in the process of training future doctors, the analysis of the basic mechanisms of writing POMRs should be an integral part of the curricula in English for Specific Purposes at universities.

## REFERENCES

1. Шмид В. Нарратология. [Электронный ресурс]. М.: Яз. славян. культуры; 2003: 312.
2. Bieliaieva O.M., Lysanets Yu.V., Znamenska I.V., Rozhenko I.V., Nikolaieva N.M. Terminological collocations in medical Latin and English: A comparative study // *Wiadomości Lekarskie*. Tom LXX. Nr 1; 2017: 139–143.
3. Bieliaieva O., Lysanets Yu., Melaschenko M. Latin as a language of international communicative status: Medicine of the 16th-17th centuries // *Georgian Medical News*. 2017; 1(262); 120–124.
4. Bieliaieva O., Lysanets Yu., Havrylieva K., Znamenska I., Rozhenko I., Nikolaieva N. Paronymy in the sublanguage of medicine (linguistic and linguo-didactic aspects) // *Georgian Medical News*. 2017; 10 (271); 144–149.
5. Bieliaieva O., Synytsia V., Lysanets Yu. Pharmaceutical terms with onomastic component: Quantitative, structural and lexico-semantic analysis // *Wiadomości Lekarskie*. Vol. 71. Nr.1. cz.II; 2018: P. 217–221.
6. Brennen L. Guidelines for writing SOAP notes and history and physicals. Glen Gardner, NJ: NPCEU Inc.; 2001: 26.
7. Charon R. What to do with stories: The sciences of narrative medicine // *Canadian Family Physician*. 53. No. 8; 2007: 1265–1267.
8. Fludernik M. An Introduction to narratology. New York: Routledge; 2009: 190.
9. Genette G. Narrative discourse: An essay in method. Ithaca: Cornell UP; 1980: 285.
10. Hardy B. Towards a poetics of fiction: An approach through narrative. *Novel*. 2; 1968: 5–14.
11. Hawkins A. Pathography: Patient narratives of illness //

- Western Journal of Medicine. 171. No. 2; 1999: 127–129.
12. Ifversen J. Text, discourse, concept: Approaches to textual analysis // *Kontur*. 7; 2003: 60–69.
13. Kaïdashev, Igor et al. 2010. Efficacy of complex therapy with metformin and ramipril combination for patients with metabolic syndrome // *Likars’ka sprava*. Oct-Dec (7-8): 77–84.
14. Lysanets Yu., Bieliaieva O. The Use of Latin terminology in medical case reports: Quantitative, structural, and thematic analysis // *Journal of Medical Case Reports*. Vol. 12. No. 45; 2018: <https://jmedicalcasereports.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13256-018-1562-x>
15. Lysanets Yu., Morokhovets H., Bieliaieva O. Stylistic features of case reports as a genre of medical discourse // *Journal of Medical Case Reports*. Vol. 11. No. 83; 2017: <https://jmedicalcasereports.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13256-017-1247-x>
16. Morokhovets H.Yu., Lysanets Yu.V. Developing the professional competence of future doctors in the instructional setting of higher medical educational institutions // *Wiadomości Lekarskie*. Tom LXX. Nr 1; 2017: P. 937–940.
17. “Physician SOAP notes.” Accessed April 03, 2018. <http://www.physiciansoapnotes.com>
18. “Sample outpatient notes.” // UNC School of Medicine. Accessed April 02, 2018. <https://www.med.unc.edu/medselect/resources/sample-notes>
19. “SOAP notes for acute problems.” Accessed April 03, 2018. <http://www.snjourney.com/PDFs/soap-note-acute-problem.pdf>

## SUMMARY

### PROBLEM-ORIENTED MEDICAL RECORD AS A CHALLENGE FOR NARRATOLOGICAL ANALYSIS

<sup>1</sup>Lysanets Yu., <sup>1</sup>Bieliaieva O., <sup>1</sup>Znamenska I., <sup>1</sup>Nikolaieva N., <sup>1</sup>Efendiieva S., <sup>2</sup>Hutsol M.

<sup>1</sup>Ukrainian Medical Stomatological Academy, Department of Foreign Languages with Latin and Medical Terminology, Poltava; <sup>2</sup>Ivano-Frankivsk National Medical University, Department of Linguistics, Ukraine

The paper examines the narrative arrangement of the problem-oriented medical record (POMR) as an effective method of registering and assessing clinical data. The aim of the research is to examine the types of narrators and focalization, as well as the hierarchy and interaction of narrative levels in the analyzed discourse. The research has demonstrated the presence of several types of narrators within the analyzed discourse: (1) the omniscient hetero-extradiegetic narrator with transient internal focalization (the third-person narration, represented by the physician) and (2) homo-intradiegetic narration (patient’s first-person narration) in the “Subjective Observation” section; (3) the “estranged” heterodiegetic narrator with external focalization (the “Objective Observation” part); (4) the “uncertain” type of narrator (the “Assessment” part); (5) and the imperative mode of narration (the “Plan” section). Each section of POMR is characterized by a specific type of narration, and each of them aims to “intertwine” the events, scattered in time and space, into one coherent narrative to ensure the effective communication between physicians and successful treatment of patients. It is highly important for future physicians to develop narrative competence and master the basic mechanisms of producing an effective POMR, in order to be able to accurately document the

encounters with patients, elicit the relevant details from case histories, and select the appropriate strategy of treatment. Therefore, in the process of training future doctors, the analysis of the basic mechanisms of writing POMRs should be an integral part of the curricula in English for Specific Purposes at universities.

**Keywords:** medical discourse, problem-oriented medical record, narrator, narratee, narrative levels, focalization.

## РЕЗЮМЕ

### ПРОБЛЕМНО-ОРИЕНТИРОВАННЫЙ МЕТОД ВЕДЕНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ КАК ОБЪЕКТ НАРРАТОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

<sup>1</sup>Лисанец Ю.В., <sup>1</sup>Беляева Е.Н., <sup>1</sup>Знаменская И.В.,  
<sup>1</sup>Николаева Н.Н., <sup>1</sup>Эфендиева С.Н., <sup>2</sup>Гуцол М.И.

<sup>1</sup>Украинская медицинская стоматологическая академия, кафедра иностранных языков с латинским языком и медицинской терминологией, Полтава; <sup>2</sup>Ивано-Франковский национальный медицинский университет, кафедра языкознания, Украина

В статье исследуются повествовательные механизмы современного метода регистрации и оценки клинических данных – проблемно-ориентированной медицинской документации (ПОМД). Целью исследования является изучение основных типов рассказчиков, особенностей фокализации, взаимодействия повествовательных уровней в анализируемом дискурсе. Исследование основывается на методологическом инструментарии, разработанном современным французским нарратологом Жераром Женеттом. Анализ ПОМД выявил несколько типов рассказчиков в анализируемом дискурсе: (1) рассказчик от третьего лица (гетеродиегетическое повествование врача с переменной внутренней фокализацией); (2) рассказчик от первого лица (гомодиегетическое повествование пациента) в разделе “Субъективное наблюдение”; (3) “отстранённый” гетеродиегетический рассказчик с внешней фокализацией (раздел “Объективное наблюдение”); (4) “колеблющийся” тип рассказчика (раздел “Оценка данных”), (5) повелительный стиль изложения (раздел “План”). Каждая секция ПОМД характеризуется определенным типом повествовательной стратегии, и каждая из них направлена на “сплетение” событий, рассеянных во времени и пространстве, в последовательную историю. Развитие так называемой “повествовательной компетентности” крайне значимо для будущих врачей, и поэтому изучение повествовательных механизмов ПОМД должно быть неотъемлемым элементом подготовки будущих медицинских работников, поскольку этот метод обработки информации эффективно структурирует клинические данные, обеспечивает оперативную коммуникацию между врачами,

и, таким образом, способствует успешному лечению пациентов.

## რეზიუმე

სამედიცინო დოკუმენტაციის წარმოების პრობლემა-ორიენტირებული მეთოდი, როგორც ნარატოლოგიური ანალიზის ობიექტი

<sup>1</sup>ი. ლისანეცი, <sup>1</sup>ე. ბელიაევა, <sup>1</sup>ი. ზნამენსკაია, <sup>1</sup>ნ. ნიკოლაევა, <sup>1</sup>ს. ეფენდიევა, <sup>2</sup>მ. გუცოლი

<sup>1</sup>უკრაინის სამედიცინო სტომატოლოგიური აკადემია, უცხოური ენების კათედრა ლათინური ენით და სამედიცინო ტერმინოლოგიით, პოლტავა; <sup>2</sup>ივანო-ფრანკოვსკის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, ენათმეცნიერების კათედრა, უკრაინა

სტატიაში გამოკვლეულია კლინიკური მონაცემების რეგისტრაციის და შეფასების თანამედროვე მეთოდის თხრობითი მექანიზმები – პრობლემა-ორიენტირებული სამედიცინო დოკუმენტაცია (პოსდ). კვლევის მიზანს შეადგენდა მთხრობელების ძირითადი ტიპების, ფოკალიზაციის თავისებურებების, თხრობითი დონეების ურთიერთქმედების შესწავლა გასაანალიზებელ დისკურსში. კვლევა ეფუძნება თანამედროვე ფრანგი ნარატოლოგის, ჟერარ ჟენეტის მიერ შემუშავებულ მეთოდოლოგიურ ინსტრუმენტებს. პოსდ-ის ანალიზმა გამოავლინა მთხრობელების რამდენიმე ტიპი: (1) მესამე პირში მთხრობელი (ექიმის ჰეტეროდиеგეტური თხრობა მონაცვლეობითი შინაგანი ფოკალიზაციით); (2) პირველ პირში მთხრობელი (პაციენტის პომოდიეგეტური თხრობა) მონაკვეთში “სუბიექტური დაკვირვება”; (3) “განყენებული” ჰეტეროდиеგეტური მთხრობელი გარეგანი ფოკალიზაციით მონაკვეთში “ობიექტური დაკვირვება”; (4) მთხრობელის “მერყევი” ტიპი მონაკვეთში “მონაცემების შეფასება”; (5) თხრობის მბრძანებლური სტილი მონაკვეთში “გეგმა”. პოსდ-ის თითოეული სექცია ხასიათდება თხრობითი სტრატეგიის განსაზღვრული ტიპით, თითოეული მათგანი კი მიმართულია დროსა და სივრცეში გაფანტული მოვლენების “გადაჯგავნება” თანამიმდევრულ ისტორიად. “თხრობითი კომპეტენტურობის” განვითარება მეტად მნიშვნელოვანია მომავალი ექიმებისათვის და, ამიტომაც, პოსდ-ის თხრობითი მექანიზმების შესწავლა მომავალი მედიცინის მუშაკის მომზადების განუყოფელ ელემენტს უნდა შეადგენდეს; ინფორმაციის გადაამუშავების ეს მეთოდი ახდენს კლინიკური მონაცემების ეფექტურ სტრუქტურირებას, უზრუნველყოფს ოპერატიულ კომუნიკაციას ექიმებს შორის და, შესაბამისად, ხელს უწყობს პაციენტების წარმატებულ მკურნალობას.

\* \* \*