

GEORGIAN MEDICAL NEWS

ISSN 1512-0112

№ 12 (285) Декабрь 2018

ТБИЛИСИ - NEW YORK



ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Медицинские новости Грузии
საქართველოს სამედიცინო სიახლენი

GEORGIAN MEDICAL NEWS

No 12 (285) 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 Гогешаши, 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

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; 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 Kvirkvelia, 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, 3th 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

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

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.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:

Масляков В.В., Ким Л.М. ЗНАЧЕНИЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ КРОВИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ КОЖИ И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ ХИРУРГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ	7
Kiladze M., Mizandari M., Kepuladze O. USING OF NOVEL DOUBLE INVAGINATED PANCREATOJEJUNOSTOMY TECHNIQUE WITH TRANSANASTOMOTIC STENTING AND EXTERNAL PANCREATIC DUCT DRAINAGE: PRELIMINARY REPORT	12
Дюсембеков Е.К., Аханов Г.Ж., Алиев М.А., Утеулиев Е.С., Сактапов А.К. АНАЛИЗ ПРИЧИН СМЕРТНОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ В г. АЛМАТЫ	17
Яковенко К.В., Тамм Т.И., Яковенко Е.А. ИЗУЧЕНИЕ ГЕМОДИНАМИКИ МАТКИ МЕТОДОМ ТРЕХМЕРНОЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ДОППЛЕРОГРАФИИ У БОЛЬНЫХ АДЕНОМИОЗОМ	21
Abuladze N., Gould N., Williams S., Wong A. A RARE CASE OF OXYTOCIN-INDUCED MATERNAL CARDIAC BRADYARRHYTHMIA DURING LABOUR	28
Костенко Е.Я., Мочалов Ю.А., Каминский Р.С., Накашидзе Г.Н., Бунь Ю.Н., Гончарук-Хомин М.Ю. ПРИМЕНЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА EASYGRAFT® ПРИ СУБАНТРАЛЬНОЙ АУГМЕНТАЦИИ ВЕРХНЕЙ ЧЕЛЮСТИ	32
Arutyunov S., Krasheninnikov S., Levchenko I., Orjonikidze R., Sadovskaya N., Kirakosyan L., Kharakh Y. MONITORING OF CHANGES IN PHYSICO-CHEMICAL AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE DENTAL POLYMER MATERIALS USED IN ADDITIVE MANUFACTURING OF DENTAL PROSTHESES	37
Kyslova Iu., Yablon O., Mazulov O., Savrun T., Bykovska O. BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR: DIAGNOSTIC PERSPECTIVE IN NEONATES WITH GESTATIONAL AGE LESS THAN 34 WEEKS	41
Horlenko O., Lenchenko A., Kossey G., Tomey A., Debretseni O. ORAL-FACIAL-DIGITAL SYNDROME TYPE I (CLINICAL CASE)	47
Tskhvedadze N., Giorgadze E., Janjgava Sh. THE IMPACT OF THE DEGREE OF OBESITY ON METABOLIC PARAMETERS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS	51
Дорошкевич И.А., Вознюк Л.А., Волощук Н.И., Клекот А.А., Кириченко О.В. НЕКАРДИАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ИНГИБИТОРОВ SGLT2 (ОБЗОР)	57
Горбунова О.Е., Панова Т.Н., Чернышева Е.Н., Попов Е.А. УРОВЕНЬ ЗАЩИТЫ ОТ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И ТРЕХЛЕТНЯЯ ДИНАМИКА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МИОКАРДА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА У МУЖЧИН	63
Makar O., Siabrenko G. INFLUENCE OF PHYSICAL ACTIVITY ON CARDIOVASCULAR SYSTEM AND PREVENTION OF CARDIOVASCULAR DISEASES (REVIEW)	69

Japaridze G., Kasradze S., Maisuradze L., Popp R., Wetter Th.C. THE RESTLESS LEGS SYNDROME (REVIEW).....	74
Onishchenko N., Riabokon Yu., Riabokon E. CLINICAL-PATHOGENETICAL ROLE OF TOLL-LIKE RECEPTOR 2 (RS 5743708) AND INTERLEUKIN-10 (RS 1800896) GENES POLYMORPHISM IN THE COURSE OF HERPES ZOSTER IN ADULTS	81
Ostafichuk S., Henyk N., Rossokha Z. THE ROLE OF PRO12ALA POLYMORPHISM OF THE PPAR- γ GENE IN THE GENESIS OF THE GESTATIONAL WEIGHT GAIN	86
Николаева О.В., Кузнецова М.А. ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ САМОК КРЫС В ПОСЛЕРОДОВОМ ПЕРИОДЕ.....	92
Abiatari I., Middelashvili T., Motsikulashvili M., Tchavtchavadze A., Tawfeeq S.M., Amiranashvili I. OVEREXPRESSED PROGENITOR GENE CSF1R IN PANCREATIC CANCER TISSUES AND NERVE INVASIVE PANCREATIC CANCER CELLS.....	96
Татарчук Л.В., Гаргула Т.И., Гнатюк М.С., Слабый О.Б., Ясиновский О.Б. СТРУКТУРА ПОДВЗДОШНОЙ КИШКИ ПОСЛЕ РЕЗЕКЦИИ ПАРЕНХИМЫ ПЕЧЕНИ.....	100
Monaselidze J., Kikalishvili L., Sharia Sh., Ramishvili M., Lezhava T. COMPARATIVE ANALYSIS OF WHOLE CARTILAGE TISSUE THERMOSTABILITY IN DISEASED PATIENTS VERSUS INJURED PATIENTS	105
Nechypurenko O., Kaliuzhka A., Lutsenko O. THE EFFECT OF VIBRO-ACOUSTIC STIMULATION ON CELL DYNAMICS OF INFLAMMATION IN RATS AND THE POSSIBILITIES FOR VIBROACOUSTIC SOUND THERAPY IN COMPLEX TREATMENT OF BRONCHITIS IN CHILDREN	107
Bakuradze N., Makalatia Kh., Merabishvili M., Togoshvili L., Chanishvili N. SELECTION OF THE ACTIVE PHAGES AGAINST B.FRAGILIS FOR FURTHER STUDY OF THRAPAUTIC PERPECTIVES.....	111
Bilanishvili I., Barbakadze M., Khizanishvili N., Gaikharashvili T., Nanobashvili Z. INTERACTION BETWEEN THE THALAMIC NUCLEUS AND PREOPTIC AREA NEURONS.....	116
Гвилава И.В., Ормоцадзе Г.Л., Чхиквишвили И.Д., Гиоргобиани М.Т., Кипиани Нина В., Саникидзе Т.В. РАДИОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИМЕТОКСИЛИРОВАННЫХ ФЛАВОНОИДОВ ЦИТРУСОВОГО ЭКСТРАКТА	119
Boyarchuk O., Volyanska L., Kosovska T., Lewandowicz-Uszynska A., Kinash M. AWARENESS OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCY DISEASES AMONG MEDICAL STUDENTS	124
Melikishvili M., Mitskevich N., Pitskhelauri N., Lobzhanidze G., Chikhladze N. PUBLIC ATTITUDES TOWARDS THE USE OF ANIMALS IN BIOMEDICAL RESEARCH IN GEORGIA	130

НАУКА

ЗНАЧЕНИЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ КРОВИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ КОЖИ И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ ХИРУРГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

Масляков В.В., Ким Л.М.

Частное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский медицинский университет «РЕАВИЗ»,
Министерства высшего образования и науки РФ, Саратов, Россия

Злокачественные опухоли кожи занимают одно из ведущих мест в онкологии [1-3,5,7,8]. Способность к инвазии окружающих тканей и метастазированию в отдаленные органы – одно из фундаментальных свойств злокачественных опухолей. На всех этапах инвазии и метастазирования эпителиальная опухолевая клетка находится в тесном контакте с внеклеточным матриксом (ЕСМ), поэтому основным молекулярных механизмов, определяющим данные процессы, считается разрушение базальной мембраны эпителия и ЕСМ протеазами, ассоциированными с опухолью. Эндопроteaseы участвуют также в опухолевом неангиогенезе, способствуя распространению новых капилляров. Деградация ЕСМ - неотъемлемая часть не только опухолевой прогрессии, но и многих запрограммированных физиологических процессов: роста развития и регенерации ткани. Но в процессе канцерогенеза регуляция ЕСМ, как правило, нарушается и имеет место патологическая экспрессия регуляторных, в частности, адгезивных белков, что помогает опухолевой клетке пройти все этапы метастазирования [4]. Ингибиторы матриксных металлопротеиназ (ТМРМ) сбалансированно регулируют активность матриксных металлопротеиназ (ММР), происходит дезинтеграция со злокачественной трансформацией, а также ингибция апоптоза опухолевых клеток с увеличением митотической активности [10,11]. Исходя из вышеизложенного, высказано предположение, что тканевый ингибитор ММР-1 может играть двойную роль в регуляции процесса и метастазов, более того, отсутствуют данные об изменении показателей ММР при базилиомае кожи.

Цель исследования - определить реакцию металлопротеиназ крови при атипичном фенотипе рака кожи в различные сроки послеоперационного периода.

Материал и методы. Исследованы следующие показатели: ММР-1, ММР-2, ММР-7 и ММР-9. Изменения ММР изучали у 98 больных различными формами рака кожи, средний возраст – 55±3 лет. Из них базальноклеточный рак (БКР) кожи выявлен у 39 больных, плоскоклеточный рак (ПКР) кожи – у 39. Гистологическим исследованием установлено, что при БКР преобладают поверхностные формы (75%), узловая форма БКР выявлена в 25% наблюдений (рис. 1).

В случаях с ПКР в 16% случаях отмечена веретеноклеточная форма, в остальных 84% диагностирована акантолитическая форма (рис. 2).

Исследования проводились до оперативного вмешательства, на 1, 3, 5, 7, 10 сутки после операции и спустя 18 месяцев. Для сравнения изучены те же показатели 17 здоровых добровольцев (I группа сравнения) и 20 больных, оперированных по поводу дерматофибромы (II группа сравнения), того же возраста и пола. Во всех наблюдениях была выявлена простая фиброзная гистиоцитома (дерматофиброма) (рис. 3). Изучение показателей при фиброме проводилось в те же сроки. Диагноз

верифицирован гистопатологически до операции. Операция проводилась под местной анестезией, при раке - широкое иссечение области опухоли, при фиброме – иссечение образования.

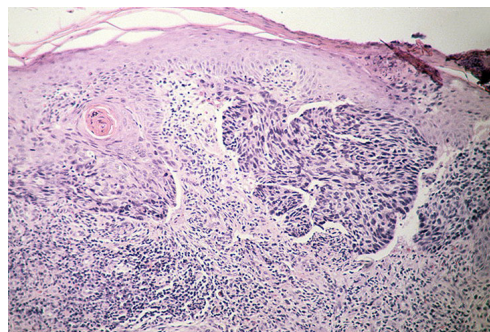


Рис. 1. Базальноклеточный рак кожи. Окраска гематоксилином и эозином, X100

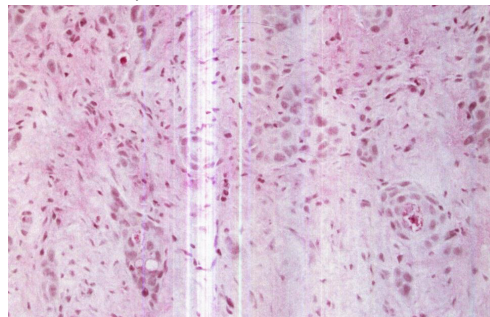


Рис. 2. Акантолитическая форма рака кожи. Окраска гематоксилином и эозином, X 100

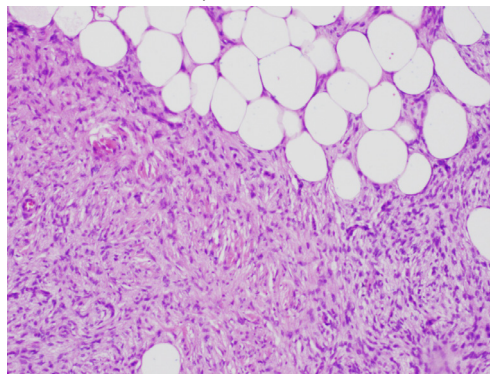


Рис. 3. Дерматофиброма. Окраска гематоксилином и эозином, X100

Критерием включения в исследование явилось наличие неоплазии кожи соответствующее T1-2N0M0 по ВОЗ. Критериями исключения - диссеминация процесса, наличие метастазов в лимфатических узлы и внутренние органы, химио- и лучевая терапия, инфаркты миокарда или головного мозга в анамнезе.

От пациентов получено информированное письменное согласие на участие в исследовании согласно Хельсинкской Декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013). Исследование одобрено комиссией университета по биоэтике.

Уровень ингибитора металлопротеиназ-1 определялся иммуноферментным методом с применением реактивов R&D Diagnostics Inc. (США). Детекцию MMP проводили с помощью стандартных наборов для прямого иммуноферментного анализа: «Human/Mouse/Rat MMP-2 (total)», «Human MMP-7 (total)», «Human MMP-9 (total)» (все Quantikine®, «R&D Systems», USA) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом универсальном ридере для микропланшета ELX800 («Bio-Tec Instruments, Inc.», USA).

Результаты исследования статистически обработаны с использованием программ «Statistica 6.0» и «Excel» (Microsoft, 2003).

Результаты и их обсуждение. Результаты исследований при базалиоме кожи и группы сравнения представлены в таблице 1.

Из данных таблицы 1 явствует, что до начала операции в обеих группах отмечалось значительное, статистически достоверное увеличение всех исследуемых показателей в сравнении с данными, полученными в группе относительно здоровых лиц. Необходимо отметить, что в группе с БКР

кожи на предоперационном этапе эти показатели значительно, более чем в три раза, был выше аналогичных показателей, полученных в группе пациентов с простой фиброзной гистиоцитомой.

На первые послеоперационные сутки существенных изменений в анализируемых показателях обеих сравниваемых групп не выявлено, показатели не отличались от данных, полученных до начала оперативного лечения.

На 3 сутки после операции выявлено: в группе больных с БКР существенных сдвигов не выявлено, исследуемые показатели почти не отличались от данных, полученных ранее. В тоже время, в группе с фибромой кожи имело место статистически достоверное снижение активности ингибирующего фактора TIPMs-1, который был в соответствии с данными, полученными в I группе сравнения. Происходило снижение показателей TIPMs-1 и MMP-2, MMP-7 и MMP-9, однако они сохранились на статистически достоверно высоком уровне в сравнении с данными у здоровых лиц (таблица 2).

На 5 сутки после операции в группе с фибромой кожи отмечается восстановление всех исследуемых показателей до уровня у здоровых лиц. В группе больных БКР отмечалось снижение показателя TIPMs-1, однако, он оставался на статистически достоверно высоком уровне в сравнении с данными I группы сравнения. Остальные показатели существенно не отличались от данных, полученных на 3 сутки после операции (таблица 3).

Таблица 1. Показатели тканевого ингибитора металлопротеиназ-1, MMP-2, -7, -9 в крови у пациентов с БКР кожи и дерматофибромой до начала операции (M±m)

Исследуемые показатели крови	Результаты в группах		
	БКР (n=39)	здоровые (n=17)	фиброма кожи (n=20)
TIPMS-1, нг/мл	1234,1±0,3*	789±0,4	881±0,2*
MMP-2, нг/мл	423±0,2*	254±0,3	321±0,3*
MMP-7, нг/мл	8,4±0,3*	3,8±0,2	4,2±0,1*
MMP-9, нг/мл	678±0,2*	396±0,2	423±0,2*

примечание: * – статистически достоверные различия (p<0,05) с данными у здоровых лиц

Таблица 2. Показатели тканевого ингибитора металлопротеиназ-1, MMP-2, -7, -9 в крови у пациентов с БКР кожи и дерматофибромой на 3 сутки после операции (M±m)

Исследуемые показатели крови	Результаты в группах		
	БКР (n=39)	Здоровые (n=17)	фиброма кожи (n=20)
TIPMS-1, нг/мл	1235,3±0,3*	789±0,4	784 ± 0,2
MMP-2, нг/мл	426±0,2*	254±0,3	289 ± 0,3*
MMP-7, нг/мл	8,6±0,3*	3,8±0,2	4,1 ± 0,1*
MMP-9, нг/мл	681±0,2*	396±0,2	403 ± 0,2*

примечание: * – статистически достоверные различия (p<0,05) с данными у здоровых лиц

Таблица 3. Показатели тканевого ингибитора металлопротеиназ-1, MMP-2, -7, -9 в крови у пациентов с БКР кожи и дерматофибромой на 5 сутки после операции (M±m)

Исследуемые показатели крови	Результаты в группах		
	БКР (n=39)	здоровые (n=17)	фиброма кожи (n=20)
TIPMS-1, нг/мл	893,3±0,3*	789±0,4	784 ± 0,2
MMP-2, нг/мл	424±0,2*	254±0,3	256 ± 0,3
MMP-7, нг/мл	8,5±0,3*	3,8±0,2	3,7 ± 0,1
MMP-9, нг/мл	683±0,2*	396±0,2	394 ± 0,2

примечание: * – статистически достоверные различия (p<0,05) с данными у здоровых лиц

На 7 сутки после операции в группе с фибромой кожи существенных сдвигов в показателях не выявлено, данные практически идентичны результатам, полученным на 5 сутки. При БКР кожи происходили следующие сдвиги: показатель TIPMS-1 не изменился и остался на уровне предыдущих суток, показатели MMP-2, MMP-7 и MMP-9 снизились, однако были статистически достоверно повышенными в сравнении с данными I группы сравнения (таблица 4).

На 10 сутки после операции и в более отдаленном постоперационном периоде существенных отклонений в исследуемых показателях не отмечено, в обеих группах результаты идентичны полученным на 7 сутки наблюдения.

Таким образом, проведенные исследования показывают, что БКР кожи сопровождается увеличением уровня как ингибитора тканевых металлопротеиназ-1, так и матричных металлопротеиназ в крови.

Результаты исследований эндогенного тканевого TIPMS-1

и матричных MMP при плоскоклеточном раке кожи (сквамозный тип) в группах сравнения представлены в таблице 5.

Из данных, представленных в таблице 5, следует, что при дерматофибrome в период до начала оперативного лечения отмечается увеличение всех исследуемых показателей в 1,5 раза в сравнении с данными от здоровых лиц. При ПКР кожи отмечается значительное увеличение всех показателей в сравнении как со здоровыми лицами, так и с данными, полученными при дерматофибrome, что указывает на наличие патогенетической связи изменений в показателях TIPMS-1 и MMP-2, MMP-7 и MMP-9 при развитии ПКР кожи.

В первые сутки после операции в группе оперированных по поводу ПКР кожи зарегистрировано статистически достоверное увеличение всех исследуемых показателей в сравнении с данными здоровых лиц. В группе с дерматофибромой все показатели практически идентичны таковым до начала оперативного лечения (таблица 6).

Таблица 4. Показатели тканевого ингибитора металлопротеиназ-1, MMP-2, -7, -9 в крови у пациентов с БКР кожи и дерматофибромой на 7 сутки после операции (M±m)

Исследуемые показатели крови	Результаты в группах		
	БКР (n=39)	здоровые (n=17)	фиброма кожи (n=20)
TIPMS-1, нг/мл	893,3±0,3*	789 ± 0,4	784 ± 0,2
MMP-2, нг/мл	314 ± 0,2*	254 ± 0,3	256 ± 0,3
MMP-7, нг/мл	4,5 ± 0,3*	3,8 ± 0,2	3,7 ± 0,1
MMP-9, нг/мл	433 ± 0,2*	396 ± 0,2	394 ± 0,2

примечание: * – статистически достоверные различия (p<0,05) с данными у здоровых лиц

Таблица 5. Показатели тканевого ингибитора металлопротеиназ-1, MMP-2, -7, -9 в крови у пациентов с ПКР кожи и дерматофибромой до начала оперативного лечения (M±m)

Исследуемые показатели крови	Результаты в группах		
	ПКР (n=39)	здоровые (n=17)	фиброма кожи (n=20)
TIPMS-1, нг/мл	1457,3±0,3*	789 ± 0,4	879 ± 0,2*
MMP-2, нг/мл	616 ± 0,2*	254 ± 0,3	312 ± 0,3*
MMP-7, нг/мл	10,4 ± 0,3*	3,8 ± 0,2	4,1 ± 0,1*
MMP-9, нг/мл	864 ± 0,2*	396 ± 0,2	412 ± 0,2*

примечание: * – статистически достоверные различия (p<0,05) с данными у здоровых лиц

Таблица 6. Показатели тканевого ингибитора металлопротеиназ-1, MMP-2, -7, -9 в крови у пациентов с ПКР кожи и дерматофибромой в первые сутки после операции (M±m)

Исследуемые показатели крови	Результаты в группах		
	ПКР (n=39)	здоровые (n=17)	фиброма кожи (n=20)
TIPMS-1, нг/мл	1986,4±0,3*	789 ± 0,4	880 ± 0,2*
MMP-2, нг/мл	741 ± 0,2*	254 ± 0,3	315 ± 0,3*
MMP-7, нг/мл	12,3 ± 0,3*	3,8 ± 0,2	4,3 ± 0,1*
MMP-9, нг/мл	952 ± 0,2*	396 ± 0,2	414 ± 0,2*

примечание: * – статистически достоверные различия (p<0,05) с данными у здоровых лиц

Таблица 7. Показатели тканевого ингибитора металлопротеиназ-1, MMP-2, -7, -9 в крови у пациентов с ПКР кожи и дерматофибромой на 3 сутки после операции (M±m)

Исследуемые показатели крови	Результаты в группах		
	ПКР (n=39)	здоровые (n=17)	фиброма кожи (n=20)
TIPMS-1, нг/мл	1986,4±0,3*	789 ± 0,4	787 ± 0,2
MMP-2, нг/мл	741 ± 0,2*	254 ± 0,3	299 ± 0,3*
MMP-7, нг/мл	12,3 ± 0,3*	3,8 ± 0,2	4,2 ± 0,1*
MMP-9, нг/мл	952 ± 0,2*	396 ± 0,2	401 ± 0,2*

примечание: * – статистически достоверные различия (p<0,05) с данными у здоровых лиц

Таблица 8. Показатели тканевого ингибитора металлопротеиназ-1, MMP-2, -7, -9 в крови у пациентов с ПКР кожи и дерматофибромой на 5 сутки после операции (M±m)

Исследуемые показатели крови	Результаты в группах		
	ПКР (n=39)	здоровые (n=17)	фиброма кожи (n=20)
TPMS-1, нг/мл	1986,4±0,3*	789 ± 0,4	787 ± 0,2
MMP-2, нг/мл	741 ± 0,2*	254 ± 0,3	249 ± 0,3
MMP-7, нг/мл	12,3 ± 0,3*	3,8 ± 0,2	3,6 ± 0,1
MMP-9, нг/мл	952 ± 0,2*	396 ± 0,2	391 ± 0,2

примечание: * – статистически достоверные различия ($p < 0,05$) с данными у здоровых лиц

Таблица 9. Показатели тканевого ингибитора металлопротеиназ-1, MMP-2, -7, -9 в крови у пациентов с ПКР кожи и дерматофибромой спустя 10 суток после операции (M±m)

Исследуемые показатели крови	Результаты в группах		
	ПКР (n=39)	здоровые (n=17)	фиброма кожи (n=20)
TPMS-1, нг/мл	1454,2±0,3*	789 ± 0,4	787 ± 0,2
MMP-2, нг/мл	612 ± 0,2*	254 ± 0,3	249 ± 0,3
MMP-7, нг/мл	10,2 ± 0,3*	3,8 ± 0,2	3,6 ± 0,1
MMP-9, нг/мл	862 ± 0,2*	396 ± 0,2	391 ± 0,2

примечание: * – статистически достоверные различия ($p < 0,05$) с данными у здоровых лиц

На 3 сутки после операции при сквомозном раке кожи существенных изменений не выявлено. При дерматофибrome отмечено статистически достоверное снижение показателя TPMS-1, который соответствует данным в I группе сравнения. Снижается также показатель тканевого ингибитора и MMP-2, -7, -9, однако они остаются достоверно повышенными в сравнении с данными у здоровых лиц (таблица 7).

На 5 сутки после операции в группе с ПКР кожи изменений в анализируемых показателях не выявлено. В группе больных дерматофибромой отмечалось статистически достоверное снижение MMP-2, -7 и -9, соответствующее данным у здоровых лиц (таблица 8).

Существенные сдвиги в уровне исследуемых показателей в двух сравниваемых группах на 7 сутки после операции не отмечено, показатели соответствовали результатам, полученным на 5 сутки. В группе пациентов, оперированных по поводу фибромы кожи спустя 10 суток после операции изменений не выявлено, в группе с ПКР кожи отмечалось снижение уровня всех исследуемых показателей, однако они были выше данных в I группе сравнения (таблица 9).

В отдаленном послеоперационном периоде изменений в анализируемых показателях у больных двух групп не выявлено.

Таким образом, в результате исследования установлено, что в патогенезе развития ПКР кожи особое значение отводится изменениям в показателях TPMS-1, MMP-2, -7 и -9. Оперативное удаление доброкачественных опухолей приводит к коррекции данных показателей в послеоперационном периоде, при БКР кожи – к снижению исследуемых показателей, а при ПКР не приводит к нормализации данных показателей, которые были повышенными как в ближайшем, так и в отдаленном послеоперационном периоде.

Проведенные исследования выявили, что при эпителиальных и мезинхимальных опухолях показатели MMP имеют важное значение, особенно в патогенезе развития эпителиальных опухолей. Увеличение TPMS-1 и MMP-2, -7 и -9 отмечено в послеоперационном периоде как в случае злокачественного, так и доброкачественного роста. Следует отметить, что увеличение данных показателей зависит от злокачественности опухоли. В группе с доброкачественными образова-

ниями кожи увеличение было минимальное, а в группе с ПКР кожи – максимальное. Исходя, из полученных данных следует предположить, что каждая опухоль продуцирует в кровь TPMS-1, MMP-2, MMP-7 и MMP-9 и их количество зависит от характера злокачественности опухоли. В ходе проведенного исследования установлено, что хирургическое лечение при доброкачественных опухолях приводит к коррекции и нормализации данных показателей: при поверхностных и узловых формах БКР кожи – лишь к частичному уменьшению MMP, а при веретенчаточной и акантолитической формах ПКР кожи показатели остаются без изменений, следовательно, лишь хирургическое лечение при злокачественных новообразованиях кожи не способствует положительному результату. Тканевые коллагеназы – MMP-1 гидролизуют коллаген IV типа – основу базальной пластинки в дермоэпидермальном соединении, способствуя интраэпителиальной и глубокой инвазии. MMP-2 и MMP-9 разрушают коллаген IV типа, что способствует глубокому поражению эпителиальных клеток от мембран и сосудистой инвазии. MMP-2 и MMP-9 высвобождают также ряд ангиогенных факторов, в том числе MMP-9, VEGF, который считается основным поликлональным индуктором ангиогенеза. Активность MMP в тканях регулируется тканевыми активаторами и ингибиторами – TPMS [9]. Необходимым условием нормального протекания физиологических процессов в межклеточном матриксе является поддержание равновесия между активностью MMP и их ингибиторов. Нарушение этого равновесия может оказывать глубокое воздействие на состав межклеточного матрикса и влиять на различные функции клеток, включая адгезию, миграцию и дифференциацию [6].

Выводы. 1. В патогенезе развития эпителиальных и мезинхимальных опухолей важное значение имеет увеличение показателей MMP, TPMS-1 и MMP-2, -7 и -9, увеличение данных показателей зависит от злокачественности опухоли, что может служить для дифференциальной диагностики опухоли кожи.

2. Хирургическое лечение при доброкачественных опухолях приводит к коррекции и нормализации данных показателей: при поверхностных и узловых формах БКР кожи – лишь к частичному уменьшению MMP, а при веретенчаточной и акантолитической формах ПКР кожи показатели остаются без изменений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аракелян А.Э., Кученкова И.А. Клинико-эпидемиологические аспекты злокачественных новообразований кожи век в Челябинской области. Вестник Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области. 2014; 1-2: С. 7-11.
2. Балахонов С.И., Иорданишвили А.К., Черныш В.Ф., Рыжак Г.А., Дьяконов М.М. Возрастные особенности клинического течения базальноклеточного рака кожи лица. Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. 2014; 4: 35-39.
3. Кубанов А.А., Кондрахина И.Н., Грибанов Н.В. Применение метиламинолеулата в фотодинамической терапии больных с базальноклеточным раком кожи // Вестник дерматологии и венерологии. 2015; 1: 32-40.
4. Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С. Исследование матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в опухолях и периферической крови онкологических больных. Клинические перспективы. Лабораторная служба. 2013; 1: 25-38.
5. Нугманов В.З., Бекмуратова Э.Э., Миноваров Н.Ш., Рахимов Б.Б. Сравнительная эффективность методов лечения рака кожи. Врач-аспирант. 2010; 6.3 (43): 369-374.
6. Рогова Л.Н., Шестернина Н.В., Замечник Т.В. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор). Вестник новых медицинских технологий. 2011; 2: 86-89.
7. Самуленко А., Мордовский А., Поляков А. Современная стратегия лечения базальноклеточного рака кожи головы и шеи. Врач. 2017; 12: 5-8.
8. Сергеев Ю.Ю., Олисова О.Ю., Сергеев В.Ю. Возможности ранней диагностики и профилактики злокачественных кожи. Фарматека. 2016; 52: 17-21.
9. Тимошенко О.С., Кугаевская Е.В., Гуреева Т.А. и др. Матриксные металлопротеиназы-2 и -9, их эндогенные регуляторы и ангиотензинпревращающий фермент при плоскоклеточной карциноме шейки матки. Архив патологии. 2015; 77(5): 31-35.
10. Duff у M.J. Proteases as prognostic markers in cancer. Clin Cancer Res. 1996; 2 (4): 613-618.
11. Zucker S., Vacirca J. Role of matrix metalloproteinases (MMPs) in colorectal cancer. Cancer Metastasis Rev. 2004; 23(1-2): 101-117.

SUMMARY

VALUE OF METALLOPROTEINASES OF BLOOD IN PATHOGENESIS OF EPITELIAL SKIN TUMORS AND THE POSSIBILITY OF THEIR SURGICAL CORRECTION

Maslyakov V., Kim L.

Private educational institution of the higher education "Saratov medical university "REAVIZ", Ministry of higher education and science, Saratov, Russia

Research objective - to carry out studying of changes of metalloproteinases of blood at patients with epithelial cancer of skin in the postoperative period.

Changes of TIMP-1 and MMP-2, MMP-7 and MMP-9 of blood it has been studied at 98 patients with various cancer of skin whose age was 55±3 years. From them bazalnokletochny cancer of skin – at 39 people, planocellular cancer is skin – at 39 patients. Researches were conducted before expeditious treat-

ment, in the first postoperative days, for the fifth, seventh, tenth postoperative days and in 18 months after the undergone operation. For comparison at 20 patients operated with skin fibroma. Studying of indicators was carried out for the same days. At all patients the diagnosis is confirmed morphologically before performing expeditious treatment. Expeditious treatment was carried out under local anesthesia, at cancer broad excision of education was carried out, at fibroma – education excision.

The conducted researches of indicators of inhibitor of metalloproteinases-1, matriksny metalloproteinases of blood at patients with various skin tumors show that in pathogenesis of development of a tumor of epithelialny tumors the great value is given to increase in inhibitor of metalloproteinases-1, matriksny metalloproteinases of blood. So, it is established that prior to expeditious treatment in all groups, both malignant, and good-quality increase in all studied indicators has been registered. It should be noted that increase in these indicators depended on malignancy of a tumor. So, in group with good-quality formations of skin this increase was minimum, and in group with planocellular cancer of skin – maximum. It is possible to assume that each tumor produces in TIMP-1, MMP-2, MMP-7 and MMP-9 blood, and this quantity depends on the nature of malignancy of a tumor. Besides, in the course of the research it has been established that performance of surgical treatment at benign tumors is led to correction of this indicator that it is shown by normalization of these indicators. At the same time at bazalnokletochny cancer of skin only to partial decrease in an indicator, and at planocellular cancer of skin these indicators didn't change. From this it is possible to make the conclusion that surgical treatment doesn't lead to correction of these indicators at malignant new growths of skin.

Keywords: endothelial skin tumors, inhibitor of metalloproteinases-1, matrix metalloproteinases of blood, postoperative period.

РЕЗЮМЕ

ЗНАЧЕНИЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ КРОВИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ КОЖИ И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ ХИРУРГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

Масляков В.В., Ким Л.М.

Частное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский медицинский университет «РЕАВИЗ», Министерства высшего образования и науки РФ, Саратов, Россия

Цель исследования - определить изменения металлопротеиназ крови у больных эпителиальным раком кожи в послеоперационном периоде.

Изменения матриксных металлопротеиназ (ММР) крови изучены у 98 больных в возрасте 55±3 лет с различным фенотипом рака кожи. Базальноклеточный рак кожи определен у 39, плоскоклеточный рак кожи – также у 39 пациентов. Исследования проводились до операции, в 1,3,5,7,10 сутки после операции и спустя 18 месяцев. Для сравнения обследовано 20 больных, оперированных по поводу дермофибром, которым проводились идентичные исследования. У всех больных диагноз подтвержден гистопатологически до операции. Оперативное лечение выполнялось под местной анестезией, при раке проводилось широкое иссечение образования, при фиброме – иссечение только образования.

Проведенные исследования показателей ингибитора MMP-1, а также MMP при различных опухолях кожи показали, что в патогенезе развития эпителиальных опухолей

большое значение придается возрастанию уровня тканевых ингибиторов ММР-1. Установлено, что до операции во всех группах, как с злокачественными, так и доброкачественными новообразованиями зарегистрировано повышение уровня всех исследуемых показателей, независимо от степени злокачественности опухоли.

В процессе исследования установлено, что хирургическое лечение при доброкачественных опухолях кожи приводит к коррекции показателей ММР, что проявляется в нормализации их содержания. При базальноклеточном раке кожи наблюдается лишь частичное снижение ММР, в случаях плоскоклеточного рака кожи данные показатели не изменялись. Следовательно, при злокачественных новообразованиях кожи хирургическое лечение не приводит к нормализации показателей матричных металлопротеиназ, основного вещества в структуре кожи.

რეზიუმე

სისხლის მეტალოპროტეინაზების მნიშვნელობა კანის ეპითელიური სიმსივნეების პათოგენეზში და ქირურგიული კორექციის შესაძლებლობა

ვ. მასლიაკოვი, ლ. კიმი

კერძო უმაღლესი საგანმანათლებლო დაწესებულება “სარატოვის სამედიცინო უნივერსიტეტი “რეაიზ”, რუსეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სისხლის მეტალოპროტეინაზების ცვლილებების შეფასება კანის ეპითელიური სიმსივნით ავადმყოფებში პოსტოპერაციულ პერიოდში.

სისხლის მატრიქსული მეტალოპროტეინაზები (მპპ) შესაწავლილია 55±3 წლის ასაკის 98 ავადმყოფში კანის კიბოს სხვადასხვა ფენოტიპით. ბაზალურუჯრედოვანი კიბო განესაზღვრა 39 პაციენტს, ბრტყელუჯრედოვანი – ასევე, 39-ს. კვლევები ჩატარდა ოპერაციამდე, ოპერაციის შემდგომ 1, 3, 5, 7, და 10 დღე-ღამის და 18 თვის შემდეგ. შედარებისათვის გამოკვლეულია დერმოფიბრომის გამო ნაოპერაციები 20 პაციენტი, რომელთაც ჩაუტარდა იდენტური კვლევები. ყველა ავადმყოფის დიაგნოზი ოპერაციამდე დადასტურებულია ჰისტოპათოლოგიურად. ოპერაციული მკურნალობა ტარდებოდა ადგილობრივი ანესთეზით; კიბოს შემთხვევაში ჩატარდა ახალწარმონაქმნის ფართოდ ამოკვეთა, ფიბრომის დროს – იკვეთებოდა მხოლოდ ახალწარმონაქმნი.

მპპ-ის ინჰიბიტორის, ასევე მპპ-ის გამოკვლევამ კანის სხვადასხვა სიმსივნის დროს გამოავლინა, რომ ეპითელიური სიმსივნეების პათოგენეზში დიდი მნიშვნელობა აქვს მპპ-ის ქსოვილოვანი ინჰიბიტორების მატებას. დადგენილია, რომ ოპერაციამდე ყველა ჯგუფში – როგორც ავთვისებიანი, ასევე კეთილთვისებიანი სიმსივნეებით, აღინიშნა ყველა გამოკვლეული პარამეტრის მომატება, სიმსივნის ავთვისებიანობის ხარისხისაგან დამოუკიდებლად. დადგენილია, რომ კანის კეთილთვისებიანი სიმსივნეების ქირურგიული მკურნალობა განსაზღვრავს მპპ-ის მაჩვენებლების კორექციას, რაც ვლინდება მათი შემცველობის ნორმალიზაციით. ამასთან, კანის ბაზალურუჯრედოვანი კიბოს დროს აღინიშნება მპპ-ის მხოლოდ ნაწილობრივი შემცირება, ბრტყელუჯრედოვანი კიბოს დროს კი ეს მაჩვენებლები არ იცვლება. შესაბამისად, კანის ავთვისებიანი ახალწარმონაქმნების ქირურგიული მკურნალობა არ იწვევს მპპ-ის – კანის სტრუქტურის ძირითადი ნივთიერების, მაჩვენებლების ნორმალიზებას.

USING OF NOVEL DOUBLE INVAGINATED PANCREATOJEJUNOSTOMY TECHNIQUE WITH TRANSANASTOMOTIC STENTING AND EXTERNAL PANCREATIC DUCT DRAINAGE: PRELIMINARY REPORT

¹Kiladze M., ²Mizandari M., ¹Kepuladze O.

¹Georgia-Israel Joint Clinic “Gidmedi”, ²“New-Hospitals”, Tbilisi, Georgia

Despite the fact, that pancreatic duct (PD) is definitely difficult and complex surgical technique still associated with high mortality and morbidity, this operative procedure remains to be the treatment of choice and the best chance for management and survival in patients with resectable periampullary and pancreatic head tumors. Following the PD the pancreatic anastomosis, which is the most important component of reconstruction, carries the highest risk of leak and cause of morbidity and mortality. The incidence of postoperative pancreatic fistula (POPF) rate is estimated to be 5% to 30% and so, the pancreatic anastomosis is still “Achilles” heel of pancreatic surgery [3,7,11,18].

More than 80 different methods of pancreaticoenteric reconstruction from very simple to more elaborate multi-layer anastomosis have been proposed, illustrating the complexity of surgical techniques as well as the absence of the “ideal” pan-

creatic anastomosis and gold standard [2,11,18]. Recently after the overall and systematic review of special literature of evolution of pancreato-digestive anastomosis following PD it was concluded, that achieving a “zero percent” of POPF rate remains a “dream” of every pancreatic surgeon [3].

Material and methods. Our data from 2013 to 2018 include the last series of 30 cases of PD for 15 pancreatic and 15 ampullary tumors. There were 12 females and 18 males (average age 57, range 43-78 years). The standard “classic” Whipple procedure was performed at 18 cases and “modified” pylorus-preserving variant (ppPD) – in 12 cases. 29 cases of pancreaticojejunostomy and 1 pancreaticogastrostomy were created. In the our last series the percutaneous biliary drainage procedure was performed at 18 cases and dual: biliary + pancreatic duct decompression - 6 times and so, in 23 cases the biliary drainage was used as transanastomotic stent during hepaticojejunostomy and in 5 cases

(1 case of dual drainage was unresectable) the pancreatic duct drainage was also used as transtanastomotic stent at our method of performing the double invaginated pancreatojejunostomy, which is described below.

Procedure of Double Invaginated Pancreatojejunostomy (DIPJ)

The pancreatojejunostomy creation is to begin after the appropriate mobilization and preparation of proximal jejunum and pancreatic remnant. The pancreatic duct drainage tube is inserted into the lumen of jejunum and I invagination is started by means of first two sutures. The needles are passed through the jejunum from outward to the inside and then followed by S-shaped sutures at the pancreas. These sutures are placed by 2 cm off cut edges (Fig.1, 1a).

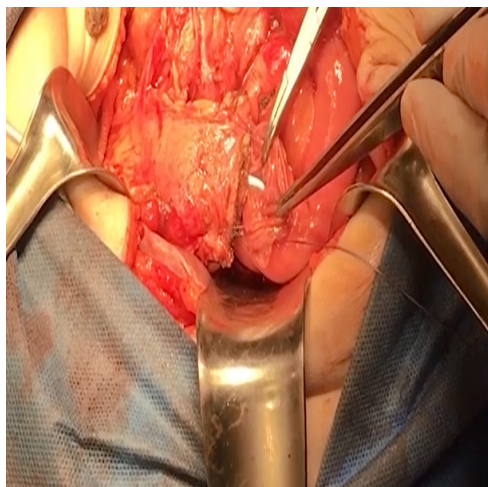
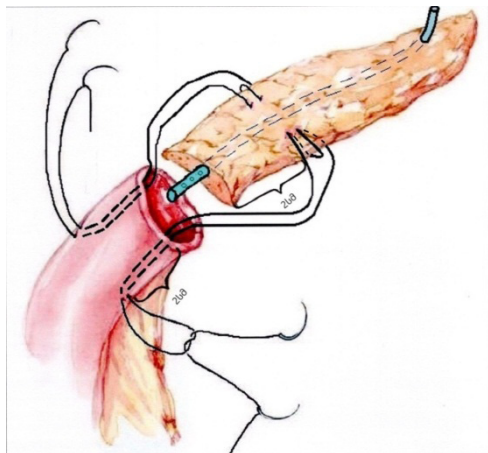


Fig.1, 1a. Schematic and Intraoperative view of I invagination sutures of DIPJ

By gently pushing of jejunal limb and simultaneous tightening of the sutures the pancreatic remnant easily slide (“parachuting”) into the lumen of jejunum and after tying the knots there is a good and thick fixation and adaptation of jejunal wall and pancreas tissue with each other. As a result the pancreatic remnant is invaginated at 4 cm into the jejunal lumen (Fig. 2, 2a).

Thereafter the II invagination is started by means of four U-shaped sutures (middle and corners), which are placed at jejunum by 1cm off cut end of jejunal wall with transpancreatic passing of sutures (Fig. 3, 3a).

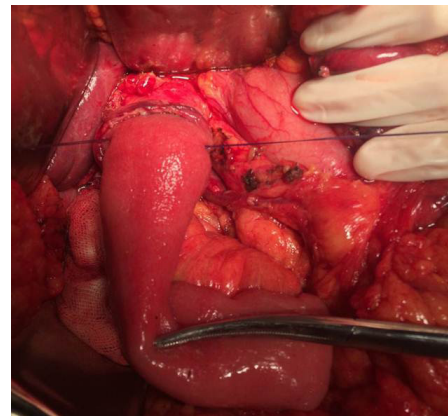
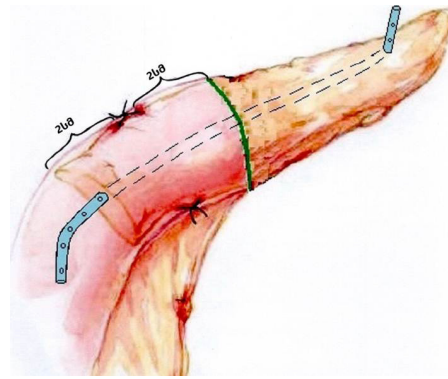


Fig.2, 2a. Schematic and Intraoperative view of I invagination row of DIPJ

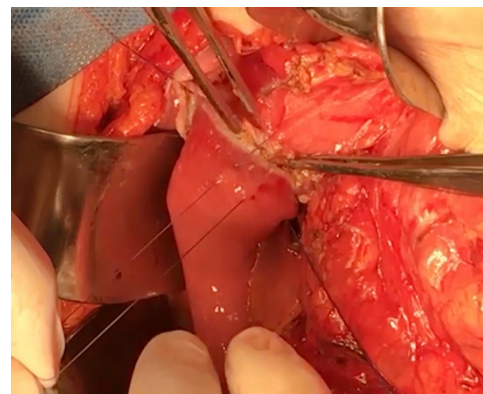
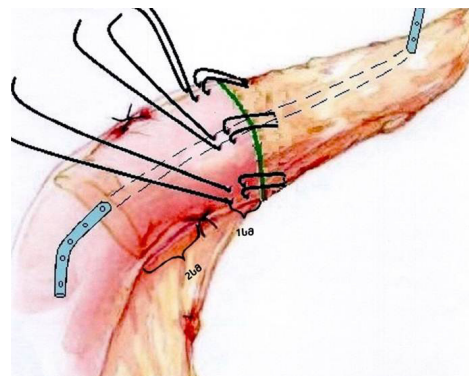


Fig.3, 3a. Schematic and Intraoperative view of II invagination sutures of DIPJ

After tying these knots the 1 cm of serous-muscular cuff is formed, which provides circularly very firm and thick touch and contact with the pancreas stump without dead space between them (Fig.4,4a).

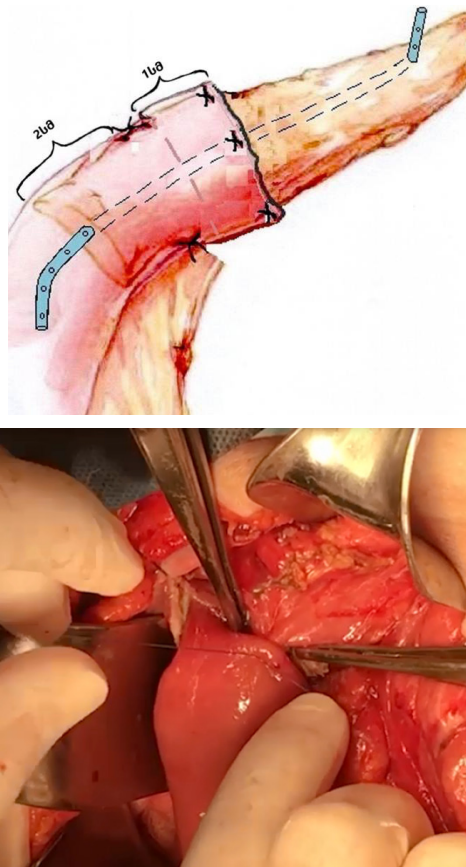


Fig. 4, 4a. Schematic and Intraoperative view of II invagination row of completed DIPJ

Thus, the introduced anastomosis is “end to end” double invaginated pancreatojejunostomy like “double lock” device with transanastomotic stenting and external pancreatic duct drainage, which is characterized by the following advantages (Authorship Certificate N7412 Republic of Georgia):

- is simple and easy to teach and perform
- is hermetic and thereafter safe anastomosis
- there is a good “serosal” touch and adaptation
- it takes short operative time (mean - 10 min)
- it is applicable almost to all situations
- minimal traumatizing of pancreas
- unobstructed passage for the flow of the pancreatic secretions

Results and their discussion. There was no operative mortality in our whole series of PD. Three patients developed surgical site infection, 2 - dehiscence of abdominal wound closure and 3 patients experienced pancreatic leak and abscess, which required interventional radiologic and intensive care management. Two patients required reinterventional surgical procedure: 1 case of necrohaemorrhagic pancreatitis and 1- of erosive bleeding and 5 patients died at follow up period (6 months – 3 years). The main operative time was 5 hours and the median length of stay was 12 days overall. There was no postoperative pancreatic fistula in our last series of PD (our 5 last cases), where preoperative

biliary and pancreatic duct drainage and our modified double invaginated pancreatojejunostomy was performed. The transanastomotic biliary and pancreatic catheters were removed 3-4 weeks after surgery when control X-ray examination revealed complete capacity and leak resistance of both anastomoses without any contrast extravasation (Fig. 5, 5a).

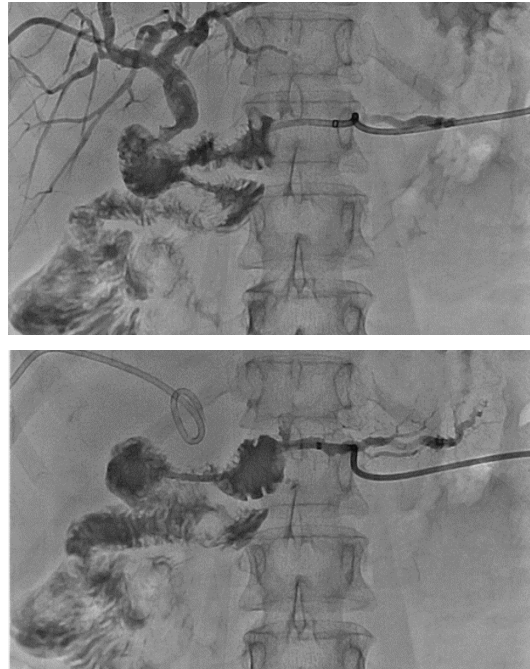


Fig.5, 5a. Cholangio- and pancreatography before catheters withdrawal

There is consensus among surgeons that pancreatic fistula is a leading cause of morbidity and mortality after pancreatoduodenectomy[2,3,5,6,11,12,18,20].Therefore over the years many considerable efforts and attempts were undertaken to mitigate these negative factors, associated with POPF by developing the optimal perioperative strategy (use of somatostatin,transanastomotic stents, magnification),improving the technique of performing the pancreatico-enteric anastomosis and introducing the different types and modifications of pancreatic anastomoses.Although the best method for dealing with the pancreatic stump after pancreatoduodenectomy remains in question, recent reports described the advantages of invagination method to decrease the rate of pancreatic fistula significantly compared to the duct-to-mucosa anastomosis [5,11,12,16,18]. That is why our interest was to develop very secure, the most simple, reliable and effective invaginated pancreatic anastomosis. Controversial question is still today the necessity of preoperative biliary drainage (PBD)and despite the fact,that there is as yet no optimal method for this procedure many surgeons welcome routine performing of PBD prior to PD. There are several reports in recent relevant literature, that percutaneous transhepatic biliarydrainage (PTBD) is superior and preferred to endoscopic retrograde biliarydrainage (ERBD) procedure[1,9]. But today, the main question,which needs to be clarified, is as follows: does the addition of pancreatic stenting contribute to a higher or lower morbidity after PD than biliary stenting alone? As regards the simultaneous biliary and pancreatic drainage, which is very rarely performed,their effect and influence on postoperative pancreatic fistula rate are largely unknown and

must be evaluated by surgeons[13,14,25].

M.Mizandari et al.,[14] recently have reported their experience of a total of 30 cases of percutaneous pancreatic duct drainage(PPDD) procedure with excellent results.They have concluded, that PPDD is a safe and effective procedure which can be used as an independent treatment option for pancreatic duct decompression or as a bridge to the subsequent procedures especially in cases, where endoscopic retrograde pancreatic duct cannulation fails or not feasible. Similar results were reported by other investigators with pancreatic duct drainage procedure [4,8].

Recently several studies have revealed, that external pancreatic duct drainage can effectively reduce the morbidity of POPF and the overall complications after PD [17,19,20,22,24,25]. This encouraging fact stimulate our group to use the previously percutaneously inserted pancreatic duct drainage tube as transanastomotic stent during performing our modified double invaginated pancreatojejunostomy and thereafter was using the PBD at hepaticojejunostomy.These transanastomotic external-internal stents at immediate postoperative period are operating like controllable and manageable catheters,which can be used for decompression, instillation and control X-ray cholangio- and pancreatography.

Conclusions. Based on our limited experience we can conclude, that preoperative percutaneous biliary and pancreatic drainage is feasible, safe, effective and realistic mini invasive procedure. Our analysis of early curative effect and outcomes has shown that external biliary and pancreatic duct drainage with a stents can effectively reduce the POPF and overall morbidity rates in patients undergoing pancreatoduodenectomy. Despite the fact, that our data is restricted, the preliminary results obtained with the described method of double invaginated pancreatojejunostomy with transanastomotic stent and external pancreatic duct drainage are very encouraging and indicate that this technique is less complicated and time consuming, very safe, simple, easy to perform and also applicable almost to all situations.

REFERENCES

1. Ahn KS, Kang KJ, Kim YH, et al. Impact of preoperative endoscopic cholangiography and biliary drainage in Ampulla of Vater cancer. *Surg Oncol.* 2018 Mar;27(1):82-87.
2. Azumi Y, Isaji S, Kato H, et al. A standardized technique for safe pancreatojejunostomy. Pair-Watch suturing technique. *World J Gastrointest Surg.* 2010 Aug 27; 2(8): 260–264.
3. Barreto S.G, Shukla P.J: Different types of pancreatico-enteric anastomosis. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2017 Nov 14; 2: 89.
4. Bataille L, Deprez P. A new application for therapeutic EUS: main pancreatic duct drainage with a “pancreatic rendezvous technique”. *Gastrointest Endosc.* 2002; 55(6): 740-3.
5. Chen XP, Qiu FZ, Zhang ZW et al. A new simple and safe technique of end-to-end invaginated pancreatojejunostomy with transpancreatic U-sutures--early postoperative outcomes in consecutive 88 cases. *Langenbecks Arch Surg.* 2009; 394(4): 739-44.
6. Chromik AM, Stülberg D, Belyaev O, Uhl W. Technical aspects of pancreatoenteric anastomosis. *Chirurg.* 2011; 82(1):14-25.
7. Coco D, Leanza S. Pancreatojejunostomy vs pancreaticogastrostomy reconstruction following pancreatoduodenectomy: meta-analysis of various techniques to prevent pancreatic fistula after duodeno-pancreatotomy. *Ann Digest Liver Dis.* 2018; 1(1): 1005.
8. Cope C, Tuite C, Burke DR, Long WB. Percutaneous management of chronic pancreatic duct strictures and external fistulas with long-term results. *J Vasc Interv Radiol.* 2001; 12(1):104-10.
9. Dorcaratto D, Hogan NM, Muñoz E, et al. Is Percutaneous Transhepatic Biliary Drainage Better than Endoscopic Drainage in the Management of Jaundiced Patients Awaiting Pancreaticoduodenectomy? A Systematic Review and Meta-analysis. *J Vasc Interv Radiol.* 2018; 29(5):676-687.
10. Kiladze MA, Antadze A, Chiqobava G, et al. Pancreatoduodenectomy as classic and pylorus-preserving variant: single center experience. *Georgian Med News* 2014; 4(229):7-10.
11. Kusnierz K, Mrowiec S, Lampe P: A Comparison of Two Invagination Techniques for Pancreatojejunostomy after Pancreatoduodenectomy. *Gastroenterol Res Pract.* 2015:894292.
12. Li T, Luo LX, Zhang C, et al.: End-to-End Invaginated Pancreatojejunostomy with Three Overlapping U-Sutures--A Safe and Simple Method of Pancreaticocenteric Anastomosis. *J Invest Surg.* 2015; 28(2):115-9.
13. Manipadam SM, Kadamapuzha HR. The Effect of Preoperative Biliary and Pancreatic Drainage on Postoperative Pancreatic Fistula: A Retrospective Cohort Study. *Surg J (N Y).* 2018; 4(1):e37-e42.
14. Mizandari M, Azrumelashvili T, Kumar J, Habib N: Percutaneous Image-Guided Pancreatic Duct Drainage:Technique, Results and Expected Benefits. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2017 Dec;40(12):1911-1920.
15. Moole H, Bechtold M, Puli SR. Efficacy of preoperative biliary drainage in malignant obstructive jaundice: a meta-analysis and systematic review. *World J Surg Oncol.* 2016;14(1):182.
16. Osada S, Imai H, Sasaki Y, et al. Reconstruction method after pancreatoduodenectomy. Idea to prevent serious complications. *JOP.* 2012; 13(1):1-6.
17. Patel K, Teta A, Sukharamwala P, et al.: External pancreatic duct stent reduces pancreatic fistula: a meta-analysis and systematic review. *Int J Surg.* 2014;12(8):827-32.
18. Peng SY, Wang JW, Li JT, et al. Binding pancreatojejunostomy – a safe and reliable anastomosis procedure. *HPB (Oxford).* 2004; 6(3):154-60.
19. Pessaux P, Sauvanet A, Mariette C, et al.: External pancreatic duct stent decreases pancreatic fistula rate after pancreatoduodenectomy: prospective multicenter randomized trial. *Ann Surg.* 2011; 253(5): 879-85.
20. Poon RT, Fan ST, Lo CM, et al. External drainage of pancreatic duct with a stent to reduce leakage rate of pancreatojejunostomy after pancreatoduodenectomy: a prospective randomized trial. *Ann Surg.* 2007; 246(3):425-35.
21. Sahora K, Morales-Oyarvide V, Ferrone C. Preoperative biliary drainage does not increase major complications in pancreatoduodenectomy: a large single center experience from the Massachusetts General Hospital. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2016; 23(3):181-7.
22. Schulick RD: Use of pancreatic duct stents after pancreatoduodenectomy. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2011; 18(6):775-8.
23. Umeda J, Itoi T. Current status of preoperative biliary drainage. *J Gastroenterol.* 2015; 50(9):940-54.
24. Wang G, Li L, Ma Y, et al. External versus internal pancreatic duct drainage for the early efficacy after pancreatoduodenectomy: a retrospectively comparative study. *J Invest Surg.* 2016; 29(4):226-33.
25. Zhao Y, Zhang J, Lan Z,et al. Are Internal or External Pancreatic Duct Stents the Preferred Choice for Patients Undergoing Pancreaticoduodenectomy? A Meta-Analysis. *Biomed Res Int.* 2017; 1367238.

SUMMARY

USING OF NOVEL DOUBLE INVAGINATED PANCREATOJEJUNOSTOMY TECHNIQUE WITH TRANSANASTOMOTIC STENTING AND EXTERNAL PANCREATIC DUCT DRAINAGE: PRELIMINARY REPORT

¹Kiladze M., ²Mizandari M., ¹Kepuladze O.

¹Georgia-Israel Joint Clinic "Gidmedi", ²"New-Hospitals", Tbilisi, Georgia

Following the pancreatoduodenectomy the pancreatic anastomosis, which is still "Achilles" heel of pancreatic surgery, carries the highest risk of leak and cause of morbidity and mortality. More than 80 different methods of reconstruction have been proposed, illustrating the complexity of surgical techniques as well as the absence of the "ideal" pancreatic anastomosis and gold standard up to date. Here, we describe the novel method of double invaginated pancreatojejunostomy with transanastomot-

ic stent and external pancreatic duct drainage. The preliminary results obtained with the described method are very encouraging and indicate that this technique is less complicated and time consuming, very safe, simple, easy to perform and also applicable almost to all situations.

Keywords: pancreatoduodenectomy, pancreatojejunostomy, transanastomotic stent, pancreatic fistula.

РЕЗЮМЕ

ПРИМЕНЕНИЕ НОВОЙ МЕТОДИКИ ДВОЙНОЙ ИНВАГИНАЦИИ ПАНКРЕАТОЕЮНОАНАСТОМОЗА С ТРАНСАНАСТОМОТИЧЕСКИМ СТЕНТИРОВАНИЕМ И НАРУЖНЫМ ДРЕНИРОВАНИЕМ ПАНКРЕАТИЧЕСКОГО ПРОТОКА: ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ СООБЩЕНИЕ

¹Киладзе М.А., ²Мизандари М.Г., ¹Кепуладзе О.Т.

¹Грузино-израильская совместная клиника „Гидмеди“, ²„Нью-Госпитал“, Тбилиси, Грузия

После панкреатодуоденальной резекции панкреатический анастомоз, который по сей день является "ахиллесовой" пятой панкреатической хирургии, представляет собой высокий риск недостаточности и является причиной осложнений и летальности. Более 80 предложенных различных методов реконструкции иллюстрируют как сложность хирургической техники, так и отсутствие до настоящего времени "идеального" панкреатического анастомоза и зо-

лотого стандарта. В статье описана новую методику двойной инвагинации панкреатојеюноанастомоза с трансанастомотическим стентированием и наружным дренированием протока. Предварительные результаты описываемого метода весьма обнадеживающие, указывают, что эта техника менее сложная, не требует много времени, более безопасная, проста в применении легкая в исполнении и практически выполнима во всех случаях.

რეზიუმე

ახალი ორმაგი ინვაგინაციით პანკრეატოეიუნონასტომოზი ტრანსანასტომოზური სტენტირებით და პანკრეასის სადინრის გარეთა დრენირებით: წინასწარი შეტყობინება

¹მ. კილაძე, ²მ. მიზანდარი, ¹ო. კეპულაძე

¹საქართველო-ისრაელის ერთობლივი კლინიკა „გიდმედი“, ²„ნიუ-ჰოსპიტალსი“, თბილისი, საქართველო

პანკრეატოდუდენალური რეზექციის შემდეგ პანკრეასის ანასტომოზი, რომელიც დღემდე პანკრეასის ქირურგიაში რჩება „აქილესის“ ქუსლად, წარმოადგენს უკმარისობის, გართულებების და ლეტალობის ყველაზე მაღალ რისკს. წარმოდგენილი 80-ზე მეტი სხვადასხვა რეკონსტრუქციის მეთოდი მიუთითებს როგორც ქირურგიული ტექნიკის სირთულეზე, ასევე „იდეალური“ პანკრეასის ანასტომოზის და ოქროს სტანდარტის არარსებობის გარემოებაზე. სტატიაში

აღწერილია ორმაგი ინვაგინაციით პანკრეატოეიუნონასტომოზის ახალი მეთოდიკა ტრანსანასტომოზური სტენტირებით და პანკრეასის სადინრის გარეთა დრენირებით. აღწერილი მეთოდის წინასწარი შედეგები საკმაოდ იმედისმომცემია და მიუთითებს ტექნიკის სიმარტივეზე, არ საჭიროებს დიდ დროს, უსაფრთხოა, მარტივად და ადვილად შესასრულებადია და გამოყენებადია პრაქტიკულად ყველა შემთხვევაში.

АНАЛИЗ ПРИЧИН СМЕРТНОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ В г. АЛМАТЫ

¹Дюсембеков Е.К., ^{1,2}Аханов Г.Ж., ¹Алиев М.А., ²Утеулиев Е.С., ²Сактапов А.К.

¹Казахский медицинский университет непрерывного образования, Алматы;

²Казахстанский медицинский университет «ВШОЗ», Алматы, Казахстан

Травма головного мозга является основной причиной смертности и инвалидности в США и составляет примерно 30% всех смертей от травм [9].

По данным 2013 г., ежедневно в Соединенных Штатах от черепно-мозговой травмы (ЧМТ) умирают 153 человека, выжившие сталкиваются с последствиями, часто продолжающимися почти до конца жизни, т.е. речь идет об инвалидности. В 2013 г. в США зарегистрировано около 2800000 случаев изолированных ЧМТ, из них 50000 летальных исходов, 282000 - стационарных больных, 2500000 случаев амбулаторных обращений [5,7]. В 2007-2013 гг. общее количество пациентов с ЧМТ увеличилось на 47%, число госпитализаций снизилось на 2,5%, а смертность - на 5%. В возрастной группе 65 лет и выше основной причиной смерти являлись падение. Насильственные травмы головы являются основной причиной смерти в возрасте 25-64 лет, ДТП - в возрасте 5-24 года [5].

В 2006 г. в Европе проведена обширная клинико-эпидемиологическая работа: выполнено 23 исследования за период 1980-2003 гг. В Европе случаи госпитализации больных с травмой головы составляют 235 случаев на 100000 населения в год, смертность - 15 случаев на 100000 человек в год (коэффициент смертности 2,7%) [8].

За период 2006-2013 гг. в Китае проведено большое статистическое исследование с охватом 161 населенного пункта [7], количество травм головы увеличилось с 76 до 83 млн., случаев т.е. от 5,8% до 6,3%, соответственно, от общей численности населения Китая, из них мужчины составили 50,3-51,1%. За исследуемый период летальность составила 93793 случая: 13,23 на 100000 населения в 2006 г., с подъемом до 17,06 на 100000 в 2008 г., и снижением до 12,99 случаев на 100000 населения в 2013 г. Основными причинами травмы за исследуемый период были ДТП (лица до 75 лет) и падение (старше 75 лет).

R. Christopher et al.; V. Jennett, R. Mc Millan и другие [4,6] отмечают, что 50-60% пострадавших с ЧМТ погибают до поступления в госпиталь и, следовательно, эпидемиологический анализ основывается только на сведениях о больных, находившихся на лечении в госпиталях и получивших амбулаторную помощь, т.е. переживших травму.

По сведениям, представленным патологоанатомическим учреждением г. Алматы, основными причинами смерти является острая декомпенсация мозгового кровообращения [3].

Учитывая увеличение частоты случаев ЧМТ и инвалидизации больных, а также отсутствие исследований в этом направлении, проблема весьма актуальна и ставит перед необходимостью проведения исследований в этом направлении.

Исходя из вышеизложенного, целью данного исследования явился анализ случаев черепно-мозговых травм в стационарах г. Алматы и факторов, являющихся причиной черепно-мозговой травмы с летальным исходом.

Материал и методы. Материалом исследования послужили клинические случаи пациентов, получивших ЧМТ и

погибших в стационарах г. Алматы за период 2012-2015 гг. Проанализировано 217 случаев: в 2012 г. - 56 больных, в 2013 г. - 48 больных, в 2014 г. - 51 больной, 2015 г. - 62 больных. Критерием включения пациентов в исследование считалось наличие изолированной ЧМТ. Проведена статистическая обработка полученных данных.

Расчет числа наблюдений, необходимых для получения достоверных относительных величин, произведен по формуле 1:

$$N = \frac{t^2 \cdot p \cdot q}{\Delta^2} \quad (1)$$

где N - требуемое число наблюдений;

t - критерий достоверности, равный 2 (при p = 95,0 %);

p - показатель распространенности явления;

q = 100 - p;

Δ - доверительный интервал.

Для определения достоверности полученных показателей рассчитывалась средняя ошибка показателя (формула 2):

$$m = \pm \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}} \quad (2)$$

где m - средняя ошибка показателя;

p - величина показателя;

q - величина, обратная показателю;

n - число наблюдений.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ SPSS версия 19.0 на персональном компьютере Asus Intel Core i5 2,8 ГГц.

Результаты и их обсуждение. Исследовано 217 пациентов с изолированной острой черепно-мозговой травмой, закончившихся летальным исходом, что составило 1,3 случаев на 100000 населения Алматы. Часть больных погибает до стационара, больные, находящиеся в агонии, умирают в первые минуты в приемном покое. На рис. 1 представлены данные о больных, умерших в первые минуты доставки в приемный покой и умерших после госпитализации в стационар. Как правило, они погибают в отделении реанимации и интенсивной терапии.

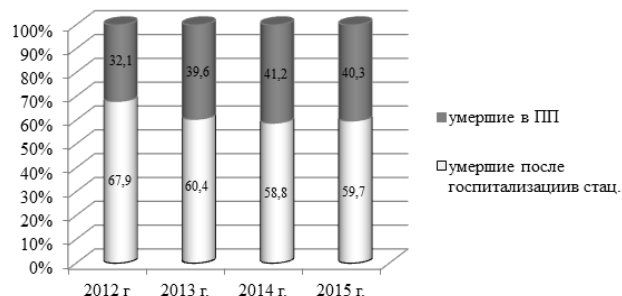


Рис. 1. Распределение умерших в стационаре

Соотношение числа погибших мужчин и женщин - 79,3% к 20,7%.

Данные диаграммы 2 указывают, что смертность среди мужчин в результате ЧМТ в 4 раза больше в сравнении с женщинами.

Таблица 1. Показатели летальности в результате ЧМТ с учетом возраста

Возраст	2012		2013		2014		2015		Всего	
	Абс.	% к «всего», М±m	Абс.	% к «всего», М±m	Абс.	% к «всего», М±m	Абс.	% к «всего», М±m	Абс.	% к «всего», М±m
15-17	0	0	2	4,2±2,9	1	1,9±1,9	1	1,6±1,59	4	1,8±0,9
18-44	28	50±6,68	24	50±7,22	19	37,3±6,77	24	38,7±6,19	95	43,8±3,37
45-59	14	25±5,79	10	20,8±5,86	19	37,3±6,77	22	35,5±6,08	65	29,9±3,11
60-74	6	10,7±4,13	7	14,6±5,1	7	13,7±4,81	8	12,9±4,26	28	12,9±2,28
75-90	8	14,3±4,68	5	10,4±4,41	5	9,8±4,16	6	9,7±3,76	24	11,1±2,13
Старше 90	0	0	0	0	0	0	1	1,6±1,59	1	0,5±0,48
Всего	56	100	48	100	51	100	62	100	217	100

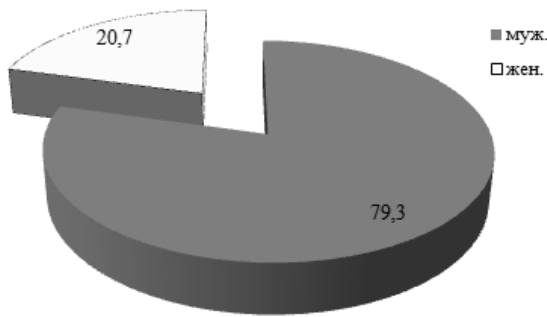


Рис. 2. Распределение погибших с учетом пола

В таблице 1 представлено распределение умерших от ЧМТ с учетом возраста. Анализ данных показал, что наиболее распространенной возрастной группой среди отмеченных приходится на трудоспособную часть населения (молодой и средний возраст). Причем в 2012-13 гг. среди молодежи было 50% погибших, в 2014-15 гг. - 35-38%.

На рис. 3 представлены данные о причинах травм. Среди причин ЧМТ самой частой является бытовая травма: падение (33,2%), насильственные травмы головы (25,8%). Учитывая высокий процент этих травм, они выделены в отдельные группы. Выявлены частые случаи насильственных травм головы (избиение), обусловленные криминальной обстановкой в увеселительных и ночных заведениях, а также разбойными нападениями. ДТП составляют 24,0% случаев и занимают 3 позицию в структуре причин травм с летальным исходом.

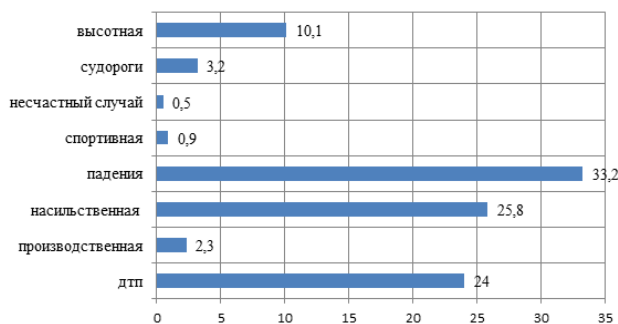


Рис. 3. Причины и механизмы травм головы

Распределение умерших пациентов с изолированной ЧМТ представлено в таблице 2. Показатели ушиба головного мозга (УГМ) со сдавлением (внутричерепная гематома, вдавленный перелом) за 2012-2015 гг. составили, в среднем, 40,6%, в 2013 и 2014 гг. - 50% и 49%, соответственно. В 2015 г. сдавление мозга как причина смерти с I позиции сместилась

на III место, после тяжелых ушибов головного мозга, не требующих оперативного вмешательства, что указывает на повышение оперативной активности нейрохирургических стационаров, приводящих к снижению летальности от дислокационного синдрома. Больные с тяжелым ушибом мозга без его компрессии и диффузным аксональным повреждением (ДАП) являются изначально крайне тяжелым контингентом, длительно находятся в коматозном состоянии и составляют 30,6%. Эти пациенты, как правило, не нуждаются в оперативном вмешательстве, длительно находятся на искусственной вентиляции легких и погибают от отека мозга или других вторичных осложнений.

В таблице 2 приведены данные о распределении погибших от тяжелых травм. Естественно, сама по себе легкая черепно-мозговая травма не может быть причиной смерти, однако рассматривается как пусковой механизм и соответственно является фактором, способствующим летальному исходу, например, в комбинации с общим охлаждением, или в комбинации с общим истощением организма. В основном, это пациенты, получившие травму головы в состоянии алкогольного опьянения в холодное время года.

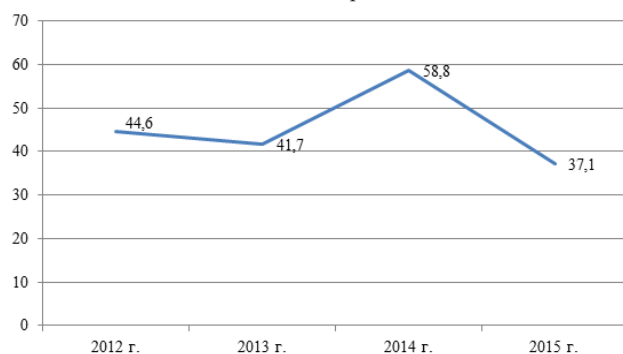


Рис. 4. Травмы головы в состоянии алкогольного опьянения с летальным исходом

Ведущим фактором риска черепно-мозговой травмы, является алкогольное опьянение. В 2014 г. доля умерших пациентов с изолированной ЧМТ, полученной в состоянии алкогольного опьянения, составила 58,8%, в 2015 г. выявлено резкое понижение до 37,1%. На диаграмме, представленной ниже, кривая частоты встречаемости подобной травмы не имеет какой-либо закономерности. Однако не исключено, что снижение уровня «алкогольных» травм в 2015 г. в сравнении с предыдущими годами связано с введением в июле 2014 года закона об ограничении времени продажи алкогольных напитков с 21.00 до 12.00 часов. Несмотря на это, 37,1% - весьма высокий показатель, который возможно связан с функционированием боль-

Таблица 2. Распределение умерших в зависимости от тяжести травмы

	2012		2013		2014		2015		Всего	
	Абс.	%, M±m	Абс.	%, M±m	Абс.	%, M±m	Абс.	%, M±m	Абс.	%, M±m
Травма головы	0	0	0	0	3	5,9±3,3	1	1,6±1,59	4	1,8±0,9
СГМ	2	3,5±2,49	1	2,1±2,07	4	7,8±3,76	5	8,1±3,47	12	5,5±1,55
УГМ со сдавлением	22	39,3±6,53	24	50±7,22	25	49,1±7	17	27,5±5,66	88	40,6±3,33
УГМ без сдавления	17	30,4±6,15	16	33,3±6,8	9	17,6±5,33	19	30,6±5,85	61	28,1±3,05
ДАП	14	25±5,79	7	14,6±5,1	9	17,6±5,33	19	30,6±5,85	49	22,6±2,84
Огнестрельная травма	1	1,8±1,78	0	0	1	2±1,96	1	1,6±1,59	3	1,4±0,8
Всего	56	100	48	100	51	100	62	100	217	100

шого числа увеселительных заведений, в которых закон об ограничении продажи алкоголя не действует.

В результате проведенного исследования следует заключить, что тенденция к снижению общего уровня ЧМТ в г. Алматы не наблюдается. Увеличилось абсолютное число погибших с изолированной травмой головы: в 2012 г. – 56, в 2013 г. – 48, в 2014 г. – 51, 2015 г. – 62.

Оценка причин летальных случаев в стационаре показывает, что мужчины в 4 раза чаще подвержены тяжелым травмам головного мозга, чем женщины. Погибает, в основном, работоспособная часть населения (молодые – 43,8% и средний возраст – 29,9%). Причинами ЧМТ являются падение (33,2%), насильственная травма (25,8%) и ДТП (24%).

Отмечается снижение доли погибших пациентов от компрессии мозга с 50% до 27%, в основном, прооперированные пациенты, что является достижением оперативной активной нейрохирургической службы и улучшения диагностических возможностей стационаров. Однако отмечается повышение доли умерших в стационаре, не нуждающихся в оперативном вмешательстве, что диктует необходимость увеличения роли нейрореанимации в специализированных клиниках, подготовки специализированных кадров и открытия специализированных нейрореанимационных отделений.

Таким образом, результаты исследования ставят перед необходимостью проведения высококачественных эпидемиологических исследований при участии смежных специалистов в области нейрореанимации, травматологии, хирургии и реабилитации, что обеспечит полноценное лечение и удовлетворительный исход.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лихтерман Л. Б. Черепно-мозговая травма: диагностика и лечение. Москва, Геотар-Медиа 2014; 479.
2. Лихтерман Л.Б., Потапов А.А., Кравчук А.Д. Клиника и хирургия последствий черепно-мозговой травмы // Consilium medicum 2013; 1: 42–50.
3. Утеулиев Е., Конысбаева К., Текебаева Л., Алибеков Б. Токмурзиева Г. Причины летальности ишемического инсульта и пути совершенствования методов профилактики. Georgian medical news 2017;11(272): 48-52.
4. Christopher R., Baker CC. An Evaluation of Risk Stratification in General Surgery Patients. American Surgeon 2017;83(11): e450-e451.
5. Coronado VG, Hailey T, Cheng TA, Bell JM, Haarbauer-

Krupa J, Lionbarger MR, Flores-Herrera J, McGuire LC, Gilchrist J. Trends in sports- and recreation-related traumatic brain injuries treated in US emergency departments: The National Electronic Injury Surveillance System-All Injury Program (NEISS-AIP) 2001-2012. J Head Trauma Rehabil 2015; 30 (3): 185–197.

6. Jennett B., Hume Adams J., Neuropathological Findings in Disabled Survivors of a Head Injury Journal of Neurotrauma 2011; 28(5).

7. Peeters W., Majdan M., Brazinova A., Nieboer D., Maas A.I. Changing Epidemiological Patterns in Traumatic Brain Injury: A Longitudinal Hospital-Based Study // Neuroepidemiology. – 2017. – 48 (1-2). – P.63-70.

8. Peeters W., van den Brande R., Polinder S., Brazinova A. Epidemiology of traumatic brain injury in Europe // Acta Neurochir. – 2015 Oct. – Vol.157 (10). – P. 1683

9. Peixia Cheng, Peng Yin, Peishan Ning, Lijun Wang, Xunjie Cheng, Yunning Liu, David C. Schwebel, Jiangmei Liu, Jinlei Qi, Guoqing Hu, Maigeng Zhou. Trends in traumatic brain injury mortality in China, 2006–2013: A population-based longitudinal study. 10.1371 / Journal.pmed.1002332, 07.2017

10. Tagliaferri F, Compagnone C, Korsic M, Servadei F, Kraus J. Систематический обзор эпидемиологии травм головного мозга в Европе. Acta Neurochir (Wien) 2006;148: 255-268.

11. Taylor CA, Bell JM, Breiding MJ, Xu L. Traumatic Brain Injury-Related Emergency Department Visits, Hospitalizations, and Deaths — United States, 2007 and 2013. MMWR Surveill Summ 2017;66(No. SS-9):1–16.

12. Wu X., Hu J., Zhuo L., Fu C., Hui G., Wang Y., Yang W. Epidemiology of traumatic injury: a prospective large case study // J Trauma. 2014; 64: 1313-99.

SUMMARY

THE ANALYSIS OF MORTALITY CAUSES IN PATIENTS WITH SEVERE TRAUMATIC BRAIN INJURY IN ALMATY

¹Dyusembekov E., ^{1,2}Akhanov G., ¹Aliev M., ²Uteuliye Y., ²Saktapov A.

¹Kazakh Medical University of Continuing Education, Almaty; ²Kazakhstan's medical university «KSPH», Almaty, Kazakhstan

The purpose of this study was to analyze the cases of traumatic brain injuries in hospitals of Almaty and the factors that cause traumatic brain injury with fatal outcome.

The material for the study were clinical cases of patients with traumatic brain injury (TBI) and deaths according to Almaty for 2012-2015, the total number of patients - 217, of which, in 2012 – 56, in 2013 – 48, in 2014 - 51, 2015 – 62. The criterion for inclusion in the study was the presence of an isolated TBI.

As a result of the study, it was found that the most common age group among the deceased patients is the able-bodied part of the population, in 2012-13 among the younger population 50% died, 2014-15 - 38.7%. It was also revealed that among the male half of the population, cases of TBI were 4 times more likely to be fatal than among women (79.3% to 20.7%). The main causes of TBI are: a fall from a height - 33.2%, violent head injuries - 25.8% and an accident - 24.0%. Cases of brain contusions for the period of 2012-2015 accounted for an average of 40.6%, in 2013 and 2014 50% and 49%; patients with severe brain contusion without compression of the brain and diffuse axonal traumatic brain damage 30.6% respectively.

Thus, the results of the study make it necessary to conduct high-quality epidemiological studies with the participation of related specialists in the field of neurorehabilitation, traumatology, surgery and rehabilitation, which will provide full treatment and a satisfactory outcome.

Keywords: Traumatic brain injury (TBI), traffic collision (TC), brain concussion, brain contusion, diffuse axonal injury (DAI), emergency room (ER).

РЕЗЮМЕ

АНАЛИЗ ПРИЧИН СМЕРТНОСТИ ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ В Г. АЛМАТЫ

¹Дюсембеков Е.К., ^{1,2}Аханов Г.Ж., ¹Алиев М.А.,
²Утеулиев Е.С., ²Сактапов А.К.

¹Казахский медицинский университет непрерывного образования, Алматы; ²Казахстанский медицинский университет «ВШОЗ», Алматы, Казахстан

Целью данного исследования явился анализ случаев черепно-мозговых травм в стационарах г. Алматы и факторов, являющихся причиной черепно-мозговой травмы с летальным исходом.

Материалом для исследования явились клинические случаи пациентов с черепно-мозговой травмой (ЧМТ) и летальных исходов по данным г. Алматы за 2012-2015 гг., общее количество пациентов 217, из них, в 2012 г. – 56, в 2013 г. – 48, в 2014 г. - 51, 2015 г. – 62. Критерием включения в исследование являлось наличие изолированной ЧМТ.

В результате исследования установлено, что наиболее распространенной возрастной группой среди умерших пациентов является трудоспособная часть населения, в 2012-13 гг. среди молодого населения погибло 50%, 2014-15 гг. - 38,7%. Выявлено также, что среди мужской половины населения в 4 раза чаще зафиксированы случаи ЧМТ, приводящие к летальному исходу, чем среди женщин (79,3% к 20,7%). Основными причинами ЧМТ являются: падение с высоты - 33,2%, насильственные травмы головы - 25,8% и ДТП

- 24,0%. Случаи ушибов головного мозга за период 2012-2015 гг. составили, в среднем, 40,6%, в 2013 и 2014 гг. - 50% и 49%; больные с тяжелым ушибом мозга без компрессии мозга и диффузным аксональным травматическим повреждением мозга по 30,6%, соответственно.

Таким образом, результаты исследования ставят перед необходимостью проведения высококачественных эпидемиологических исследований при участии смежных специалистов в области нейрореанимации, травматологии, хирургии и реабилитации, что обеспечит полноценное лечение и удовлетворительный исход.

რეზიუმე

ქალა-ტვინის მძიმე ტრავმის შედეგად ლეტალობის ანალიზი ქალაქ ალმატის მასალების მიხედვით

¹ე. დიუსემბეკოვი, ^{1,2}გ. ახანოვი, ¹მ. ალიევი,
²ე. უტეულიევი, ²ა. საკტაპოვი

¹ყაზახეთის უწყვეტი განათლების სამედიცინო უნივერსიტეტი, ალმატი; ²ყაზახეთის სამედიცინო უნივერსიტეტი, ალმატი, ყაზახეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ქალაქ ალმატის სტაციონარებში ქალა-ტვინის ტრავმების შემთხვევების და მათი ლეტალური გამოსავლის ხელშემწყობი ფაქტორების ანალიზი,

კვლევის მასალას წარმოადგენდა ლეტალური გამოსავლით დასრულებული ქალა-ტვინის ტრავმების კლინიკური შემთხვევები ქალაქ ალმატის მონაცემების მიხედვით 2012-2015 წწ; პაციენტების საერთო რაოდენობა – 217, მათ შორის 2012 წელს – 56, 2013 წელს – 48, 2014 წელს – 51, 2015 წელს – 62. კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმს წარმოადგენდა ქალა-ტვინის იზოლირებული ტრავმის არსებობა.

კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ გარდაცვლილ პაციენტთა შორის ყველაზე გავრცელებული ასაკობრივი ჯგუფი მოსახლეობის შრომისუნარიანი ნაწილია; 2012-13 წწ. გარდაცვლილთა შორის ახალგაზრდა ასაკის იყო 50%, 2014-15 წწ. – 38,7%. გამოვლინდა, ასევე, რომ ქალა-ტვინის ტრავმები ლეტალური ფინალით მამაკაცებში ოთხჯერ უფრო ხშირია, ვიდრე ქალებში (79,3% და 20,7%). ქალა-ტვინის ტრავმის მიზეზები ძირითადად იყო: სიმალლიდან ვარდნა – 33,2%, თავის ძალადობრივი ტრავმები – 25,8%, საგზაო-სატრანსპორტო შემთხვევები – 24,0%. თავის ტვინის დაზიანების შემთხვევებმა 2012-2015 წწ. პერიოდში საშუალოდ შეადგინა 40,6%, 2013 და 2014 წელს კი – შესაბამისად, 50% და 49%, პაციენტები ტვინის მძიმე დაზიანებით ტვინის კომპრესიით და ტვინის დიფუზური აქსონური ტრავმული დაზიანებით - თითოეული, 30,6%.

კვლევის შედეგები მიუთითებს მაღალხარისხიანი ეპიდემიოლოგიური კვლევების ჩატარების აუცილებლობაზე ნეირორეანიმაციის, ტრავმატოლოგიის, ქირურგიის და რეაბილიტაციის სფეროების წარმომადგენელთა მონაწილეობით, რაც ხელს შეუწყობს უფრო მიზანმიმართული პროფილაქტიკური ღონისძიებების გატარებას.

ИЗУЧЕНИЕ ГЕМОДИНАМИКИ МАТКИ МЕТОДОМ ТРЕХМЕРНОЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ДОПЛЕРОГРАФИИ У БОЛЬНЫХ АДЕНОМИОЗОМ

¹Яковенко К.В., ²Тамм Т.И., ³Яковенко Е.А.

¹Государственное учреждение «Институт медицинской радиологии им. С.П. Григорьева НАМН Украины», Харьков;
²Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

Аденомиоз (АМ) или внутренний генитальный эндометриоз - дисгормональный иммунозависимый патологический процесс, характеризуется доброкачественным инвазивным разрастанием в мышечном слое матки желез эндометрия и их стромы, сопровождающийся гиперплазией и гипертрофией гладкомышечной ткани [14,16]. Аденомиоз занимает третье место по распространенности среди заболеваний женских внутренних половых органов, уступая только воспалительным заболеваниям органов малого таза и лейомиоме матки (ЛМ), поражая до 50% женщин с сохраненной менструальной функцией [15,23].

В последние годы для уточнения характера функциональных нарушений различных органов и систем широко используется ультразвуковая двухмерная доплерометрия, данные которой по оценке тканевой гемодинамики матки при аденомиозе противоречивы [2,3]. Ряд авторов отмечают усиление васкуляризации миометрия при данной патологии, другие отмечают, что для аденомиоза в режиме цветового доплеровского картирования (ЦДК) характерно выявление внутри патологического очага отдельных сигналов небольшой площади [7]. Некоторые авторы считают, что для аденомиоза характерно появление участков повышенной эхогенности в миометрии без четких контуров и гиперэхогенных включений и отсутствие кровотока внутри этих участков [11].

В публикациях последних лет преобладают данные, свидетельствующие о гиповаскуляризации миометрия при АМ [8,9]. Гиповаскуляризация объясняется теми морфологическими процессами неоваскуляризации, которые характерны для образования эндометриоидных гетеротопий в миометрии и прогрессирования патологического процесса. Неоваскуляризация – ключевое звено в формировании и развитии различных форм эндометриоза, поскольку васкуляризация эндометриоидных имплантов является одним из наиболее значимых факторов их инвазии в окружающую ткань [10,13]. Проведенные исследования показали, что у больных аденомиозом I степени наблюдается повышение васкуляризации матки на начальных этапах развития заболевания [20]. В то же время у пациенток с аденомиозом II–III степени - кровотоков в сосудистом бассейне матки ухудшается [12,14]. Выявлено, что нарушения кровообращения в миометрии при АМ обусловлены патологическим ангиогенезом в эндометриоидных гетеротопиях [18,22]. Сосуды последних при этой патологии представлены, в основном, артериями мышечного типа, большая часть которых не функционирует либо склерозирована [10,17].

Для объективизации данных о гемодинамике опухолей миометрия в последние годы стали использовать 3D – энергетическую доплерографию, которая позволяет количественно оценить степень выраженности перфузии опухоли [1,6].

Анализ литературы выявил отдельные сведения о снижении показателей объемных индексов кровотока тела матки у больных АМ, что отражает гиповаскуляризацию миометрия в сравнении со здоровыми женщинами [7,8]. Однако, отсутствуют сведения о зависимости показателей объемных индексов кровотока от формы АМ, фаз менструального цикла

у женщин репродуктивного возраста и какова их динамика у пациенток в перименопаузе и в менопаузе в сравнении со здоровыми женщинами. Несмотря на то, что большинство авторов отмечают перспективность использования методов трехмерной эхографии в диагностике АМ при условии соблюдения единых требований к параметрам настройки аппаратов, выпускаемых различными производителями, для исключения искажения полученных результатов, до настоящего времени единый диагностический алгоритм исследования отсутствует [19,21].

В связи с этим является актуальным поиск новых диагностических трехмерных ультразвуковых критериев АМ с разработкой количественных параметров, позволяющих исключить или свести к минимуму субъективную составляющую исследования.

Цель исследования - определить показатели объемного кровотока тела матки женщин различного возраста, больных разными формами аденомиоза в трехмерном ангиорежиме для поиска объективных дифференциально-диагностических критериев данной патологии.

Материал и методы. Основную группу исследования составили 46 женщин в возрасте от 18 до 45 лет, которым при ультразвуковом исследовании органов малого таза по стандартной методике в двухмерном режиме был поставлен диагноз аденомиоз II-III степени.

Согласно Международной гистологической классификации опухолей женских половых органов, термин «аденомиоз» целесообразно употреблять только при наличии гиперплазии мышечных волокон (утолщении стенок матки), формирование которой наблюдается при очаговой, узловой форме заболевания и диффузном поражении миометрия II-III степени. Внутренний эндометриоз I степени и внутренний эндометриоз II степени, без признаков гиперплазии миометрия не рекомендуется именовать аденомиозом [11]. Поэтому АМ I степени нами не рассматривается.

Из 46 обследованных пациенток в 23 (50%) случаях отмечался изолированный аденомиоз, в 23 (50%) – аденомиоз в сочетании с лейомиомой матки, причем во всех наблюдениях лейомиома матки сочеталась с очаговой формой АМ. Группу сравнения составили 111 здоровых женщин в возрасте от 18 до 45 лет, для которых нами были разработаны и усовершенствованы номограммы показателей объемного кровотока (VI, FI, VFI) тела матки (ТМ) и разработаны номограммы шейки матки (ШМ).

В группе женщин с изолированным аденомиозом (n=23) все женщины были репродуктивного возраста (100%), их возраст колебался в пределах от 18 до 45 лет (Me 31,5). Продолжительность менструального цикла (МЦ) составила, в среднем, 28 дней. Они были разделены на группы в зависимости от фазы менструального цикла. Ранней пролиферативной фазой считали 5-7 день МЦ (П1). Количество обследованных женщин в этой фазе составило 5 (21,73%), из них с очаговой формой (ОФ) АМ – 3 (60%), с узловой формой (УФ) АМ – 2 (40%). Средней пролиферативной фазой считали 8-9 дни МЦ (П2), количество обследованных женщин в

этой фазе составило 5 (21,73%), из них с ОФ АМ – 3 (60%) и с УФ АМ – 2 (40%). Поздней пролиферативной фазой считали 11-14 дни МЦ (П3), количество обследованных женщин составило 5 (21,73%), из них с ОФ АМ – 3 (60%) и с УФ АМ – 2 (40%). Ранней секреторной фазой считали 15-18 дни МЦ (С1), количество обследованных женщин в этой фазе составило 3 (13,04 %), из них с ОФ АМ – 1 (33,33%) и с УФ АМ – 2 (66,66%). Средней секреторной фазой МЦ считали 19-23 дни МЦ (С2) количество обследованных женщин в этой фазе составило 3 (13,04%), из них с ОФ АМ – 1 (33,33%) и с УФ АМ – 2 (66,66%). Поздней секреторной фазой МЦ считали 24-27 дни МЦ (С3), количество обследованных женщин в этой фазе составило 2 (8,69%), из них с ОФ АМ – 1 (50%) и с УФ АМ – 1 (50%).

В группе женщин с аденомиозом в сочетании с лейомиомой матки (n=23) все женщины также были репродуктивного возраста (100%), их возраст колебался в пределах от 25 до 45 лет (Me 35). Продолжительность МЦ составила, в среднем, 28 дней. Они, в свою очередь, были разделены на группы в зависимости от фазы менструального цикла. В фазах цикла П1 и С3 в этой группе не обследовано ни одной женщины. Количество обследованных женщин в фазе П2 составило 5 (21,73%), в фазе П3 - 6 (26,08%), в фазе С1 - 6 (26,08%), в фазе С2 - 6 (26,08%).

Ультразвуковые исследования (двух- и трехмерная эхография, доплерометрия) проведены на ультразвуковом аппарате экспертного класса с объемным сканированием VOLUSON E8 Expert General Electric Healthcare в комплекте мультисекторных трансабдоминального конвексного 4D датчика RAB6 D и трансвагинального 4D датчика RIC 5-9D в кабинете ультразвуковой диагностики г. Харькова (лицензия МОЗ Украины АЕ № 459819).

Сканирование проводилось в положении пациентки лежа на спине. После проведения энергетического доплеровского картирования (ЭДК) в 2D режиме перешли в режим 3D. Использована методика, предложенная И.А. Озерской [5]. При трехмерной реконструкции матки с использованием функции энергетического картирования и опции VOCAL (Virtual Organ Computer-aided Analysis) проводилась объективная оценка гемодинамики миометрия путем вычисления индекса васкуляризации (VI), который характеризует процентное соотношение сосудов в определенном объеме тканей, индекса кровотока (FI), характеризующего интенсивность кровотока, показывающего объем клеток крови, перемещающегося в сосудах на момент исследования и васкуляризационно-потокового индекса (VFI), являющегося показателем перфузии органа [7;8]. Для корректного получения перечисленных индексов глубину сканирования подбирали таким образом, чтобы тело матки (ТМ) и шейка занимали весь экран с использованием функции увеличения (ZOOM). Цветовое окно располагали на тело матки от области внутреннего зева до дна, захватывая серозную оболочку передней и задней стенок, а затем на шейку матки (ШМ), от области внутреннего до наружного зева. Шкалу диапазона скорости (частота повторения импульса) устанавливали на минимальное значение, соответствующее 1-10 см/с. С целью удаления низкочастотного компонента, обусловленного движением стенок сосуда, использовали соответствующий частотный фильтр. Регулятор цветового режима настраивали на максимальное усиление, при котором на изображении не возникало случайных цветных пятен (спекл-шум), а для повышения цветового раз-

решения использовали низкую частоту покадровой развертки изображения и максимальную плотность линий. Угол построения трехмерного объекта составлял 120° с шагом вращения 9-15°. Затем автоматически рассчитывались индексы VI, FI и VFI при построении гистограмм [5] (Рис.).

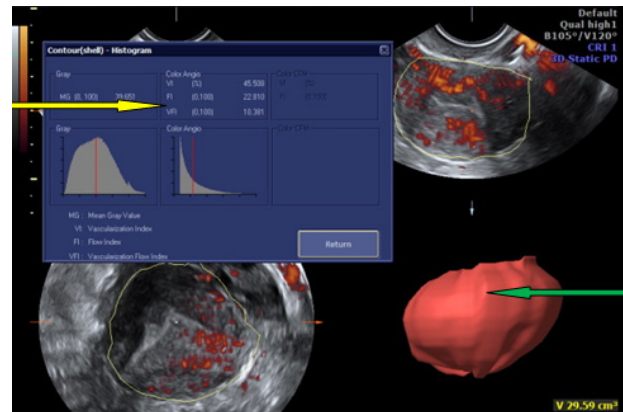


Рис. Трехмерная реконструкция матки с использованием функции энергетического картирования и опции VOCAL (зеленая стрелка) с вычислением VI, FI, VFI (желтая стрелка)

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы STATISTICA, методами непараметрической статистики. Количественные показатели представлялись в виде медиан (Me), интерквартильных размахов (LQ - нижний квартиль, UQ - верхний квартиль), размаха выборки (min - минимальное значение, max - максимальное значение). Для качественных показателей указывалось абсолютное число и относительная величина в процентах (%).

Для проверки совпадения распределения количественных показателей с нормальным пользовались критерием согласия Колмогорова - Смирнова. Так как закон распределения исследуемых числовых показателей отличался от нормального, статистическую значимость проверяли при помощи U - критерия Манна-Уитни (КМУ) - в случае парных независимых совокупностей, критерия Краскела-Уоллиса (ККУ) - в случае множественных независимых совокупностей. Качественные признаки сравнивались при помощи критерия χ^2 Пирсона (КХП). Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При исследовании васкуляризации матки женщин с изолированным аденомиозом различных форм и аденомиозом в сочетании с лейомиомой матки в трехмерном ангиорежиме при помощи 3D - реконструкции с использованием опции VOCAL, изучены индексы показателей объемного кровотока (VI, FI, VFI) тела матки, проведено их сравнение с разработанными нами номограммами показателей объемного кровотока тела здоровых женщин репродуктивного возраста в различные фазы менструального цикла и изучена их динамика (таблицы 1, 2, 3).

У здоровых женщин репродуктивного возраста, в наших наблюдениях минимальные значения VI ТМ (таблица 1) отмечались в ранней пролиферативной фазе МЦ (Me=4,93), достигая статистически значимого максимума в средней секреторной фазе МЦ (Me=62,61, КМУ, $p < 0,05$), совпадающей с периодом расцвета желтого тела в яичнике, и уменьшаясь практически в три раза к поздней секреторной фазе МЦ (Me= 23,86). Зависимость имела статистически значимый характер (ККУ, $p < 0,05$).

При оценке индекса васкуляризации VI ТМ женщин основной группы сохранялась аналогичная с группой сравнения статистически значимая динамика увеличения и уменьшения данного показателя в зависимости от фаз МЦ (ККУ, $p < 0,05$). Минимальные значения VI ТМ отмечались в ранней пролиферативной фазе МЦ, достоверно максимально повышаясь к средней секреторной фазе МЦ, совпадающей с периодом расцвета желтого тела в яичнике, и уменьшаясь к поздней секреторной фазе МЦ. Все указанные попарные различия имели статистически значимый характер (КМУ, $p < 0,05$).

Однако, несмотря на сохранение общей динамики изменений изучаемого показателя в разные фазы МЦ, кроме показателей в фазу П1, все они были достоверно ниже, чем в группе сравнения, причем все указанные различия имели статистически значимый характер (КМУ, $p < 0,05$). Полученные данные подтверждают характерную гиповаскуляризацию миометрия больных АМ, отмеченную также предыдущими исследователями [7,8], хотя отличаются от данных, ранее заявленных, в сторону значительного превалирования цифровых показателей [4,6]. Так, согласно ранее опубликованным данным, у женщин с АМ значения индекса васкуляризации VI имели средние значения в I фазе цикла 2,9% (1,0-7,8%), во II фазе – 4,6% (0,3-12,9%) [7, 8].

На изучаемой выборке статистически значимых различий

между показателями VI ТМ очаговой и узловой форм изолированного АМ в одинаковые фазы МЦ не выявлено, однако для всех фаз МЦ сохранялось статистически значимое превышение индекса васкуляризации VI ТМ группы с АМ в сочетании с ЛМ над изолированной формой АМ (КМУ, $p < 0,05$).

Анализируя зависимость значения показателей FI ТМ от фазы МЦ здоровых женщин репродуктивного возраста, было отмечено непрерывное возрастание показателя $Me = 19,19$ в фазу П1 до $Me = 25,55$ в фазу С1 с постепенным снижением $Me = 25,02$ в фазе С2 и $Me = 22,20$ в фазе С3 (таблица 2). Зависимость имела статистически значимый характер (ККУ, КМУ, $p < 0,05$).

Показатели индекса потока FI в различные фазы МЦ в основной группе не отличались от показателей здоровых женщин аналогичного возраста (КМУ, $p > 0,05$), что согласуется с результатами предыдущих исследователей, однако значительно превалируют над заявленными ранее [4,6] в цифровых показателях.

На основании анализа номограмм VFI ТМ (таблица 3), можно сделать вывод о том, что динамика значений этого индекса, в зависимости от фазы цикла здоровых женщин репродуктивного возраста, имела статистически значимый характер (КМУ, $p < 0,05$). При этом минимальные значения VFI ТМ отмечались у женщин репродуктивного периода в ранней пролиферативной фазе МЦ ($Me = 1,00$), на статисти-

Таблица 1. Зависимость показателя VI ТМ от фазы МЦ у здоровых женщин репродуктивного возраста (норма) и у больных различными формами АМ

Фаза цикла или длительность менопаузы	Описательные статистики				
	Me	Min	Max	LQ	UQ
П1 (норма)	4,93	0,59	12,97	3,47	8,02
П1 АМ ОФ	6,83	4,32	9,35	4,32	9,35
П1 АМ УФ	7,13	3,47	10,78	3,47	10,78
П2 (норма)	12,18	6,37	25,29	10,46	18,97
П2 АМ ОФ	7,03	1,52	10,38	4,59	8,38
П2 АМ УФ	9,81	3,84	31,15	3,84	31,15
П2 АМ ОФ в сочетании с ЛМ	17,64	16,72	18,97	16,72	18,97
П3 (норма)	31,51	6,64	45,51	24,97	33,91
П3 АМ ОФ	11,59	3,53	18,60	3,53	18,60
П3 АМ УФ	14,00	4,71	23,29	4,71	23,29
П3 АМ ОФ в сочетании с ЛМ	23,82	2,64	37,09	3,69	27,09
С1 (норма)	42,18	20,02	62,32	24,61	52,69
С1 АМ ОФ	15,88	15,88	15,88	15,88	15,88
С1 АМ УФ	14,87	2,64	27,09	2,64	27,09
С1 АМ ОФ в сочетании с ЛМ	24,93	17,11	78,36	17,22	55,45
С2 (норма)	62,61	47,00	99,72	50,66	81,85
С2 АМ ОФ	18,60	18,60	18,60	18,60	18,60
С2 АМ УФ	18,26	10,83	61,33	13,90	40,44
С2 АМ ОФ в сочетании с ЛМ	32,54	17,32	78,36	17,32	78,36
С3 (норма3)	23,86	10,69	56,99	20,94	36,80
С3 АМ ОФ	18,26	18,26	18,26	18,26	18,26
С3 АМ УФ	19,94	19,94	19,94	19,94	19,94

чески значимом уровне максимально повышаясь к средней секреторной фазе МЦ (Me=11,91), совпадающей с периодом расцвета желтого тела в яичнике, и уменьшаясь практически в два раза к поздней секреторной фазе МЦ (Me=6,74) (ККУ, КМУ, p<0,05).

У женщин основной группы васкуляризационно-потоковый индекс VFI TM сохранял аналогичную группе сравнения статистически значимую (КМУ, p<0,05) динамику изменений, зависящую от фаз МЦ: значения VFI TM были минимальными в ранней пролиферативной фазе МЦ и достигали своего максимума к средней секреторной фазе в яичнике, уменьшаясь к поздней секреторной фазе МЦ (ККУ, КМУ, p<0,05).

Однако, несмотря на сохранение общей динамики изменений изучаемого показателя в разные фазы МЦ, (кроме фазы П1), все они были ниже, чем в группе сравнения (ККУ, КМУ, p<0,05). Полученные данные подтверждают характерную гиповаскуляризацию миометрия больных с АМ, отмеченную также предыдущими исследователями [7,8], хотя отличаются в сторону значительного превалирования цифровых показателей [4,6]. Так, согласно ранее опубликованным данным, у женщин с АМ значения васкуляризационно-потокового индекса VFI в I фазе составили 1,1% (0,3-2,9%), во II фазе – 1,5% (0,1-4,4%) [7,8].

Статистически значимых отличий показателей VFI TM между очаговой и узловой формами изолированного АМ по фазам МЦ не выявлено, однако сохранялось статистически

значимое превышение индекса VFI TM в группе с АМ в сочетании с ЛМ над изолированной формой АМ во всех фазах МЦ (КМУ, p<0,05).

Таким образом, полученные результаты изучения показателей индексов объемного кровотока (VI, FI, VFI) тела матки женщин с изолированным аденомиозом различных форм и аденомиозом в сочетании с лейомиомой матки позволят, с одной стороны, повысить точность ультразвуковой диагностики аденомиоза на основании констатации значительного снижения данных индексов в сравнении с таковыми у здоровых женщин. С другой – позволят значительно повысить уровень проведения дифференциальной диагностики между узловой формой аденомиоза и узловой лейомиомой матки на основании диагностики гиповаскуляризации миометрия при АМ. С третьей, снижение показателей изученных индексов в сравнении с нормой у женщин с лейомиомой матки указывает на сочетание лейомиомы с аденомиозом.

Полученные данные подтверждают характерную гиповаскуляризацию миометрия больных с АМ и позволяют использовать методику трехмерной энергетической доплерографии для диагностики аденомиоза.

Снижение показателей VI, FI, VFI при оценке гемодинамики матки в сравнении с объемными индексами васкуляризации здоровых женщин возможно использовать в качестве объективного дифференциально - диагностического критерия данной патологии.

Таблица 2. Зависимость показателя FI TM от фазы МЦ у здоровых женщин репродуктивного возраста (норма) и у больных различными формами АМ

Фаза цикла или длительность менопаузы	Описательные статистики				
	Me	Min	Max	LQ	UQ
П1 (норма)	19,19	10,35	27,96	17,89	22,36
П1 АМ ОФ	13,38	9,85	16,92	9,85	16,92
П1АМ УФ	15,29	9,85	20,56	13,52	16,92
П2 (норма)	22,07	13,14	31,77	20,51	24,82
П2 АМ ОФ	16,56	13,31	17,61	13,31	17,61
П2 АМ УФ	17,75	12,80	24,88	13,79	22,80
П2АМ ОФ в сочетании с ЛМ	19,96	19,44	20,16	19,44	20,16
П3 (норма)	22,81	15,29	26,60	20,95	24,72
П3АМ ОФ	19,98	17,76	22,20	17,76	22,20
П3 АМ УФ	20,73	14,78	24,88	14,78	24,88
П3 АМ УФ в сочетании с ЛМ	20,77	20,23	21,30	20,23	21,30
С1 (норма)	25,55	8,84	42,27	11,93	32,39
С1АМ ОФ	26,97	26,97	26,97	26,97	26,97
С1 АМ УФ	20,89	20,17	21,61	20,17	21,61
С1 АМ ОФ в сочетании с ЛМ	28,90	27,58	30,23	27,58	30,23
С2 (норма)	25,20	2,38	38,23	12,56	26,28
С2 АМ ОФ	25,51	25,51	25,51	25,51	25,51
С2 АМ УФ	24,75	24,59	25,51	24,59	25,51
С2 АМ ОФ в сочетании с ЛМ	25,91	20,19	30,23	22,22	28,90
С3 (норма)	22,20	11,93	44,71	15,80	29,63
С3 АМ ОФ	24,24	24,24	24,24	24,24	24,24
С3 АМ УФ	37,92	37,92	37,92	37,92	37,92

Таблица 3. Зависимость показателя VFI TM от фазы МЦ у здоровых женщин репродуктивного возраста (норма) и у больных различными формами АМ

Фаза цикла или длительность менопаузы	Описательные статистики				
	Me	Min	Max	LQ	UQ
П1(норма)	1,00	0,08	2,90	0,66	1,64
П1 АМ ОФ	1,30	0,67	5,16	0,67	5,16
П1 АМ УФ	1,44	0,87	2,02	0,87	2,02
П2 (норма)	2,89	1,31	6,22	2,21	4,28
П2 АМ ОФ	1,50	0,70	2,29	0,70	2,29
П2 АМ УФ	1,55	0,44	2,66	0,44	2,66
П2 АМ ОФ в сочетании с ЛМ	3,00	0,83	5,17	0,83	5,17
П3(норма)	7,03	1,52	10,38	4,59	8,38
П3АМ ОФ	2,66	0,44	5,01	0,75	3,64
П3 АМ УФ	2,87	0,87	4,74	0,87	4,74
П3 АМ ОФ в сочетании с ЛМ	5,26	2,18	14,87	3,65	10,13
С1 (норма)	5,31	3,07	17,06	4,92	10,40
С1 АМ ОФ	4,74	4,74	4,74	4,74	4,74
С1 АМ УФ	3,52	3,37	3,68	3,37	3,68
С1 АМ ОФ в сочетании с ЛМ	5,26	5,13	5,39	5,13	5,39
С2 (норма)	11,91	1,09	27,56	10,11	16,11
С2 АМ ОФ	5,38	5,38	5,38	5,38	5,38
С2 АМ УФ	5,84	2,19	11,58	2,89	9,84
С2 АМ ОФ с ЛМ	20,73	14,78	24,88	14,78	24,88
С3 (норма)	6,74	3,04	16,89	5,10	9,12
С3 АМ ОФ	3,55	3,55	3,55	3,55	3,55
С3 АМ УФ	3,85	3,85	3,85	3,85	3,85

Выводы. 1. Для аденомиоза во всех случаях характерно снижение васкуляризации миометрия, что наиболее информативно диагностируется при использовании трехмерной энергетической доплерографии.

2. Метод трехмерной энергетической доплерографии позволяет провести дифференциальную диагностику между узловой формой аденомиоза и узловатой лейомиомой матки.

3. Применение трёхмерных технологий в сочетании с двухмерной эхографией, позволяет повысить уровень ультразвуковой диагностики аденомиоза за счет объективизации полученных данных исследования и констатации гиповаскуляризации миометрия у больных с аденомиозом; исключает субъективный подход и гипердиагностику данной патологии, которая часто имеет место и, по мнению многих авторов, превращает диагноз аденомиоза в «мусорную корзину» торопливого и небрежного диагностического поиска.

ЛИТРАТУРА

- Буланов М.Н. Ультразвуковая гинекология: курс лекций: в двух частях / М.Н. Буланов. - 2-е изд., перераб. и доп. - М.: Изд. дом Видар - Ч.П.: гл. 14 - 24. - 2012. - 456 с.
- Геворкян Э.Г. Значение трехмерной сонографии в определении вариантов внутреннего эндометриоза тела матки / Э.Г. Геворкян, К.А.Тохунц // Медицинская наука Армении НАН РА. - 2013. - Т. LIII. - №3. - С.123-129.
- Геворкян Э.Г. Информативность современных ультразвуковых критериев аденомиоза / Э.Г. Геворкян, К.А.Тохунц // Медицинский Вестник Эребуни. - 2013. - № 1(53). - С. 46-56.

- Лысенко О.В. Диагностика патологии эндометрия в постменопаузе: применение 2D и 3D технологий / О.В. Лысенко, Е.А. Лукьянова // Журнал «SonoAce Ultrasound». - 2013. - № 25. - С. 49-52.

- Озерская И.А. Физиологические изменения гемодинамики матки у женщин репродуктивного, пери- и постменопаузального периодов / И.А. Озерская, Е.А.Щеглова, Е.В. Сиротинкина, Е.П.Долгова, С.В.Шульгина // SonoAce Ultrasound. - 2010.- N21. - С. 40-56.

- Озерская И.А. Эхография в гинекологии – 2-е изд., перераб. и доп. М.: Изд. дом Видар –2013. –564 с.

- Озерская И.А. Ультразвуковая дифференциальная диагностика узлов миометрия в зависимости от гистологического строения опухоли / И.А. Озерская, А.А. Девицкий // Медицинская визуализация. - 2014. - № 2. - С.110-121.

- Озерская И.А. Оценка гемодинамики матки у больных внутренним эндометриозом / И.А. Озерская, Е.А. Щеглова, М.А. Белоусов, Е.В. Сиротинкина, Е.П. Долгова, А.А. Девицкий // Ультразвуковая и функциональная диагностика.- 2014.- № 1.- С. 37-46.

- Панкратов В.В. Высокие технологии в диагностике и лечении доброкачественных заболеваний матки : дис. доктора. мед. наук : 14.01.01 / Панкратов Валерий Валентинович. - Сургут., ГБОУ ВПО Сургутский Государственный Медицинский Университет. – 2013. – 277 с.

- Семенов И.А. Особенности регионального кровообращения при аденомиозе : автореферат дис. кандидата. мед. наук : 14.01.01 / Семенов Игорь Александрович. – СПб., ГУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН-2007.-28 с.

11. Тухбатуллин М.Г. Эхография в диагностике аденомиоза / М.Г.Тухбатуллин, Г.Р. Ахунова, Р.Р. Ахунова // Практическая медицина. – 2015. – № 1 (86). – С. 32-36.
12. Хачатрян А.К. Интраоперационная и лапароскопическая эхография в репродуктивной гинекологии: учебное пособие. / А.К. Хачатрян – М.: ООО «Медицинское информационное агентство» –2013. – 68 с.
13. Шумкова Э.Н. Лейомиома матки и аденомиоз у женщин климактерического периода / Э.Н. Шумкова, Б.Е. Бастимиева, У.А. Алшериева // Акушерство и гинекология.– 2015. – №4. – С. 51-54.
14. Эндометриоз: диагностика, лечение, реабилитация. Федеральные клинические рекомендации по ведению больных / Л.В. Адамян, Е.Н. Андреева, И.А. Аполихина [и др.]. – М.: Рос. общество акушеров – гинекологов – 2013. – 865 с.
15. Яковенко К.В. Эпидемиология лейомиом, аденомиоза и сарком матки // Междунар. мед. журн. – 2017. – Т.23, №4(92). – С.57- 61.
16. Campo S. Adeomyosis and infertility / S. Campo, V. Campo, G. Benagiano // Reproductive Bio Medicine Online. – 2012. – № 24(1). – P. 35-46.
17. Exacoustos C. Adenomyosis: three-dimensional sonographic findings of the junctional zone and correlation with histology / C. Exacoustos, L. Brienza, A.Di Giovanni, B. Szabolcs, M.E. Romanini, E. Zupi, D. Arduini // Ultrasound Obstet. Gynecol. – 2011.– № 37 (4). – P. 471- 479.
18. Exacoustos C. Imaging for the evaluation of endometriosis and adenomyosis / C. Exacoustos, L. Manganaro, E. Zupi // Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology. – 2014. – № 28(5). – P. 655- 681.
19. Exacoustos C. The uterine junctional zone: a 3dimensional ultrasound study of patients with endometriosis / C. Exacoustos, D. Luciano, B. Corbett // Am. J. Obstet. Gynecol. –2013. – Vol. 209, № 3. – P. 248.
20. Falcone T. Clinical management of endometriosis / T. Falcone., D.I. Lebovic // Obstet. Gynecol. – 2011. –118(3:691-705.
21. Giusti S. Anatomical localization of deep infiltrating endometriosis: 3D MRI reconstructions / S. Giusti, F. Forasassi, L. Bastiani, V. Cela, N. Pluchino, V. Ferrari, E. Fruzzetti, D. Caramella, C. Bartolozzi // Abdom Imaging. – 2012. – № 37 (6). – P. 1110-1121.
22. Luciano D.E. Three-dimensional ultrasound in diagnosis of adenomyosis: histologic correlation with ultrasound targeted biopsies of the uterus / D.E. Luciano, C. Exacoustos, L. Albrecht [et al.] // J. Minim Invasive Gynecol. – 2013. –№ 20(6). – P. 803-810.
23. Maheshwari A. Adenomyosis and subfertility: a systematic review of prevalence, diagnosis, treatment and fertility outcomes / A. Maheshwari, S. Gurunath, F. Fatima, S. Bhattacharya // Hum. Reprod. Update. – 2012. – Vol.18, № 4. – P. 374-392.

SUMMARY

A STUDY OF UTERINE HEMODYNAMICS USING THREE-DIMENSIONAL POWER DOPPLER SONOGRAPHY IN PATIENTS WITH ADENOMYOSIS

¹Yakovenko K., ²Tamm T., ²Yakovenko Ye.

¹State Institution “S.P. Hryhoriev Institute of Medical Radiology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kharkiv; ²Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education

The goal of the work was the investigation of volumetric blood flow parameters in uterine body of women of different ages suffering from various forms of adenomyosis, in three-dimensional angio mode, in order to search for objective differential-diagnostic criteria of this pathology.

The main study group included 46 women aged 18 to 45 who were diagnosed with II-III degree adenomyosis at ultrasound examination of pelvic organs according to the conventional procedure in a two-dimensional mode. The control group included 111 healthy women aged 18 to 45 years old.

A study of hemodynamics of the uterine body of women of both groups was carried out in three-dimensional angiography mode using the energy mapping function and VOCAL (Virtual Organ Computer-Aided Analysis) option by calculating the vascularization index (VI), which characterizes the percentage ratio of blood vessels in a certain tissue volume, blood flow index (FI), characterizing the intensity of blood flow, showing the volume of blood cells moving in vessels at the examination time, and vascularization flow index (VFI), which is an indicator of organ perfusion.

As a result, it has been established that volumetric blood flow parameters in women of the main group and the control group preserved statistically significant dynamics of changes depending on the menstrual cycle phases: their values were minimum at menstrual cycle early proliferative phase, reaching their maximum by the medium secretory phase due to corpus luteum maturation in the ovary, and decreasing by late secretory phase. No significant differences in VI, FI, VFI parameters of the uterine body in women with different types of adenomyosis were found.

Significant differences have been established in uterine perfusion of women with adenomyosis in combination with uterine leiomyoma in the form of an increase in vascularization parameters compared with an isolated form of adenomyosis. However, despite this, they were all significantly lower than in the control group, and this applies to both isolated form of adenomyosis and adenomyosis in combination with leiomyoma.

The obtained data confirm the characteristic hypovascularization of the myometrium of patients with adenomyosis and allow using the three-dimensional power Doppler sonography technique for the diagnostics of adenomyosis. The reduction of parameters VI, FI, VFI in assessment of uterine hemodynamics compared with the volumetric vascularization parameters of healthy women can be used as an objective differential-diagnostic criterion for this pathology.

The obtained results of the study of volumetric blood flow parameters (VI, FI, VFI) of the uterus of women with isolated adenomyosis of various forms and adenomyosis in combination with uterine leiomyoma would allow, on the first part, to improve the accuracy of ultrasound diagnostics of adenomyosis based on a significant decrease in these parameters compared to those of healthy women. On the second part, they will significantly increase the level of differential diagnostics between the nodular form of adenomyosis and the uterine nodular leiomyoma based on the diagnostics of myometrial hypovascularization in adenomyosis. On the third part, a decrease in the values of the studied parameters compared to the normal values in women with uterine leiomyoma is indicative of a combination of leiomyoma with adenomyosis.

Keywords: three-dimensional power Doppler sonography, adenomyosis, uterine leiomyoma.

РЕЗЮМЕ

ИЗУЧЕНИЕ ГЕМОДИНАМИКИ МАТКИ МЕТОДОМ ТРЕХМЕРНОЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ДОПЛЕРОГРАФИИ У БОЛЬНЫХ АДЕНОМИОЗОМ

¹Яковенко К.В., ²Тамм Т.И., ³Яковенко Е.А.

¹Государственное учреждение «Институт медицинской радиологии им. С.П. Григорьева НАМН Украины», Харьков; ²Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

Цель исследования - определить показатели объемного кровотока тела матки женщин различного возраста, больных разными формами аденомиоза в трехмерном ангиорежиме для поиска объективных дифференциально-диагностических критериев данной патологии.

Основную группу обследования составили 46 женщин в возрасте от 18 до 45 лет, которым при ультразвуковом обследовании органов малого таза по стандартной методике в двухмерном режиме был поставлен диагноз аденомиоз II-III степени. Группу сравнения составили 111 здоровых женщин в возрасте от 18 до 45 лет.

Исследование гемодинамики тела матки женщин обеих групп проведено в режиме трехмерной ангиографии с использованием функции энергетического картирования и опции VOCAL (Virtual Organ Computer - aided Analysis) путем вычисления индекса васкуляризации (VI), который характеризует процентное соотношение сосудов в определенном объеме тканей, индекса кровотока (FI), характеризующего интенсивность кровотока, показывающего объем клеток крови, перемещающихся в сосудах на момент исследования и васкуляризационно-потокового индекса (VFI), являющегося показателем перфузии органа.

Установлено, что у женщин основной группы и группы сравнения показатели объемных индексов кровотока сохраняли статистически значимую динамику изменений, зависящую от фаз МЦ: их значения были минимальными в ранней пролиферативной фазе МЦ, достигая своего максимума в средней секреторной фазе за счет расцвета желтого тела в яичнике и уменьшаясь к поздней секреторной фазе МЦ. Достоверных отличий показателей VI, FI, VFI тела матки у женщин с различными видами аденомиоза не выявлено. Установлены достоверные отличия перфузии матки женщин с аденомиозом в сочетании с лейомиомой матки в виде повышения индексов васкуляризации в сравнении с изолированной формой аденомиоза. Однако, несмотря на это, все они были достоверно ниже, чем в группе сравнения, причем это относится, как к изолированной форме аденомиоза, так и к аденомиозу в сочетании с лейомиомой.

Полученные данные подтверждают характерную гиповаскуляризацию миометрия больших АМ и позволяют использовать методику трехмерной энергетической доплерографии для диагностики аденомиоза. Снижение показателей VI, FI, VFI при оценке гемодинамики матки в сравнении с объемными индексами васкуляризации здоровых женщин возможно использовать в качестве объективного дифференциально - диагностического критерия данной патологии.

რეზიუმე

საშვილოსნოს ჰემოდინამიკის შესწავლა ადენომიოზის მქონე პაციენტებში სამგანზომილებიანი ენერგეტიკული დოპლეროგრაფიის მეთოდის გამოყენებით

¹კ. იაკოვენკო, ²ტ. ტამში, ³ე. იაკოვენკო

¹უკრაინის სამედიცინო მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის ს. გრიგორიევის სახ. სამედიცინო რადიოლოგიის ინსტიტუტი, ხარკოვი; ²ხარკოვის დიპლომის შემდგომი განათლების სამედიცინო აკადემია, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ადენომიოზის სხვადასხვა ფორმის მქონე სხვადასხვა ასაკის ქალის საშვილოსნოს ტანის მოცულობით სისხლის ნაკადის შეფასება სამგანზომილებიანი ანგიორეჟიმში და ამ პათოლოგიის ობიექტური დიფერენციულ-სადიაგნოსტიკო კრიტერიუმების ძიება.

კვლევის ძირითად ჯგუფს შეადგენდა 18-45 წლის ასაკის 46 ქალი, რომლებსაც მცირე მენჯის დრუს ორგანოების სტანდარტული ორგანოზომილებიანი ულტრაბერითი კვლევით დაუდგინდა II-III ხარისხის ადენომიოზი. შედარების ჯგუფში შედიოდა 18-45 წლის ასაკის 111 ჯანმრთელი ქალი.

ორივე ჯგუფში საშვილოსნოს სხეულის ჰემოდინამიკა შესწავლავდა სამგანზომილებიანი ანგიოგრაფიით ენერგეტიკული კარტირების ფუნქციის და VOCAL (Virtual Organ Computer - aided Analysis) ოპციის გამოყენებით; ხდებოდა ვასკულარიზაციის ინდექსის (VI, სისხლძარღვთა პროცენტული თანაფარდობა ქსოვილთა განსაზღვრულ მოცულობაში), სისხლდენის ინდექსის (FI, სისხლდენის ინტენსივობა და კვლევის მომენტისთვის სისხლძარღვებში გადაადგილებული სისხლის უჯრედების მოცულობა) და ვასკულარიზებული ნაკადის ინდექსის (VFI, ორგანოს პერფუზიის მაჩვენებელი) გამოთვლა.

დადგენილია, რომ ძირითადი და შედარების ჯგუფის ქალებში მოცულობითი სისხლის ნაკადის მაჩვენებლები ინარჩუნებს ცვლილების სტატისტიკურად მნიშვნელოვან დინამიკას და დამოკიდებულია მენსტრუალური ციკლის ფაზებზე: მაჩვენებლები მინიმალურია ციკლის ადრულ პროლიფერაციულ ფაზაში, მაქსიმალური – შუა სეკრეციის ფაზაში, მცირდება გვიანი სეკრეციის ფაზაში. სხვადასხვა ტიპის ადენომიოზის მქონე ქალებში საშვილოსნოს სხეულის VI, FI, VFI მაჩვენებლები სარწმუნო განსხვავება არ აღმოჩნდა. საშვილოსნოს ლეიომიომის მქონე ადენომიოზით დაავადებულ ქალებში, ადენომიოზის იზოლირებული ფორმის მქონე პაციენტებთან შედარებით, დადგენილია საშვილოსნოს პერფუზიის სარწმუნო განსხვავება ვასკულარიზაციის ინდექსის ზრდის სახით.

მიღებული მონაცემები ადასტურებს ადენომიოზით პაციენტების მიომეტრიუმის დამახასიათებელ ჰიპოვასკულარიზაციას და მიუთითებს ადენომიოზის დიაგნოსტიკის რეკომენდებული შესახებ სამგანზომილებიანი ენერგეტიკული დოპლეროგრაფიის მეთოდის გამოყენებით. საშვილოსნოს ჰემოდინამიკის შეფასებისას VI, FI, VFI მაჩვენებლების შემცირება, ჯანმრთელი ქალების ვასკულარიზაციის მოცულობით ინდექსებთან შედარებით, შეიძლება გამოყენებული იყოს აღნიშნული პათოლოგიის ობიექტურ დიფერენციულ-სადიაგნოსტიკო კრიტერიუმად.

A RARE CASE OF OXYTOCIN-INDUCED MATERNAL CARDIAC BRADYARRHYTHMIA DURING LABOUR

Abuladze N., Gould N., Williams S., Wong A.

Gold Coast University Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology, QLD, Australia

There is an assumption that pregnancy and labour are prone to have a higher incidence of maternal cardiac arrhythmias. A high incidence of cardiac arrhythmias during labour was found among 93% of healthy pregnant women, however other than atrial premature beats (APB), the rate was no higher than among non-pregnant women [1]. Pregnancy and labour are associated with significant anatomical, physiological and emotional changes in women. Intuitively, these haemodynamic alterations, as well as pain and anxiety, might be expected to be a fertile ground for any kind of cardiac arrhythmias. Surprisingly, however, only a few publications deal specifically with rhythm disorders in labour, especially in the healthy population [2].

Induction of labour is commonly indicated for both maternal and foetal reasons. This can be achieved with a single technique or a combination, including use of cervical ripening agents such as prostaglandins, use of a mechanical balloon catheter, artificial rupture of membranes (ARM), along with oxytocin use for induction or augmentation. There are many different oxytocin titration regimes used worldwide and its titration rate can be dependent on the parity of the woman. It is often administered using an infusion pump with careful monitoring of uterine contractions, with continuous foetal cardiotocography (CTG) and maternal heart rate and blood pressure.

Documented side effects of oxytocin include cardiac arrhythmias (both tachycardia and bradycardia), nausea and vomiting, water intoxication and fluid overload resulting in headaches, maternal and neonatal hyponatraemia, acute pulmonary oedema, and rare reports of disseminated intravascular coagulation.

Maternal arrhythmias detected during or after labour in patients without known cardiovascular pathology, display a benign nature and are not known to pose any clinical risk to the mother or baby [3]. Pregnancy is a proarrhythmic state as a result of increasing levels of oestrogen and beta-human chorionic gonadotropin, increased blood volume and cardiac output, and increase in sympathetic activity [3]. Medications used for induction of labour including oxytocin and prostaglandins should also be considered as a cause of persisting arrhythmias during labour [4]. Both medications carry arrhythmogenic properties, and may aggravate occult cardiac conduction problems [5,6].

This rare case detailed below highlights that whilst oxytocin is the most common medication used for labour induction, with a reported side effect of maternal cardiac arrhythmias, this side effect is seldom encountered. Regardless, it reminds us that with its use, both maternal and foetal heart rate monitoring should be continuous. This will help differentiate between foetal and maternal heart rate anomalies.

Case report. A fit and healthy thirty-year old primigravid woman, with a gestational age of 40 weeks and 3 days, presented in spontaneous labour from home following spontaneous rupture of membranes (SRM). She was distressed due to uterine contractions occurring three times every ten min-

utes (3:10). At presentation, her cervix was found to be 2cm dilated, fully effaced with the presenting part at -3 station. Her antenatal care had been otherwise uneventful. Routine blood parameters (haematology and biochemistry) were normal, and the patient was haemodynamically stable prior to presentation.

Due to difficulties tolerating Entonox 50:50 for analgesia, the patient requested an epidural (EDB) with premix of ropivacaine and fentanyl. The insertion was uneventful. Repeat vaginal examination following insertion of the epidural revealed the patient's cervix to be 4cm dilated, fully effaced, with presenting part at -2 station. Pink liquor was noted, and uterine contractions were incoordinate at 2-3:10, lasting 30-40 seconds. Clear urine drained once the indwelling catheter (IDC) was sited. Epidural block was tested and effective up to T4 level (Bromage Score 1) and a normal maternal heart rate was noted in the range of 80-110 beats per minute (bpm). Fetal heart rate (FHR) assessment on CTG was normal. A repeat vaginal assessment 4 hours later revealed an unchanged cervix, and the decision was made to augment labour using an Oxytocin infusion titrated as per hospital protocol, in view of poor progression of labour.

Oxytocin 30 units was added to a 0.9% - 500ml sodium chloride bag and this was infused using a volumetric pump to ensure accuracy, at a rate of infusion of 1 milliunit/min or 1ml/hour. Titration was increased every 30 minutes with Oxytocin increments from 1, 2, 4, 8, 12, 16, and 20 milliunits/min. Maternal heart rate prior to infusion was normal, between 80-100 bpm. The maternal pulse was continuously monitored during labour with pulse oximeter. Titration was then increased as per protocol, in order to achieve four moderate to strong contractions in 10 minutes. At 6 hours post commencement of oxytocin, intermittent maternal bradycardia of 29 - 42 bpm was detected. The patient was otherwise asymptomatic. Maternal bradycardia of 34 to 40 bpm whilst receiving oxytocin was persistently recorded on pulse oximeter and with increasing frequency (see Figure 1). This was confirmed manually and on auscultation. Oxytocin was then discontinued and she was reviewed by cardiologists on call. An electrocardiogram (ECG) was performed, which demonstrated sinus rhythm with premature atrial complexes (PAC) and frequent premature ventricular complexes (PVC) with dropped ventricular beats due to refractory period after these PVCs. The ECG showed no axis deviation, normal QT interval, and heart rate was noted to be normal at 73 bpm. Patient also had normal blood pressure (BP). Blood analyses reported mild potassium and magnesium depletion, and intravenous (IV) replacement was initiated. The decision was then made to proceed with delivery via an emergency caesarean section due to the inability to proceed with use of oxytocin infusion, after consultant collaboration with the on-call physician.

This CTG above (Fig. 1) demonstrates foetal heart rate (the top line in black), maternal heart rate (the middle line in purple) and uterine contraction monitoring (the lower line in black) just prior to termination of Oxytocin use.

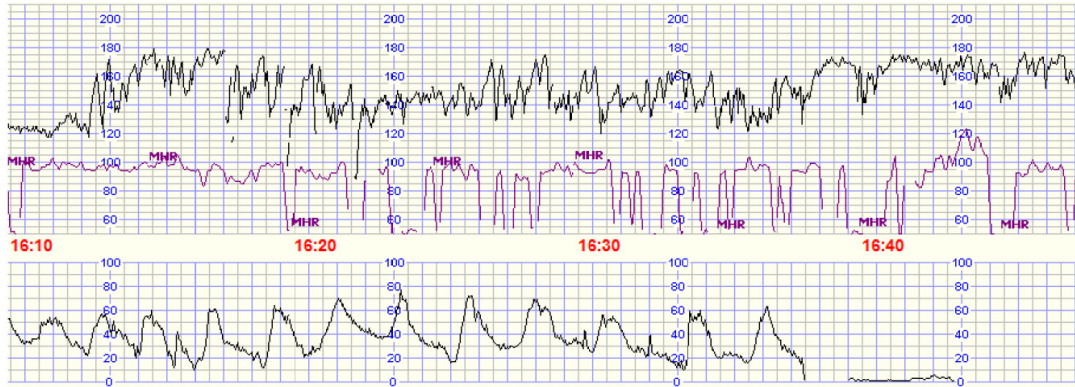


Fig. 1. Cardiotocography demonstrating foetal and maternal heart rate monitoring and uterine activity – after six hours of Oxytocin infusion

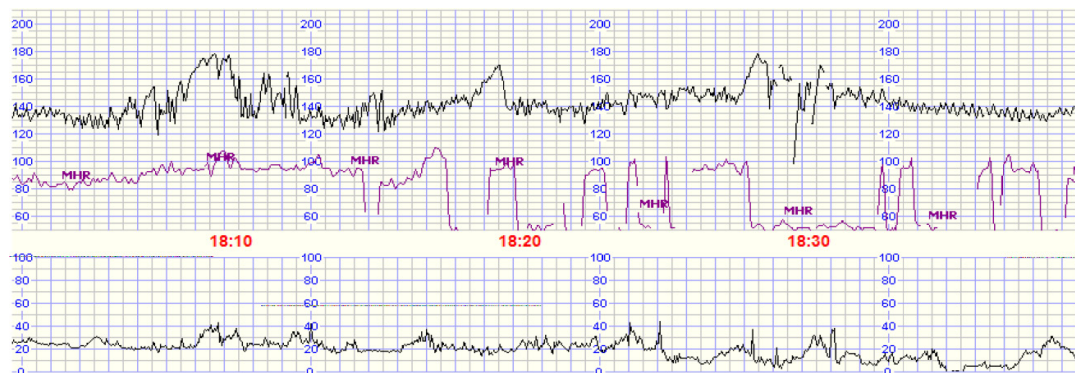


Fig. 2. Cardiotocography demonstrating foetal and maternal heart rate trace and uterine activity – prior to emergency caesarean section

This CTG above (Fig. 2) reveals maternal bradycardia at the time of clinical review prior to the emergency caesarean section (EmCS). Multidisciplinary discussion deemed further oxytocin to be contraindicated and as the patient had not progressed during labour a decision was made to perform an EmCS. Surgery was uneventful under spinal analgesia and a healthy, non-asphyxiated male infant was delivered with normal cord blood gas analyses. Third stage of labour was managed with ergometrin 100mcg IV. Patient was then monitored for further two hours following delivery in the birth suite (BS), on a continuous maternal heart monitor. Telemetry in cardiac ward was not deemed necessary. The intermittent maternal bradycardia persisted until 3 hours postpartum, even after discontinuation of oxytocin. Bradycardic episodes then were resolved and patient remained asymptomatic. Postnatally, a Holter monitor test was performed and was unremarkable. Transthoracic echocardiography also did not reveal any structural cardiac abnormality.

Oxytocin manufacturers indicate that maternal cardiac adverse reactions are quite common (1-10%) [7], however in clinical practice it is rarely seen. In our case, maternal bradycardia was identified, and the decision was made to discontinue oxytocin. The half-life of oxytocin is reported to be short, and it will persist in the system for 3 to 4 minutes. The rapid removal of oxytocin from plasma is accomplished largely by kidney filtration and the liver. Only a small amount of oxytocin is excreted in the urine unchanged [7]. It is therefore surprising that in our case, even after cessation of oxytocin, maternal bradycardia persisted for 3 hours. One theory is that the effect of oxytocin on the cardiac conduction system could be more sustained [4]. This is in keeping with our case where ongoing bradycardia was noted

after cessation of oxytocin. The clinical decision to cease oxytocin and to perform an EmCS was of high importance for the sake of maternal safety, considering the severity of bradycardia in the setting of poor progression in labour without signs of imminent delivery. The patient was deemed to have made a satisfactory and brisk recovery post-delivery, and had appropriate cardiac follow-up.

A comprehensive literature search that covered the past fifty years surprisingly revealed only a few articles on cardiac rhythm disturbances during labour, whereas studies regarding rhythm disturbance during all other stages of pregnancy in non-cardiac patients abound. These few published studies on cardiac arrhythmias during labour presented similar findings in terms of rates of different types of cardiac rhythm disorders, with an overall incidence of cardiac arrhythmias ranging from 72 to 93% in healthy women [1,2,8,9] with most recent published data from 2004. An arrhythmia of any kind, excluding sinus nodal function, was observed in 28 out of the 30 parturients (93%). Tachycardia was recorded in all these women and bradycardia in 50%. The most common arrhythmia was isolated atrial premature beats (APBs) found in 90% of the women in labour. APBs can be caused by tension, anxiety and fatigue, all of which are frequent during labour. The rate of bradycardia was highest immediately after labour (35%) and lowest during the second and third stage of labour [1].

Labor is a period of considerable physical and emotional strain causing tachycardia [10, 11], so the high incidence of bradycardia in labor is surprising. Bradycardia occurs primarily within the hour immediately after delivery, a period characterized by profound fatigue and reduced anxiety and pain. Most,

if not all, women fall asleep at this stage [1]. This may explain the appearance of bradycardia, which was also reported among sleeping, young non-pregnant women [12].

There have been several case reports in literature on oxytocin-induced maternal cardiac arrhythmia. Nakanishi et al 2015 reported ventricular tachycardia during caesarean section which terminated after discontinuation of oxytocin infusion [13]. Likewise Rubin et al reported maternal arrhythmias were seen in slightly more than half (57%) of vaginal deliveries in healthy 100 parturients. There were no cases of maternal bradycardia of less than 58 bpm. In 2% of patients more significant arrhythmias were observed, one with atrial tachycardia with variable A-V conduction as well as multiple PVC's. The other case described ventricular couplets and triplets. The age, parity, stage of labour and the administration of epidural anaesthesia, oxytocin or both, had no significant effect on the frequency of arrhythmias observed. Most importantly, the presence of an arrhythmia did not affect the clinical state of the mother or the fetus and in none of the cases was a therapeutic intervention necessary [2].

Ovando et al studied 57 healthy women during labour with Holter monitoring, 70% of whom had some kind of arrhythmias, and found none of the arrhythmias to be of clinical consequence or necessitating treatment [8]. Upshaw, reporting on 13 vaginal deliveries in healthy women, found some kind of arrhythmias in each case, most of which were sinus in origin., including 1 case of supraventricular tachycardia lasting 47 minutes. The author reports that the birth suit personnel did not even notice these arrhythmias in real time, which did not interfere with the clinical course of the delivery and apparently did not require any treatment [9].

Our case report highlights the risks of unusual maternal bradycardia with use of oxytocin during labour. It is important that maternal pulse is monitored in labour, which is invaluable in identification of bradycardia events, especially in our case, where the patient was asymptomatic. Older CTG machines did not allow monitoring of maternal pulse, but with newer technology, this additional objective measure is possible, and would also be important to differentiate maternal and foetal heart rates.

In Summary, the findings of the known published literature appear to underpin the fact that the frequency of arrhythmias does not increase significantly during labour and delivery, nor affects the labours course. In addition, cardiac arrhythmias during labour, delivery and postnatal period in the healthy female population, are without clinical consequences to the mother and foetus, and in general require no major intervention or treatment.

Conclusion. Our case highlights the importance of maternal heart rate monitoring and validation if abnormal levels are detected, especially during labour where oxytocin is being used to aid the identification of cardiac events during labour which may require prompt management.

Although literature reports that interventions are rare - our patient ultimately needed cessation of the medication, electrolyte replacement, investigations and in the end had operative delivery. With the benefit of hindsight, there may be a case to be made for a conservative approach for our patient

Acknowledgments. We would like to express our gratitude to all those who aid in extensive literature review for editing process and to all maternity unit staff and co-specialists who were involved in patient's care to ensure appropriate management provided.

Ethical approval: For the purpose of publication the following HREC reference has been assigned LNR/2018/QGC/48956.

REFERENCES

1. Ayal Romem, Yitzhak Romem, Miriam Katz, Alexander Battler. Incidence and characteristics of maternal cardiac arrhythmia during labour. *The American Journal of Cardiology* 2004; Vol. 93:931-933.
2. Rubin Berlinerblau, Annie Yessian, Edgar Lichtlein et al. Maternal arrhythmia's of normal labour and delivery. *Gynaecologic and Obstetric Investigation* 2001;52:128-131.
3. Ripley Dp, Shome JJ, Khan S et al. 2012. Simple treatment options exist for supraventricular tachycardia in pregnancy. *Journal of Obstetrics and Gynaecology* 32:502-503.
4. Kosus N, Kosus A. 2012. Maternal arrhythmia detected during labour could be caused by drugs used for induction of labour, *Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2012;32:5, 502-503.
5. Ghulmiyaah LM, Wehbe SA, Saltzman SL et al. 2007. Intra-umbilical vein injection of Oxytocin and the third stage of labour: randomized double-blind placebo trial. *American Journal of Perinatology* 24:347-352.
6. Sung CW, Jung JH, Lee SH . 2009. Acute myocardial infarction due to vasospasm induced by prostaglandin. *Canadian Journal of Cardiology* 25: 359-360.
7. Oxytocin APOTEX MIMS Online. <https://www.mimsonline.com.au>
8. Ovando LA, Germiniani H, Miglino R, De Cunha GP: Maternal cardiac arrhythmias during labor and delivery. *Arq Bras Cardiol* 1983;40:171-176.
9. Upshaw CB: A study of maternal electrocardiograms recorded during labor and delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1970;107:11-27.
10. Hunter S, Robson SC. Adaptation of the maternal heart rate in pregnancy. *Br Heart J* 1992;68:540-543.
11. Robson SC, Dunlop W, Boys RJ, Hunter S. Cardiac output during labour. *BMJ* 1987;295:1169-1172.
12. Sobotka PA, Mayer JH, Bauernfeind RA, Kandis C, Rosen K. Arrhythmias documented in 24 hour continuous ambulatory electrocardiographic monitoring in young women without apparent heart disease. *Am Heart J* 1981;101:753-759.
13. Nakanishi M, Masumo K, Oota T, Kato T.,Imanishi T JA clinical reports, 2015 – Springer. <https://scholar.google.com.au>

SUMMARY

A RARE CASE OF OXYTOCIN-INDUCED MATERNAL CARDIAC BRADYARRHYTHMIA DURING LABOUR

Abuladze N., Gould N., Williams S., Wong A.

Gold Coast University Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology, QLD, Australia

The report a rare case of oxytocin-induced severe maternal bradyarrhythmia of a young healthy term primigravida with a singleton pregnancy in spontaneous labour. Augmentation of labour was initiated immediately following the diagnosis of poor progression of labour at four centimetres dilatation. An oxytocin infusion was administered as per standard hospital titration protocol. The patient developed ongoing, persistent episodes of severe bradycardia within six hours of commencement of the oxytocin infusion, as detected by routine pulse oximeter for ma-

ternal heart rate monitoring and confirmed manually. Oxytocin was ceased as soon this was recognised, and delivery was expedited by emergency caesarean section both for inadequate progress in labour and the inability to continue oxytocin infusion. Despite being theoretically known to cause cardiac arrhythmias,

as a side effect, to our knowledge this is the first reported case in published literature of oxytocin-induced maternal bradycardia.

Keywords: induction of labour, oxytocin side effects, maternal arrhythmias in labour.

РЕЗЮМЕ

РЕДКИЙ СЛУЧАЙ ОСТРОЙ БРАДИАРИТМИИ У РОЖЕНИЦЫ, ВЫЗВАННЫЙ ИНФУЗИЕЙ ОКСИТОЦИНА В ПРОЦЕССЕ РОДОВ

Абуладзе Н.Н., Гоулд Н.Г., Уилиамс С.Р., Вонг О.Ф.

Клиническая больница Университета Голд Коста, акушерско-гинекологическое отделение, Квинсленд, Австралия

Описан редкий случай острой брадиаритмии, вызванной инфузией окситоцина, возникшей в процессе родов у молодой, здоровой, своевременно первородящей роженицы. Стимуляция родов проведена ввиду неудовлетворительного прогресса родовой деятельности, при раскрытии шейки матки на 4 сантиметра, когда инфузия окситоцина была иницирована соответствующим титрованием по стандартам госпиталя. Спустя шесть часов после начала инфузии окситоцина у пациентки возникли множественные длительные

эпизоды острой брадикардии, которые были установлены во время мониторинга сердечного ритма посредством пульсоксиметра и подтверждены мануально. Инфузия окситоцина была прекращена после установления диагноза острой брадиаритмии матери и родоразрешение было завершено путем кесарева сечения ввиду неадекватного течения родовой деятельности и невозможности применения инфузии окситоцина. Представлен интересный случай острой брадикардии у роженицы, вызванный инфузией окситоцина.

რეზიუმე

მშობიარობის პროცესში ოქსიტოცინის ინფუზიით გამოწვეული დედის მწვავე ბრადიარითმიის იშვიათი შემთხვევა

ნ. აბულაძე, ნ. გოულდი, ს. უილიამსი, ო. ვონგი

გოლდ კოსტის უნივერსიტეტის კლინიკური საავადმყოფო, მენობა-გინეკოლოგიის განყოფილება, ქვინსლენდი, ავსტრალია

სტატიაში აღწერილია ახალგაზრდა, ჯანმრთელი, ერთნაყოფიანი, დროული, პირველმშობიარე პაციენტის მშობიარობის პროცესში ოქსიტოცინის ინფუზიით გამოწვეული მწვავე ბრადიარითმიის იშვიათი შემთხვევა. მშობიარობის სტიმულაცია განხორციელდა სამშობიარო მოქმედების არადამაკმაყოფილებელი მიმდინარეობის დიაგნოსტიკისთანავე, საშვილოსნოს ყელის 4 სანტიმეტრზე გახსნის პირობებში, როდესაც ოქსიტოცინის ინფუზია დაწყებული იყო ჰოსპიტალის სტანდარტული პროტოკოლის შესაბამისი ტიტრირებით. ოქსიტოცინის დაწყებიდან ექვს საათში

პაციენტს განუვითარდა მწვავე ბრადიკარდიის მრავლობითი გახანგრძლივებული ეპიზოდები, რაც დაფიქსირდა პულსოქსიმეტრზე დედის გულისცემის რითმის მონიტორინგის დროს და დადასტურდა მანუალურად. ოქსიტოცინის ინფუზია შეწყდა დედის მწვავე არითმიის დიაგნოსტიკისთანავე და მშობიარობა დასრულდა საკეისრო კვეთის გზით, ამ ეტაპზე სამშობიარო მოქმედების არასათანადო პროგრესისა და ოქსიტოცინის ინფუზიის გამოყენების შეუძლებლობის შედეგად. წარმოდგენილია ოქსიტოცინით გამოწვეული დედის მწვავე ბრადიკარდიის საინტერესო შემთხვევა.

ПРИМЕНЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА EASYGRAFT® ПРИ СУБАНТРАЛЬНОЙ АУГМЕНТАЦИИ ВЕРХНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

Костенко Е.Я., Мочалов Ю.А., Каминский Р.С., Накашидзе Г.Н., Бунь Ю.Н., Гончарук-Хомин М.Ю.

Государственное высшее учебное заведение «Ужгородский национальный университет», Украина

Проблема полноценной стоматологической реабилитации пациента после частичной или полной потери зубов является актуальным вопросом для стоматологической практики, а для специалиста-практика зачастую ежедневным заданием для решения. Успешное применение современных технологий стоматологического протезирования в клинике (в том числе и с опорой на дентальных имплантатах) требует наличия достаточного количества костной ткани для стабилизации и адекватной передачи жевательной нагрузки. У большинства пациентов, которые обращаются к стоматологу с целью зубного протезирования с опорой на дентальные имплантаты после потери зубов в боковых участках верхней челюсти, довольно часто наблюдается атрофия альвеолярной кости, вследствие чего может наблюдаться увеличение объема верхнечелюстной пазухи (sinus Naumori), такая пазуха может распространяться в сторону альвеолярного отростка, при наличии атрофии последнего [1,2]. Следовательно, по истечению некоторого времени, вертикальные размеры альвеолярного отростка верхней челюсти у такого пациента зачастую бывают недостаточными для размещения имплантата. Использование остеопластических материалов с целью ликвидации первичных и вторичных дефектов костной ткани челюстей является ежедневной практикой для большинства стоматологических клиник в мире. Практическое здравоохранение за последние 20-30 лет формирует стабильный спрос на материалы-заменители костной ткани, на который оперативно «реагируют» производители остеопластических и костзамещающих материалов. Такие материалы наиболее часто применяются в хирургии позвоночника, на втором месте по потребности находится стоматологическая практика, на третьем – черепно-челюстно-лицевая хирургия, и далее, по ниспадающей – реконструкция суставов в ортопедии и травматологии, а также лечение травм скелета и их последствий [1,3].

Субантральная аугментация верхней челюсти и остеопластические материалы

В современной хирургической стоматологии существуют различные методики по увеличению объема нижней стенки верхнечелюстной пазухи с целью создания участка костной ткани, достаточного для проведения дентальной имплантации. В современной профессиональной литературе такие манипуляции называются «субантральная аугментация верхней челюсти», «наращивание стенки дна верхнечелюстного синуса», «синус-лифт», «синус-лифтинг» и т.п. Суть таких операций состоит в искусственном утолщении стенки верхнечелюстной пазухи путем создания закрытого или открытого доступа в верхнечелюстную пазуху без повреждения слизистой оболочки, выступающий синус. Внутренняя слизистая оболочка верхнечелюстной пазухи («мембрана Шнайдера») атравматично отсепарировывается, мобилизуется и смещается кверху, в новообразованную нишу между мембраной и костными стенками верхнечелюстной пазухи вносится остеопластический материал [4, 5].

Выполнение указанной процедуры требует немалого опыта от хирурга и применения максимально щадящего подхода практически на всех этапах выполнения вмешательства. Субантральная аугментация верхней челюсти (синус-лифт) — это хирургическая техника, направленная на увеличение толщины нижней стенки верхнечелюстной пазухи, что позволяет произвести дентальную имплантацию одномоментно или отсрочено. В процессе выполнения синус-лифта слизистая оболочка (чаще – однослойный цилиндрический и реснитчатый эпителий), выступающая верхнечелюстной синус изнутри, аккуратно отсепаровывается, смещается вертикально вверх, создавая дополнительное пространство между слизистой оболочкой и нижней стенкой пазухи; в сформированную нишу вносится аутокость или другой остеопластический материал [6,7]. Выполнение операции синус-лифта возможно через два оперативных доступа — через боковую стенку пазухи (латеральный) и альтернативно — через альвеолярный отросток верхней челюсти. Обе вышеупомянутые методики, как латеральная, так и через-альвеолярная, достаточно хорошо описаны в профессиональной литературе и являются безопасными и эффективными способами решения клинической задачи по утолщению дна верхнечелюстной пазухи; возможность их применения зависит от исходной клинической ситуации. На технику дентальной имплантации методика проведения синус-лифта не влияет, не отмечено также существенных различий уровня успешности дентальной имплантации и периода сохранения самого имплантата [8].

Рядом клинических исследований доказано, что обе методики синус-лифта позволяют достигнуть длительного периода сохранения дентального имплантата, длительной его стабильности и низкой вероятности хирургических осложнений [5,9,10-13]. Обе методики субантральной аугментации верхней челюсти имеют свои преимущества и недостатки, соответствующие показания к применению, также, присутствует некая зависимость от клинического опыта и развития мануальных навыков у оператора (таблица 1) [4].

Особенностью манипуляций при внесении остеопластического материала в новосформированную нишу в верхнечелюстном синусе при элевации мембраны Шнайдера зачастую является выполнение следующих оперативных заданий – создание безопасного и эффективного оперативного доступа в полость пазухи, атравматичная сепарация и элевация мембраны Шнайдера, защита мембраны Шнайдера от остеопластического материала и края дентального имплантата (при одноэтапной имплантации), размещение остеопластического материала в сформированной нише и стабилизация его формы (профилактика «миграции» остеопластического материала под влиянием гравитации и механических воздействий, покрытие материалом поверхности имплантата при одномоментной имплантации), дополнительная изоляция отверстия оперативного доступа на латеральной поверхности верхней челюсти (при открытом синус-лифтинге) [14].

Таблица 1. Сравнительная характеристика методик латерального и черезальвеолярного синус-лифта
(адаптировано по Giannobile et. al. [4])

Критерий оценки	Латеральный доступ	Черезальвеолярный доступ
Технические трудности	Более сложен	Менее сложный
Визуальный контроль	Прямая визуализация	Работа “вслепую”
Инвазивность	Более инвазивный	Менее инвазивный
Риск возникновения осложнений	Высокий	Низкий
Вероятность сохранения установленного имплантата	Сопоставимая	Сопоставимая

На современном мировом медицинском рынке остеопластических материалов и заменителей костной ткани исследователи определяют такие наиболее активно развивающиеся направления:

- аллотрансплантанты и ксенотрансплантанты костной ткани;

- остеопластические материалы на полимерной основе;
- синтетические остеопластические материалы;
- рекомбинантные морфогенетические протеины кости;
- остеопластические материалы на керамической основе;
- матрицы кости на клеточной основе.

Перспективными с клинической точки зрения представляются синтетические материалы, в том числе композиционные по своей сути, и с наличием полимерного компонента в составе. Подобные материалы являются osteoconductive по своему влиянию на костную ткань, их применение сопряжено с меньшими рисками, чем применение материалов естественного происхождения [1,15].

Синтетический остеопластический материал easygraft® используется в стоматологической практике многих стран уже более 5 лет и зарекомендовал себя как эффективный материал для профилактики резорбции костной ткани, а также для устранения дефицита костной ткани при выполнении латеральной и вертикальной аугментации альвеолярных отростков челюстей, ликвидации дефектов костной ткани челюстей после лечения доброкачественных опухолей и опухолеподобных образований, при выполнении открытого кюретажа пародонтальных карманов или модификаций операций по типу Цешинского-Видмана-Неймана, для хирургической подготовки челюстей к стоматологическому протезированию с опорой на имплантатах, также при выполнении субантральной аугментации дна верхнечелюстного синуса (синус-лифт). Положительные свойства материала в виде его быстрого самостоятельного отвердения в костном дефекте в присутствии биологических жидкостей позволяют его максимально адаптировать к дефекту, а также зафиксировать необходимую форму такого костного имплантата и, во многих случаях, избежать дополнительного применения мембран для направленной регенерации тканей и кости. Материал easygraft® производства компании Sunstar GUIDOR® (Швейцария) является современным аллопластическим синтетическим остеопластическим материалом, обладающим выраженными osteoconductive свойствами. Материал представлен пористыми гранулами β-трикальцийфосфата с диаметром от 500 до 1030 мкм, покрытыми слоем сополимера полилактида/полигликолида, толщина слоя органического покрытия – 10 мкм, диаметр внутренних пор гранул – от 1 до 10 мкм. N-метил-2-пирролидона (BioLinker®) при внесении в шприц с материалом биорастворителя размягчает органическую оболочку гранул, происходит частичный разрыв межмолекулярных связей между звеньями сополимера, вследствие чего они становятся адгезивными, а сам материал приобретает пастиобразную консистенцию. Такую «пасту из гранул» воз-

© GMN

можно вносить в любые по форме дефекты костной ткани ввиду ее простой адаптации к форме дефекта, достаточной плотности и отсутствия рассыпчатости. При контакте активированного материала с водой, физраствором или раневой жидкостью происходит экстракция N-метил-2-пирролидона из размягченной оболочки гранул, восстановление межмолекулярных связей между звеньями макромолекул, и сополимер полилактида/полигликолида восстанавливает свою твердость. Макроскопически такой процесс выглядит в виде потери пластичности и формирования плотного osteoconductive имплантата. При попадании в среду костного дефекта полилактид/полигликоид постепенно гидролизуются, резорбируются и вымываются тканевой жидкостью в течение 4 недель. Далее, имеют место процессы замещения конгломерата гранул собственной молодой костной тканью, которые могут длиться до 1 года и более

Стандартная инструкция производителя easygraft® рекомендует в процессе его приготовления после внесения жидкости-растворителя (BioLinker®) в шприц, для смачивания гранул материала, произвести 2-3 возвратно-поступательных движений поршнями шприца, что по времени занимает 20-30 секунд. После этого гранулы приобретают адгезивные свойства, а сам материал становится консолидированным и пластичным, готовым для внесения в костный дефект или под надкостницу (слизистую оболочку верхнечелюстного синуса). На практике, при больших объемах костных дефектов и выполнении операций синус-лифтинга продолжительность контакта гранул материала с биорастворителем может быть значительно больше, чем предусмотрено производителем. По сообщениям многих практикующих врачей-стоматологов, время контакта могло составлять от 5 до 10 (а, в некоторых случаях, и больше) минут. При этом, отмечалось некоторое удлинение периода пластичности материала, что облегчало его адаптацию в реципиентной зоне. Таким образом, в качестве остеопластического материала-наполнителя для синус-лифтинга был выбран easygraft® Classic ввиду самостоятельного затвердения при контакте с биологическими жидкостями, быстроты манипуляций, удобной упаковки в шприцах и возможности работы без защитной и изоляционной мембраны [11,12,16,17].

Случай из практики. Пациент Н., 48 лет обратился в клинику с диагнозом частичная вторичная адентия верхней челюсти (включенные двухсторонние дефекты боковых отделов зубного ряда), наличие несостоятельных старых ортопедических стоматологических конструкций – металлокерамические мостовидные протезы, со сколами керамической облицовки, неудовлетворительное состояние опорных зубов, их подвижность. Произведенное обследование и консультации у смежных специалистов дополнительно позволили диагностировать хронический не-одонтогенный двухсторонний гайморит, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки. На срезах конусной спиральной компьютерной томографии верхних челюстей определено снижение пневматизации верхнечелюстных пазух и

гипертрофию внутренней слизистой оболочки (мембрана Шнайдера). Выраженная атрофия альвеолярных отростков, толщина костной пластинки альвеолярного отростка верхней челюсти в зонах дефекта зубных рядов – 2-3 мм. С пациентом был согласован план лечения – удаление несостоятельных опорных зубов, удаление старых мостовидных протезов, установка временных мостовидных протезов из пластмассы, консультация и лечения у оториноларинголога, гастроэнтеролога, выполнение латерального синус-лифтинга с обеих сторон с перерывом в 2 месяца между операциями, отсроченная внутрикостная дентальная имплантация, протезирование пациента металлокерамическими одиночными коронками с опорой на дентальный имплантат. Система дентальной имплантации Dentium SuperLine, латеральный синус-лифтинг с фенестрацией стенки верхней челюсти DASK (Dentium Advanced Sinus Kit)®, она же техника «grind-out», остеопластический материал для внесения в синус - easygraft®. После проведенного лечения у ЛОР-специалиста и гастроэнтеролога, при наличии признаков стойкой ремиссии хронического гайморита было принято решение о выполнении одностороннего открытого синус-лифтинга.

Описание операции. Под инфильтрационной и проводниковой анестезиями Септанест® 1:200 000 в зоне верхней челюсти слева у пациента в зоне отсутствующих 24 – 26 зубов выкроен, отсепарирован и смещен кверху слизисто-накостный лоскут, скелетирован фрагмент латеральной поверхности верхней челюсти, при помощи грибовидных алмазных фрез из набора DASK® выполнено 2 фенестрационных окна диаметром 8 мм на расстоянии 1,3 см между собой (рис. 1-3).



Рис. 1. Выполнение местной анестезии левой верхней челюсти



Рис. 2. Отсепарирование слизисто-поднадкостничного лоскута на наружной поверхности верхней челюсти слева

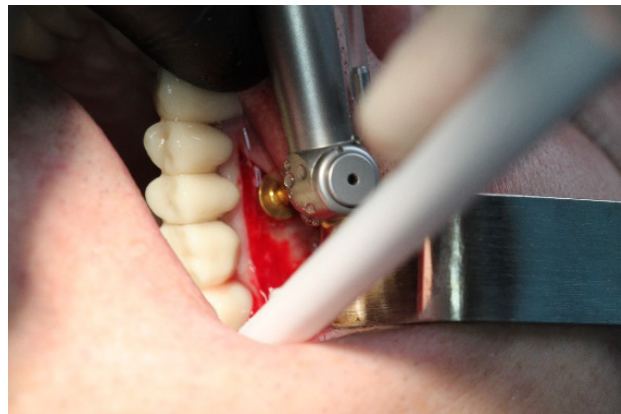


Рис. 3. Создание операционного доступа к левому верхнечелюстному синусу при помощи грибовидной алмазной фрезы с набора DASK (Dentium Advanced Sinus Kit) ®

Атравматично с помощью набора кюрет DASK® произведено отсепарирование внутренней слизистой оболочки верхней челюсти (мембрана Шнайдера) и ее элевация (рис. 4).

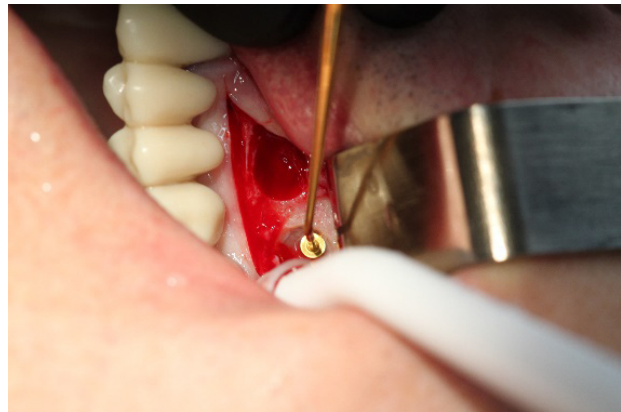


Рис. 4. Отделение мембраны Шнайдера от костного основания при помощи грибовидной кюреты DASK (Dentium Advanced Sinus Kit) ®

В новосформированную нишу, между мембраной и костью верхней челюсти, внесен аллопластический остеопластический материал easygraft® Classic в объеме 2,4 мл. Материал сформирован и упакован с помощью грибовидной кюреты из набора DASK® до уровня внешней стенки верхней челюсти (рис. 5).



Рис. 5. Внесение остеопластического материала easygraft® в нишу под внутренней слизистой оболочкой верхнечелюстной пазухи слева

После отверждения материала слизисто-поднакостнич- ный лоскут уложен на место, фиксирован одиночными шва- ми из полиамида 4-0, 5-0. Гемостаз (рис. 6,7).



Рис. 6. Отверждение остеопластического материала easygraft® в костной ране



Рис. 7. Вид операционной раны после ушивания наглухо

Пациенту было рекомендовано ограничить физические нагрузки в течении 2 недель, ежедневный туалет носовых ходов при помощи аэрозоля Но-Соль®, сосудосуживающие капли Фармазолин® 0,1% по 2 раза в день – 7 дней; холод местно в течении суток. Антибактериальная терапия пациенту не назначалась, ввиду того, что повторный осмотр пациента на третий день показал незначительный отек мягких тканей щековой и скуловой области слева, кожа была без видимых патологических изменений, слизистая оболочка полости рта в зоне операции несколько пастозна с признаками застойной гиперемии, линия швов чистая, последние – стойательны. Осмотр пациента на 9-й день после операции показал исчезновение отека мягких тканей, в полости рта – слизистая оболочка с признаками эпителизации, сняты швы. Даны рекомендации

Выводы. Широкое применение костзамещающих материалов в современной стоматологии обусловлено значительным распространением нозологических форм, способных вызывать потерю костной ткани, а также интенсивной резорбцией костной ткани в случаях выключения жевательной нагрузки на костную основу – особенно при потере зубов. Остеопластический материал easygraft® является современным средством решения вышеуказанных проблем. Полностью синтетический состав материала позволяет его использовать практически у всех групп пациентов, в том числе и при операции синус-лифтинга. Возможность само-

стоятельного затверждения материала после контакта с биологическими жидкостями позволяет расширить показания к его применению, в частности в виде безмембранных технологий лечения костных дефектов. Применение материала easygraft® в качестве остеопластического остеокондуктивного материала при операциях аугментации дна верхнечелюстной пазухи является рациональной методикой лечения ввиду безопасности самого материала (отсутствие материала животного и человеческого происхождения, аллергенов в составе материала), удобства в использовании (форма выпуска в шприцах, отсутствие сыпучести и миграции гранул активированного биорастворителем материала), возможности использования материала без защитных и изоляционных мембран в зоне контакта с мембраной Шнайдера и в зоне контакта с наружным отверстием операционного доступа при латеральном (открытом) синус-лифтинге.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kumar P. Bone grafts in dentistry / P. Kumar, B. Vinitha, G. Fathima // J Pharm Bioall Sci. – 2013. – Vol.5. – P. 125-127.
2. Joshi C. P. Alveolar ridge preservation using autogenous tooth graft versus beta-tricalcium phosphatealloplast: a randomized, controlled, prospective, clinical pilot study / C. P. Joshi, N. H. Dani, S. U. Khedkar // J Indian Soc Periodontol. – 2016. – Vol 20(4). – P. 429-434.
3. Alan H. The histological study of osseous regeneration following implantation of various bone graft biomaterials / H. Alan, E. Farahani, S. Tunik, G. Kavak // Niger J Clin Pract. – 2016. – Vol. 19(4). – P. 517-522.
4. Giannobile W. V. Osteology Guidelines for Oral & Maxillofacial Regeneration. Clinical Research / W. V. Giannobile, N. P. Lang, M. Tonetti. – Quintessenz Verlags-GmbH. 2014, 328pp.
5. Pjetursson B. E. A systematic review of the success of sinus floor elevation and survival of implants inserted in combination with sinus floor elevation / B. E. Pjetursson, W. C. Tan, M. Zwahlen, N. P. Lang // J Clin Periodontol. – 2008. Vol. 35(8 Suppl). – P. 216-240.
6. Boyne P. J. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone / P. J. Boyne, R. A. James // J Oral Surg. – 1980. – Vol. 38(8). – P. 613-616.
7. Tatum H., Jr. Maxillary and sinus implant reconstructions / H. Tatum, Jr. // Dent Clin North Am. – 1986. – Vol. 30(2). P. 207-229.
8. Fugazzotto P. A. Long-term success of sinus augmentation using various surgical approaches and grafting materials / P. A. Fugazzotto, J. Vlassis // International Journal of Oral and Maxillofacial Implants. – 1998. – Vol. 13(1). P. 52-58.
9. Bruschi G. B. Transcrestal sinus floor elevation: a retrospective study of 46 patients up to 16 years / G. B. Bruschi, R. Crespi, P. Cappare, E. Gherlone // Clinical implant dentistry and related research. – 2012. – Vol. 14(5). P. 759-767.
10. Tan W. C. A systematic review of the success of sinus floor elevation and survival of implants inserted in combination with sinus floor elevation. Part II: transalveolar technique / W. C. Tan, N. P. Lang, M. Zwahlen, B. E. Pjetursson // J Clin Periodontol. – 2008. – Vol. 35(8 Suppl). – P. 241-254.
11. Troedhan A. The transcrestal hydrodynamic ultrasonic cavitational sinuslift: Results of a 2-year prospective multicentre study on 404 patients, 446 sinuslift sites and 637 inserted implants / A. Troedhan, A. Kurrek, M. Wainwright, I. Schlichting, B. Fischak-Treitl, M. Ladentrog // Open Journal of Stomatology. – 2013. – Vol. 3. – P. 471-485.

12. Troedhan A. Primary implant stability in augmented sinus-lift-sites after completed bone regeneration: a randomized controlled clinical study comparing four subantrally inserted biomaterials / A. Troedhan, I. Schlichting, A. Kurrek, M. Wainwright // Scientific reports. – 2014. – Vo 1. 4.
13. Troedhan A. Biomechanical stability of dental implants in augmented maxillary sites: results of a randomized clinical study with four different biomaterials and PRF and a biological view on guided bone regeneration / A. Troedhan, M. Wainwright, A. Kurrek, I. Schlichting // BioMed Research International. – 2015. – Vol. 2015. – 850340.
14. Testori T. Prevention and treatment of postoperative infections after sinus elevation surgery: clinical consensus and recommendations / T. Testori, L. Drago, S. S. Wallace [et al.] // International journal of dentistry. – 2012. – Vol. 2012. – 365809.
15. Thesleff T. Cranioplasty with adipose-derived stem cells, beta-tricalcium phosphate granules and supporting Mesh: Six-Year Clinical Follow-Up Results / T. Thesleff, K. Lehtimäki, T. Niskakangas, S. Huovinen, B. Mannerström, S. Miettinen, R. Seppänen-Kaijansinkko, J. Öhman // Stem Cells Transl Med. – 2017. – Vol. 6(7). – P. 1576-1582.
16. Okada T. Long-term radiographic assessment of maxillary sinus floor augmentation using beta-tricalcium phosphate: analysis by cone-beam computed tomography / T. Okada, T. Kanai T, N. Tachikawa, M. Munakata, S. Kasugai // Int J Implant Dent. – 2016. – Vol. 2(1). – P. 8 – 11.
17. Testori T. Repair of large sinus membrane perforations using stabilized collagen barrier membranes: surgical techniques with histologic and radiographic evidence of success / T. Testori, S. S. Wallace, M. del Fabbro, S. Taschieri, P. Trisi, M. Capelli, R. L. Weinstein // International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry. – 2008. – Vol. 28(1). – P. 9-17.

SUMMARY

APPLICATION OF SYNTHETIC OSTEOPLASTIC MATERIAL EASYGRAFT® IN MAXILLA SUBANTRAL AUGMENTATION (SINUS-LIFT)

Kostenko Ye., Mochalov I., Kaminsky R., Nakashidze G., Bun Y., Goncharuk-Khomyn M.

Uzhhorod National University, Ukraine

The problem of complex dental rehabilitation of a patient after partial or complete teeth loss is an urgent issue for dental practice. The most of patients coming to dentist with to make dentures on dental implants after tooth loss in lateral part of maxilla are often observed with atrophy of the alveolar bone resulting in maxillary sinus (sinus Haymori) enlargement. Creating an additional space for dental implant placement in the maxilla is possible by performing a sinus lift (subantral maxilla augmentation) - artificially thickening the lower and outer wall of the maxillary sinus with usage of osteoplastic materials. A clinical case of lateral (open) sinus-lifting performed by “grind-out” technique with the DASK® kit (Dentium Advanced Sinus Kit®) is described. As an osteoplastic material was used an alloplastic self-hardening in wound material easygraft®.

Keywords: stomatology, implantation, maxilla, sinus-lift, DASK®, easygraft®.

РЕЗЮМЕ

ПРИМЕНЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО ОСТЕОПЛАСТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА EASYGRAFT® ПРИ СУБАНТРАЛЬНОЙ АУГМЕНТАЦИИ ВЕРХНЕЙ ЧЕЛЮСТИ

Костенко Е.Я., Мочалов Ю.А., Каминский Р.С., Накашидзе Г.Н., Бунь Ю.Н., Гончарук-Хомин М.Ю.

Государственное высшее учебное заведение «Ужгородский национальный университет» Украина

Проблема полноценной стоматологической реабилитации пациента после частичной или полной потери зубов является актуальным вопросом для стоматологической практики. У большинства пациентов, которые обращаются к стоматологу с целью зубного протезирования с опорой на дентальные имплантаты после потери зубов в боковых участках верхней челюсти, довольно часто наблюдается атрофия альвеолярной кости, вследствие чего может наблюдаться увеличение объема верхнечелюстной пазухи (sinus Haymori). Создание дополнительного пространства для установки дентальных имплантатов на верхней челюсти возможно путем выполнения операции синус-лифтинга (субантральная аугментация верхней челюсти) – искусственное утолщение нижней и наружной стенки верхнечелюстной пазухи с применением остеопластических материалов. Описан клинический случай латерального (открытого) синус-лифтинга, выполненного по технике «grind-out» при помощи набора DASK® (Dentium Advanced Sinus Kit®); в качестве остеопластического материала использован аллопластический твердеющий в ране материал easygraft®.

რეზიუმე

სინთეტიკური ოსტეოპლასტიკური მასალის easygraft®-ის გამოყენება ზედა ყბის სუბანტრალური აუგმენტაციისას

ე. კოსტენკო, ი. მოჩალოვი, რ. კამინსკი, გ. ნაკაშიძე, ი. ბუნე, მ. გონჩარუკ-ხომინი

უგოროდის ეროვნული უნივერსიტეტი, უკრაინა

პაციენტის სრული სტომატოლოგიური რეაბილიტაციის პრობლემა კბილების ნაწილობრივი ან სრული დაკარგვის შემდეგ წარმოადგენს სტომატოლოგიური პრაქტიკის აქტუალური საკითხს. პაციენტების უმრავლესობას, რომლებიც მიმართავენ სტომატოლოგს კბილების დენტალურ იმპლანტებზე დაყრდნობით პროთეზირების მიზნით, ზედა ყბის გვერდით ნაწილებში კბილების დაკარგვის შემდეგ, საკმაოდ ხშირად უვლინდებათ ალვეოლური ძვლის ატროფია, რის შედეგადაც შეიძლება გაიზარდოს ზედა ყბის წიაღის მოცულობა (sinus Haymori). ზედა ყბაზე დენტალური იმპლანტების ჩადგმისთვის დამატებითი სივრცის შექმნა შესაძლებელია სინუს-ლიფტინგის ოპერაციის შესრულებით (ზედა ყბის სუბანტრალური ამაღლება) - ოსტეოპლასტიკური მასალების გამოყენებით ზედა ყბის წიაღის ზედა და ქვედა კედლების ხელოვნური გასქელება. აღწერილია ლატერალური (ღია) სინუს-ლიფტინგის კლინიკური შემთხვევა. შესრულებული «grind-out»-ის ტექნიკით DASK® (Dentium Advanced Sinus Kit®) ნაკრების გამოყენებით; ოსტეოპლასტიკურ მასალად გამოყენებულია easygraft®, რომელიც მკერძდება ჭრილობაში.

MONITORING OF CHANGES IN PHYSICOCHEMICAL AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE DENTAL POLYMER MATERIALS USED IN ADDITIVE MANUFACTURING OF DENTAL PROSTHESES

¹Arutyunov S., ²Krasheninnikov S., ¹Levchenko I., ⁴Orjonikidze R., ³Sadovskaya N., ¹Kirakosyan L., ¹Kharakh Y.

¹Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, Ministry of Healthcare of Russia, Department of propaedeutics of dental diseases; ²National Research Center "Kurchatov Institute", Laboratory of Polymer Materials; ⁴Karpov Institute of Physical Chemistry, Center for Shared Use; ⁴Tbilisi State Medical University, Georgia

Additive technologies have been finding increasing application in dentistry due to the possibility of programming of the parameters and fabricating the structures of therapeutic and prophylactic devices and dental prostheses from the UV-curable acrylate based polymer composite materials (PCMs) via 3D printing technology, and started replacing analogues made using the conventional technologies of casting and digital milling. This is explained by series of advantages, the high rate of fabrication and cost efficacy in the first place. This primarily refers to polymer fixed provisional restorations of prototype dental prostheses needed in the prosthodontics treatment regimen [1, 2]. A pivotal question is whether these materials retain a satisfactory level of mechanical and functional properties for the full duration as needed (1 year), and thus it is important to know their physicochemical properties, as they affect the strength characteristics of the restorations, as well as their resistance to the biological environment of the oral cavity. Therefore, the aim of this study was to determine the feasibility of the use of long-term fixed provisional restorations made of polymer materials, fabricated using 3D printing. The following null hypothesis (H0) was tested: the treatment mode selection has no effect on the level of hygiene and plaque indices.

Materials and methods. Two polymer materials for fixed provisional restorations of dental prostheses which are the most common on the international dental services market, were studied in this work: NextDent C&B Micro Filled Hybrid (ND) (Great Britain) [3] and Detax Freeprint temp UV (DX) (Germany) [4]. The printing was performed on the equipment recommended by the manufacturer: on FormLab Form 2 3D printer (United States) from the ND material and on Asiga Freeform PICO 2 3D printer (United States) from the DX material [5]. To obtain specimens with the maximum degree of conversion of the monomer and to unify the conditions of fabrication of the specimens, they were subjected to the post-treatment—ultraviolet post-curing in an Otofash G171 apparatus (the period of exposure of the specimens was 6 hours at 24 °C).

The choice of the study methods was based on the list of physicochemical parameters presented in ISO 1567:1999 such as water absorption capacity, solubility, flexural strength, flexural modulus, hardness, and wear resistance. The investigation of the durability of the materials was performed by monitoring the changes in the mechanical parameters upon three-point flexural test under the conditions of accelerated aging.

The studies of the mechanical properties and hardness of the materials were performed on an Instron 5982 universal testing machine equipped with a load cell of the 2580-108 ±5 kN series in the modes of three-point bending and uniaxial compression. The sizes of the specimens for the flexural test were as follows: 64 × 10 × 3.5 mm in accordance with ISO 10477 and ISO 1567:1999. The distance between the supporting pins was 50 mm and the speed of loading was 5 mm/min. In accordance with the requirements of ISO, the specimens were submerged in the distilled water at 37 ± 1 °C for 50 hours prior to the tests. The calculation of the strength and modulus of elasticity based on the test results was performed according to the procedure specified

in ISO 10477 and ISO 1567:1999. The hardness was studied according to ISO 2039-1:2001. The size of the specimens provided for by this standard is 50 × 50 × 4 mm. The tests were performed under a load of 358 N. To study the area uniformity of the printed specimens, the measurements were performed in several, substantially remote from each other points. All the specimens were preliminarily submerged into distilled water for 50 hours at 37 °C. The obtained results were processed in accordance with ISO 2039-1:2001.

The specimens for the determination of the water absorption capacity and solubility were disks with a diameter of 50 mm and a thickness of 0.5 mm and conformed to ISO 10477 and ISO 1567:1999. The testing procedure and calculation of the target parameters also corresponded to the standard.

The studies of wear resistance were performed on a Thermo Scientific UMT-3 universal instrument. The sizes of the specimens for the tests were as follows: a diameter of 6 mm and a height of 16 mm. The tests were performed in the "pin-on-disk" mode, the linear speed was 1 m/min, and the load applied to the specimen was 72 N.

To determine the duration of safe use of temporary restorations of dental prostheses fabricated using 3D printing, it is necessary to investigate the change in the critical physicochemical properties over time. This refers to the mechanical properties in the first place because it is obvious that these articles experience permanent alternating loads for the entire duration of operation. In such cases, materials are subjected to accelerated aging. One of the techniques of accelerated aging is the exposure of materials to elevated temperatures [6]. This method is based on the Arrhenius theory stating that, when temperature is increased by 10 °C, all the chemical processes start proceeding twice as fast. This theory is expressed in the following formula:

$$AAR_{(\text{Accelerated Aging Rate})} = Q10^{((T_e - T_a)/10)},$$

where Q10 is the reaction rate increase factor that equals to 2 in our case, T_e is the temperature of accelerated aging, and T_a is the operating temperature.

The described concept of investigation of the physicochemical characteristics of medical-grade materials is outlined in ASTM F1980 standard. In our case, the operating temperature was 37 °C, and we chose the temperature of accelerated aging of 60 °C because the physicochemical properties of the polymers under study do not change fundamentally at this temperature. Accelerated aging study was carried out in an aqueous environment. To maintain the uniformity of the environment, the water was replaced once every 5 days. The specimens intended for three-point bending were subjected to accelerated aging. Upon the completion of thermostating, the materials were tested under the conditions described in ISO 1567:1999.

To study the materials in clinical settings and to test the null hypothesis, 3 groups of patients were organized which were uniform in sex, age, clinical presentation, and performance status.

Based on the inclusion, exclusion, and withdrawal criteria, out of 586 examined patients aged 18–75 years (365 females and 221 males) diagnosed with chronic generalized periodontitis K05.31, 90 patients aged 25–60 years (58 females and 32 males) with chronic generalized periodontitis were admitted for treatment.

All the patients were managed according to the treatment algorithm conventional for chronic generalized periodontitis. The base combination treatment of the patients from all the groups included the following: oral cavity sanitation, personal hygiene training for patients, supra- and subgingival calculus removal, and tooth root surface polishing. In the first group, mobile teeth were immobilized using adhesive splints made of a fiberglass thread (GlasSpan, United States) and a light-curable composite material. In the second group, mobile teeth were immobilized using dental splints made of Temp Basic A1 95H16 polymer structural materials (Zirkonzahn, Italy) (TB) which were fabricated using computer-aided milling, and in the third group – using 3D printing (the DX material) (Fig.1).



Fig.1. An immobilizing splint fabricated using the additive method (DX)

The qualitative monitoring of the treatment efficacy was performed by monitoring the hygiene and plaque indices at 1, 6, and 12 months after the treatment and by comparing them with the values before the treatment. The hygiene level assessment was performed by the OHI-S index (J.C. Green, J.R. Vermillion, 1969); Russel index (PI Russel, 1956) was used to evaluate the degree of inflammation in the periodontal tissues.

The values of the above-listed indices belong are of qualitative character, and thus, in order to test the null hypothesis (H₀), namely, to determine the significance of the difference in the values of the hygiene indices between the three groups, the Kruskal–Wallis nonparametric test was conducted:

$$H_{emp} = \frac{12}{N(N+1)} \times \sum_j \frac{T_j^2}{n_j} - 3(N+1),$$

where N is the total size of all the samples, n_j is the size of the jth sample, and T_j is the rank sum in the jth sample. The empirical value of the criterion (H_{emp}) was compared to the critical value of the criterion (H_{cr}) of 5.6 at the significance level p ≤ 0.05, established by us for this study. The null hypothesis is discarded when the empirical value of the criterion is higher than the critical value.

Results and their discussion. The study test results of the ND and DX materials per ISO 1567:1999 and ISO 2039-1:2001 are fully reflected in Table 1.

Wear resistance is a dynamic functional property capable of adequately predicting the possible time of operation of temporary restorations (based on the assumption that their other properties remain constant). Based on the study results, wear curves were obtained based on the changes in the specimen height–time

Table 1. Results of the study of the material specimens fabricated using 3D printing

Specimen	Water absorption capacity, µg/mm ³	Solubility, µg/mm ³	Flexural strength, MPa	Flexural modulus, GPa	Hardness, N/mm ²
NextDent C&B Micro Filled Hybrid	64.3 ± 0.4	19.2 ± 0.5	60.3 ± 12.1	1.35 ± 0.29	83.6 ± 7.7
Detax Freeprint temp UV	27.5 ± 3.4	7.0 ± 1.7	59.2 ± 5.9	2.33 ± 0.53	87.8 ± 3.4
Requirements of ISO 1567:1999	32	8	60	1.5	-

Table 2. The change in the main mechanical parameters of the studied specimens in the process of accelerated heat aging

Parameter	Equivalent time, months	NextDent C&B Micro Filled Hybrid	Detax Freeprint temp UV
Flexural strength, MPa	0	60.3 ± 12.1	59.2 ± 7.9
	3	35.2 ± 5.3	42.8 ± 12.3
	6	36.7 ± 5.2	57.4 ± 10.3
	12	33.0 ± 6.8	44.5 ± 12.6
Flexural modulus, GPa	0	1.34 ± 0.29	2.33 ± 0.53
	3	1.58 ± 0.08	2.24 ± 0.28
	6	1.42 ± 0.52	2.33 ± 0.48
	12	1.49 ± 0.26	2.53 ± 0.02
Ultimate strain, %	0	9.2 ± 0.3	3.2 ± 0.8
	3	2.5 ± 0.4	2.0 ± 0.5
	6	2.6 ± 0.6	2.8 ± 0.8
	12	2.5 ± 0.1	1.8 ± 0.6

coordinates. At sections with the maximum inclination, and taking into account the speed, the levels of wear were calculated for each of the materials, and were recorded as 5.5×10^{-4} mm/m for the ND material and 6.9×10^{-4} mm/m for DX.

To take into account the occurring changes, the specimens under study were subjected to the accelerated aging at 37 °C for the periods equivalent to 3, 6, and 12 months real time. The results of the flexural tests of the aged specimens are presented in Table 2.

The choice of DX as the material for fabrication of the splints for the patients from group 3 was made based on the above mentioned results. Figure 2 presents an example of a typical clinical presentation of chronic generalized periodontitis in a patient from the third control group before and after (one year) placement of an immobilizing splint made of the DX material.

No cases of premature failure of the splints were detected in patients from groups 1, 2, and 3 in the process of clinical observation (12 months). The results of the monitoring of the OHI-S and PI indices are presented in Table 3.

The null hypothesis H₀ about the absence of the effect of the treatment mode selection on the level of OHI-S and PI hygiene indices was accepted based on the statistical analysis results, because H_{emp} was 0.6 for the OHI-S index and 0.4 for PI, which was lower than the critical value and gave no evidence of significant difference.

It was determined based on the results of the studies conducted per ISO 1567:1999 that the DX material conforms to the requirements of this standard with respect to all the parameters. The ND material does not conform to the requirements of ISO with respect to water absorption capacity and solubility. The measured hardness of the DX material is also somewhat lower compared to ND.

It was noted that the wear process advances differently in the

studied materials. An ND specimen wears off more uniformly than DX specimen. The DX material has an initial section with high wear resistance that, however, irreversibly decreases later. The calculated wear parameters turned out to be better in the ND material. Therefore, the ND material is more preferable with respect to the wear resistance parameter. However, since the structure and, therefore, properties of materials can change in the process of operation in an aggressive environment (active microflora, water, elevated temperature), the preference to one material or another could only be given based on the test results for the specimens subjected to accelerated aging.

After accelerated aging, the main mechanical parameters of the ND material, namely, strength and modulus of elasticity, dropped significantly below the ISO requirements. The strength of the DX material have also decreased after aging, however, by no more than 8% below the required values; the modulus of elasticity of the DX material remained almost unchanged. In addition, a noticeable decrease in the ultimate strain of the ND material already at the aging time point equivalent to 3 months should be noted. Therefore, based on the obtained results, we drew a conclusion about the preference of use of the DX material for the fabrication of polymer fixed provisional restorations of prototype dental prostheses.

In clinical settings, restorations fabricated from the DX material under study proved themselves in the same manner as the restorations fabricated from conventional millable materials and restorations reinforced with a GlasSpan fiberglass thread. The dynamics of the change in the hygienic (OHI-S) and plaque (PI) indices turned out to be similar in all the studied groups, which was confirmed statistically. A year after all the therapeutic periodontal measures and installation of an immobilizing splint, a stable remission phase was achieved in all the patients.



a
b
Fig.2. The inferior dental arch in a patient with chronic generalized periodontitis. Before the treatment (a) and with an immobilizing splint (b)

Table 3. Results of the estimation of the hygiene and plaque indices in patients before the treatment and at various periods after the treatment

Group	Index	Monitoring period			
		Before the treatment	1 month	6 months	12 months
1	OHI-S	2.5 ± 0.2	0.6 ± 0.2	0.9 ± 0.2	1.2 ± 0.1
	PI	3.2 ± 0.2	1.7 ± 0.1	1.9 ± 0.2	2.8 ± 0.2
2	OHI-S	2.8 ± 0.3	0.4 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.1 ± 0.1
	PI	2.9 ± 0.2	1.6 ± 0.2	1.8 ± 0.1	2.6 ± 0.3
3	OHI-S	2.6 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.2 ± 0.1
	PI	3.5 ± 0.3	1.7 ± 0.2	1.8 ± 0.2	2.5 ± 0.1

Therefore, the fixed provisional restorations constructed from the DX material using 3D printing technology showed similar results compared to other conventional treatment modes during clinical observation. Moreover, the process of fabrication of long-term fixed provisional restorations from the DX material is simpler and more economically feasible when compared to the ND material.

Conclusions. Comprehensive studies of the physicochemical properties of the ND and DX materials showed that, despite various advantages and disadvantages, both materials can be recommended for use in dentistry. This conclusion has been confirmed by the extensive clinical observations of the groups of patients with generalized periodontitis, for whom splints were fabricated and placed depending on the characteristic features of the clinical presentation. Long-term results (up to 1 year) confirmed the efficiency in justification of selecting the structural material and technology of its application.

Conflicts of interest. The authors have declared that no conflict of interest exists.

REFERENCES

1. Doyle H, Lohfeld S, McHugh P. Evaluating the effect of increasing ceramic content on the mechanical properties, mate-

rial microstructure and degradation of selective laser sintered polycaprolactone/ β -tricalcium phosphate materials. *Medical Engineering & Physics*. 2015;37(8):767–76.

2. Lin W-S, Harris BT, Pellerito J, Morton D. Fabrication of an interim complete removable dental prosthesis with an in-office digital light processing three-dimensional printer: A proof-of-concept technique. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2018;120(3):331–4.

3. Noort RV. The future of dental devices is digital. *Dental Materials*. 2012;28(1):3–12.

4. Revilla-León M, Meyers MJ, Zandinejad A, Özcan M. A review on chemical composition, mechanical properties, and manufacturing work flow of additively manufactured current polymers for interim dental restorations. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*. 2018;

5. Stansbury JW, Idacavage MJ. 3D printing with polymers: Challenges among expanding options and opportunities. *Dental Materials*. 2016;32(1):54–64.

6. Zaman UKU, Rivette M, Siadat A, Mousavi SM. Integrated product-process design: Material and manufacturing process selection for additive manufacturing using multi-criteria decision making. *Robotics and Computer-Integrated Manufacturing*. 2018;51:169–80.

SUMMARY

MONITORING OF CHANGES IN PHYSICOCHEMICAL AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF THE DENTAL POLYMER MATERIALS USED IN ADDITIVE MANUFACTURING OF DENTAL PROSTHESES

¹Arutyunov S., ²Krashennikov S., ¹Levchenko I., ⁴Orjonikidze R., ³Sadovskaya N., ¹Kirakosyan L., ¹Kharakh Y.

¹Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, Ministry of Healthcare of Russia, Department of propaedeutics of dental diseases; ²National Research Center “Kurchatov Institute”, Laboratory of Polymer Materials; ⁴Karpov Institute of Physical Chemistry, Center for Shared Use; ³Tbilisi State Medical University, Georgia

The use of additive technologies in dentistry is a promising trend; however, the physical and mechanical properties of the materials intended for the fabrication of long-term fixed restorations remain understudied.

The aim of this research is to determine the feasibility of the use of long-term fixed provisional restorations made of polymer materials, fabricated using 3D printing.

The conformance of the physical and mechanical properties of NextDent C&B Micro Filled Hybrid (ND) and Detax Freeprint temp UV (DX) materials to ISO 1567:1999 standard, stability of their physical and mechanical properties under the conditions of accelerated aging, as well as their resistance to the oral cavity environment were studied.

As a result of the performed studies, the DX material turned out to be superior to ND with respect to most characteristics.

Clinical observations were conducted on the treatment of chronic generalized periodontitis using the following fixed provisional splints made of various materials: DX, fabricated according to the Slide-And-Separate technology, splints fabricated using the CAD/CAM technology, and adhesive splints reinforced with a GlasSpan fiberglass thread. As a result of the analysis of the OHI-S and PI indices values, the absence of any statistically significant difference between the above-describe treatment methods was determined.

The studied materials conform to the requirements of ISO 1567:1999; the materials exhibited different stability under the conditions of accelerated aging, nevertheless, they can be utilized for the fabrication of long-term fixed provisional restorations.

Keywords: 3D printing, dental splint, ND material, DX material, provisional dental restoration.

РЕЗЮМЕ

МОНИТОРИНГ ИЗМЕНЕНИЙ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И КЛИНИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ПРОИЗВОДСТВЕ ЗУБНЫХ ПРОТЕЗОВ, ПУТЁМ АДДИТИВНОЙ ТЕХНОЛОГИИ

¹Арутюнов С.Д., ²Крашеников С.В., ¹Левченко И.М., ⁴Орджоникидзе Р.З.,
³Садовская Н.В., ¹Киракосян Л.Г., ¹Харах Я.Н.

¹Московский государственный университет медицины и стоматологии им. А.И. Евдокимова Министерства здравоохранения России, департамент пропедевтики стоматологических заболеваний;

²Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», лаборатория полимерных материалов;

³Институт физической химии им. Карпова, Центр совместного использования; ⁴Тбилисский государственный медицинский университет, Грузия

Целью исследования является определение целесообразности использования временных долгосрочных фиксиро-

ванных реставраций из полимерных материалов, изготовленных с использованием 3D-печати.

Изучены соответствие физико-механических свойств материалов NextDent C & B Micro Filled Hybrid (ND) и Detax Freeprint temp UV (DX) стандарту ISO 1567:1999, стабильность их физико-механических свойств в условиях ускоренного испытания на старение, а также устойчивость к среде полости рта.

В результате проведенных исследований материал DX оказался превосходящим ND по большинству характеристик. Клинические наблюдения проводились при лечении хронического генерализованного пародонтита с использованием следующих фиксированных временных распорок, изготовленных из различных материалов: DX, изготовленных

по технологии Slide-And-Separate, распорок, изготовленных с использованием технологии CAD/CAM, и клеевых распорок, укрепленных GlasSpan стеклопластиковой нитью. В результате анализа индексов OHI-S и PI отсутствие какого-либо статистически значимого различия между вышеописанными методами лечения не установлено.

Исследуемые материалы соответствуют требованиям ISO 1567:1999; материалы показали различную стабильность в условиях ускоренного испытания на старение; и тем не менее, они могут быть использованы для изготовления временных долгосрочных фиксированных реставраций.

რეზიუმე

ადიტიური ტექნოლოგიებით დამზადებულ კბილის პროთეზებში გამოყენებული სტომატოლოგიური პოლიმერული მასალების ფიზიკურ-ქიმიური და კლინიკური მახასიათებლების მონიტორინგი

¹ს. არუთიუნოვი, ²ს. კრაშენიკოვი, ¹ი. ლევენკო, ⁴რ. ორჯონიკიძე, ³ნ. სადოვსკაია, ¹დ. კირაკოსიანი, ¹ი. ხარახი

¹რუსეთის ჯანდაცვის სამინისტროს ა. ვედაკიმოვის სახ. მოსკოვის სახელმწიფო სამედიცინო და სტომატოლოგიური უნივერსიტეტი, სტომატოლოგიური დაავადებების პროპედევტიკის დეპარტამენტი; ²ეროვნული კვლევითი ცენტრი “კურნატოვის ინსტიტუტი”, პოლიმერული მასალების ლაბორატორია; ³კარპოვის სახ. ფიზიკური ქიმიის ინსტიტუტი, ერთობლივი მოხმერების ცენტრი; ⁴თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა პოლიმერული მასალებისაგან 3D-ბეჭდვის გამოყენებით დამზადებული დროებითი გრძელვადიანი ფიქსირებული რესტავრაციების გამოყენების მიზანშეწონილობის შეფასება.

შესწავლილია NextDent C & B Micro Filled Hybrid (ND)-ის და Detax Freeprint temp UV (DX)-ის მასალების ფიზიკურ-მექანიკური თვისებების შესაბამისობა ISO 1567:1999-ის სტანდარტთან, მათი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებების სტაბილურობა დაძველებაზე დაჩქარებული გამოცდის პირობებში, ასევე, მათი მდგრადობა პირის დრუს გარემოს მიმართ.

ჩატარებული კვლევის შედეგად მასალა DX მახასიათებელთა უმეტესობის მიხედვით ND-ზე უპირატესი აღმოჩნდა. კლინიკური დაკვირვებები მიმდინარეობდა ქრონიკული გენერალიზებული პაროდონტიტის მკურნალობის დროს და სხვადასხვა მასალისგან

დამზადებული შემდეგი ფიქსირებული დროებითი გამმიჯნავი საშუალებების გამოყენებისას: - DX, დამზადებული ტექნოლოგიით Slide-And-Separate; - დამზადებული ტექნოლოგიით CAD / CAM; - GlasSpan-თან მინაპლასტიკური ძაფით დამაგრებული წებოვანი გამმიჯნავი საშუალებით. OHI-S და PI ინდექსების ანალიზის საფუძველზე დადგენილია სტატისტიკურად სარწმუნო განსხვავების არარსებობა მკურნალობის ზემოთ აღწერილი მეთოდების გამოყენების დროს.

გამოკვლეული მასალები შეესაბამება ISO 1567:1999 სტანდარტს; გამოვლინდა მასალების განსხვავებული სტაბილურობა დაძველებაზე დაჩქარებული გამოცდის პირობებში; ამის მიუხედავად, ისინი შეიძლება გამოყენებულ იქნას დროებითი გრძელვადიანი ფიქსირებული რესტავრაციების დასამზადებლად.

BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR: DIAGNOSTIC PERSPECTIVE IN NEONATES WITH GESTATIONAL AGE LESS THAN 34 WEEKS

Kyslova Iu., Yablon O., Mazulov O., Savrun T., Bykovska O.

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine

According to the World Health Organization, around 15 million infants are born preterm every year, and the number is rising. More than 1 million infants die due to complications related to preterm birth. It is explained not only by the immaturity of organs and systems but also by the disturbed fetal development, pathological labors and emergencies in the neonatal period. Health status and development of preterm neonates is determined by the quality and efficacy of diagnostics and medical help during the neonatal period and the first year of life [2,23].

Acquiring the new fundamental knowledge about pathological biochemical processes in the nervous tissue of newborns is our current priority due to its potential to prevent disability, decrease financial aspects of management, increase the level of rehabilitation and socialization [2,3,23].

Preterm infants experience the consequences of hypoxia in the remote period – selective neuronal death by apoptosis and atrophy, that are predictive of unfavorable remote events. In the same time, neurotrophic factors, that inhibit apoptotic cascade, are released into extracellular matrix [1,3].

Neurotrophins are regulatory proteins of nervous tissue that promote growth, proliferation, survival, and migration of neurons; regulate the synthesis and release of transmitters, development of synaptic plasticity. Immunomodulation is an additional function of these proteins. There are 8 families of neurotrophic factors discovered, with brain-derived neurotrophic factor (BDNF) being a 'key player' in neurogenesis and neuroplasticity [1,24].

BDNF is synthesized in a few populations of neuronal and glial cells, as well as in immune cells, vascular endothelium. BDNF is able to cross the blood-brain barrier that is relatively immature in preterm infants. Concentration changes of BDNF in blood serum are similar to those in the brain, especially during the 29-35 weeks of gestation. This period is characterized by the maximal development of the brain (it increases in almost 4 times) and is critical for growth and migration of neurons [6,17,27]. However, there is not enough data about the concentration changes of BDNF in preterm infants after birth, and in relation to other factors that influence the consequences of management.

Objectives - to determine the diagnostic significance of BDNF in preterm infants with gestational age less than 34 weeks.

Material and methods. The study group consisted of preterm infants with gestational age less than 34 weeks from neonatal intensive care unit & neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy care unit in Vinnytsya Regional Neonatal Center. Exclusion criteria included congenital defects, birth trauma, and neuroinfections. Therefore, the study group included 30 preterm infants with average birth weight 1373.5 ± 66.0 g and gestational age 29.3 ± 0.5 weeks.

In order to estimate the severity of children's condition, we analyzed antenatal data, neonatal characteristics, BDNF blood concentrations, neurosonography results (NSG), and magnetic resonance imaging (MRI). Cognitive and motor development were assessed using Bayley Scales of Infant Development (BSID II) [4].

Blood samples for BDNF concentration assessment were received during the administration to neonatal intensive care units or premature neonatal unit on 5-7 days of life and in dynamics on 21-28 days of life. The serum in the quantity of 0.5 ml was frozen and kept at the temperature of -20.0 C.

Mechanisms of neuronal damage were studied retrospectively. BDNF concentrations were assessed by enzyme-linked immunosorbent assay using the standard «Human BDNF» kits produced by «RDS», USA (according to the manufacturer's instructions). The minimal threshold for BDNF detection was 23.4 pg/ml (sensitivity).

Cognitive and motor development were assessed using Bayley Scales at postconceptual age of 36-37 weeks and in dynamics upon reaching the screening age of 18 months. Preliminary results of cognitive and motor development were transferred into cognitive development index (CDI) and motor development index (MDI) using tables [4]. Confidence level (accepted if

equal 95%) and confidence interval were calculated. Statistical analysis was performed on personal computer using software package «Microsoft Excel XP» and SPSS having used parametric statistical methods.

Results and their discussion. Having reached the screening age of 18 months, 8 children (26.7%) were diagnosed with a disability that manifested as cerebral palsy, progressing hydrocephalus, blindness (1st group). 13 children (43.3%) had developmental delay (2nd group), and 9 children (30.0%) with cognitive and motor development according to the age, did not have any chronic diseases and comprised the control group.

Any kind of pathological process in the brain leads to structural damage of nervous tissue as well as damage of blood-brain barrier that causes the release of neuron-specific proteins into cerebrospinal fluid [5,6,17,26,27]. After resorption, some part of these proteins gets into the venous blood that enables the dynamic observation over their level in blood serum that reflects the changes in the nervous tissue [10,28]. These changes of neuron-specific proteins concentrations appear earlier than structural changes in the brain that can be detected by modern neuro visualization approaches.

In preterm neonates, hypoxia causes apoptotic death of neurons in the remote period. In the same time, neurotrophic factors that suppress apoptotic cascade are released extracellularly. Presence of BDNF in blood serum is indicative of regeneration mechanisms [3,28].

BDNF concentrations in the blood serum at 5-7 days of life were lower in children from 1st group – 142.1 ± 64.7 pg/ml ($p < 0.05$) comparing with 329.7 ± 80.8 in children from the 2nd group and 317.4 ± 54.8 in children in control group (Table 1).

Having analyzed the dynamics of BDNF changes at 28th day of life, we detected the increase of BDNF concentration in children from all the groups. Children with a disability had BDNF statistically lower than children from the control group (166.7 ± 69.5 comparing with 1088.8 ± 206.4 pg/ml respectively, $p < 0.01$). BDNF concentrations in children with developmental delay have increased by 2.5 times until 28th day of life (815.9 ± 194.4 pg/ml, $p < 0.01$), but was still lower than in control group (1088.8 ± 206.4 pg/ml) (Fig.).

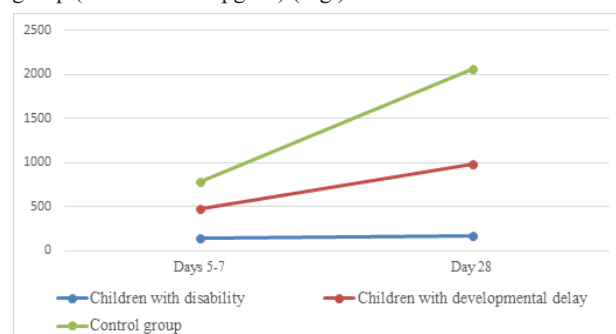


Fig. BDNF concentrations (pg/ml) in preterm infants

Table 1. BDNF concentrations in the blood serum of preterm infants, $M \pm m$ (pg/ml)

Study groups	BDNF concentrations	
	Days 5-7	Day 28
Children with disability (1 st group), n=8	142.1±64.7*	166.7±69.5**
Children with developmental delay (2 nd group), n=13	329.7±80.8	815.9±194.4**
Control group, n=9	317.4±54.8	1088.8±206.4

notes: * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$

Received data shows that premature infants who were diagnosed with a disability at the corrected age of 18 months, got a severe brain injury as a consequence of prenatal hypoxia. As a result, they had the lowest concentrations of BDNF at 5-7th days of life (142.16 ± 4.7 pg/ml, $p < 0.05$), that is neuroprotective against injuries. At the 4th week of life its concentration was still low – 166.7 ± 69.5 pg/ml, $p < 0.01$. Therefore, premature infants with brain injury are not able to properly manage hypoxic stress. That explains the severity of central nervous system injury and negative remote effects. In the same time, premature infants with BDNF increased by 2.5 – 6.5 times both at 5-7th days of life and 4 weeks, even with moderate for hypoxia ischemia, do not develop structural changes in the central nervous system.

BDNF and antenatal factors.

Antenatal factors play an important role in central nervous system injury in neonates, can cause preterm birth and negatively affect the immature organism of a baby, especially its brain [13,26]. We retrospectively analyzed antenatal data and neonatal characteristics of children that were included in the research. The age of mothers ranged from 18 to 25 years. Analysis of extragenital pathology revealed that 66.7 % of mothers had unfavorable pre-labor conditions (26.7% had urinary system pathology, 16.7% - endocrine system pathology, 20.0% - a combination of pathologies). Mothers of children from the 1st and 2nd group had statistically increased frequency of urinary tract pathology (37.5% and 38.5% respectively, $p < 0.05$), whereas mothers of children from control group did not have the mentioned condition. 5 mothers (16.7%) had a history of chronic toxoplasmosis and herpes (25.0% mothers from the 1st group, 15.4% mothers from the 2nd group and 11.1% mothers from the control group).

63.3% of mothers had fertility problems – 43.3% of spontaneous miscarriages, 20.0% of induced abortions. Notably, spontaneous miscarriages were more frequent in mothers from 1st and 2nd groups (62.5% and 61.5% respectively, $p < 0.01$), whereas induced abortions, were more common in mothers from the control group (55.5%, $p < 0.01$).

Only 1 mother had a present pregnancy without any complications. All the others were diagnosed with a threatened miscarriage (70.0%), anemia of pregnancy (23.3%), gestational toxicosis (20.0%), fetal distress (16.6%), chronic placental insufficiency (10.0%). However, there was no statistically significant difference between groups. Every other woman had a combination of pathological conditions during her pregnancy.

Labor complications included placental abruption (20.0%), long latency interval (16.7%), chorioamnionitis and preterm rupture of membranes (13.3%), preeclampsia (6.7%), $p < 0.05$.

BDNF concentrations at 5-7 days of life correlated with fertility problems ($r = -0.74$, $p < 0.05$). Connection with other antenatal factors was not detected.

BDNF and postnatal factors.

Epidemiological research shows that high prevalence of diseases and disability of premature infants are related to hypoxic ischemic brain injuries. In most cases, the central nervous system pathology is not isolated, but accompanied with a pathology of multiple systems [7,9,12,23,26].

66.7% of premature infants were born with serious or critical conditions and required artificial lung ventilation in the delivery room.

During the neonatal period, most children have suffered from infantile respiratory distress syndrome (RDS) – 60.0% (75.0% of children from the 1st group, 69.2% from the 2nd group and 33.3% from the control group). In 36.7% of cases, RDS was

complicated with pneumonia. 20.0% of children had bronchopulmonary dysplasia (BPD) that required corticosteroids administration. In addition, children with disability were more dependent on oxygen administration (62.5% of children from the 1st group) than children with developmental delay (only 7.7%, $p < 0.05$).

Every third child was diagnosed with anemia of prematurity in the neonatal period (37.5% of children from the 1st group, 46.1% from the 2nd group). However, this finding was not statistically significant, $p < 0.05$. 10.0% of children had a fetal infection of unknown origin. 3 children with developmental delay had retinopathy of prematurity (ROP) stage I-II (23.1%, $p < 0.05$). ROP was absent in the other groups.

Correlation analysis determined a moderate association between BDNF concentrations in blood serum at the 5-7 days of life and the development of ROP ($r = 0.58$, $p < 0.05$).

BDNF and neurovisualization data.

Brain injury is the main pre-condition of the development of disability in premature infants. Therefore, neurovisualization data is important for early diagnosis of organic substrate of neurological impairment. Neurosonography (NSG) is the most available method, while magnetic resonance imaging (MRI) is the most informative [18,19,20,22,23].

According to the neurosonography data performed on children included into our research, hypoxic damage of central nervous system in preterm infants manifested as intraventricular hemorrhage (IVH): stage I-II – 16.7%, stage III – 13.3%, stage IV – 3.3%. Periventricular leukomalacia (PVL) was observed in 30.0% of children, with its cystic form in 16.7% of cases. Stage I-II IVH had the same prevalence in all groups, whereas stage III-IV IVH was observed in 15.4% of children with developmental delay and 37.5% of children with disability, $p < 0.05$. PVL was mostly diagnosed in children with disability (50.0%, $p < 0.05$).

Despite the fact BDNF concentrations both on 5-7 days and 28 days of life were lower in children with IVH, they did not correlate with IVH ($r = 0.16$; $r = 0.23$).

In order to specify the brain damage and predict further psychomotor development, MRI was performed for 18 premature infants in the neonatal period.

According to MRI data, periventricular white matter volume loss was detected in 31.6% of children ($p < 0.01$), symmetric paraventricular cyst formation with glial response was detected in 52.6% of children ($p < 0.05$). 15.8% of children had choroid plexus hemorrhage ($p < 0.05$), 68.4% - ventricular dilation (3rd ventricle dilation in 15.8% of cases and 4th ventricle dilation in 10.5% of cases). 47.4% of examined neonates had dilated ventricles with combined cystic changes and glial response ($p < 0.05$).

BDNF concentration on 5-7 days of life had a negative correlation relationship with cystic and glial changes on MRI observed in preterm infants ($r = -0.46$) and their combination with ventricular dilation ($r = -0.38$).

BDNF associations with motor and cognitive development assessed by Bayley Scales of Infant Development (BSID II).

Preterm infants with perinatal central nervous system damage require the complex assessment of a nervous system. Besides the high-yield instrumental methods that can diagnose cerebral damage, a neurologic status assessment with cognitive and motor development estimation using scales remains an important diagnostic tool [4,8,11,14,15,16,23,25].

Having assessed cognitive development of premature infants in a postconceptual age of 36-37 weeks, we determined that 73.3% of them had cognitive development delay, being severe in

Table 2. CDI values of premature infants from postconceptual age of 36-37 weeks till corrected age of 18 months

Group	Corrected age	Cognitive development index (CDI)			
		115 and more	85-114	70-84	69 and lower
Children with disability, (1st group), n=8	36-37 weeks	-	2 (25.0%)	4 (50.0%)	2 (25.0%)
	6 months	-	2 (25.0%)	4 (50.0%)	2 (25.0%)
	12 months	-	1 (12.5%)*	3 (37.5%)	4 (50.0%)**
	18 months	-	1 (12.5%)*	2 (25.0%)	5 (62.5%)**
Children with cognitive and motor developmental delay (2nd group), n=13	36-37 weeks	-	5 (38.4%)	6 (46.1%)	2 (15.4%)
	6 months	-	3 (23.1%)	9 (69.2%)	1 (7.7%)
	12 months	-	6 (46.2%)	7 (53.8%)	-
	18 months	-	9 (69.2%)	4 (30.8%)	-
Control group, n=9	36-37 weeks	-	4 (44.4%)	4 (44.4%)	1 (11.2%)
	6 months	-	4 (44.4%)	3 (33.3%)	2 (22.3%)
	12 months	-	7 (77,8%)	2 (22,2%)	-
	18 months	2 (22.2%)	7 (77,8%)	-	-

note: * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$

Table 3. MDI changes of premature infants from postconceptual age of 36-37 weeks till the corrected age of 18 months

Group	Corrected age	Motor development index (MDI)			
		115 and more	85-114	70-84	69 and lower
Children with disability, (1st group), n=8	36-37 weeks	-	-	5 (62.5%)	3 (37.5%)
	6 months	-	1 (12.5%)	3 (37.5%)	4 (50.0%)
	12 months	-	-	2 (25.0%)	5 (62.5%)*
	18 months	-	-	1 (12.5%)	7 (87.5%)*
Children with cognitive and motor developmental delay (2nd group), n=13	36-37 weeks	-	3 (23.1%)	8 (61.5%)	2 (15.4%)
	6 months	-	5 (38.5%)	6 (46.1%)	2 (15.4%)
	12 months	-	6 (46.1%)	5 (38.5%)	2 (15.4%)
	18 months	-	11 (84.6%)	2 (15.4%)	-
Control group, n=9	36-37 weeks	-	2 (22.2%)	6 (66.7%)	1 (11.1%)
	6 months	-	2 (22.2%)	5 (55.6%)	2 (22.2%)
	12 months	-	6 (66.7%)*	3 (33.3%)	-
	18 months	1 (11.1%)	8 (88.9%)*	-	-

note * - $p < 0.01$

23.3% of cases (cognitive development index (CDI) <69). Only 26.7% of children had CDI within normal ranges (N = 85-114).

We did not detect a statistically significant difference between CDI rates in different groups (Table 2).

Similar data was obtained when analyzing motor development at a postconceptual age of 36-37 weeks. As early as in neonatal period 83.3% of children had motor impairment, with 20.0% of them having severe motor development delay (motor development index (MDI) <69) – Table 3.

Analyzing the dynamics of cognitive and motor skills development from 36-37 weeks of postconceptual age till 18 months of corrected age, we determined a negative dynamic in children with disability - 62.5% of children had cognitive delay and 87.5% had motor delay whereas children from control group had values within normal ranges. ($p < 0.01$). Only one child from the 1st group had a cognitive development within normal limits ($p < 0.05$).

On the contrary, we observed positive dynamics in the 2nd group: starting from the corrected age of 12 months' children did not have low (MDI or CDI <69) developmental indexes. In 69.2% of cases CDI was within normal ranges, and in 84.6% of

cases MDI was within normal ranges (for the corrected age of 18 months). Only 30.8% of children from this group had cognitive development delay, and 15.4% had motor development delay.

Correlation analysis determined that blood serum BDNF at the 5-7 days of life correlated with MDI and CDI values at the postconceptual age of 36-37 weeks ($r = 0.34$ та $r = 0.48$ respectively). CDI and MDI of children from the 1st group at the corrected age of 18 months correlated with BDNF as well ($r = 0.63$, $r = 0.78$ respectively, $p < 0.01$).

We did not determine any correlation between BDNF concentrations at the 28th day of life and CDI and MDI of children with disability at the postconceptual age of 26-27 weeks and corrected age of 18 months.

Conclusions. Premature infants who were diagnosed with disability at the corrected age of 18 months, had the lowest BDNF concentrations at 5-7 days of life (142.1 ± 64.7 pg/ml, $p < 0.05$). BDNF concentrations were still low at the 4th weeks of life – 166.7 ± 69.5 pg/ml, $p < 0.01$.

The above data correlates with fertility problems of the mothers ($r = -0.74$, $p < 0.05$).

BDNF concentrations at the 5-7 days of life also correlated with the development of retinopathy of prematurity ($r=0.58$, $p<0.05$).

Insufficient activity of neurotrophic factors (BDNF) that enable the functional activity of neurons during hypoxia, causes low MDI and CDI (less than 69) at the corrected age of 18 months ($r=0.63$, $r=0.78$ respectively, $p<0.01$).

REFERENCES

1. Попова НК, Ильчибаева ТВ, Науменко ВС. Нейротрофические факторы (BDNF, GDNF) и серотонинергическая система мозга. Биохимия. 2017;8(3):449–59.
2. Шунько ЄЄ Стратегічні напрямки медичної допомоги новонародженим в Україні. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2014;3(13):11–4.
3. Яблонь ОС, Кислова ЮО. Предиктори розвитку інвалідизуючої патології у недоношених дітей з гіпоксично-ішемічним ушкодженням центральної нервової системи. Перинатологія і педіатрія. 2011;4(48):22–4.
4. Bayley N. Bayley Scales of Infant Development. Second Edition. Manual. San Antonio: The psychological corporation; 1993.
5. Cordeiro CN, Savva Y, Vaidya D, Argani CH, Hong X, Wang X, et al. Mathematical Modeling of the Biomarker Milieu to Characterize Preterm Birth and Predict Adverse Neonatal Outcomes. Am J Reprod Immunol. 2016 May;75(5):594–601.
6. Dhobale M. Neurotrophins: Role in adverse pregnancy outcome. Int J Dev Neurosci. 2014; 37:8–14. PubMed: 24953262.
7. D'Angio CT, Ambalavanan N, Carlo WA, McDonald SA, Skogstrand K, Hougaard DM, et al. Blood Cytokine Profiles Associated with Distinct Patterns of Bronchopulmonary Dysplasia among Extremely Low Birth Weight Infants. J Pediatr. 2016 Jul;174:45–51.
8. Ghassabian A, Sundaram R, Chahal N, McLain AC, Bell E, Lawrence DA, et al. Determinants of neonatal brain-derived neurotrophic factor and association with child development. Dev Psychopathol. 2017 Oct;29(4):1499–511.
9. Hartnett ME, Morrison MA, Smith S, Yanovitch TL, Young TL, Colaizy T, et al. Genetic variants associated with severe retinopathy of prematurity in extremely low birth weight infants. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2014 Aug 12;55(10):6194–203.
10. Hassell KJ, Ezzati M, Alonso-Alconada D, Hausenloy DJ, Robertson NJ. New horizons for newborn brain protection: enhancing endogenous neuroprotection. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2015;100:541–52. PubMed: 26063194.
11. Heeren T, Joseph RM, Allred EN, O'Shea TM, Leviton A, Kuban K.C.K. Cognitive functioning at age 10 years among children born extremely preterm: a latent profile approach. Pediatr Res. 2017;82:614–9.
12. Holm M, Morken TS, Fichorova RN, VanderVeen DK, Allred EN, Dammann O, et al. Systemic Inflammation-Associated Proteins and Retinopathy of Prematurity in Infants Born Before the 28th Week of Gestation. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2017 Dec; 58(14): 6419–28. PMID: PMC5736326 PMID: 29260199.
13. Kumar P, Venners SA, Fu L, Pearson C, Ortiz K, Wang X. Association of Antenatal Steroid Use with Cord Blood Immune Biomarkers in Preterm Births. Early Hum Dev. 2011 Aug; 87(8): 559–64.
14. Kuban KCK, Joseph RM, O'Shea TM, Allred EN, Heeren T, Douglass L., et al. Girls and boys born before 28 weeks gestation: risks of cognitive, behavioral, and neurologic outcomes at age 10 years. J Pediatr. 2016;173:69–75.
15. Kuban KCK, O'Shea TM, Allred EN, Fichorova RN, Heeren T, Paneth N, et al. The breadth and type of systemic inflammation and the risk of adverse neurological outcomes in extremely low gestation newborns. Pediatr Neurol. 2015;52:42–8. PubMed: 25459361.
16. Kuban KCK, Heeren T, O'Shea TM, Joseph RM, Fichorova RN, Douglass L, et al. Among Children Born Extremely Preterm a Higher Level of Circulating Neurotrophins Is Associated with Lower Risk of Cognitive Impairment at School Age. J Pediatr. 2018 Oct;201:40–8.
17. Leviton A, Allred EN, Yamamoto H, Fichorova RN, Kuban K, O'Shea TM, et al. Antecedents and correlates of blood concentrations of neurotrophic growth factors in very preterm newborns. Cytokine. 2017 Jun; 94: 21–8.
18. Leviton A, Allred EN, Dammann O, Engelke S, Fichorova RN, Hirtz D, Systemic inflammation, intraventricular hemorrhage, and white matter injury. J Child Neurol. 2013;28:1637–45. PubMed: 23112243.
19. Leviton A, Kuban K, O'Shea TM, Paneth N, Fichorova R, Allred EN, et al. The Relationship between early concentrations of 25 blood proteins and cerebral white matter injury in preterm newborns: The ELGAN Study. J Pediatr. 2011;158:897–903. PubMed: 21238986.
20. Leviton A, Kuban KC, Allred EN, Fichorova RN, O'Shea TM, Paneth N, et al. Early postnatal blood concentrations of inflammation-related proteins and microcephaly two years later in infants born before the 28th post-menstrual week. Early Hum Dev. 2011;87:325–30. PubMed: 21334149.
21. Magalhães RC, Pimenta LP, Barbosa IG, Moreira JM, V.M. de Barros JL, Teixeira AL, et al. Inflammatory molecules and neurotrophic factors as biomarkers of neuropsychomotor development in preterm neonates: A Systematic Review. International Journal of Developmental Neuroscience. 2018; 65(29).
22. Mewes AU, Huppi PS, Als H, Rybicki FJ, Inder TE, McAnulty GB, Mulkern RV, Robertson RL, Rivkin MJ, Warfield SK. Regional brain development in serial magnetic resonance imaging of low risk preterm infants. Pediatrics 2006;118:23–33. PubMed: 16818545.
23. Nosarti Ch., Murray R. M., Hack M.: Neurodevelopmental Outcomes of Preterm Birth: From Childhood to Adult Life. Cambridge University Press, United Kingdom; 2010.
24. O'Shea TM, Allred EN, Kuban K, Dammann O, Paneth N, Fichorova R, et al. Elevated concentrations of inflammation-related proteins in postnatal blood predict severe developmental delay at two years in extremely premature infants. J Pediatr. 2012;160:395–401. PubMed: 22000304.
25. O'Shea TM, Joseph RM, Kuban KC, Allred EN, Ware J, Coster T, et al. Elevated blood levels of inflammation-related proteins are associated with an attention problem at age 24 mo in extremely preterm infants. Pediatr Res. 2014; 75:781–7. PubMed: 24614800.
26. Rao R, Mashburn CB, Mao J, Wadhwa N, Smith GM, Desai NS. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in infants < 32 weeks gestational age: Correlation with antenatal factors and postnatal outcomes. Pediatr Res. 2009 May;65(5):548–52.
27. Shores DR, Everett AD. Children as Biomarker Orphans: Progress in the Field of Pediatric Biomarkers. The Journal of Pediatrics. J Pediatr. 2018 Feb;193:14–20.
28. Xia Y, Wang CZ, Liu J, Anastasio NC, Johnson KM. Brain-derived neurotrophic factor prevents phencyclidine-induced apoptosis in developing brain by parallel activation of both the ERK and PI-3K/Akt pathways. Neuropharmacology. 2010; 58:330–6. PubMed: 19887077.

SUMMARY

BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR: DIAGNOSTIC PERSPECTIVE IN NEONATES WITH GESTATIONAL AGE LESS THAN 34 WEEKS

Kyslova Iu., Yablon O., Mazulov O., Savrun T., Bykovska O.

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine

The aim of the research was to determine the diagnostic significance of Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in preterm infants with gestational age less than 34 weeks. The study group included 30 preterm infants with average birth weight 1373.5 ± 66.0 g and gestational age 29.3 ± 0.5 weeks. The catamnestic observation was conducted over this category of infants until reaching the corrected age of 18 months. The relationship between BDNF levels and antenatal factors, postnatal results and remote effects were determined. Premature infants who were diagnosed with disability at the corrected age of 18 months, had the lowest BDNF concentrations at 5-7 days of life (142.1 ± 64.7 pg/ml, $p < 0.05$). BDNF concentrations were still low at the 4th weeks

of life – 166.7 ± 69.5 pg/ml, $p < 0.01$. The above data correlates with fertility problems of the mothers ($r = -0.74$, $p < 0.05$). BDNF concentrations at the 5-7 days of life also correlated with the development of retinopathy of prematurity ($r = 0.58$, $p < 0.05$). Insufficient activity of neurotrophic factors (BDNF) that enable the functional activity of neurons during hypoxia, causes low MDI and CDI (less than 69) at the corrected age of 18 months ($r = 0.63$, $r = 0.78$ respectively, $p < 0.01$). The paper shows the changes in BDNF concentrations during the neonatal period of preterm newborns with gestational age less than 34 weeks.

Keywords: Brain-derived neurotrophic factor, preterm infants, 34 weeks gestational age.

РЕЗЮМЕ

НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЙ ФАКТОР ГОЛОВНОГО МОЗГА: ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ГЕСТАЦИОННЫМ ВОЗРАСТОМ МЕНЬШЕ 34 НЕДЕЛЬ

Кислова Ю.А., Яблонь О.С., Мазулов А.В., Саврун Т.И., Быковская О.А.

Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Украина

Цель исследования - определить диагностическую значимость нейротрофического фактора головного мозга у недоношенных детей с гестационным возрастом менее 34 недель. Наблюдались 30 недоношенных детей со средней массой тела $1373,5 \pm 66,0$ г и гестационным возрастом $29,3 \pm 0,5$ недель. Проведено катamnестическое наблюдение

до достижения скорректированного возраста 18 месяцев. Определена взаимосвязь между уровнями нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) и антенатальными факторами, постнатальными результатами и отдаленными эффектами. Установлено изменение концентрации BDNF в неонатальном периоде.

რეზიუმე

თავის ტვინის ნეიროტროფული ფაქტორი: სადიაგნოსტიკო მნიშვნელობა ახალშობილებში 34 კვირის ვადამდე გესტაციური ასაკით

იუ. კისლოვა, ო. იაბლონი, ა. მაზულოვი, ტ. სავრუნი, ო. ბიკოვსკაია

ვინიციის ნ. პიროგოვის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა თავის ტვინის ნეიროტროფული ფაქტორის დიაგნოსტიკური მნიშვნელობა ვადამდე დაბადებულ ახალშობილებში 34 კვირამდე გესტაციური ასაკით. დაკვირვება მიმდინარეობდა 30 ვადამდე დაბადებული $29,3 \pm 0,5$ კვირის გესტაციური ასაკით და $1373,5 \pm 66,0$ გ წონით. ჩატარდა კატამნესტური დაკვირვება პე-

რიოდში კორექტირებული ასაკის (18 თვე) მიღწევამდე. განისაზღვრა ურთიერთკავშირი თავის ტვინის ნეიროტროფული ფაქტორის და ანტენატალურ ფაქტორების დონეებს, ასევე, პოსტნატალურ შედეგებსა და ცალკეულ ეფექტებს შორის. დადგენილია თავის ტვინის ნეიროტროფული ფაქტორის კონცენტრაციის ცვლილებები ნეონატალურ პერიოდში.

ORAL-FACIAL-DIGITAL SYNDROME TYPE I (CLINICAL CASE)

Horlenko O., Lenchenko A., Kossey G., Tomey A., Debretseni O.

Uzhhorod National University; Uzhgorod City Children's Clinical Hospital, Ukraine

The oral-facial-digital syndrome belongs to a group of hereditary diseases, manifested by multiple birth defects (usually, the face and fingers) [2, 4, 5, 7, 10]. At the current stage, there are 14 genetic variations of the oral-facial-digital syndrome. The presence of various abnormalities of the oral cavity, face and fingers is common for all of them, but each syndrome has a specific phenotype or type of inheritance [5].

The oral-facial-digital syndrome type I (OFD1) was first described in 1954 by M. Papillon-Leage and J. Psaume; it is often known under other names as "Papillon-Leage-Psaume syndrome", "Grob linguofacial dysplasia", "oro-digital-facial dysostosis". According to literature data, its population frequency varies from 1: 250000 to 1: 50000 [2,4,7].

The etiology of this syndrome is unknown. The syndrome is inherited in an X-linked dominant pattern [2,4]. However, it should be noted that some authors in their studies indicate an unbounded family history in 75% of people with oral-facial-digital syndrome type I [7].

The oral-facial-digital syndrome type I is due to mutations in the OFD1 gene, which plays an important role in the early development of many parts of the body, including the brain, face, limbs and kidneys [1,9]. Depending on which of the parents is the bearer of the mutated gene, the X-linked dominant inheritance works differently (Fig. 1, 2) [6].

It follows from Fig. 1., that a woman with oral-facial-digital syndrome type I with a 50% probability can give birth to a daughter or son with this syndrome, while the father's sons will be healthy, and all daughters will inherit the mutated gene (Fig. 2). However, literature data indicate that almost all individuals with OFD1 are female, while male individuals die in-utero. The ratio of genders is M / F = 0/1 [2,4,7].

Clinical features of oral-facial-digital syndrome type I:

- anomalies of the oral cavity - tongue anomalies: hypertrophy (100%), which sometimes contributes to the formation of the medial wall of the mouth, fixed tongue, ankyloglossia (30%), lobulated tongue (100%), folded look of the tongue; anomalies

of the alveolar sprouts of the upper (90%) and lower (60%) jaws; cleft palate;

- dental anomalies (50%) - absence or hypoplasia of teeth enamel, absence of upper incisors, multiple caries lesions;

- facial anomalies - asymmetric face; the lips are short and folded because of numerous wrinkles that usually appear due to hypertrophied frenulum; pseudocleft upper lip (40%); flattened nose (95%) and hypoplasia of the alae nasi; widely spaced eyes; epicanthus; telecanthus; rapidly evolving miliae on the face and ears (100%); hypoplasia of the zygomatic bones (75%), less often micrognathia or only retrognathism;

- digital anomalies (90%) - poly-, syn-, brachi-, clino-, and camptodactyly; asymmetrical shortening of fingers; postaxial polydactyly of the toes; possible osteoporosis;

- polycystic kidney disease (50%);

- brain defects are also described - microcephaly, microgyria, agenesis of corpus callosum;

- other symptoms - delayed mental development (50%); epilepsy (extremely rare); spastic paralysis of lower extremities; dry, coarse hair (65%), possible foci of alopecia; poikiloderma [1- 4,7,8,10].

Diagnosis. The diagnosis of oral-facial-digital syndrome type I is based on clinical and paraclinical data. The minimal diagnostic features include the presence of lobulated tongue, multiple hyperplastic tongue frenulae, cleft palate and alveolar clefts, hypoplasia of the nose wings, asymmetric shortening of the fingers [2]. In most cases, OPD1 is diagnosed immediately after birth on the basis of oral, facial and digital anomalies, but sometimes the disease is confirmed only after the detection of polycystic kidney damage in older (and even adult) ages [7]. The radiological picture is also characteristic - kyphosis of the base of the skull with dorsal and caudal displacement of cranial fossa; uneven thickening and shortening of short tubular bones; cellular areas of enlightenment in diaphyses and epiphyses; syndactyly, clinodactyly, camptodactyly and / or polyadactyly [3,4].

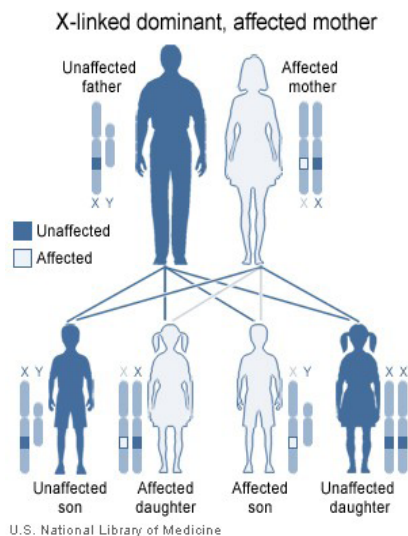


Fig. 1. Inheritance of the X-linked dominant mutation from the mother

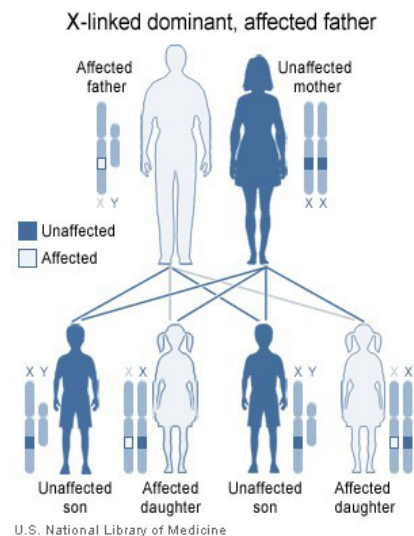


Fig. 2. Inheritance of the X-linked dominant mutation from the father

Due to the genetic heterogeneity of the oral-facial-digital syndrome, molecular genetic testing of OFD1 is highly recommended to confirm the diagnosis. The diagnosis is determined by the identification of the heterozygous pathogenic variant in OFD1 by molecular genetic testing [7].

Differential diagnosis should be performed with other mouth-to-face syndromes, cystic kidney disease and Meckel-Gruber syndrome (malformation of the central nervous system - encephalocele, cerebral and cerebellar hypoplasia, polycystic or hypoplastic kidneys, polydactyly, possible cleft palate or alveolar cleft, microcephaly, microphthalmos, dysplasia of the retina, coloboma, cataract and dysgenesis of the cornea) [2, 7].

There is no etiological treatment of oral-facial-digital syndrome type I. For the correction of some anomalies, surgical treatment is indicated - plastic of the palate or lips, surgical treatment of syndactyly; correction of malocclusion, removal of extra teeth. If necessary, long term anticonvulsant therapy or treatment of renal diseases are prescribed, including hemodialysis, peritoneal dialysis or kidney transplantation [4, 7].

According to literature data, the course and prognosis of oral-facial-digital syndrome type I is benign [4]. Obviously, the prediction will depend on the presence and severity of concomitant birth defects (brain, kidneys), degree of compensation and development of complications.

Clinical Case. Kira M., a child, was hospitalized to the Uzhhorod City Children's Clinical Hospital on September 24, 2017, at the age of 11 months with complaints about a one day increase in body temperature to 38-39 ° C.

From the anamnesis: the child is from the 6th pregnancy (without complications), the previous four pregnancies have ended with spontaneous miscarriages. The 2nd childbirth (term, physiological), has been accompanied by a double tight umbilical cord around the neck of the fetus. Birth weight: 3200 g, height: 51 cm, head circumference: 34 cm, chest circumference: 34 cm, Apgar score 8/9 points. At the age of 8 days, the child has been transferred to the Department of Neonatal Pathology of the Regional Children's Hospital in Mukachevo for further examination and treatment. Based on the data of the tests performed, the following diagnosis has been established: «Multiple congenital malformations, Pierre-Robin syndrome? Congenital malformations of the brain: Cerebellar agenesis, congenital cerebral cysts. Syndactyly of 2nd-3rd toes. Aspiration right-sided upper lobe pneumonia, uncomplicated. Post-hemorrhagic neonatal jaundice.» At the age of 17 days, the child was discharged from the hospital with improvement.

After genetic consultation, on the basis of preliminary documentation and clinical features, the diagnosis of «Pierre-Roben Syndrome» had been changed to «Oral-facial-digital syndrome type I». The karyotype: 46 XX. The family history is burdened with the presence of syndactyly from both sides.

The anamnesis revealed numerous tonic-clonic seizures. Electroencephalographic study identified focal type epileptiform activity, with irritative zone in the anterior parts of the right cerebral hemisphere and non-specific cerebral changes. Conclusion of the epileptologist: «Symptomatic epilepsy with primary generalized attacks». The child is registered on the dispensary registration of the neurologist with the diagnosis of «Congenital malformations of the brain: agenesis of corpus callosum, congenital cerebral cysts. Symptomatic epilepsy. Oral-facial-digital syndrome type I», receives anticonvulsant therapy.

At the age of 7 months, a magnetic resonance examination

of the skull had been performed. Conclusion: agenesis of corpus callosum; open third ventricle; cysts in the fourth ventricle, supratentorial and interhemispherical cysts; heterotopy of gray substance in the large hemispheres of the brain. The pre-established diagnosis had been confirmed.

Objective status at the time of admission. The general condition of the child is moderately severe. The skin is pale, turgor and elasticity of soft tissues are satisfactory. Numerous milias are detected on the face and ears. Facial dysmorphism (large wide eyes, epicanthus, wide nose bridge, telecanthus, small mouth, small beak shaped nose, hypoplasia of the wings of the nose, small chin (Figs 3, 4).

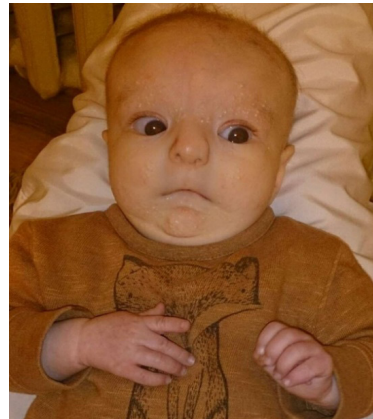


Fig.3. Girl K., 4 months



Fig. 4. Girl K., 11 months. Small "cranial" nose, wide nose hypoplasia of the wings of the nose, epicanthus, telecanthus, small mouth, milia, diminutive chin, asymmetric shortening of index finger of right hand.

The large fontanel is closed, focal alopecia, dry hair (Fig. 5). Syndactyly of 2nd-3rd toes (Fig. 6, 7), asymmetrical shortening of the index finger of the right hand. Nasal breathing is difficult, oral cavity examination reveals cleft palate (Fig. 8), ankyloglossy and tongue lobulation (Fig. 9, 10).

The mucous membranes of the oral cavity are clean, pale pink; hyperemia of the nasal mucous membrane, peripheral lymph nodes are not enlarged, meningeal signs are negative. No manifestations of respiratory insufficiency. Auscultation in the lungs: normal breathing sounds, no wheezing, percussion - pulmonary sound, Cardiac activity is rhythmic, sounds are tone. The abdomen is soft, the liver is +1 cm below the costal arch. Excrements are normal.



Fig. 5. Focal alopecia, dry dull hair



Fig. 6. Syndactyly II-III fingers of the right foot



Fig. 6. Syndactyly II-III fingers of the left foot



Fig. 8. Cleft palate



Fig. 9,10. Tongue lobulation



There is a delay in psycho-motor development.
Laboratory data: General blood count (25.09): Erythrocyte sedimentation rate - 14 mm / h, hemoglobin - 98 g / l, erythrocytes - 3.7×10^{12} / l, leukocytes - 2.8×10^9 / l (segmented neutrophils - 40%, eosinophils - 0, lymphocytes - 56%, monocytes - 4%); General urine analysis (25.09): color - light yellow, transparency - transparent, specific gravity - 1007, protein, glucose, acetone, bile pigments - absent; Sediment microscopy: epithelial cells - 1-3 in the field of view (flat), leukocytes - 4-6 in the field of view, erythrocytes - single in the field of view, cylinders, salts, microorganisms - not detected. Biochemical blood test (30.09): total protein - 64.6 g / l; creatinine - 48.6 μmol / l; urea - 3.0 mmol / l; alanine aminotransferase - 12.4 U / l; total bilirubin - 8.8 μmol / l (direct - 2.2 μmol / l; indirect - 6.6 μmol / l); potassium - 5.0 mmol / L; sodium - 145 mmol / l; calcium - 2.4 mmol / l.

Chest X-ray (28.09): infiltrative shadow without clear contours in the upper right pole. Infiltrative shadow in the lower right lobe near the lung root. The root is non-structural. Heart - no peculiarities. Cardiaphragmatic angles are clear, sinuses are free. Conclusion: right-side focal pneumonia.

Ultrasound examination. Transcranial ultrasonography: M echodex = 50.0 mm. M echosin = 52.0 mm. VIII = 6.9 mm (N up to 3.0 mm). V latdex = 24.4 mm, V latsin = 25.0 mm (N up to 16.0 mm). The ultrasound examination of the abdominal organs detected liver enlargement (anteroposterior size of the right lobe: 78 mm (N up to 65 mm), left lobe: 0.38 mm (+1.5 cm), the contours are clear, edges are rounded, the parenchyma is homogeneous, of middle echogenicity, biliary duct is not en-

larged, vascular pattern is normal, portal vein and liver veins are not enlarged, other abdominal organs without pathological changes. Echocardiography: atypical chord in the left ventricle, heart chambers are not dilated, myocardium without pathological changes, ejection fraction: 66%. No structural and functional changes in the cardiac valves. No pulmonary hypertension detected. The pericardium is free.

Consultation of narrow specialists. Otolaryngologist: moderate catarrhal changes in the nose and larynx at the time of examination. Otoscopy: pathological changes have not been detected. Phthisiatrician: «Acute right-sided upper pneumonia». Taking into account the localization of the inflammatory process and the lack of BCG vaccination, the Mantoux test (negative result) and the analysis of gastric lavage content on Mycobacterium tuberculosis (negative result) have been performed. Neurologist: «Congenital brain malformation: agenesis of corpus callosum, congenital cerebral cysts. Symptomatic epilepsy. Oral-facial-digital syndrome type I». Anticonvulsant therapy has been adjusted.

As a result of the prescribed treatment (antibiotic therapy, anti-inflammatory therapy), the child's condition has improved - body temperature and indices of general blood analysis have returned to normal. Control chest x-ray showed intensified pulmonary picture and deformed lung roots on the right, free cardio-diaphragmatic angles and clear, free sinuses.

The girl was discharged in satisfactory general condition. Recommendations that included the use of anticonvulsants (depackin and levicitam), vitamins A, E, D, as well as a surgeon's consultation regarding cleft palate correction have been given.

Discussion The gene aberration gave frequency of 1 to 500,000 and was used with the X-linked dominant inheritance regime. Almost all patients are female. It is assumed that the disease is 100% penetrant in men, given the lethality of hemizygotic individuals which mentioned in the literature, and the frequency of abortion in the families which observed in our study. Our mother also had previous 4 miscarriages. A family history includes the presence of syndactylia in the parents. The diagnosis was suspected at birth on the basis of characteristic oral, facial, and digital anomalies and identified after additional examination and genetic counseling. The children with rare diseases are a limited number, but they need special requirements. Any clinical observations are required for clinical medicine and pediatrics, as they provide additional information and versatility of clinical manifestations in the different patients. Such information will help to the development of diagnostic and therapeutic measures and improve the quality of life of patients and parents.

Conclusions.

1. Oral-facial-digital syndrome type I is an inherited pathology, which in most cases is diagnosed immediately after birth on the basis of oral, facial and digital anomalies. Molecular genetic study makes it possible to confirm this disease and provide counseling to family members.

2. Elimination of some developmental defects (hard palate plastic, correction of frenulum hypertrophy), as well as a properly selected complex of therapeutic and rehabilitation measures greatly improves the quality of life of the patient and contributes to a favorable forecast.

REFERENSES

1. Воинова В. Ю. Умственная отсталость и хромосома X [электронный ресурс] / В. Ю. Воинова, И. Ю. Юров, С. Г. Ворсанова, Ю. Б. Юров. – Москва, 2016. – URL : <https://www.monographies.ru/ru/book/section?id=11881> .
2. Козлова С. И. Наследственные синдромы и медико-генетическое консультирование / С. И. Козлова, Н. С. Демикова, Е. М. Семанова, О. Е. Блиникова. – Москва, 2007. – С. 248.
3. Рото-лице-пальцевой синдром [электронный ресурс] / Сайт практического рентгенолога. URL: http://www.zhuravlev.info/modules.php?name=Eponyms_Web&op=article&rg=1186&k=1185&id=2841.
4. Синдром Папийон-Леаж-Псома [Электронный ресурс] // Педиатрия. Синдромы. – Декабрь 26, 2013: URL : <http://detvrach.com/facultet/pediatria/sindrom-papiyon-leazh-psoma/>.
5. Синдромы врожденных аномалий, влияющих преимущественно на внешний вид лица [электронный ресурс]: URL: <http://wikimed.pro/index.php91-10:Q870>
6. Online Mendelian Inheritance in Man [Electronic resource]: URL : https://en.wikipedia.org/wiki/Orofaciodigital_syndrome
7. Oral-Facial-Digital Syndrome Type I / H. Toriello, B. Franco, A. Bruel, C. Thauvin-Robinet // GeneReviews® . – [Internet]. – 2016.
8. Oral-Facial-Digital Syndrome [Electronic resource]: URL : <http://genotek--ru.appspot.com/medwiki/oro-facio-digitalnyi-sindrom.->
9. Oral-Facial-Digital Syndrome I [Electronic resource] / Genetic and Rare Diseases Information Center (GARD) – an NCATS Program. – 2010: URL: <http://rarediseases.info.nih.gov>.
10. The Oral-Facial-Digital (OFD) syndromes / Baraitser M // J. Med. Genet. – 1986. – Vol. 23. – P. 116-119.

SUMMARY

ORAL-FACIAL-DIGITAL SYNDROME TYPE I (CLINICAL CASE)

**Horlenko O., Lenchenko A., Kossey G.,
Tomey A., Debretseni O.**

Uzhhorod National University; Uzhgorod City Children's Clinical Hospital, Ukraine

The oral-facial-digital syndrome belongs to a group of hereditary diseases, manifested by multiple birth defects (usually, the face and fingers). At the current stage, there are 14 genetic variations of the oral-facial-digital syndrome. The presence of various abnormalities of the oral cavity, face and fingers is common for all of them, but each syndrome has a specific phenotype or type of inheritance. The etiology of this syndrome is unknown. It is inherited in an X-linked dominant pattern.

Aim of the study: to describe and analyze the clinical case of oral-facial-digital syndrome. Data of the patient (Kira M., 11 months old): clinical-anamnestic examination, chest radiography, ultrasound investigation, molecular-genetic testing OFD1.

Results Numerous miliae are detected on the face and ears of the child. Facial dysmorphism (large wide eyes, epicanthus, wide nose bridge, telecanthus, small mouth, small beak shaped nose, hypoplasia of the wings of the nose, small chin). The large fontanel is closed. Focal alopecia and dry hair are noted. Syndactyly of 2nd-3rd toes, asymmetrical shortening of the index finger of the right hand. Oral cavity examination reveals cleft palate, ankyloglossy and tongue lobulation. Transcranial ultrasonography: M echodex = 50.0 mm. M echosin = 52.0 mm. VIII = 6.9 mm (N up to 3.0 mm). V latdex = 24.4 mm, V latsin = 25.0 mm (N up to 16.0 mm). Neurologist's consultation: "Congenital brain malformation: agenesis of corpus callosum, congenital cerebral cysts." Ultrasound examination of the abdominal organs detected liver enlargement (anteroposterior size of the right lobe: 78 mm (N up to 65 mm), left lobe: 0.38 mm (+1.5 cm)

Conclusion Oral-facial-digital syndrome type I is an inherited pathology, which in most cases is diagnosed immediately after birth on the basis of oral, facial and digital anomalies. Molecular genetic study makes it possible to confirm this disease and provide counseling to family members. Elimination of some developmental defects (hard palate plastic, correction of frenulum hypertrophy), as well as a properly selected complex of therapeutic and rehabilitation measures greatly improves the quality of life of the patient and contributes to a favorable forecast.

Keywords: Oral-facial-digital syndrome type I, examination, children.

РЕЗЮМЕ

ОРО-ФАЦИО-ДИГИТАЛЬНЫЙ СИНДРОМ I ТИПА (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

**Горленко О.М., Ленченко А.В., Коссей Г.Б., Томей А.И.,
Дебрецени Е.В.**

Национальный университет, Ужгород; Детский клинический госпиталь, Ужгород, Украина

Целью исследования явился анализ данных клинического случая оро-фацио-дигитального синдрома I типа.

Представлен клинический случай оро-фацио-дигитального синдрома I типа. Больная Кира М, 11 месяцев: клинико-anamnestическое обследование, рентгенография ультразвуковая диагностика, молекулярно-генетическое тестирование OFD1.

У ребенка на лице и ушах имелись множественные милии, дисморфия лица (большие широкие глаза, эпикант, широкая переносица, телекант, маленький рот, маленький «клювовидный» нос, гипоплазия крыльев носа, уменьшенный подбородок, большой родничок закрыт). Отмечается очаговая аллопеция, волосы сухие, тусклые. Синдактилия II-III пальцев стоп, асимметричное укорочение указательного пальца правой кисти. При осмотре ротовой полости визуализируется незаращение твердого неба, анкилоглоссия и лобуляция языка. Транскраниальная ультрасонография: $Mexo_{dex} = 50,0$ мм. $Mexo_{sin} =$

52,0 мм, VIII = 6,9 мм (в N к 3,0 мм). $Vlat_{dex} = 24,4$ мм, $Vlat_{sin} = 25,0$ мм (в N д в 16,0 мм) с последующим заключением невролога: «Врожденный порок развития головного мозга: агенезия мозолистого тела, врожденные церебральные кисты». Ультразвуковое обследование органов брюшной полости: увеличение печени (передне-задний размер правой доли - 78 мм (в норме до 65 мм), левой - 0,38 мм (+1,5 см).

Молекулярно-генетическим исследованием подтвержден диагноз заболевания и проведено консультирование членов семьи. Устранены некоторые пороки развития (пластика твердого неба, пересечение гипертрофированной уздечки языка или губ), подобран адекватный комплекс лечебных и реабилитационных мероприятий. В результате значительно улучшилось качество жизни больной и появилась надежда на благоприятный прогноз.

რეზიუმე

ოროფაციოდიგიტალური სინდრომის I ტიპი (კლინიკური შემთხვევა)

ო. გორღენკო, ა. ლენჩენკო, გ. კოსეი, ა. ტომეი, ე. დებრეცენი

უკოროდის ეროვნული უნივერსიტეტი; უკოროდის ბავშვთა კლინიკური ჰოსპიტალი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ოროფაციოდიგიტალური სინდრომის I ტიპის კლინიკური შემთხვევის მონაცემების ანალიზი.

ბავშვის მონაცემები (კირა მ., 11 თვის): კლინიკურ-ანამნეზური კვლევა, რენტგენოგრაფია, ულტრაბგერითი დიაგნოსტიკა, OFD1-ის მოლეკულურ-გენეტიკური ტესტირება.

ბავშვს აღენიშნება სახის დისმორფია (დიდი, ფართო თვალები, ეპიკანტი, ცხვირის ფართო ძვიდუ, ტელეკანტი, პატარა პირი, მცირე ზომის, “ნისკარტისებური” ცხვირი, ცხვირის ფრთების ჰიპოპლაზია, შემცირებული ნიკაპი). დიდი ყიფლიბანდი დახურულია; აღინიშნება კეროვანი ალოპეცია, თმა – მშრალი, არამკვეთრი შეფერილობის; ფეხის II-III თითების სინდაქტილია, მარჯვენა მტევნის საჩვენებელი თითის ასიმეტრიული სიმოკლე. პირის ღრუს დათვალეიერებით ვიზუალიზირდება მაგარი სახის შეუხორცებლობა, ანკილოგლოსია

და ენის ლობულაცია. ტრანსკრანიული ულტრასონოგრაფიით: $Mexo_{dex} = 50,0$ მმ, $Mexo_{sin} = 52,0$ მმ, VIII = 6,9 მმ (ნორმა - 3,0 მმ). $Vlat_{dex} = 24,4$ მმ, $Vlat_{sin} = 25,0$ მმ (ნორმა - 16,0 მმ), ნევროლოგის თანამდევით დასკვნით: "კორდიანი სხეულის აგენეზია, თანდაყოლილი ცერებრული კისტები". მუცლის ღრუს ორგანოების ულტრაბგერითი კვლევით: ღვიძლი – გადიდებული (მარჯვენა წილის წინა-უკანა ზომა – 78 მმ, ნორმა – 65 მმ-მდე); მარცხენა წილის – 0,38 მმ (+ 1,5 სმ).

მოლეკულურ-გენეტიკური კვლევა იძლევა დიაგნოზის დადგენის და ოჯახის წევრების კონსულტირების საშუალებას. განვითარების ზოგირითი მანკის აღმოფხვრა (მაგარი სახის პლასტიკა, ენის ან ტუნების ჰიპერტროფირებული ლაგამის გადაკვეთა), ასევე, სამკურნალო და სარეაბილიტაციო ღონისძიებების სწორად შერჩევა მნიშვნელოვნად აუმჯობესებს ავადმყოფის სიცოცხლის ხარისხს და ხელს უწყობს კეთილსამიჯლო პროგნოზს.

THE IMPACT OF THE DEGREE OF OBESITY ON METABOLIC PARAMETERS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS

Tskhvedadze N., Giorgadze E., Janjgava Sh.

National Institute of Endocrinology, Tbilisi, Georgia

Metabolic syndrome (MS) is a cluster of various symptoms, namely central obesity, hyperglycaemia, dyslipidaemia and elevated blood pressure, which are often associated with a condition of insulin resistance. The definition and its criteria for adults are reasonably refined. It is not the same in case of children and adolescents. There are many uncertainties in these age groups [1-4]. This is mainly due to the fact that there are no reference values for the different components to be used during childhood [5]. Despite, in most cases, childhood and adolescence are the

periods when many disorders related with MS are initiated and developed. Obesity and, especially, visceral obesity has a key role as a risk-factor of MS and related comorbidities [6]. Its determination is reasonably simple and does not require complicated instrumental investigations. However, it should be noted some factors for MS prognosis. The age is one of them. The assessment of obesity has to be carried out carefully in children and adolescents. Weight gain on adults generally is characterized by growth of fatty tissues. But weight gain in children and

adolescents is associated with growth of all tissues that is not related with obesity [7]. Therefore, it should be checked – how the weight gain is associated with obesity.

The aim of our investigation was to determine the impact of the degree of obesity on metabolic characteristics in children and adolescents with metabolic syndrome.

Material and methods. We studied 117 children and adolescents 8-15 years of age. They were overweight and obese, had a body-mass index (BMI, the weight in kilograms divided by the square of the height in meters) that exceeded the 85th percentile for their age and sex and had the complaints associated with this condition. Exclusion criteria were the known presence of diabetes and the use of medications that alters blood pressure or glucose or lipid metabolism. Study protocol was approved by the Board of National Institute of Endocrinology. Written informed consent from and/or guardians and written assent from children (where appropriate) and adolescents were obtained.

Anthropometric measurements

Anthropometric parameters (body mass, height, BMI, waist circumference - WC, WC/Height) have been evaluated. BMI was calculated as follows:

Investigated patients were divided according BMI percentiles for age and sex established by the U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) [8] as follows:

- Group 1. Overweight (OW; 85-94.99th percentiles, n=10);
- Group 2. Obesity of I degree (Ob1; 95-96.99th percentile, n=12);
- Group 3. Obesity of II degree (Ob2; 97-98.99th percentile, n=51);
- Group 4. Obesity of III degree (Ob3; >98.99th percentile, n=39).

Cut points for severe obesity in childhood have been proposed in recognition of the alarming growing prevalence of this extreme condition, defined as the 99th BMI percentile [9] or 120% of the 95th percentile [10].

The subjects consumed a diet containing at least 250 g of carbohydrates per day for three days before the study and refrained from vigorous physical activity. They were evaluated at 8 a.m., after a 12-hour, overnight fast. Their weight and height were measured, and their BMI was calculated. Blood pressure was measured three times while the subjects were seated, and the last two measurements were averaged for analysis.

Baseline blood samples were obtained from subjects while they were fasting, with the use of an indwelling venous line for measurement of levels of glucose, insulin, lipids, leptin. An oral glucose-tolerance test was then performed with the administration of 1.75 g of glucose per kilogram of body weight.

Biochemical Analysis

Plasma glucose levels (fasting plasma glucose – FPG, postprandial plasma glucose - PPG) were determined by glucose oxidase method and measured with the use of the YSI 2700 STAT Analyzer (Yellow Springs Instruments), and Serum lipid (total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol, Triglycerides) levels were measured with the use of an AutoAnalyzer (model 747–200, Roche–Hitachi). Plasma C-peptide, fasting plasma insulin (FPI), postprandial plasma insulin (PPI) and Leptin levels were measured with the use of an Enzyme-linked Immuno-Sorbent Assay kits (R&D Systems).

MS Definitions

The criteria we used to diagnose the metabolic syndrome were modified from those of the National Cholesterol Education Program’s Adult Treatment Panel and the World Health Organization [5].

Because body proportions normally change during pubertal development and may vary among persons of different races and ethnic groups, differences in waist-to-hip ratios are difficult to interpret in children. We therefore defined obesity on the basis of a threshold BMI that exceeded the 95th percentile for age and sex. Elevated systolic or diastolic blood pressure was defined as a value that exceeded the 95th percentile for age and sex.

Abnormalities in the fasting levels of triglycerides and high-density lipoprotein (HDL) cholesterol were adjusted for age, sex, and race or ethnic group (>95th percentile for triglycerides; <5th percentile for HDL cholesterol).

Impaired glucose tolerance was defined as a glucose level greater than 140 mg per deciliter (7.8 mmol per liter) but less than 200 mg per deciliter (11.1 mmol per liter) at two hours.

Like adults, the children and adolescents in our study were classified as having the metabolic syndrome if they met three or more of the following criteria for age and sex:

- 1) a WC≥90th percentile or 1a) WC/Height≥0.05 [11],

Table 1. Characterization of patients in groups

Parameter	Group 1 - OW (n=10)	Group 2 – Ob1 (n=12)	Group 3 – Ob2 (n=51)	Group 4 – Ob3 (n=39)
	Mean ±SD	Mean ±SD	Mean ±SD	Mean ±SD
Boys	2 (20.00%)	5 (41.67 %)	14 (27.45 %)	18 (46.15 %)
Girls	8 (80.00%)	7 (58.33%)	37 (72.55 %)	21 (53.85 %)
Age, years	12.50±2.42	12.25±2.18	12.35±1.92	11.41±2.33
	p ₁₋₂ =NS p ₁₋₃ =NS p ₁₋₄ =NS p ₂₋₃ =NS p ₂₋₄ =NS p ₃₋₄ =NS			
Body Height, cm	155.90±13.44	155.00±9.59	157.92±10.60	155.56±11.40
	p ₁₋₂ =NS p ₁₋₃ =NS p ₁₋₄ =NS p ₂₋₃ =NS p ₂₋₄ =NS p ₃₋₄ =NS			
Body Weight, kg	57.68±15.08	60.63±11.98	71.84±13.30	82.94±19.38
	p ₁₋₂ =NS p ₁₋₃ =0.004 p ₁₋₄ <0.001 p ₂₋₃ =0.010 p ₂₋₄ <0.001 p ₃₋₄ =0.002			
BMI Percentile	91.61±2.83	95.84±0.62	98.15±0.54	99.36±0.22
	p ₁₋₂ <0.001 p ₁₋₃ <0.001 p ₁₋₄ <0.001 p ₂₋₃ <0.001 p ₂₋₄ <0.001 p ₃₋₄ <0.001			
WC, cm	74.50±7.29	77.83±9.06	86.95±10.05	98.96±13.05
	p ₁₋₂ =NS p ₁₋₃ <0.001 p ₁₋₄ <0.001 p ₂₋₃ =0.006 p ₂₋₄ <0.001 p ₃₋₄ <0.001			
WC/Height	0.488±0.053	0.505±0.057	0.553±0.055	0.633±0.063
	p ₁₋₂ =NS p ₁₋₃ =0.001 p ₁₋₄ <0.001 p ₂₋₃ =0.009 p ₂₋₄ <0.001 p ₃₋₄ <0.001			

2) a triglyceride level above the 95th percentile, an HDL cholesterol level below the 5th percentile,

3) systolic or diastolic blood pressure above the 95th percentile, and

4) impaired glucose tolerance or insulin resistance. The degree of insulin resistance was determined with the use of a homeostatic model (HOMA-IR - homeostatic model assessment: insulin resistance).

Results are presented as Mean±SD. Difference between groups has been evaluated statistically by two-tailed Student's t test. In case of p<0.05, the difference was considered as significant. Correlation analysis was carried out by simple regression analysis using Pearson coefficient (R). We used SPSS software, version 21.0 (IBM).

Results and their discussion. MS was diagnosed in 68 cases (out of 117; 58.12%). MS cases in groups are given in Table 2.

The results of FPG, PPG, FPI, PPI, serum C-peptide and HOMA-IR in groups are given in table 3.

Table 3 shows that FPG and PPG have not significant difference in between groups (p=NS). It should be noted that im-

paired FPG has been observed: group 2 – 1 patient; group 3 – 1 patient and group 4 – 1 patient. However, FPI, PPI, C-peptide and HOMA-IR-were significantly increased by the increase of degree of obesity. In addition, FPI and C-peptide levels were elevated in group 1 – n=5 (50.00%); group 2 – n=5 (41.67%); group 3 – n=31 (60.78%) and group 4 – n=23 (74.19%), which was substantially reflected HOMA-IR values.

The values of systolic and diastolic BP in the groups are given in table 4.

The values of systolic BP are significantly higher in Ob2 and Ob3 rather than OV and Ob1. It has not been detected significant difference between diastolic BP values.

The results of Serum Lipid and Leptin levels are given in table 5.

As Table 5 shown, the levels of total cholesterol, VLDL-cholesterol, and Triglycerides are significantly lower in group 1 (OV) than analogous values of other obese groups. HDL-cholesterol was significantly sharply lower only in group 4. We can say same word “sharply” about increase of triglyceride and leptin levels – they are sharply significantly higher in Ob3 group in comparison to others.

Table 2. MS cases in groups

Name	Group 1 - OW (n=10)	Group 2 – Ob1 (n=12)	Group 3 – Ob2 (n=51)	Group 4 – Ob3 (n=39)
	Mean ±SD	Mean ±SD	Mean ±SD	Mean ±SD
MS cases by definition 1	0 (0.0%)	0 (0.0%)	31 (58.8%)	35 (89.7%)
$\chi^2 = 9.4776$ p=0.002				
MS cases by definition 1a	1 (10.0%)	2 (16.7%)	30 (58.8%)	35 (89.7%)
$\chi^2 = 34.3993$ p<0.001				

Table 3. FPG, PPG, FPI, PPI, serum C-peptide and HOMA-IR values in groups

Parameter	Group 1 - OW (n=10)	Group 2 – Ob1 (n=12)	Group 3 – Ob2 (n=51)	Group 4 – Ob3 (n=39)
	Mean ±SD	Mean ±SD	Mean ±SD	Mean ±SD
HbGA _{1c} , %	4.93±0.17	5.00±0.55	5.39±1.06	5.24±0.52
$p_{1-2}=NS$ $p_{1-3}=NS$ $p_{1-4}=NS$ $p_{2-3}=NS$ $p_{2-4}=NS$ $p_{3-4}=NS$				
C-peptide, ng/ml	1.52±0.65	2.11±0.90	2.04±0.84	3.07±1.47
$p_{1-2}=NS$ $p_{1-3}=NS$ $p_{1-4}=0.022$ $p_{2-3}=NS$ $p_{2-4}=0.038$ $p_{3-4}<0.001$				
FPG, mg/dl	89.34±13.80	90.00±12.28	86.10±14.77	91.82±11.33
$p_{1-2}=NS$ $p_{1-3}=NS$ $p_{1-4}=NS$ $p_{2-3}=NS$ $p_{2-4}=NS$ $p_{3-4}=NS$				
PPG, mg/dl	107.43±27.84	105.06±14.37	104.24±19.42	111.72±25.89
$p_{1-2}=NS$ $p_{1-3}=NS$ $p_{1-4}=NS$ $p_{2-3}=NS$ $p_{2-4}=NS$ $p_{3-4}=NS$				
FPI, mg/dl	10.24±5.23	12.98±5.25	15.23±8.52	24.47±8.87
$p_{1-2}=NS$ $p_{1-3}<0.001$ $p_{1-4}<0.001$ $p_{2-3}=NS$ $p_{2-4}<0.001$ $p_{3-4}<0.001$				
PPI, mg/dl	36.00±33.39	52.75±28.04	69.68±33.06	78.80±26.81
$p_{1-2}=NS$ $p_{1-3}=0.005$ $p_{1-4}<0.001$ $p_{2-3}=NS$ $p_{2-4}=0.005$ $p_{3-4}=NS$				
HOMA-IR	2.23±1.27	3.40±2.56	4.34±1.95	5.44±1.48
$p_{1-2}=NS$ $p_{1-3}=0.002$ $p_{1-4}<0.001$ $p_{2-3}=NS$ $p_{2-4}=0.001$ $p_{3-4}=0.004$				

Table 4. Systolic and diastolic BP values in groups

Blood Pressure, mm.Hg	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
Systolic	101.00±11.01	100.83±9.96	107.24±8.45	107.74±9.14
$p_{1-2}=NS$ $p_{1-3}=0.047$ $p_{1-4}=0.051(NS)$ $p_{2-3}=0.026$ $p_{2-4}=0.029$ $p_{3-4}=NS$				
diastolic	63.50±5.80	66.67±7.78	67.25±6.19	68.03±6.41
$p_{1-2}=NS$ $p_{1-3}=NS$ $p_{1-4}=0.048$ $p_{2-3}=NS$ $p_{2-4}=NS$ $p_{3-4}=NS$				

Table 5. Serum Lipid and Leptin levels in groups

Parameter	Group 1 - OW (n=10)	Group 2 - Ob1 (n=12)	Group 3 - Ob2 (n=51)	Group 4 - Ob3 (n=39)
	Mean ±SD	Mean ±SD	Mean ±SD	Mean ±SD
Total Cholesterol, mg/dl	138.40±12.86	156.67±16.93	173.86±40.21	166.05±52.91
	p ₁₋₂ =0.011 p ₁₋₃ =0.008 p ₁₋₄ =NS p ₂₋₃ =NS p ₂₋₄ =NS p ₃₋₄ =NS			
HDL-Cholesterol, mg/dl	45.40±6.88	40.67±5.84	42.63±13.27	32.49±10.12
	p ₁₋₂ =NS p ₁₋₃ =NS p ₁₋₄ <0.001 p ₂₋₃ =NS p ₂₋₄ =0.011 p ₃₋₄ <0.001			
LDL-Cholesterol, mg/dl	82.60±8.73	92.67±14.84	106.22±43.79	100.26±46.79
	p ₁₋₂ =NS p ₁₋₃ =NS p ₁₋₄ =NS p ₂₋₃ =NS p ₂₋₄ =NS p ₃₋₄ =NS			
VLDL-Cholesterol, mg/dl	10.40±3.21	23.33±7.51	25.22±10.22	33.31±14.07
	p ₁₋₂ <0.001 p ₁₋₃ <0.001 p ₁₋₄ <0.001 p ₂₋₃ =NS p ₂₋₄ <0.001 p ₃₋₄ =0.002			
Triglycerides, mg/dl	52.00±16.05	116.67±37.56	125.10±51.11	166.54±70.35
	p ₁₋₂ <0.001 p ₁₋₃ <0.001 p ₁₋₄ <0.001 p ₂₋₃ =NS p ₂₋₄ <0.001 p ₃₋₄ =0.002			
Leptin	14.52±13.79	16.79±11.96	22.07±12.77	37.03±18.13
	p ₁₋₂ =NS p ₁₋₃ =NS p ₁₋₄ <0.001 p ₂₋₃ =NS p ₂₋₄ <0.001 p ₃₋₄ <0.001			

Overweight and obesity are related to the fact that children and adolescents are growing in an obesogenic environment, caused by the energy imbalance resulting from changes in food types, availability, accessibility and commercialization, as well as a decline in physical activity due to more time spent in front of a screen and in sedentary leisure [12-14]. Concerning obesity criteria of MS definition our data suggest that BMI percentile significantly correlated with as WC (r=0.3431, p<0.001). as WC/Height (r=0.4930, p<0.001). Therefore, it is no significant difference from obesity criteria point.

Overweight and obesity are the main contributors to the burden of chronic diseases in the population [15,16]. The concern about the occurrence of obesity is related to developing comorbidities and complications generated by overweight. Fat accumulation is associated with the presence of arterial hypertension and metabolic alterations, such as the increase of triglycerides and glycemia, and reduced HDL-cholesterol [6], comorbidities of high values in the present study.

MS is a serious disorder associated with multiple diseased states. The definition and criteria for MS in childhood and adolescence remains uncertain at this time. Obesity in childhood is a risk for MS later in life and early intervention may help attenuate the disease process. It would be prudent for clinicians to identify at-risk patients and provide guidance on prevention and management of this disease. Further research is needed to gain a better understanding of this syndrome [4].

These conditions are often asymptomatic at this stage of life, and can easily become unnoticed even by health professionals; therefore, emphasizing the importance of preventive and curative care in adolescents is crucial, as well as promoting healthy eating habits and to practice physical activity, which are among the main factors for the prevention of CVDs [17,18]. In this sense, family and school are considered a focus areas for interventions aimed at promoting healthy lifestyles.

Conclusion. The degree of obesity in children and adolescents has important clinical implications. The risk of death from all causes among adults with severe obesity is twice more than among moderately obese adults. Data on the prevalence of severe obesity in children and adolescents do not exist, to our knowledge. Our results show a significant adverse effect of worsening obesity on insulin resistance, glycemia, lipids and blood pressure, underscoring the deleterious effect of increasing BMI percentile.

REFERENCES

1. Brambilla P, Lissau I, Flodmark C-E, Moreno LA et al. Metabolic risk-factor clustering estimation in children: to draw a line across pediatric metabolic syndrome // Int J Obes (Lond) 2007; 31:591-600.
2. Olza J, Gil-Campos M, Leis R, Bueno G et al. Presence of the metabolic syndrome in obese children at prepubertal age // Ann Nutr Metab 2011; 58:343-350.
3. Mellerio H, Alberti C, Druet C, Capelier F et al. Novel modeling of reference values of cardiovascular risk factors in children aged 7 to 20 years // Pediatrics 2012; 129:e1020-e1029.
4. Al-Hamad D, Raman V. Metabolic syndrome in children and adolescents // Transl Pediatr 2017; 6(4):397-407.
5. Ahrens W, Moreno LA, Mårild S, Molnár D, Siani A, De Henauw S, Böhm J, Günther K, Hadjiageorgiou C, Iacoviello L, Lissner L, Veidebaum T, Pohlmann H, Pigeot I. Metabolic syndrome in young children: definitions and results of the IDEFICS study // Int J Obes (Lond) 2014; 38 Suppl 2:S4-S14.
6. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, Yeckel CW, et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents // N Engl J Med 2004; 350:2362-2374.
7. Dobashi K. Evaluation of Obesity in School-Age Children // J Atheroscler Thromb 2016; 23(1):32-38.
8. Kuczumski RJ, Ogden CL, Guo SS, et al. 2000 CDC growth charts for the United States: methods and development // Vital Health Stat 11 2002; 246:1-190.
9. Barlow SE. the Expert Committee Recommendations Regarding the Prevention, Assessment, and Treatment of Child and Adolescent Overweight and Obesity: Summary Report Pediatrics 2007; 120(Supplement 4): 164-192.
10. Flegal KM, Wei R, Ogden CL, Freedman DS, Johnson CL, Curtin LR. Characterizing extreme values of body mass index-for-age by using the 2000 Centers for Disease Control and Prevention growth charts // Am J Clin Nutr 2009; 90(5):1314-1320.
11. Ochoa Sangrador C, Ochoa-Brezmes J. Waist-to-height ratio as a risk marker for metabolic syndrome in childhood. A meta-analysis // Pediatr Obes 2018; 13(7):421-432.
12. World Health Organization. Report of the commission on ending childhood obesity. Geneva: World Health Organization. 2016. <http://www.who.int/end-childhood-obesity/publications/echo-report/en/>. Accessed 10 Feb 2017.

13. Dias DF, Loch MR, Ronque ERV. Perceived barriers to leisure-time physical activity and associated factors in adolescents // *Ciênc Saúde Coletiva* 2015, 20:3339–3350.
14. de Assunção Bezerra MK, Freese de Carvalho E, Souza Oliveira J, Pessoa Cesse EÂ, Cabral de Lira PI, Galvão Tenório Cavalcante J, Sá Leal V. Health promotion initiatives at school related to overweight, insulin resistance, hypertension and dyslipidemia in adolescents: a cross-sectional study in Recife, Brazil // *BMC Public Health* 2018. 18(1):223.
15. Kearns K, Dee A, Fitzgerald AP, Doherty E, Perry IJ. Chronic disease burden associated with overweight and obesity in Ireland: the effects of a small BMI reduction at population level

// *BMC Public Health* 2014, 14:143.

16. De Onis M, Martínez-Costa C, Núñez F, Nguefack-Tsague G, Montal A, Brines J. Association between WHO cut-offs for childhood overweight and obesity and cardiometabolic risk // *Public Health Nutr* 2012, 16:625–630.
17. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC, et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose // *Arq Bras Cardiol* 2013, 101(Suppl 1):1–20.
18. Falkner B, Lurbe E, Schaefer F. High blood pressure in children: clinical and health policy implications // *J Clin Hypertens* 2010, 12:261–276.

SUMMARY

THE IMPACT OF THE DEGREE OF OBESITY ON METABOLIC PARAMETERS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS

Tskhvedadze N., Giorgadze E., Janjgava Sh.

National Institute of Endocrinology, Tbilisi, Georgia

The aim of our investigation was to determine the impact of the degree of obesity on metabolic characteristics in children and adolescents with metabolic syndrome.

We studied 117 children and adolescents 8-15 years of age with BMI exceeded the 85th percentile for their age and sex and the complaints associated with obesity. Investigated patients were divided according BMI percentiles for age and sex established by the U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) as follows: Group 1. Overweight (OW; 85-94.99th percentiles, n=10); Group 2. Obesity of I degree (Ob1; 95-96.99th percentile, n=12); Group 3. Obesity of II degree (Ob2; 97-98.99th percentile, n=51); Group 4. Obesity of III degree (Ob3; >98.99th percentile, n=39). Plasma glucose levels (fasting plasma glucose – FPG, postprandial plasma glucose - PPG) were determined by glucose oxidase method and Serum lipid (total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol, Triglycerides) levels have been measured. Plasma C-peptide, fasting plasma insulin (FPI), postprandial plasma insulin (PPI) and Leptin levels were determined by Enzyme-linked Immuno-Sorbent Assay kits. Like adults, the children and adolescents in our study were classified as having the MS if they met three or more of the following criteria for age and sex: 1) a WC \geq 90th percentile or 1a) WC/Height \geq 0.05, 2) a triglyceride level above the 95th percentile, an HDL cholesterol level below the 5th percentile, 3) systolic or diastolic blood pressure above

the 95th percentile, and 4) impaired glucose tolerance or insulin resistance.

Metabolic syndrome was diagnosed in 68 cases (out of 117; 58.12%). The results of FPG, PPG, FPI, PPI, serum C-peptide and HOMA-IR in groups shows that FPG and PPG have not significant difference in between groups (p=NS). FPI, PPI, C-peptide and HOMA-IR were significantly increased by the increase of degree of obesity. The values of systolic BP are significantly higher in Ob2 and Ob3 rather than OV and Ob1 groups. It has not been detected significant difference between diastolic BP values. The levels of total cholesterol, VLDL-cholesterol, and Triglycerides are significantly lower in group 1 (OV) than analogous values of other obese groups. HDL-cholesterol was significantly sharply lower only in group 4. Triglyceride and leptin levels are sharply significantly higher in Ob3 group in comparison to others.

The degree of obesity in children and adolescents has important clinical implications. Data on the prevalence of severe obesity in children and adolescents do not exist, to our knowledge. Our results show a significant adverse effect of worsening obesity on insulin resistance, glycemia, lipids and blood pressure, underscoring the deleterious effect of increasing BMI percentile.

Keywords: metabolic syndrome, obesity, body-mass index, metabolic parameters,

РЕЗЮМЕ

ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ ОЖИРЕНИЯ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

Цхведадзе Н.В., Гиоргадзе Е.Р., Джанджгава Ш.Г.

Национальный институт эндокринологии, Тбилиси, Грузия

Целью исследования явилось определение влияния степени ожирения на метаболические параметры детей и подростков с метаболическим синдромом.

Исследованы 117 детей и подростков в возрасте 8-15 лет, индекс массы тела (ИМТ) которых превышал 85 перцентиль, определенного для их возраста и пола. Имелись жалобы, связанные с ожирением. Исследуемые пациенты разделены на 4 группы по перцентильям ИМТ: I группа - избыточная масса тела (OW; 85-94.99 перцентиль, n=10);

II группа - ожирение I степени (Ob1; 95-96.99 перцентиль, n=12); III группа - ожирение II степени (Ob2; 97-98.99 перцентиль, n=51); IV группа - ожирение III степени (Ob3; >98.99 перцентиль, n=39). Определены показатели глюкозы плазмы крови натощак (FPG), постпрандиально (PPG) и уровни липидов в сыворотке крови (общий холестерин, HDL-холестерин, LDL-холестерин, VLDL-холестерин, триглицериды). В плазме крови также определены C-пептид, инсулин натощак (FPI), инсулин постпрандиально (PPI)

и лептин энзим-связанным иммуносорбентным методом. Подтверждение метаболического синдрома (МС) проводилось в том случае, если пациенты удовлетворяли 3 и более возрастным и половым критериям: 1) окружность талии (WC) ≥ 90 перцентиль или 1a) WC/рост ≥ 0.05 ; 2) уровень триглицеридов превосходил 95 перцентиль или уровень HDL-холестерина не превосходил 5 перцентиль; 3) показатели систолического и диастолического артериального давления превосходили 95 перцентиль и 4) нарушенная глюкозотолерантность или инсулинрезистентность.

МС подтвержден в 68 (58,12%) случаях из 117. Показатели FPG и PPG между группами достоверно не различались ($p=NS$). Показатели FPI, PPI, C-пептида и индекса инсулинрезистентности (HOMA-IR) достоверно увеличивались с ростом степени ожирения. Показатели артериального дав-

ления были достоверно выше в группах Ob2 и Ob3 в сравнении с группами OW и Ob1. Уровни общего холестерина, VLDL-холестерина и триглицеридов были достоверно ниже в I группе (OW). HDL-холестерин был достоверно ниже в IV группе (Ob3). В этой группе уровни триглицеридов и лептина были достоверно выше.

Полученные в результате исследования данные позволяют заключить, что степень ожирения имеет значительное влияние на здоровье детей и подростков. Данные о prevalентности детей и подростков с острым ожирением не выявлены. Результаты проведенного исследования показали, что острое ожирение имеет достоверное влияние на инсулинрезистентность, гликемию, липиды и артериальное давление, что подчеркивает негативный эффект увеличенного перцентилей ИМТ.

რეზიუმე

სიმსუქნის ხარისხის ზეგავლენა მეტაბოლურ პარამეტრებზე ბავშვებსა და მოზარდებში

ნ. ცხევედაძე, ე. გიორგაძე, შ. ჯანჯღავა

ენდოკრინოლოგიის ეროვნული ინსტიტუტი, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სიმსუქნის ხარისხის მეტაბოლურ მახასიათებლებზე ზეგავლენის განსაზღვრა მეტაბოლური სინდრომის მქონე ბავშვებსა და მოზარდებში.

შესწავლილია 8-15 წლის 117 ბავშვი და მოზარდი, რომელთა სხეულის მასის ინდექსი (სმი) აღემატება მათი ასაკისა და სქესისათვის განსაზღვრული სმი-ის 85 პერცენტილს. პაციენტებს აღენიშნებოდათ სიმსუქნესთან დაკავშირებული ჩივილები. სმი-ის პერცენტილს მიხედვით პაციენტები დაიყოფივნებოდნენ: I ჯგუფი - ჭარბი მასა (OW; 85-94.99 პერცენტილე, $n=10$); II ჯგუფი - I ხარისხის სიმსუქნე (Ob1; 95-96.99 პერცენტილე, $n=12$); III ჯგუფი - II ხარისხის სიმსუქნე (Ob2; 97-98.99 პერცენტილე, $n=51$); IV ჯგუფი - III ხარისხის სიმსუქნე (Ob3; >98.99 პერცენტილე, $n=39$). განსაზღვრულ იქნა პლაზმის გლუკოზა უზმოდ (FPG) და პოსტრანდიულად (PPG), სისხლის შრატის ლიპიდების დონეები (საერთო ქოლესტერინი, HDL-ქოლესტერინი, LDL-ქოლესტერინი, VLDL-ქოლესტერინი, ტრიგლიცერიდები). ასევე განისაზღვრა პლაზმის C-პეპტიდი, პლაზმის ინსულინი უზმოდ (FPI) და პოსტრანდიულად (PPI), ლეპტინი ენზიმოქიმიკური იმუნო-სორბენტული მეთოდით. მეტაბოლური სინდრომის (მს) დადასტურება მოხდა იმ შემთხვევებში, როცა ბავშვები და მოზარდები პასუხობდნენ 3 ან მეტ ასაკ- და სქეს-სპეციფიურ კრიტერიუმს: 1) წელის გარშემოწერილობა (WC) ≥ 90 პერცენტილზე ან 1a)

WC/სიმაღლე ≥ 0.05 ; 2) ტრიგლიცერიდების დონე აღემატებოდა 95 პერცენტილს ან HDL-ქოლესტერინის დონე არ აღემატებოდა 5 პერცენტილს; 3) სისტოლური ან დიასტოლური წნევის მაჩვენებლები აღემატებოდა 95 პერცენტილს და 4) დარღვეული გლუკოზოტოლერანტობა ან ინსულინრეზისტენტობა.

მს დადასტურდა 68 შემთხვევაში (58,12%). FPG და PPG ჯგუფებს შორის სარწმუნო განსხვავება არ გამოვლინდა ($p=NS$). FPI, PPI, C-პეპტიდის და ინსულინრეზისტენტობის ინდექსის (HOMA-IR) მაჩვენებლები სარწმუნოდ მატულობდა სიმსუქნის ხარისხის მატებასთან ერთად. არტერიული წნევის მაჩვენებლები სარწმუნოდ მაღალი იყო Ob2 და Ob3 ჯგუფებში OW და Ob1 ჯგუფებთან შედარებით. საერთო ქოლესტერინის, VLDL-ქოლესტერინისა და ტრიგლიცერიდების დონეები სარწმუნოდ დაბალი იყო I ჯგუფში (OW). HDL-ქოლესტერინი სარწმუნოდ დაბალი იყო IV ჯგუფში (Ob3). ამ ჯგუფში სარწმუნოდ მაღალი იყო ტრიგლიცერიდებისა და ლეპტინის დონეები.

სიმსუქნის ხარისხს გააჩნია მნიშვნელოვანი ზეგავლენა ბავშვებისა და მოზარდების ჯანმრთელობაზე. მონაცემები მწვავე სიმსუქნის მქონე ბავშვებისა და მოზარდების პრევალენტობის შესახებ არ არსებობს. ჩატარებული კვლევის შედეგებმა გამოავლინა, რომ მწვავე სიმსუქნე სარწმუნოდ ზეგავლენას ახდენს ინსულინრეზისტენტობაზე, გლიკემიაზე, ლიპიდებსა და არტერიულ წნევაზე, რაც ხაზს უსვამს სმი-ის მომატებული პერცენტილს უარყოფით ეფექტს.

НЕКАРДИАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ИНГИБИТОРОВ SGLT2 (ОБЗОР)

Дорошкевич И.А., Вознюк Л.А., Волощук Н.И., Клекот А.А., Кириченко О.В.

Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Украина

Сахарный диабет (СД) – самый опасный вызов человечеству в XXI веке. По статистике Международной диабетической федерации на 2015 г. количество больных СД составило 415 млн. До 2040 года прогнозируемое количество больных составит 642 миллиона [1]. Число больных СД 2 типа возрастает во всех, без исключения, странах мира. Причем 183 млн. больных СД остаются не диагностированными. По причине СД в 2011 г. зарегистрировано 4,6 млн. смертных случаев, а расходы на лечение СД достигли почти 465 млрд. долларов США [3].

Поскольку неконтролируемая гипергликемия является фактором риска развития осложнений диабета (нейропатия, ретинопатия, нефропатия) и сердечно-сосудистых заболеваний, основной задачей терапии СД 2 типа является гликемический контроль. Ранний интенсивный контроль глюкозы плазмы крови имеет долгосрочные перспективы для предупреждения микрососудистых осложнений.

Масса тела больных также представляет особый интерес, так как большинство (79-85%) пациентов с СД 2 типа страдают ожирением или имеют избыточную массу тела, а некоторые противодиабетические препараты приводят к увеличению веса. Избыточная масса тела является не только патофизиологическим звеном диабета, но и повышает риск сердечно-сосудистых заболеваний как независимый фактор, так и через повышение артериального давления и негативные изменения в липидном профиле. Исходя из вышесказанного, рекомендации по профилактике и лечению сахарного диабета выходят за рамки только контроля гликемии [28].

Прогрессирующее течение осложнений СД 2 типа, в первую очередь микро- и макроангиопатий, высокая стоимость лечения заболевания и его осложнений обуславливают социальную и медицинскую значимость этого заболевания и диктуют необходимость поиска новых эффективных методов его лечения [4]. Несмотря на большой арсенал про-

тиводиабетических препаратов, поиск сахароснижающих средств с максимальной эффективностью и минимальными побочными эффектами продолжается.

Нарушение механизмов регуляции углеводного обмена при сахарном диабете отображается в «зловещем октете» (рис.) [9].

На современном этапе разработаны и используются сахароснижающие препараты, влияющие на эти патофизиологические дефекты. Так, влияние на секрецию инсулина осуществляют производные сульфонилмочевины, меглитиниды, аналоги ГПП1 и ингибиторы ДПП4; повышают усвоение глюкозы тканями и снижают липотоксичность тиазолидиндионы и метформин; регулируют аппетит аналоги ГПП1, ингибиторы ДПП4 и производные амилина. На желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) влияют аналоги ГПП1, ингибиторы ДПП4, амилин и ингибиторы α -глюкозидаз, что заключается в повышении уровня инкретинных гормонов кишечника, регуляции моторно-эвакуаторной функции ЖКТ и / или угнетении всасывания углеводов в кишечнике. Подавление секреции глюкагона обеспечивают препараты амилина. Влияние на реабсорбцию глюкозы почками осуществляют препараты нового класса противодиабетических препаратов - ингибиторы SGLT2.

Понятие о натрий-глюкозных котранспортерах

В данном обзоре приведены результаты клинических и экспериментальных исследований использования принципа подавления почечной реабсорбции глюкозы в лечении СД 2 типа.

У здоровых лиц суточная фильтрация глюкозы в клубочках почек составляет около 180 г. Эта глюкоза практически полностью реабсорбируется в проксимальных канальцах нефрона. Моча, поступающая в петлю Генле, свободна от глюкозы. Повышение концентрации глюкозы в плазме ведет в линейной зависимости к росту ее фильтрации в клубочках. При увеличении скорости поступления глюкозы в

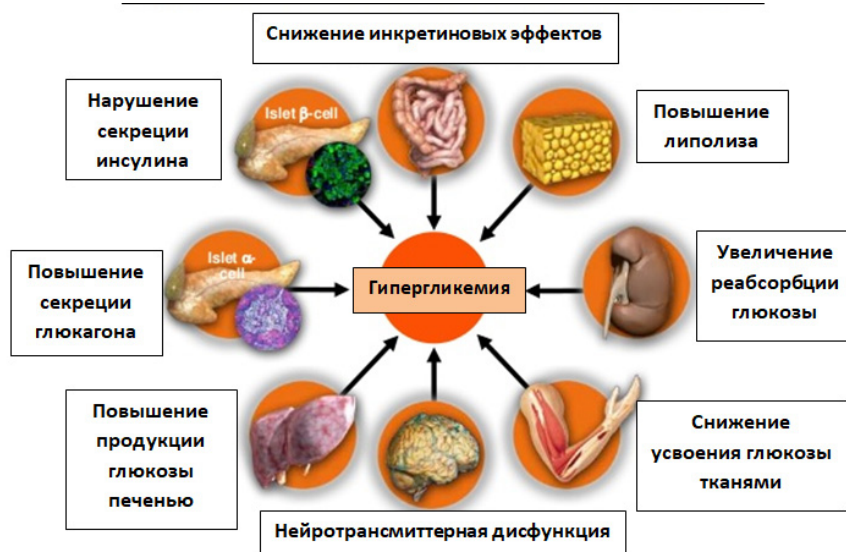


Рис. Патофизиологические дефекты при сахарном диабете 2 типа: «зловещий октет»

Таблица. Типы котранспортеров и их распространенность в тканях человека

Тип котранспортера	Субстрат	Распространенность в тканях
SGLT1	Глюкоза, галактоза	Кишечник, трахея, почки, сердце, мозг, яички, простата
SGLT2	Глюкоза	Почки, сердце, мозг, печень, щитовидная железа, мышцы
SGLT3	Глюкоза	Кишечник, яички, матка, легкие, мозг, щитовидная железа
SGLT4	Глюкоза, манноза	Кишечник, почки, печень, мозг, легкие, трахея, матка, поджелудочная железа
SGLT5	Глюкоза, галактоза	Почки
SGLT6	D-хиро-инозитол	Мозг, почки, кишечник

проксимальный каналец более 260-350 мг/мин/1,73 м² (например, у пациентов с СД) избыток глюкозы превышает резорбтивный потенциал и она выделяется с мочой. У здорового взрослого человека это соответствует концентрации глюкозы в крови в количестве 10-11 ммоль/л (180-200 мг/дл). Фильтрованная глюкоза на 90% реабсорбируется в начальной части проксимального канальца (S1-сегмент), а остальные 10% - в конечной части (S2- и S3-сегментах).

Ведущее значение в этом процессе имеет натрий-глюкозный котранспортер (SGLT – Sodium dependent Glucose Transport), который кодируется геном SLC5A. Семейство генов SLC5A обнаружено в различных тканях и подробно исследовано [4,11,19]. На сегодняшний день известны 6 типов котранспортеров (таблица), но наиболее известными и изученными являются - SGLT1 и SGLT2 [19].

SGLT1 - транспортер с высокой аффинностью, однако низкой способностью транспортировать глюкозу через клеточную мембрану, присутствует преимущественно в клетках тонкой кишки, меньше - в клетках почек и сердца. Мутации SGLT1 приводят к нарушению всасывания глюкозы и галактозы. SGLT2 - транспортер с низкой аффинностью, но высокой способностью транспортировать глюкозу. SGLT2 экспрессируется почти исключительно в эпителиальных клетках начального отдела проксимального канальца нефрона (S1-сегмент). Усвоение глюкозы эпителиальными клетками почечных канальцев требует одновременного усвоения натрия. Поглощение натрия осуществляется с помощью аденозинтрифосфатазного насоса через базолатеральную мембрану клетки. Выделение глюкозы в кровь из клеток почечных канальцев осуществляется при помощи глюкозотранспортеров семейства GLUT. Угнетение транспортеров глюкозы в почках (SGLT, GLUT) влечет за собой глюкозурию [4,11,19].

Первой субстанцией, тормозящей активность транспортеров глюкозы в почках, был флоризин. Он был выделен из коры яблони в 1835г. Обладая эффектами хинина, препарат нашел применение в лечении больных с лихорадкой и инфекционными заболеваниями. Флоризин в XIX веке широко использовался при малярии. П. Меринг в 1886 г. впервые установил, что флоризин обладает глюкозурическим эффектом, в 1975 г. Р. ДеФронзо показал, что флоризин повышает на 60% выделение глюкозы у собак, не меняя при этом клубочковую фильтрацию и почечный кровоток [4]. Следующие опыты продемонстрировали снижение уровня гликемии под действием флоризина у грызунов, кошек и собак. Противодиабетические свойства флоризина исследованы в 80-х годах XX века. У панкреатэктомированных крыс флоризин вызывал глюкозурию, которая сопровождалась нормализацией концентрации глюкозы в плазме. Важно, что у животных с диабетом флоризин, вызывая глюкозурию

и снижая концентрацию глюкозы в крови, не приводит к гипогликемии. Уменьшение гипергликемии и, соответственно, глюкозотоксичности, сопровождалось повышением чувствительности тканей к инсулину.

Совокупность этих эффектов позволяет судить о флоризине как о препарате для лечения СД 2 типа. Однако, как средство лечения СД флоризин не пригоден, так как обладает многими неблагоприятными эффектами: гидролизуется в кишечнике до флоретина, что приводит к снижению его биодоступности при приеме внутрь; потенциально токсичен и подавляет транспортные свойства как SGLT2, так и SGLT1 [4,19,29].

Эффективность ингибиторов SGLT2

В последнее десятилетие синтезирован ряд молекул, которые селективно тормозят SGLT2. Эти ингибиторы исследованы в экспериментах на животных и испытаниях на добровольцах в лечении СД 2 типа.

Многочисленные фармацевтические фирмы исследуют и внедряют на фармацевтический рынок различные синтетические производные флоризина [4, 12].

Эффективность и безопасность ингибиторов SGLT2 изучена в 45 сравнительных исследованиях с плацебо (n=11232) и 13 исследованиях в сравнении с другими сахароснижающими препаратами (n=5175) [26].

Наиболее значимым аспектом безопасности данной группы сахароснижающих препаратов является их низкая склонность к гипогликемии, поскольку экскреция глюкозы снижается вместе с уменьшением уровня сахара в плазме крови. Низкую частоту гипогликемии можно рассматривать как преимущество этого класса лекарственных средств в сравнении с традиционными антидиабетическими соединениями, такими как инсулин или производные сульфонилмочевины.

Эти препараты снижают уровень HbA1c на 0,5-1,0% в сравнении с плацебо. В сравнительных исследованиях они показали примерно такую же эффективность в снижении исходного уровня HbA1c, как и большинство стандартных пероральных сахароснижающих препаратов. Так как их действие не зависит от инсулина, ингибиторы SGLT2 могут быть использованы на любом этапе развития СД 2 типа, даже когда экскреция инсулина значительно снижена.

Дополнительные потенциальные преимущества включают в себя: умеренное снижение массы тела (~2 кг, стабилизация в течение 6-12 месяцев) и последовательное снижение систолического и диастолического артериального давления (на ~2-4 / ~1-2 мм рт. ст.). Симптоматическая гипотония может возникать в начале лечения, особенно у пациентов с нарушенной функцией почек, у больных пожилого возраста и пациентов, принимающих диуретики [5,14,19,26].

Большое значение имеет снижение массы тела. Иссле-

дования ингибиторов SGLT2 показали эффективность этих соединений при лечении СД 2 типа в сочетании с ожирением. Потеря глюкозы с мочой приводит к отрицательному энергетическому балансу, что ведет к потере веса на 2-3 кг [5]. Так, при применении глипизиды масса тела повышалась на 1,4 кг, а при применении дапаглифлозина снижалась на 3,2 кг. При одновременном применении дапаглифлозина с глимепиридом или инсулином, несмотря на существенное снижение уровня HbA1c, масса тела больных не только не повышалась, но даже снижалась, в среднем, на 2 кг [4,19]. В исследовании EMPA-REG OUTCOME, при использовании эмпаглифлозина наблюдалось снижение веса на ~2 кг [5].

Нефропротекторные эффекты

Одним из ранних признаков развития диабетической нефропатии (ДН) является гиперфилтрация (ГФ). Основной причиной развития ГФ считается повышение внутриклубочкового давления вследствие повышения активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС). Исследования последних лет показали, что патогенез ГФ гораздо более сложен и включает как изменения в соотношении нейрогормональных и сосудистых факторов, так и вовлечение тубулогломерулярных механизмов [2,8]. При хронической гипергликемии увеличивается поступление глюкозы в проксимальные каналцы почек. Это приводит к неадекватному увеличению реабсорбции глюкозы вместе с натрием с участием натрий-глюкозных котранспортеров-2 в проксимальных каналцах. В результате, в дистальном отделе уменьшается поступление натрия к плотному пятну (macula densa). Это приводит к снижению стимуляции юкстагломерулярного аппарата, вызывая вазодилатацию приводящей артериолы, и развитие ГФ [22]. Следующей стадией поражения почек при диабете является развитие микроальбуминурии (МАУ), которая представляет собой значимый ранний признак повреждения почек, как при артериальной гипертензии, так и при СД. Ассоциации между МАУ, увеличенным риском сердечно-сосудистых осложнений и прогрессированием ухудшения функции почек хорошо описаны - [2,13]. В развитии гломерулярных изменений значимую роль играет гиперпродукция провоспалительных цитокинов, в частности TNF- α , что непосредственно увеличивает проницаемость эндотелия и разрушает эндотелиальный гликокаликс [13]. Его уровень, как и концентрация фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), значимо коррелирует с выраженностью МАУ. Вторым нарушением, способствующим прогрессии МАУ, является канальцевая дисфункция. Значимую роль в ее развитии играет лизосомальная дисфункция, индуцированная активацией РААС и гиперпродукцией TGF- β . Повышение TGF- β при СД отмечается на самых ранних стадиях болезни и коррелирует со степенью изменений в мезангии, выраженностью интерстициального фиброза, однако не со степенью альбуминурии. Развившаяся альбуминурия сама становится фактором, усиливающим дальнейшую прогрессию ДН, и независимым предиктором сердечно-сосудистых событий [2].

Учитывая механизм действия ингибиторов SGLT2, препараты этой группы могут иметь существенные ренопротективные эффекты, независимые от их способности снижать уровень гликемии [6]. В доклинических исследованиях эмпаглифлозин уменьшал экспрессию в почках маркеров пролиферации, фиброза и воспаления [13,16,29]. У паци-

ентов с СД 2 типа и невыраженным снижением скорости клубочковой фильтрации (СКФ) лечение канаглифлозином и дапаглифлозином показало временное снижение СКФ с дальнейшим ее восстановлением. Лечение канаглифлозином сопровождалось существенным снижением альбумин-креатининового (А/К) соотношения в сравнении с плацебо, а отношение риска (ОР) прогрессии альбуминурии составило 0,33 для дозы 100 мг и 0,51 – для дозы 300 мг по отношению к плацебо. Анализ терапии дапаглифлозином выявил схожие результаты спустя 104 недели после лечения: доля пациентов с прогрессией альбуминурии составила 13,3% в группе, получавшей плацебо, против 10,8 и 9,5%, получавших дапаглифлозин в дозе 5 и 10 мг соответственно [2,16,29].

В исследовании EMPA-REGOUTCOME пациенты были рандомизированы (N=7020) на группы эмпаглифлозина (10 мг или 25 мг) или плацебо раз в день в дополнение к стандартной терапии, термин приема препарата 2,6 лет, средний срок наблюдения 3,1 года. Терапия эмпаглифлозином (10 мг и 25 мг) ассоциировалась со статистически достоверным 39%-снижением относительного риска эпизодов или прогрессирования нефропатии в сравнении с плацебо. Не выявлено статистически значимых различий в частоте эпизодов альбуминурии среди исследуемых групп. События, связанные с острой почечной недостаточностью и гиперкалиемией, встречались реже в группе эмпаглифлозина в сравнении с плацебо. Средний показатель СКФ снижался в первые 4 недели и в дальнейшем стабилизировался в группе эмпаглифлозина, что свидетельствует о снижении интрагломерулярного давления. При последующем наблюдении после прекращения исследования препарата у пациентов в группе эмпаглифлозина было скорректированное среднее различие от плацебо в изменении от исходного уровня СКФ 4,7 мл/мин/1,73 м² (p<0,001 для обоих сравнений). Предполагая, что скорость (уровень) снижения СКФ составляет приблизительно 4 мл/мин/1,73 м² в год у пациентов с СД 2 типа, коэффициент увеличения СКФ 4,7 мл/мин/1,73 м² может быть интерпретирован как отсрочка необходимости в диализе примерно в 1,0 год. Исследование показало, что добавление эмпаглифлозина к стандартным методам лечения у пациентов с СД 2 типа высокого сердечно-сосудистого риска ассоциируется с более медленным прогрессированием диабетического заболевания почек и более низкими показателями клинически значимых почечных событий против плацебо [27].

Исследование CANVAS (10142 участника) показало, что прогрессирование альбуминурии происходило реже среди участников, принимающих канаглифлозин, чем среди лиц, принимающих плацебо (89,4 против 128,7 участников с событием на 1000 пациенто-лет), что соответствует коэффициенту риска 0,73 (95% ДИ, 0,67-0,79). Регрессия альбуминурии также чаще встречалась среди лиц, принимающих канаглифлозин в сравнении с плацебо (293,4 против 187,5 участников с регрессией на 1000 пациенто-лет, коэффициент риска 1,70, 95% ДИ, 1,51 до 1,91). Совокупные показатели устойчивого снижения рСКФ на 40%, потребность в почечной заместительной терапии, или смерть от почечных причин встречались менее часто среди участников группы канаглифлозина, чем среди пациентов в группе плацебо (5,5 против 9,0 участников с результатом в 1000 пациенто-лет, что соответствует коэффициенту риска 0,60, 95% ДИ, 0,47 до 0,77) [20].

Нежелательные реакции при использовании ингибиторов SGLT2

Инфекционные осложнения

Побочные эффекты терапии ингибиторами SGLT2 включают генитальные грибковые инфекции, уровень которых примерно на 11% у женщин и на 4% у мужчин выше в сравнении с плацебо. Это объясняется выделением глюкозы с мочой и, как следствие, созданием благоприятной питательной среды для микроорганизмов. В частности, при применении дапаглифлозина генитальная инфекция наблюдалась у 12,3% больных, из них у 5,3% мужчин и 21,1% женщин, в контрольной группе - только у 0,4% мужчин и 5,4% женщин. Инфекционное поражение мочевых путей выявлено у 10,8% больных (8% мужчин, 14,4% женщин) и у 6,4% лиц контрольной группы (4% мужчин и 9,2% женщин). У всех исследуемых указанные инфекции протекали в легкой форме, проходили при лечении антибиотиками и ни в одном из случаев не требовали отмены дапаглифлозина [4,19,26].

Вопросы канцерогенеза

Также, актуальным вопросом является обсуждение риска рака мочевого пузыря при использовании ингибиторов SGLT2. Исследования предполагают, что рецептор SGLT может играть определенную роль в поглощении глюкозы раковыми клетками [18]. Метастазы рака легких были связаны с большей SGLT2 геной экспрессией [15]. Ингибиторы SGLT2 повышают риск развития инфекций мочевых путей, хроническое раздражение мочевого пузыря при этом может увеличивать риск развития рака [21]. При этом, пациенты с диабетом уже имеют повышенный риск развития рака мочевого пузыря [30]. Более частое проведение анализов мочи, связанное с повышенным риском развития инфекций мочеполовой системы при использовании ингибиторов SGLT2, способствует выявлению рака мочевого пузыря. Клинические испытания показали увеличение случаев рака молочной железы у женщин, рака мочевого пузыря у мужчин; однако они не достигли статистической достоверности. FDA первоначально отказалась утверждать дапаглифлозин в 2012 г. Новые данные свидетельствуют о том, что повышение частоты случаев рака может быть связано с ранней диагностикой, а не увеличением числа случаев [18].

Канаглифлозин получил одобрение FDA в марте 2013 г. В исследованиях на крысах выявлен повышенный риск развития опухолей почек, надпочечников и клеток Лейдига при использовании канаглифлозина, однако III фаза клинических испытаний не подтвердила увеличения числа случаев этих видов рака у людей [10]. Эмпаглифлозин получил одобрение FDA в августе 2014 г. В окончательной оценке рисков FDA приняла к сведению сигнал о раке легких и меланоме, но в большинстве случаев были известны факторы риска. FDA сделала вывод, что нет никакого известного биологического механизма для объяснения возможной связи между лечением эмпаглифлозином и канцерогенностью [25]. Отсутствие увеличения риска развития рака мочевого пузыря и молочной железы при использовании канаглифлозина и эмпаглифлозина предполагает, что риск возникновения этих видов рака не является классовым эффектом. Доказательства связи между использованием ингибиторов SGLT2 и риском рака не являются окончательными, и вопрос безопасности остается открытым. Необходимы исследования с большим количеством выборки, более длительный срок экспозиции, а также использование ингибиторов SGLT2 в различных этнических группах [18].

Влияние ингибиторов SGLT2 на костную ткань

Благоприятный профиль эффективности этих препаратов по снижению уровня глюкозы и потере веса должен быть сбалансированным с риском возникновения побочных реакций, в том числе, с увеличением частоты переломов костей, что обнаружено во время клинических исследований. Пациенты с СД 2 типа первоначально могут иметь сопутствующую патологию костной системы (остеопороз в постменопаузе, почечная остеодистрофия), что делает их более чувствительными к неблагоприятным воздействиям препаратов. Лечение росиглитазоном в течение 4 лет также увеличивает риск переломов костей. Обобщенный анализ восьми клинических испытаний (средняя продолжительность 68 недель), показал увеличение на 30% переломов костей у больных на канаглифлозине [17]. При использовании канаглифлозина в течение 104 недель у 4% пожилых пациентов в дозе 300 мг и у 3% - в дозе 100 мг были выявлены переломы [24]. Снижение минеральной плотности костной ткани поясничного отдела позвоночника и шейки бедра выявлено после 52 недель терапии канаглифлозином в дозе 300 мг [17]. При использовании дапаглифлозина в течение 104 недель у пациентов с умеренным нарушением функции почек в 9,4% случаев в дозе 10 мг и 6,0% в дозе 5 мг выявлены переломы костей в сравнении с группой плацебо [16]. Не сообщалось о влиянии на минеральную плотность костной ткани у пациентов с нормальной или легкой степенью почечной недостаточности. Разница между канаглифлозином и дапаглифлозином возможно связана с дозировкой, 300 мг канаглифлозина максимально ингибирует SGLT2, 10 мг дапаглифлозина субмаксимально ингибирует SGLT2. Тем не менее, остается неясным, являются ли изменения костной ткани при использовании препаратов специфичными, или связаны с механизмом блокады SGLT2. SGLT2 ингибиторы увеличивают концентрацию фосфатов в сыворотке крови, скорее всего, из-за увеличения их канальцевой реабсорбции [24]. Увеличение сывороточного фосфата увеличивает концентрацию паратиреоидного гормона, длительное его увеличение повышает резорбцию кости, увеличивая риск переломов. Увеличение фосфатов либо непосредственно увеличивает фактор роста фибробластов 23 (FGF23), или уменьшает FGF23, возможно, из-за паратиреоидного гормона (механизм неизвестен). FGF23 регулирует концентрацию в плазме фосфатов. Увеличение концентрации FGF23 связано с заболеванием костей. Исследования показывают, что ингибиторы SGLT2 снижают уровень 1,25 дигидрокситамина D (1,25-(OH)₂ витамин D). Низкий уровень 1,25-(OH)₂ витамина D может уменьшать поглощение Ca²⁺ из кишечника, ухудшая костную кальцификацию.

Увеличение сывороточного уровня фосфатов вызывает рост FGF23 и паратгормона, что приводит к фосфатурии. Даже небольшие изменения сывороточного уровня фосфатов могут повлиять на состояние костной ткани в течение длительного времени. Исследования, возможно, были недостаточно длительными, чтобы показать эффект ингибиторов SGLT2 на костную ткань [17].

Кетогенез

В последнее время FDA сообщает о поступлении постмаркетинговых данных о возможной нежелательной реакции, такой как кетоацидоз, связанной с приемом ингибиторов SGLT2. Подобную побочную реакцию на прием препаратов этой группы можно отнести к разряду ожидаемых, так как ее причина заложена в механизме действия ингибиторов SGLT2.

Ингибиторы SGLT2 снижают уровень глюкозы за счет увеличения экскреции глюкозы с мочой, что, в свою очередь, снижает секрецию инсулина из панкреатических β -клеток. Уменьшение уровня циркулирующего инсулина приводит к снижению антилипидной активности инсулина и, как следствие, стимуляции образования свободных жирных кислот, которые преобразуются в кетоновые тела через β -окисление в печени. Кроме того, инсулин стимулирует активность ацетил-КоА-карбоксилазы, которая образует малонил-КоА, мощный ингибитор карнитин пальмитоилтрансферазы-I (CPT-I). Учитывая, что CPT-I способствует транспорту жирных кислот в митохондрии и, следовательно, увеличивает скорость β -окисления, то уменьшение циркулирующего уровня инсулина стимулирует выработку кетоновых тел путем активации CPT-I. Использование ингибиторов SGLT2 стимулирует секрецию глюкагона, который может быть как вторичным эффектом ввиду снижения секреции инсулина, так и вследствие прямого действия ингибиторов SGLT2 на поджелудочные α -клетки. Учитывая, что глюкагон ингибирует ацетил-КоА карбоксилазу, и, тем самым, повышает активность CPT-I в печени, увеличение секреции глюкагона, по всей вероятности, также способствует повышенному образованию кетоновых тел [5,23].

Закключение. Итог полученных данных является неоднозначным. Препараты данного класса предлагают новые возможности в лечении СД 2 типа: прежде всего новый, не зависящий от инсулина механизм действия, отсутствие негативного влияния на массу тела и даже небольшое ее снижение, благоприятные фармакокинетические свойства и, в целом, хорошую переносимость. Перечисленные, выявленные и исследованные нефропротекторные эффекты, данные о влиянии на костную ткань, отсутствие канцерогенного риска требуют подтверждения в долгосрочной перспективе. Определить соотношение польза/риск нового класса сахароснижающих средств в отдаленном периоде и их место в терапии больных СД 2 типа должны результаты новых клинических и эпидемиологических исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аметов А.С., Доскина Е.В. Новые возможности лечения пациента с сахарным диабетом и сердечной недостаточностью // Медицинский совет. – 2016. - № 3. – С. 58-64.
2. Бабенко А.Ю., Байрашева В.К. Диабетическая нефропатия зависит ли ренопротекция от выбора сахароснижающей терапии? // Медицинский совет. – 2015. - № 7. – с. 32-43.
3. Паньков В.И. Сахарный диабет 2 типа: как избежать ошибок и повысить эффективность лечения // Международный эндокринологический журнал. – 2013. - № 4 (52). - С. 79-84.
4. Шварц В.Я. Новый принцип лечения сахарного диабета 2-го типа путем стимуляции глюкозурии // Проблемы эндокринологии. – 2012. – № 4. - С. 54-57.
5. Abdul-Ghani M., Del Prato S., Chilton R. et al. SGLT2 Inhibitors and Cardiovascular Risk: Lessons Learned From the EMPA-REG OUTCOME Study. *Diabetes Care*. 2016; 39(5): 717-725. <http://dx.doi.org/10.2337/dc16-0041>
6. Andrianesis V, Doupis J. The role of kidney in glucose homeostasis — SGLT2 inhibitors, a new approach in diabetes treatment. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2013, 6(5): 519-539.
7. Bolinder J., Ljunggren O., Kullberg J. et al. Effects of dapagliflozin on body weight, total fat mass, and regional adipose tissue distribution in patients with type 2 diabetes mellitus with inadequate glycemic control on metformin. *J clin endocrinol metab*. 2012; 97(3): 1020–1031.
8. Cherney DZ, Perkins BA, Soleymanlou N. et al. Renal hemodynamic effect of sodium-glucose cotransporter 2 inhibition in patients with type 1 diabetes mellitus. *Circulation*. 2014; 5(129): 587–597.
9. DeFronzo R.A. From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes*. 2009; 58: 773-795.
10. FDA Briefing Document. NDA 204042. Invokana (Canagliflozin) tablets. Janssen Pharmaceuticals. 2015. Available from: <http://www.fda.gov/downloads.pdf>
11. Ferrannini E., Ramos S.J., Salsali A. et al. Dapagliflozin monotherapy in type 2 diabetic patients with inadequate glycemic control by diet and exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Diabetes care*. 2010; 33(10): 2217–2224.
12. Haas B., Eckstein N., Pfeifer V. et al. Efficacy, safety and regulatory status of SGLT2 inhibitors: focus on canagliflozin. *Nutrition & Diabetes*. 2014; 4: 1-8.
13. Haluzik M, Frolík J, Rychlík I. Renal effects of DPP-4 inhibitors: a focus on microalbuminuria. *Int J Endocrinol*. 2013: Article ID 895102, 7 pages. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/895102>
14. Inzucchi S.E., Bergenstal R.M., Buse J.B. et al. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2015: A Patient-Centered Approach: Update to a Position Statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes care*. 2015; 30: 140-149.
15. Ishikawa T, Oguri T, Isobe K, Fujitaka, Koh N. SGLT gene expression in primary lung cancers and their metastatic lesions. *Jpn J Cancer Res*. 2001; 92:874–879.
16. Kohan DE, Fioretto P2, Tang W, List JF. Long-term study of patients with type 2 diabetes and moderate renal impairment shows that DAPA reduces weight and blood pressure but does not improve glycemic control. *Kidney Int*. 2014; 85(4): 962-71.
17. Kwon H. CANA: clinical efficacy and safety. *Endocrinology and Metabolic Drugs Advisory Committee Meeting*, 2013. Available from: www.fda.gov/downloads.pdf
18. Lin H.W., Tseng C.H. A review of the relationship between SGLT2 inhibitors and cancer. *Internat J Endocrinol*. 2014, Article ID 719578, 6 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/719578>
19. Nauck M.A. Update on developments with SGLT2 inhibitors in the management of type 2 diabetes. *Drug Design, Development and Therapy*. 2014; 8: 1335-1380.
20. Neal B, Perkovic V, Mahaffey KW, de Zeeuw D, Fulcher G, Erondu N, Shaw W, Law G, Desai M, Matthews DR. Canagliflozin and Cardiovascular and Renal Events in Type 2 Diabetes. *N Engl J Med* 2017; 377: 644-57.
21. Pelucchi C, Bosetti C, Negri E, Malvezzi M, LaVecchia C. Mechanisms of disease: the epidemiology of bladder cancer. *Nat ClinPract Urol*. 2006; 3:327–340.
22. Sasson AN, Cherney DZ. Renal hyperfiltration related to diabetes mellitus and obesity in human disease. *World J Diabetes*. 2012; 3: 1–6.
23. Takeshi O, Yushi H, Genzo I. Euglycemic diabetic ketoacidosis induced by SGLT2 inhibitors: possible mechanism and contributing factors. *J Diabetes Investig*. 2016; 7(2): 135-138.
24. Taylor SI, Blau JE, Rother KI. Possible adverse effects of SGLT2 inhibitors on bone. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015; 3(1): 8-10.
25. U.S. Food and Drug Administration. Final Risk Evaluation and Mitigation Strategy Review. 2015. Available from: <http://www.accessdata.fda.gov>
26. Vasilakou D., Karagiannis T., Athanasidou E. et al. Sodium-

glucosecotransporter 2 inhibitors for type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2013; 159(4): 262-274.

27. Wanner C. EMPA-REG OUTCOME: The Nephrologist's Point of View. *The American Journal of Medicine.* 2017; 130: S63-S72.

28. Whaley J.M., Tirmenstein M., Reilly T.P. et al. Targeting the kidney and glucose excretion with dapagliflozin: preclinical and clinical evidence for SGLT2 inhibition as a new option for treat-

ment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy.* 2012; № 5: 135-148.

29. Yale J.F., Bakris G., Cariou B. et al. Efficacy and safety of canagliflozin in subjects with type 2 diabetes and chronic kidney disease. *Diabetes Obes Metab.* 2013; 15(5): 463-473.

30. Zhu Z, Zhang X, Shen Z, et al. Diabetes mellitus and risk of bladder cancer: a meta-analysis of cohort studies. *PLoSOne.* 2013;8(2):e56662.

SUMMARY

NON-CARDIAL EFFECTS OF SGLT2 INHIBITORS (REVIEW)

Doroshkevych I., Vozniuk L., Voloshchuk N., Klekot O., Kyrychenko O.

Vinnitsia National Pirogov Memorial Medical University, Ukraine

The article reveals the efficacy and safety aspects of a new class of antidiabetic drugs - SGLT2 inhibitors. The results of clinical and experimental studies of the principle of renal glucose reabsorption inhibition usage in the treatment of type 2 diabetes are presented in the article. Drugs of this class offer a new, non-insulin-dependent mechanism of action, lack of negative effect on body weight, favorable pharmacokinetic properties and good tolerance. However, data, requiring further more detailed

analysis, were found, namely: a glucosuria as a risk factor for genitourinary system infections, increased levels of blood creatinine, increased urinary calcium excretion, ketogenesis. Also nephrogenic and cancer effects need more detailed analysis according to the ratio of risk/benefit.

Keywords: SGLT2 inhibitors, hypoglycemic drugs, carcinogenesis, ketogenesis.

РЕЗЮМЕ

НЕКАРДИАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ ИНГИБИТОРОВ SGLT2 (ОБЗОР)

Дорошкевич И.А., Вознюк Л.А., Волощук Н.И., Клекот А.А., Кириченко О.В.

Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Украина

В статье раскрыты аспекты эффективности и безопасности использования нового класса сахароснижающих препаратов - ингибиторов SGLT2. Приведены результаты клинических и экспериментальных исследований применения принципа подавления почечной реабсорбции глюкозы в лечении СД 2 типа. Препараты этого класса предлагают новый, независимый от инсулина механизм действия, отсутствие негативного влияния на массу тела, благоприятные

фармакокинетические свойства и хорошую переносимость. Однако, выявлены данные, оценка которых требует более детального анализа в долгосрочной перспективе, а именно: глюкозурия, как фактор риска инфекций мочеполовой системы, повышение уровня креатинина крови, увеличение экскреции кальция с мочой, кетогенез. Также детального анализа требуют возможные нефрогенный и канцерогенный эффекты в соотношении риск/польза.

რეზიუმე

SGLT2-ის ინჰიბიტორების არაკარდიალური ეფექტები (მიმოხილვა)

ი. დოროშკევიჩი, ლ. ვოზნიუკი, ნ. ვოლოშჩუკი, ა. კლეკოტი, ო. კირიჩენკო

ვინიციას ნ. პიროგოვის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

სტატიაში განხილულია შაქრის შემცველობის შემამცირებელი პრეპარატების ახალი კლასის - SGLT2-ის ინჰიბიტორების გამოყენების ეფექტურობისა და უსაფრთხოების ასპექტები. მოტანილია თირკმელში გლუკოზის რეაბსორბციის დაქვეითების პრინციპის გამოყენების კლინიკური და ექსპერიმენტული კვლევების მონაცემები შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის მკურნალობის დროს. ამ ჯგუფის პრეპარატები მოქმედებს ახალი, ინსულინის მოქმედებისაგან დამოუკიდებელი მექანიზმით, არ ახასიათებს უარყოფითი გავლენა სხეულის მასაზე,

აქვს დადებითი ფარმაკოკინეტიკური თვისებები და კარგი ამტანობა. თუმცა, გამოვლენილია მონაცემები, რომლებიც უფრო დეტალურ შესწავლას და გრძელვადიან პერსპექტივაში ანალიზს საჭიროებს, სახელდობრ: გლუკოზურია - როგორც შარდ-სასქესო სისტემის ინფიცირების რისკ-ფაქტორი, კრეატინინის დონის მომატება სისხლში, კალციუმის ექსკრეციის გაზრდა შარდით, კეტოგენეზი. ასევე, დეტალურ ანალიზს მოითხოვს რისკ/სარგებელის თანაფარდობის შესაძლო ნეფრო- და კანცეროგენული ეფექტები.

УРОВЕНЬ ЗАЩИТЫ ОТ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И ТРЕХЛЕТНЯЯ ДИНАМИКА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МИОКАРДА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА У МУЖЧИН

Горбунова О.Е., Панова Т.Н., Чернышева Е.Н., Попов Е.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Астраханский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Астрахань, Россия

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) – одно из наиболее серьезных заболеваний сердечно-сосудистой системы ввиду высокого риска кардиоваскулярных событий и смертности [7,15,16]. Большое значение в прогрессировании ИБС придается процессам ремоделирования миокарда, представляющим собой комплексное изменение его структуры и функций. Ремоделирование включает гипертрофию и дилатацию сердца, изменение его геометрии, нарушения систолической и диастолической функций левого желудочка (ЛЖ). Вначале эти процессы являются адаптационными, затем способствуют прогрессированию заболевания и увеличению смертности больных ИБС [8,13,21].

Анализ литературных данных свидетельствует, что клиническим проявлением ИБС предшествует оксидативный стресс (ОС), ведущий к дисбалансу между прооксидантной и антиоксидантной системами (АОС) [7-14], а активация прооксидантных реакций может существенно влиять на процессы ремоделирования миокарда [6]. Достаточно подробно изучена роль высокомолекулярных ферментов АОС (супероксиддисмутаза-СОД, церулоплазмин, каталаза, глутатионзависимые ферменты), которые обеспечивают при ИБС комплексную антирадикальную защиту от ОС [16-20]. Гораздо меньше изучена роль компонентов низкомолекулярной неферментной АОС (витамины Е, С, цистеин, мочевиная кислота, билирубин, церулоплазмин, ферритин и другие природные антиоксиданты). Предполагают, что при ОС ферментативная АОС может оказаться иногда менее эффективной в сравнении с защитным действием низкомолекулярных соединений, так как при развитии ОС происходит быстрая инактивация ферментов свободными радикалами, а для их синтеза *de novo* требуется определенное время. Антиоксидантные ферменты имеют внутриклеточную локализацию и в биологических жидкостях обнаруживаются в следовых количествах. Поэтому в условиях ОС усиливается роль неферментативных АО, способных снижать интенсивность ОС. Одним из наиболее мощных неферментативных антиоксидантов считают билирубин, а поскольку в плазме крови человека содержится его большое количество, то и потенциал его взаимодействия с O_2 превышает потенциал всех остальных неферментативных антиоксидантов. В зарубежной литературе последних лет, посвященной патогенетическим механизмам, клиническим особенностям и прогнозу ИБС, билирубин уделяется особое внимание [17,22,23,25].

Цель исследования - оценить характер и трехлетнюю динамику структурно-функциональных изменений сердечно-сосудистой системы во взаимосвязи с уровнями ферментативных и неферментативных антиоксидантов при хронической ишемической болезни сердца у мужчин.

Материал и методы. В исследование, одобренное Региональным Независимым Этическим Комитетом ГБОУ ВПО «АГМА» Минздрава России от 11 декабря 2012 года, про-

токол № 7, на условиях добровольного информированного согласия включено 246 мужчин с хронической ИБС со средним возрастом 58 лет (53,0; 63,0), страдающих стенокардией напряжения ФК II-III, ХСН I-III ФК (NYHA). Больные наблюдались в терапевтическом или кардиологическом отделениях и/или проходили ежегодные профилактические осмотры в поликлинике НУЗ «Медико – санитарная часть» г. Астрахань с 10.01.2012 по 01.06.2015 гг.

Критерии включения в исследование: наличие документированной ИБС на момент исследования, мужской пол, возраст от 48 до 65 лет.

Критерии исключения: заболевания печени и желчевыводящих путей, поджелудочной железы, системы крови, онкопатология, аутоиммунные заболевания, инфекционные болезни, острые воспалительные процессы любой локализации, функциональный класс хронической сердечной недостаточности (ХСН) выше III ФК (NYHA), хронические заболевания почек с наличием почечной недостаточности.

Больные ИБС, распределены на 2 группы – основную и контрольную. Разделение больных на группы проводилось с учетом уровня билирубина крови, имеющим наибольшую доказательную базу при ИБС в качестве антиоксиданта. Уровень 8 мкмоль/л в качестве пограничного выбран исходя из зарубежных литературных данных, оценивающих билирубин как «низкий», при этом имеется в виду значение показателей ниже 7-8 мкмоль/л [19,20].

В основную группу вошли 146 больных ИБС с уровнем билирубина крови <8 мкмоль/л, средний возраст больных – 58 лет (53,0; 63,0); в контрольную группу - 100 больных с уровнем билирубина \geq 8 мкмоль/л, средний возраст больных – 59,5 (54,0; 65,0) лет.

Анализ получаемого больными лечения в обеих группах показал, что оно, в основном, соответствует Национальным рекомендациям по терапии ИБС (2015 г.).

ИБС подтверждалась наличием перенесенного Q-инфаркта миокарда, в случаях, когда инфаркта в анамнезе не было, наличием стенозирующего поражения коронарных артерий по данным коронароангиографии или типичной клиникой ИБС, в совокупности с положительным результатом велоэргометрии (ВЭМ), эпизодами ишемии миокарда, зарегистрированными при мониторинге ЭКГ или нарушением локальной сократимости миокарда по данным эхокардиографии ЭхоКГ.

Диагноз хронической сердечной недостаточности (ХСН) устанавливали по результатам тщательного клинического обследования и пробы с дозированной физической нагрузкой – велоэргометрия (ВЭМ), на основании Национальных рекомендаций ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (2013) [10].

Функциональный класс стабильной стенокардии устанавливался согласно классификации, предложенной Канадской кардиоваскулярной ассоциацией кардиологов (1976 г.)

Всем больным кроме рутинных клинических и биохимических исследований методом ИФА определяли уровень перекиси липидов (OxyStat) в крови и показатели общего антиоксидантного статуса организма (ImAnOx). Количество перекиси липидов (OxyStat) определяли с помощью тест-системы Biomedica Medizinprodukte GmbH&Co KG DivischgasseVienna, Austria по инструкции к тест-системе.

Определение общего антиоксидантного статуса – антиоксидантной способности (ImAnOx) сыворотки крови проводили с использованием тест-системы фирмы Immundiagnostik AG Stubenwald-Allee8aD-64625 Bensheim, Германия согласно инструкции тест-системы.

Концентрацию билирубина измеряли путем реакции образования азобилирубина при взаимодействии билирубина с диазореактивом посредством анализаторов SYNCHRON CX® и калибратора SYNCHRON® SystemsBilirubinCalibrator.

ЭКГ проводилась в покое в 12 стандартных отведениях на 3/6–ти канальном электрокардиографе BIOSET 3700 фирмы «HORMANN Medizintechnik» (Германия). Запись ЭКГ и анализ полученных данных проводились по общепринятым методикам, Холтеровское мониторирование ЭКГ (ХМ ЭКГ) – на аппарате Astrocard-Holtersystems-2F (Россия) в течение 24 часов. Нагрузочный ЭКГ-тест проводился на системе CASE General Electric (США) по методике WHO50 с регистрацией ЭКГ в динамике. Толерантность к физической нагрузке оценивали по показателям мощности и общего объема выполненной работы. В соответствии с рекомендациями ACC/ANA Practice Guidelines Update for Exercise Testing при определении типа реакции на физическую нагрузку обращали внимание на степень изменения ЧСС и АД и время их возвращения к исходному уровню.

ЭхоКГ выполняли на ультразвуковом сканере Hario. TOSHIBA No. 2B730-680E*1 (Япония) в одномерном (М), двумерном (В) режимах, а также в режиме доплерэхокардиоскопии с частотой датчика 3,5 МГц.

По формуле L. Teiholz рассчитывали конечный систолический (КСО), конечный диастолический (КДО) объемы и массу миокарда левого желудочка (ММЛЖ). Глобальную сократимость ЛЖ рассчитывали по величинам фракции вы-

броса (ФВ) и скорости укорочения циркулярных волокон миокарда ($V_{c,r}$), Индекс массы миокарда ЛЖ (ИММЛЖ) рассчитывали, как отношение ММЛЖ/ПТ, где ПТ – площадь тела. За критерий гипертрофии ЛЖ (ГЛЖ) принималась величина ММЛЖ > 150.0 г, ИММЛЖ > 80 г/м². На основании данных ЭхоКГ определяли: ударный объем (УО), ударный индекс (УИ), сердечный индекс (СИ), общее периферическое сопротивление сосудов (ОПСС), соотношение скорости раннего наполнения ЛЖ к скорости позднего наполнения ЛЖ и правого желудочка (Е/А ЛЖ, Е/А ПЖ).

Структурные показатели миокарда ЛЖ рассматривались соответственно классификации A. Ganau [18]. Для изучения функционального состояния сердечной мышцы оценивали сократительную способность 16 сегментов ЛЖ, выделенных в соответствии с рекомендациями Американской ассоциации эхокардиографии. Оценка локальной кинетики миокарда ЛЖ включала следующие градации: нормокинез – 1 балл, гипокинез – 2, акинез – 3, дискинез – 4 балла. Число сегментов, в которых отмечена гипокинезия, акинезия или дискинезия, выражали в процентах к общему числу сегментов ЛЖ.

Статистический анализ результатов проводили на IBM с помощью пакета программ Statistica 7,0 (StatSoft, версия 7, USA). Количественные показатели на нормальность проверялись с использованием критерия Шапиро – Уилка. Распределение показателей отличается от нормального, поэтому данные представлены в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана – центральное значение признака в выборке, справа и слева от которого расположены равные количества объектов исследования; LQ – нижний квартиль; UQ – верхний квартиль. Межгрупповые отличия оценивали непараметрическим критерием Манна – Уитни. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Выбрав для изучения при ИБС в качестве неферментативного антиоксиданта билирубин сыворотки крови, и основываясь на литературных данных о том, что он является мощным антиоксидантом, в начале исследования определяли показатели липидного спектра, перекисей липидов и общей антиоксидантной способности сыворотки крови в основной и контрольной группах (таблица 1).

Таблица 1. Показатели перекисей липидов, антиоксидантного статуса и липидного спектра крови у больных ИБС в основной и в контрольной группах на начало исследования

Показатели	Основная группа (n=146)	Контрольная группа (n=100)
OxyStat, мкмоль/л	712,08 (492,7; 928,3) *	209,2 (187,4; 232,3)
ImAnOx, мкмоль/л	262,8 (227,3; 279,5) *	345,6 (325,2; 363,4)
ОБР, мкмоль/л	6,3 (5,1; 7,4) *	16,7 (15,6; 18,09)
ПБР, мкмоль/л	2,1 (1,8; 2,7) *	3,5 (3,1; 4,08)
НБР, мкмоль/л	4,1 (3,3; 4,9) *	12,7 (12,08; 14,02)
ОХС, ммоль/л	6,4 (5,8; 7,07*)	5,11 (4,54; 5,88)
ЛПНП, ммоль/л	3,76 (3,2; 4,9) *	3,16 (2,73; 3,58)
ЛПВП, ммоль/л	1,16 (0,94; 1,36)	1,07 (0,91; 1,43)
ТГ, ммоль/л	1,56 (1,03; 2,18)	1,33 (0,9; 1,84)
β – ЛП, ЕД/л	46,5 (38,0; 59,0)	47,0 (38,0; 52,5)

примечание: ОБР – общий билирубин, ПБР – прямой билирубин, НБР – непрямой билирубин, ОХС – общий холестерин, ЛПВП – липопротеиды высокой плотности, ЛПНП – липопротеиды низкой плотности, ТГ – триглицериды, β – ЛП – бета-липопротеиды. Диапазон нормальных значений OxyStat < 350 мкмоль/л.

Диапазон нормальных значений общего антиоксидантного статуса/способности организма (ImAnOx):

< 280 мкмоль/л – низкая антиоксидантная способность, 280-320 мкмоль/л – средняя, > 320 мкмоль/л – высокая

* $p < 0,01$ – между основной и контрольной группами

Из таблицы явствует, что в основной группе уровни OxyStat выше, а ImAnOx - ниже референсных значений, тогда как в контрольной группе уровни OxyStat находятся в пределах референсных значений, а уровень ImAnOx показал высокую антиокислительную активность в сыворотке крови. В основной группе показатели OxyStat, общего холестерина и ЛПНП были выше, а ImAnOx - ниже, чем в контрольной группе. Различия данных показателей между группами достоверны ($p < 0,01$).

С целью изучения взаимосвязи между полученными лабораторными показателями и билирубином во всей когорте включенных в исследование больных ИБС проведен корреляционный анализ (таблица 2), который выявил весьма сильные отрицательные связи между уровнем OxyStat и общим билирубином ($r = -0,92$; $p < 0,05$), между уровнем OxyStat и непрямым билирубином ($r = -0,85$; $p < 0,05$), OxyStat и прямым билирубином ($r = -0,80$; $p < 0,05$);

сильно выраженную положительную связь между уровнем ImAnOx и непрямым билирубином ($r = +0,97$; $p < 0,05$), между уровнем ImAnOx и общим билирубином ($r = +0,78$; $p < 0,05$), ImAnOx и прямым билирубином ($r = +0,88$; $p < 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о более высоком уровне оксидативного стресса у больных с уровнем билирубина крови < 8 мкмоль/л, чем у больных с уровнем билирубина крови ≥ 8 мкмоль/л, и позволяют рекомендовать использование этого рутинного биохимического показателя

в качестве скринингового маркера ОС.

Далее проведена оценка характера и динамики структурно-функционального состояния сердечно-сосудистой системы в процессе проведения исследования с 2012 по 2015 гг. (таблица 3). Как видно из таблицы 3, типы ремоделирования миокарда у обследованных больных включали все четыре его варианта: нормальную геометрию, концентрическую гипертрофию, эксцентрическую недилатационную гипертрофию и эксцентрическую дилатационную гипертрофию.

В основной и контрольной группах за период наблюдения количество больных с нормальной геометрией миокарда ЛЖ в обеих группах достоверно ($p < 0,05$) уменьшилось: 36% vs 28% и 40% vs 32%, соответственно. В основной группе обнаружено достоверное увеличение числа больных с эксцентрической недилатационной гипертрофией ЛЖ (24% vs 33%, $p < 0,05$) при недостоверных колебаниях числа больных с концентрической гипертрофией (12% vs 14%) и эксцентрической дилатационной гипертрофией (28% vs 25%). В контрольной группе спектр типов ремоделирования изменился за счет достоверного ($p < 0,05$) увеличения числа больных с концентрической гипертрофией ЛЖ (11% vs 18%), достоверного ($p < 0,05$) уменьшения числа больных с эксцентрической дилатационной гипертрофией (32% vs 28%) при недостоверных колебаниях числа больных с эксцентрической

Таблица 2. Корреляция между уровнем перекисей липидов, общим антиоксидантным статусом, билирубином и его фракциями

	ПБР	НБР	ОБР
Общий антиоксидантный статус	0,7254	0,8426	0,8428
Перекиси липидов	-0,8267	-0,8926	-0,9033

примечание: * - достоверные связи ($p < 0,05$) маркированы полужирным шрифтом

Таблица 3. Трехлетняя динамика структурно – функциональных изменений сердечно-сосудистой системы в основной и контрольной группах больных ИБС

Показатель	Основная группа		Контрольная группа	
	2012 (n=146)	2015 (n=113)	2012 (n=100)	2015 (n=92)
Типы ремоделирования миокарда:				
Нормальная геометрия	53 (36%)*	32 (28%)	40 (40%)●	29 (32%)
Концентрическая гипертрофия	17 (12%)	15 (14%)	11 (11%)●	17 (18%)
Эксцентрическая недилатационная гипертрофия	35 (24%)*	37 (33%)	17 (17%)	20 (21%)
Эксцентрическая дилатационная гипертрофия	41 (28%)	28 (25%)	32 (32%)●	26 (28%)
Локальная сократительная способность ЛЖ:				
Нормокинезы	91 (62%)*	42 (37%)	65 (65%)●	48 (52%)
Гипокинезы	35 (24%)*	45 (40%)	17 (17%)	19 (21%)
Акинезы	16 (11%)	17 (16%)	15 (15%)	17 (18%)
Дискинезы	4 (3%)*	8 (7%)	3 (3%)●	8 (9%)
Толерантность к физическим нагрузкам (ФН):				
Низкая/ниже средней	65 (45%)	55 (49%)	30 (33%)●	45 (45%)
Средняя	32 (22%)	25 (22%)	38 (41%)●	35 (35%)
Высокая	49 (33%)	32 (29%)	24 (26%)●	20 (20%)
Реакция на физическую нагрузку:				
Физиологическая	28 (19%)	11 (10%)*	26 (26%)●	21 (23%)
Гипертоническая	50 (35%)	31 (27%)	38 (38%)	38 (41%)
Ишемическая	40 (27%)	40 (36%)*	27 (27%)	28 (31%)
Аритмическая	28 (19%)	30 (27%)*	9 (9%)●	5 (5%)

примечание: * - $p < 0,05$ – в основной группе между началом и окончанием исследования;

● - $p < 0,05$ – в контрольной группе между началом и окончанием исследования

Таблица 4. Корреляция между показателями перекисей липидов, антиоксидантной защиты, билирубина и его фракций и структурно-функциональными параметрами сердечно-сосудистой системы

	ПЖ	ЛП	МЖП	ЗСЛЖ	КДР	КСР	КСО	КДО	ФВ
ПБР	-0,20	-0,51	-0,16	-0,24	-0,300	-0,387	-0,442	-0,400	0,517
НБР	-0,27	-0,58	-0,22	-0,27	-0,372	-0,443	-0,481	-0,452	0,568
ОБР	-0,24	-0,59	-0,21	-0,27	-0,354	-0,434	-0,477	-0,457	0,575
ImAnOx	-0,33	-0,55	-0,13	-0,20	-0,299	-0,425	-0,462	-0,415	0,574
OxyStat	0,24	0,60	0,15	0,23	0,357	0,461	0,485	0,455	-0,577

примечание: * - достоверные связи ($p < 0,05$) маркированы полужирным шрифтом

ской недилатационной гипертрофией (17% vs 22%).

При наблюдении в динамике за локальной сократительной способностью ЛЖ установлено, что количество сегментов с нормокинезом достоверно уменьшилось в обеих группах: в основной с 62% до 37% ($p < 0,05$), в контрольной с 65% до 52% ($p < 0,05$). В основной группе появилось достоверно больше сегментов с гипокинезом (24% vs 40%, $p < 0,05$), в контрольной группе – с дискинезом (3% vs 9%, $p < 0,05$).

В динамике наблюдения толерантность к физической нагрузке снижалась: в основной группе увеличилось количество больных с низкой/ниже средней толерантностью с 45% до 49%, а с высокой – снизилось с 33% до 29%; в контрольной группе увеличилось количество больных с низкой/ниже средней толерантностью с 33% до 45%, а с высокой – снизилось с 26% до 20%; различия в динамике достоверны ($p < 0,05$) только для контрольной группы.

Достоверно снизилось количество больных с физиологическим типом реакции сердечно-сосудистой системы на физическую нагрузку в обеих группах: с 19% до 10% ($p < 0,05$) в основной группе и с 26% до 23% ($p < 0,05$) в контрольной группе.

За счет этого в основной группе достоверно повысилось количество больных с аритмическим типом реакции с 19% до 27% ($p < 0,05$) и с ишемическим типом реакции с 27% до 36% ($p < 0,05$), тогда как в контрольной группе количество больных с аритмическим типом реакции достоверно уменьшилось с 9% до 5% ($p < 0,05$), а с гипертоническим типом недостоверно увеличилось с 38% до 41% ($p > 0,05$).

Наблюдение за динамикой структурно-функциональных изменений сердечно-сосудистой системы у больных ИБС с различным уровнем билирубина крови показало более значительное снижение толерантности к физической нагрузке, уменьшение количества больных с физиологическим типом реакции сердечно-сосудистой системы на физическую нагрузку, достоверно большее снижение локальной сократительной способности ЛЖ в основной группе в сравнении с контрольной.

При однонаправленных изменениях процессов ремоделирования миокарда, в основной группе в процессе наблюдения отмечено достоверное увеличение количества больных с эксцентрической недилатационной гипертрофией, в контрольной группе – достоверное увеличение числа больных с концентрической гипертрофией. Рост числа больных с ишемическим типом реакции на физическую нагрузку, с эксцентрической недилатационной гипертрофией, гипокинезом и дискинезом сегментов миокарда ЛЖ в динамике ассоциируется с высоким уровнем перекисей липидов, низкими уровнями общей антиоксидантной активности, билирубина и его фракций в сыворотке крови. Несомненно, что характер и динамика выявленных гемодинамических нарушений способствуют прогрессированию ИБС и ХСН, утяжеляя клиническую картину заболевания и прогноз.

Далее проведен корреляционный анализ между показателями перекисей липидов, общей антиоксидантной способности сыворотки, уровнями билирубина, его фракций и структурно-функциональными показателями, характеризующими состояние сердечно-сосудистой системы. Результаты этого анализа представлены в таблице 4.

При проведении корреляционного анализа выявлены следующие связи средней силы:

- отрицательные - между размером левого предсердия и ImAnOx ($r = -0,55$, $p < 0,05$), размером левого предсердия и общим билирубином ($r = -0,59$; $p < 0,05$), размером левого предсердия и прямым билирубином ($r = -0,51$; $p < 0,05$), размером левого предсердия и непрямым билирубином ($r = -0,58$; $p < 0,05$);
- отрицательные - между ФВ и OxyStat ($r = -0,57$; $p < 0,05$);
- положительные - между ФВ и ImAnOx ($r = +0,57$; $p < 0,05$), ФВ и общим билирубином ($r = +0,57$; $p < 0,05$), ФВ и прямым билирубином ($r = +0,51$; $p < 0,05$), ФВ и непрямым билирубином ($r = +0,56$; $p < 0,05$).

Слабые положительные связи выявлены между OxyStat и КСР ($r = +0,46$; $p < 0,05$), OxyStat и КСО ($r = +0,48$; $p < 0,05$), OxyStat и КДО ($r = +0,45$; $p < 0,05$),

Слабые отрицательные связи выявлены между ImAnOx и КСР ($r = -0,42$; $p < 0,05$), ImAnOx и КСО ($r = -0,46$; $p < 0,05$), ImAnOx и КДО ($r = -0,41$; $p < 0,05$).

Таким образом, полученные в результате исследования данные о наличии корреляции между структурно-функциональными изменениями сердечно-сосудистой системы и компонентами оксидативного стресса, антиоксидантной защиты, уровнями билирубина и его фракций согласуются с таковыми других исследователей и могут указывать на их участие в процессах ремоделирования миокарда у мужчин с ИБС.

Выводы.

1. Обнаружено снижение уровня защиты от оксидативного стресса у мужчин с ИБС со стабильной стенокардией: достоверное повышение уровня перекиси липидов, снижение показателя общего антиоксидантного статуса. Установлена высокой степени положительная корреляция между уровнем неферментативного антиоксиданта билирубина и показателем общего антиоксидантного статуса организма, а также высокой степени отрицательная корреляция между уровнем билирубина и содержанием перекиси липидов в сыворотке крови мужчин с ИБС.

2. Трехлетнее динамическое наблюдение показало, что высокий уровень оксидативного стресса у мужчин со стабильной ИБС сопровождается неблагоприятными изменениями геометрии левого желудочка (эксцентрическая недилатационная гипертрофия, рост числа сегментов с гипокинезом), что приводит к прогрессированию ХСН и увеличению числа больных ишемическими и аритмическими типами реакций на физические нагрузки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азизова, О.А. Прогностическое значение динамики показателей оксидантного стресса у больных со стабильной ишемической болезнью сердца / О.А. Азизова, Г.Н. Гао, А.Ш. Думилян и др. // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. - 2011. - Т.4- №1.-С.4-9.
2. Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор развития типовых патологических процессов и заболеваний /Н.П. Чеснокова, Т.А. Невважай, В.В. Моррисон и др. / Под ред. В.М. Попкова, Н.П. Чесноковой, М.Ю. Ледванова. - Саратов: Изд-во СГМУ, 2012. - С. 114-162.
3. Гао, Л. Прогностическое значение маркеров оксидативного стресса у больных стабильной ишемической болезнью сердца: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.05 / Лина Гао. - М. 2011. - 117 с.
4. Горбунова, О.Е. Обмен билирубина, липидный спектр крови и антиоксидантный статус у мужчин с ишемической болезнью сердца / О.Е. Горбунова, Т.Н. Панова, Е.Н. Чернышева // Кубанский научный медицинский вестник. - 2014. - Т. 6. - С 15 - 19.
5. Горбунова, О.Е. Связь между обменом билирубина, липидным спектром крови и окислительным стрессом у мужчин с ишемической болезнью сердца / О.Е. Горбунова, Т.Н. Панова, А.А. Скрицкая, Р.Н. Шварц // Астраханский медицинский журнал - 2014. - Т. 4. - С. 20 - 25.
6. Клочкова, Г.Р. Ремоделирование миокарда и перекисное окисление липидов при ишемической болезни сердца: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.05/ Клочкова Гузель Римовна - Н. Новгород, 2011. - 121 с.
7. Концевая, А.В. Социально-экономический ущерб от острого коронарного синдрома в Российской Федерации / А.В. Концевая, А.М. Калинин, И.Е. Колтунов, Р.Г. Оганов // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. - 2011. - 7. - С.158-166.
8. Кузнецов, Г.Э. Клинико-морфологические параллели ремоделирования сердца и апоптоз кардиомиоцитов при хронической сердечной недостаточности / Г.Э. Кузнецов, С.П. Саликова, А.А. Стадников, В.С. Полякова // Морфологические ведомости. - 2008. - N 1-2. - С.258 - 262.
9. Майкова, Е.В. Биохимические и генетические маркеры изменения активности антиоксидантной системы крови при ишемической болезни сердца: Дисс. канд. биол. наук. / Е.В. Майкова; ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» - Казань, 2012. - 146 с.
10. Мареев, В.Ю. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр) Утверждены на Конгрессе ОССН 7 декабря 2012 года, на Правлении ОССН 31 марта 2013 и Конгрессе РКО 25 сентября 2013 года / В.Ю. Мареев, Г.П. Арутюнов, А.В. Коротеев, Ю.В. Мареев, А.Г. Овчинников и др. // Журнал Сердечная недостаточность. - 2013. - Т.14, № 7, (81). - С. 379 - 472.
11. Мартусевич, А.К. Оксидативный стресс и его роль в формировании дизадаптации и патологии / А.К. Мартусевич, К.А. Карузин // Биорадикалы и антиоксиданты. - 2015. - Т.2, № 2. - С. 5 - 18.
12. Михин, В.П. Активность свободно-радикальных процессов и уровень оксида азота в крови больных очень высокого сердечно-сосудистого риска с артериальной гипертензией и начальными проявлениями ишемической болезни сердца на фоне терапии кардиоцитопротекторами / В.П. Михин, Ю.А. Болдырева // Профилактическая медицина. - 2016. - 19 (2). - С. 56-57.
13. Мясоедова, Е. И. Фракция фиброза миокарда и структурное ремоделирование левых отделов сердца у пациентов с ишемической кардиомиопатией // Астраханский медицинский журнал. - 2017. - Т. 12, № 2. - С. 98-103.
14. Палаткина, Л.О. Окислительный стресс - роль в патогенезе хронической сердечной недостаточности, возможности коррекции / Л.О. Палаткина, О.Н. Корнеева, О.М. Драпкина // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2012. - Т. 11, (6) № 91. - С. 91 - 94.
15. Чазова, И.Е. Борьба с сердечно-сосудистыми заболеваниями: проблемы пути их решения на современном этапе / И.Е. Чазова, Е.В. Ощепкова // Вестник Росздравнадзора. - 2015. - №5. - С.7 - 10.
16. Шальнова, С. А. Тенденции смертности в России в начале XXI века (по данным официальной статистики) / С.А. Шальнова, А.Д. Деев // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. - 2011. - Т.10 (6). - С. 5 - 10.
17. Erkan, A. The Role of Bilirubin and Its Protective Function against Coronary Heart Disease / A. Erkan, B. Ekici, M. Ugurlu, et al // Herz. - 2014. - 39. - P. 711 - 715.
18. Ganau, A. Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension / A. Ganau, R.B. Devereux, M.J. Roman et al // J. Am. Coll. Cardiol. - 1992. - 19. - P. 1550 - 1558.
19. Kattoor, A.J. Oxidative stress in atherosclerosis. / A.J. Kattoor, N.V.K. Pothineni, D. Palagiri, J.L. Mehta // Current Atherosclerosis Reports. - 2017. - 19 (11). - P.42.
20. Kim, K.M. Serum total bilirubin concentration is inversely correlated with Framingham risk score in Koreans / K.M. Kim, B.T. Kim, S.B. Park, D.Y. et al // Arch. Med. Res. - 2012. - 43. - P. 288 - 293.
21. Kunutsor, S.K. Circulating total bilirubin and risk of incident cardiovascular disease in the general population / S.K. Kunutsor, S.J. Bakker, R.T. Gansevoort, et al // Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. - 2015. - 5(3). - P.16 - 24.
22. Pangonyte, D. Cardiomyocyte remodeling in ischemic heart disease / D. Pangonyte, E. Stalioraityte, R. Ziuraitiene, D. Kazlauskaitė, J. Palubinskiene, I. Balnyte // Medicina (Kaunas). - 2008. - 44 (11). - P.848 - 854.
23. Sedlak, T.W. Bilirubin and glutathione have complementary antioxidant and cytoprotective roles / T.W. Sedlak, M. Saleh, D.S. Higginson, B. D Paul, et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2009. - 106. - P. 5171 - 5176.
24. Suh, S. Relationship between serum bilirubin levels and cardiovascular disease / S. Suh, Y.R. Cho, M.K. Park, et al. // PLoS ONE. - 2018. - 13(2). - P. 1 - 9.
25. Varghese, J.F. Novel insights in the metabolic syndrome-induced oxidative stress and inflammation-mediated atherosclerosis / J.F. Varghese, R. Patel, UCS Yadav // Current Cardiology Reviews. - 2018. - 14(1). - P. 4 - 14.
26. Vitek, L. Bilirubin and atherosclerotic diseases / L. Vitek // Physiological research. - 2017. - 66. - P.11-20.
27. Yang, X. Oxidative stress-mediated atherosclerosis: mechanisms and therapies. / X. Yang, Y. Li, X. Ren, et al // Frontiers in Physiology. - 2017. - 8. - P. 600 - 603.

SUMMARY

THE LEVEL OF PROTECTION FROM OXIDATIVE STRESS AND THREE-YEAR DYNAMICS OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES OF THE MYOCARDIUM IN CHRONIC ISCHEMIC HEART DISEASE IN MEN

Gorbunova O., Panova T., Chernysheva E., Popov E.

Federal state budgetary educational institution of higher education "Astrakhan state medical University" of the Ministry of health of the Russian Federation, Astrakhan, Russia

Aim - to assess the nature and three-year dynamics of structural and functional changes in the cardiovascular system in re-

lation to the levels of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in chronic coronary heart disease in men.

The study included 246 men aged 48 to 65 years (mean age 58 years (53,0; 63,0)) with stable form of ischemic heart disease - angina FC II-III CHF I-III FC (NYHA), observed during 2012-2015. To assess the level of oxidative stress in all patients by ELISA was determined by lipid peroxide, total antioxidant status (CCA) and levels of non-enzymatic antioxidant bilirubin (BR). Patients were divided into 2 groups according to the level of serum BR: the main group - 146 patients with the level of BR < 8.0 $\mu\text{mol/l}$; the control group-100 patients with the level of BR $\geq 8.0 \mu\text{mol/l}$. Assessment of the structural and functional state of the myocardium included ECG, XM ECG, EchoCG, VEM test.

A decrease in the level of protection against oxidative stress (OS) in men with stable CHD in the form of a significant increase in the level of lipid peroxides and a decrease in the OAS index was found. In the study group OxyStat, total cholesterol and LDL cholesterol were significantly higher ($p < 0.01$), and ImAnOx - significantly lower than in the control group ($p < 0.01$). A high degree of direct relationship between the level of blood BR and the indicator of AOC is established. Three-year dynamic observation showed a close relationship between the processes of cardiovascular system remodeling and OS components. The high level of OS in men with stable ischemic heart disease is accompanied by adverse changes in the geometry of the left ventricle (eccentric non-dilatated hypertrophy, an increase in the number of segments with hypokinesis), which leads to the progression of chronic heart failure with the risk of ischemic and arrhythmic reactions to physical activity.

Keywords: ischemic heart disease, oxidative stress, lipid peroxides, total antioxidant status, enzymatic antioxidants, non-enzymatic antioxidants, bilirubin and its fractions, myocardial remodeling.

РЕЗЮМЕ

УРОВЕНЬ ЗАЩИТЫ ОТ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И ТРЕХЛЕТНЯЯ ДИНАМИКА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ МИОКАРДА ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА У МУЖЧИН

Горбунова О.Е., Панова Т.Н., Чернышева Е.Н., Попов Е.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, Астрахань

Цель исследования - оценить характер и трехлетнюю динамику структурно-функциональных изменений сердечно-сосудистой системы во взаимосвязи с уровнями ферментативных и неферментативных антиоксидантов при хронической ишемической болезни сердца у мужчин.

В исследовании принимали участие 246 мужчин в возрасте от 48 до 65 лет, средний возраст 58 лет (53,0; 63,0) со стабильной формой ИБС (стенокардия напряжения ФК II-III, ХСН I-III ФК, NYHA), наблюдавшиеся в 2012-2015 гг. Для оценки уровня оксидативного стресса у всех больных методом ИФА определяли перекиси липидов, общий антиоксидантный статус (ОАС) и уровень неферментативного

антиоксиданта билирубина (БР). С учетом уровня БР в крови, больных разделили на 2 группы: основная группа - 146 больных с уровнем БР < 8,0 $\mu\text{mol/l}$; контрольная группа - 100 больных с уровнем БР $\geq 8,0 \mu\text{mol/l}$. Оценка структурного и функционального состояния миокарда включала ЭКГ, XM ЭКГ, ЭхоКГ, ВЭМ пробу.

Выявлено снижение уровня защиты от оксидативного стресса (ОС) у мужчин со стабильной ИБС в виде достоверного повышения уровня перекисей липидов и снижения показателя ОАС. В основной группе показатели OxyStat, общего холестерина и ЛПНП были достоверно выше ($p < 0,01$), а ImAnOx - достоверно ниже в сравнении с контрольной группой ($p < 0,01$). Установлена высокая степень прямой взаимосвязи между уровнем БР крови и показателем ОАС. Трехлетнее динамическое наблюдение показало тесную взаимосвязь процессов ремоделирования сердечно-сосудистой системы с компонентами ОС. Высокий уровень ОС у мужчин со стабильной ИБС сопровождается неблагоприятными изменениями геометрии левого желудочка (эксцентрическая недилатационная гипертрофия, рост числа сегментов с гипокинезом), что приводит к прогрессированию хронической сердечной недостаточности с риском ишемических и аритмических реакций на физические нагрузки.

რეზიუმე

ოქსიდაციური სტრესისგან დაცვის დონე და მიოკარდიუმის სტრუქტურულ-ფუნქციური ცვლილებების სამწლიანი დინამიკა გულის ქრონიკული უმარისობის დროს მამაკაცებში

ო. გორბუნოვა, ტ. პანოვა, ე. ჩერნიშოვა, ე. პოპოვი

ასტრახანის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ასტრახანი, რუსეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა გულ-სისხლძარღვთა სისტემის სტრუქტურულ-ფუნქციური ცვლილებების ხასიათისა და სამწლიანი დინამიკის შეფასება ფერმენტულ და არაფერმენტულ ანტიოქსიდანტების დონესთან კავშირში გულის ქრონიკული იშემიური დაავადების დროს მამაკაცებში.

კვლევაში მონაწილეობდა 2012-2015 წწ. დაკვირვების ქვეშ მყოფი 48-65 წლის ასაკის 246 მამაკაცი, საშუალო ასაკი - 58 წელი (53,0; 63,0) გულის იშემიური დაავადების სტაბილური ფორმით (II-III ფუნქციური კლასის დაძაბვის სტენოკარდია, I-III ფუნქციური კლასის გულის ქრონიკული უმარისობა, NYHA). ოქსიდაციური სტრესის დონის შეფასებისათვის ყველა პაციენტში იმუნოფერმენტული ანალიზის მეთოდით განისაზღვრა ლიპიდების ზეჯანგები, ზოგადი ანტიოქსიდაციური სტატუსი და არაფერმენტული ანტიოქსიდანტის - ბილირუბინის მაჩვენებელი. სისხლში ბილირუბინის მაჩვენებლის მიხედვით პაციენტები დაიყო ორ ჯგუფად: ძირითადი ჯგუფი - 146 პაციენტი ბილირუბინის მაჩვენებლით < 8,0 $\mu\text{mol/l}$, საკონტროლო ჯგუფი - 100 პაციენტი ბილირუბინის მაჩვენებლით $\geq 8,0 \mu\text{mol/l}$. მიოკარდიუმის ფუნქციური მდგომარეობის შეფასება მოიცავდა ელექტროკარდიოგრაფიას, ექოკარდიოგრაფიას, ველოერგომეტრულ სინჯს.

ოქსიდაციური სტრესისგან დაცვის დონის შემცირება მამაკაცებში გულის იშემიური დაავადების სტა-

ბილური ფორმით გამოვლინდა ლიპიდების ზეჯანგების დონის სარწმუნო მატებით და ზოგადი ანტიოქსიდაციური სტატუსის მანველებების შემცირებით. ძირითად ჯგუფში OxyStat-ის, საერთო ქოლესტერინისა და დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეინების მანველებები იყო სარწმუნოდ მაღალი ($p<0,01$), ხოლო ImAnOx – სარწმუნოდ დაბალი, ვიდრე საკონტროლო ჯგუფში ($p<0,01$), დადგენილია მაღალი ხარისხის პირდაპირი ურთიერთკავშირი სისხლის ბილირუბინის დონესა და ზოგადი ანტიოქსიდაციური სტატუსის მანველებებს შორის. სამწლიანმა დინამიკურმა დაკვირვებამ

გამოავლინა გულ-სისხლძარღვთა სისტემის რემოდელირების პროცესების მჭიდრო ურთიერთკავშირი ოქსიდაციური სტრესის კომპონენტებთან. ოქსიდაციური სტრესის მაღალ დონეს მამაკაცებში გულის იშემიური დაავადების სტაბილური ფორმით თან ახლავს მარცხენა პარკუჭის გეომეტრიის არაკეთილსაიმედო ცვლილებები (ექსცენტრული არადილატაციური ჰიპერტროფია, ჰიპოკინეზური სეგმენტების რაოდენობის ზრდა), რაც იწვევს გულის ქრონიკული უკმარისობის პროგრესირებას იშემიური და არითმიული რეაქციების რისკით ფიზიკურ დატვირთვაზე.

INFLUENCE OF PHYSICAL ACTIVITY ON CARDIOVASCULAR SYSTEM AND PREVENTION OF CARDIOVASCULAR DISEASES (REVIEW)

Makar O., Siabrenko G.

*Danylo Halytsky Lviv National Medical University;
War Veterans' Regional Clinical Hospital of Kirovograd Regional Council, Ukraine*

According to the World Health Organization (WHO) data, physical inactivity occupies the fourth place in the structure of the causes of global mortality. In addition, the development of such diseases as coronary heart disease, diabetes, breast and colon cancer, largely depends on the state of physical activity (PA) [16]. Therefore, increasing of PA level is a problem not only for individuals, but also for the whole society. In May 2004 WHO has adopted its Global Strategy on Diet, Physical Activity, and Health and recommended that direction to develop of PA in population must be a priority in national politics [36].

Regular PA reduces the risk of many adverse health effects on a large scale: mortality from all-causes and cardiovascular diseases in healthy people - by 20-30% [4,23], as well as in subjects with coronary risk factors [9] and in patients with cardiac diseases [3]. It was shown, that PA has a positive effect on many risk factors, including hypertension, low-density lipoprotein cholesterol, body weight and type 2 diabetes. This applies to both men and women, regardless of age [33].

The reaction of the cardiovascular system to physical activity

Adaptation of the body in response to physical exercises is due to coordinated response of a variety of organ systems. The most important changes during physical training are observed from the side of the cardiovascular (CV) system. The main task of the heart is to pump blood and deliver oxygen and nutrients to all central and peripheral organs. This workload is supported by complex cellular metabolic and contractile systems of the heart and can increase up to tenfold during intense bouts of exercise [30,43].

Long-term physical training improves significantly contractility of myocardium, the central and peripheral blood circulation, increases myocardial mass and cardiac output. The condition for supplying tissues with oxygen in the trained organism has been more effective because of higher functional reserves of the cardiovascular and respiratory systems, which is manifested by an increase in the maximum

oxygen consumption. This is ensured by higher myoglobin level and increasing of mitochondria formation and improving the efficiency of oxidative processes in trained people. Improvement of central blood circulation is achieved to an increase in the number of coronary capillaries and volumes of coronary vessels [1]. It has been established that people who are engaged in systematic physical exercises have broader coronary artery. The blood flow in them, if necessary, can be increased to a much greater extent than in physically inactive people. However, most importantly, due to the economical work of the heart, trained people for the same work spend less blood to the heart working than untrained people. As a result, the CV system of a trained person deals much easier with the increasing physical loads, completely providing blood to all central and peripheral organs [14,34]. It was proved, that physical exercise improves endothelium-dependent vasodilator function and has cardioprotective effect through activation of endothelial nitric oxide synthase [43].

The main structural changes that occur in the heart against the backdrop of prolonged physical exercises are manifested in increasing the mass of the heart and hypertrophy of the left ventricles wall. It was by many authors shown, that physiologic cardiac hypertrophy in response to regular PA, is accompanied by increasing in size of cardiac myocytes, not by its proliferation [15,24,43]. Physiologic hypertrophy of myocardium can be characterized as eccentric or concentric, that depends on type of long-term exercise. Dynamic aerobic exercise significantly increases heart rate and stroke volume, and as a result - promote sustained increase in cardiac output. This change causes volume overload on the heart and eccentric myocardial hypertrophy development. Static exercise leads to a slight elevation of cardiac output and a more pronounced rise of blood pressure. That is why this type of physical training results in a pressure overload on the heart and causes concentric myocardial hypertrophy development [14,43]. However, often many activities and training pro-

grams invoke both dynamic and static elements of workload and eventually, cause structural changes, that are characterized by mixed-type of physiologic cardiac hypertrophy [13,14,35].

All types of physiologic cardiac hypertrophy are relatively mild and reversible on prolonged cessation of exercise [22,24]. Myocardium wall thickness in this cases reaches usually 13, maximum - 16 mm. Pathologic hypertrophy of the myocardium, which develops on the ground of cardiac diseases, usually reaches more severe hypertrophic response, and progresses to a heart failure. In comparing to this, left ventricular systolic function on the background of physiologic cardiac hypertrophy is normal [14].

Molecular mechanisms and genetic factors of physiological cardiac growth

Many researchers attempt at the molecular level to understand the differences in physiological myocardial remodeling in response to prolonged physical exercises and pathologic myocardial hypertrophy by cardiac diseases [14,22,31,43]. As a result, several features were identified, such as interstitial fibrosis, perivascular fibrosis and myocyte disarray, that are typically only for pathologic myocardial hypertrophy [1,42].

Currently, the literature describes the results of studies that reflect the improvement of the cardiac function and inhibition of the pathologic remodeling development on the background of regular PA. By investigation of genetic animal models key cellular receptor and downstream signaling pathway mediators have been relieved, which are responsible for physiologic hypertrophy of the myocardium. As summary for these researches, it was shown, that increasing of cardiac insulin-like growth factor-1 expression and activation of the PI3K (p110 α) pathway have been associated with intensified cardiomyocyte hypertrophy by physical exercise in animals [1,43,44]. It was also proved, that physical exercises improve cardiac function in cases of heart failure on the ground of different cardiac diseases [12,21,41,43].

Other researchers, who studied the molecular mechanisms of physiologic cardiac hypertrophy in response to intensive PA in animals demonstrated, that different external stimuli cause activation of different hypertrophy programs in the cardiomyocyte [1,43]. In a case of arterial hypertension, the cardiomyocyte inducted a fetal gene program and this leads to increasing natriuretic peptide expression and changing in sarcomere isoform gene expression. These factors become a background to pathologic remodeling, structural chamber changes, and heart failure development. In contrast, regular physical exercise cause a physiologic remodeling, without activation of the fetal-gene program, and improving metabolic function of cardiomyocytes and contractile ability of myocardium [1,43].

The general influence of exercise on the body

Regular PA positively affects the entire human body, improves the functioning of all organs and systems, improved quality of life and increased lifespan [4,27].

PA significantly improves the function of respiratory system. It is well known that the thorax in trained people has a larger volume; they have a bigger minute breathing volume, as well as indicators of the relative vital capacity of the lungs. During the work, pulmonary ventilation in trained people increases due to deepening of breathing, and not due to an increase in its frequency. Regular training expands the ability to supply tissues with oxygen due to increased volume of circulating blood, mass of erythrocytes and hemoglobin content, as well as through the development of capillary mesh in skeletal muscle and around the

pulmonary alveoli. Under the influence of training, the strength of the respiratory muscles increases and the diffuse ability of the lungs increase due to the larger surface of the lung alveoli and the density of the capillaries near each alveolus.

Numerous experimental studies have shown that those who have better vital capacity indicators are more efficient. In untrained people, it ranges from 46.5 to 57.3 ml per 1 kg of weight, and for trained, for example, runners for long distances - reaches 79.3 ml per 1 kg of weight. Under the influence of systematic exercise, the maximum consumption of oxygen also increases [14]. Even in patients with disabilities of respiratory function and CV system, systematic training increases the maximum oxygen consumption to 2.5-3.5 l/min. Increasing in maximum oxygen consumption improves the functional state of the CV system and improves physical performance [29].

Regular PA from 120 to 150 minutes of moderate intensity per week reduces the risk of type 2 diabetes and metabolic syndrome, and reduces the level of low-density lipoprotein, while at the same time increasing the level of high-density lipoprotein. These changes in the content of lipoproteins reduce the risk of coronary heart disease. Systematic physical loads affects on blood sugar level because they require intensive use of glucose and other sugars to energy generation. Therefore, glucose and glycogen, which are formed from it during exercise, are quickly absorbed by the body; their concentration in the blood drops sharply.

It was proved, that aerobic exercise slowed of the peripheral neuropathy development in patients with diabetes and improves the function of the pancreas, liver and kidneys [5, 28]. Moderate to high levels of aerobic PA and higher levels of cardiorespiratory fitness are associated with substantial reductions in morbidity and mortality in both men and women and in both type 1 and type 2 diabetes [28]. In the prevention of cardiovascular disease, it is extremely important that physical training is able to normalize the disturbed fat metabolism and maintain it at a normal level, and also to stimulate metabolism and reduce weight [5]. Scientific studies indicate that reducing bone density, which is occurs with age, can be slowed down by regular use physical activity of aerobic and force orientation.

The value of PA is not limited only by physical health of a person; it also has a positive effect on the mental health. Besides improving peak work capacity, aerobic PA can also help to significantly reduce hopelessness, depression and can help effectively overcomes stress.

Checking the initial cardiorespiratory fitness

The effective functioning of the CV system (heart, blood and blood vessels) and the respiratory system (lungs) is the most important component of human fitness. Cardiorespiratory efficiency provides ability for the body effectively deliver oxygen to working muscles during PA. The endurance of CV system is determined by the indicator of highest level of reception, transport and using oxygen on the exercise peak - maximum oxygen consumption (VO₂max), obtained by providing of cardiopulmonary exercise testing [17,26].

Cardiopulmonary exercise test can be performed on a treadmill or static bike with choosing protocol depending on the indication to examination in the individual subject or patient [26]. VO₂max should be expressed in absolute values – l/min or mL/kg/min. Maximal VO₂ values vary widely and are influenced by age, sex, genetics, lifestyle/exercise training habits, and varied disease states. According to this, VO₂max can range from <10

mL/kg/min in patients with advanced chronic disease, such as end-stage heart failure, to >80 mL/kg/min in young elite endurance athletes [37].

The average sedentary male will achieve a VO₂max of approximately 35 to 40 mL/kg/min. The average sedentary female will score a VO₂max of between 27 and 31 mL/kg/min. As it is shown, VO₂max is from 10 to 20% greater in men than in women of comparable age, because of higher hemoglobin concentration and greater muscle mass and stroke volume in men [26]. In addition, it is suggested, that VO₂max declines on average by 10% per decade after the age of 30, due to decreasing maximal heart rate, stroke volume, blood flow to skeletal muscle and aerobic potential. These scores can improve with training [17,37].

Cardiorespiratory fitness is a strong predictor of cardiovascular disease and all-cause mortality [20]. That's why the American Heart Association recommended to check VO₂max widely in clinical practice for exercise tolerance assessment, prognostic stratification, training prescription, treatment efficacy evaluation [26]. To increase the level of cardiorespiratory endurance, the intensity of physical exercise is recommended at the level of 40-80% of VO₂max, 3-5 times a week for 15-60 minutes. Aerobic activity should be used to develop a cardiorespiratory endurance [44].

Types of physical activity and recommendations for their application

In general, the main goals of exercise are an increase in the reserves of the CV and respiratory systems and to support at some level the function of muscles and joints. The construction of a fitness program for the improving of cardiorespiratory capacity requires the determination of the appropriate intensity, duration, frequency and type of exercise.

Absolute intensity is the amount of energy used for permanent activity, is estimated by the oxygen absorption per unit time (ml/min or l/min) or metabolic equivalent (MET). MET is the ratio of the level of human metabolism during PA to the level of its metabolism in a state of rest. 1 MET is the amount of energy consumed by a person in a state of rest and equivalent to a burn 1 kkal/kg/h (equals 3.5 mlO₂/kg/min). It is estimated that in comparison with a person in a state of rest, a moderately active person burns 3-6 times more calories (3-6 MET), and a highly active person - more than 6 times (>6 MET). Absolute measure does not take into account individual factors, such as body weight, gender and activity level.

Relative intensity is the level of exertion needed to work. It is determined in relation to the level of the cardiorespiratory fitness indicator of human (VO₂ max) or as a percentage of the measured individual maximum heart rate (% HR max), which is 220-years. It can also be expressed as an indicator of the individual effort level (how much it feels/does it), that is, the perceived voltage rating or the respiration rate (the so-called Talk Test) - the Borg Scale. For individuals who take medications it is important to consider a allowable modification of the heart rate response and refer to other parameters of relative intensity.

Aerobic PA or continuous endurance training (CET) is the most studied and recommended modality, with a beneficial dose-response effect on prognosis [27, 29, and 32]. Guidelines for prevention and rehabilitation of cardiovascular diseases from leading professional international societies encourage healthy subjects and patients alike to include aerobic CET into their daily lives. European Society of Cardiology recommends moderate aerobic PA at a duration of 30 min/session at 3-5 days/week, totaling at least 150 min/week, or vigorous intensities at a duration of 15 min/session at 3-5 days/week, totaling at least 75 min/

week. For additional benefits in healthy adults, is recommended a gradual increasing of moderate aerobic PA to 300 min a week or to 150 min a week of vigorous aerobic PA [32].

Aerobic PA is characterized by the energy supply of the muscles mainly due to aerobic processes, an increase in heart rate and maintaining it a certain target level for a long time. It includes daily physical activities with active trips (cycling or walking), gardening, or activities such as brisk walking, Nordic walking, hiking, running, cycling, cross-country skiing, aerobic dancing, ice skating, rowing or swimming. During such activities it is easy to monitor and regulate a given heart rate, accelerating or slowing down the intensity of the session. Aerobic PA or CET is a type of physical activity that is performed over a longer period of time at a constant, mostly submaximal workload of sufficient intensity to increase heart rate and blood pressure and significantly improves cardiorespiratory fitness. It was shown, that CET reliably and reproducibly improves peak work capacity and has been shown to be effective in reducing cardiac as well as all-cause mortality [1,32].

People who lead a passive lifestyle should start with low levels of PA and gradually increase the duration, frequency and intensity of studies over time. Patients with cardiovascular diseases may need additional precautions and medical advice before they attempt to achieve the recommended levels of PA. Like all other activities, its prescription can be regulated by intervals of frequency, duration and intensity. Nevertheless, the practice of PA below the minimum recommended levels should be encouraged in persons who are unable to perform a minimum with a gradual increase in the level of activity [32].

In summary, CET is the preferred type of endurance exercise in all guidelines of the leading professional societies, because of the evidence base as well as its simplicity. With minimal instructions, CET can be performed by anybody who is physically able to exercise [32]. Furthermore, CET is a central component of cardiac rehabilitation and reduces cardiovascular morbidity and mortality in patients with chronic heart diseases [23,38].

Muscle strength/resistance PA. Isotonic PA stimulates bone formation and reduces bone loss; it preserves and enhances muscle mass, strength, power and functional ability, with some evidence of benefit in lipid and blood pressure control and insulin sensitivity, especially in combination with aerobic exercise [32,33,39]. It should target the major muscle groups (agonist and antagonist). For each exercise session, the suggested prescription is two to three sets of 8-12 repetitions at the intensity of 60-80% of the individual's 1 repetition maximum at a frequency of least 2 days a week. For older adults or very deconditioned individuals, it is suggested to start with one set of 10-15 repetitions at 60-70% of 1 repetition maximum [32].

Neuromotor PA. For older adults at risk of falls, neuromotor exercise helps to maintain and improve balance and motor skills (balance, agility, coordination and gait). This includes multifaceted activities such as tai chi and yoga, and recreational activities using paddles or sport balls to challenge hand-eye coordination. The optimal volume is not known [32].

Risk assessment

The risk of an adverse CV response during PA is extremely low for apparently healthy adults (5-17 sudden deaths/million population/year). The risk of this event is outweighed by the substantial health benefits conferred by PA [32,33]. Risk during light- or moderate-intensity exercise is lower than during vigorous activity, thus in healthy individuals who wish to undertake moderate PA, such as a walking programme, a preliminary medical evaluations is not needed

[7, 32]. Before starting more intensive leisure time activities, a risk assessment should be tailored to the individual's clinical (i.e. metabolic, musculoskeletal condition, disease) and cardiac risk profile, the current level of habitual PA and the intended level of PA [7,32]. Sedentary subjects and those with CV risk factors should start aerobic PA at low-intensity activity and progress gradually. Clinical evaluation, including exercise testing, may be considered for sedentary people with CV risk factors who intend to engage in vigorous PA and sports [7, 32].

Conclusion. Epidemiological evidence strongly suggests that regular exercises develop beneficial effects on cardiovascular health. Long-term exercise stimulates physiologic cardiac remodeling, including growth and adaptive molecular and cellular reprogramming that have protective influence on the heart. It is recommended regular moderate aerobic physical activity for healthy adults. It is recommended to provide a cardiopulmonary assessment, including cardiopulmonary exercise test, before starting intensive physical activity or training patients with chronic cardiac diseases; to choose most appropriate training program and to minimize exercise risks.

REFERENCES

- 1 Adams V., Reich B., Uhlemann M., Niebauer J. Molecular effects of exercise training in patients with cardiovascular disease: focus on skeletal muscle, endothelium, and myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2017; 313: H72-H88.
2. American College of Sports Medicine. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health, 2014.
3. Anderson L., Thompson D.R., Oldridge N., et al. Exercise-based cardiac rehabilitation for coronary heart disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2016; 5(1): CD001800.
4. Arem H., Moore S.C., Patel A., et al. Leisure time physical activity and mortality: a detailed pooled analysis of the dose-response relationship. *JAMA Intern Med.* 2015; 175: 959–967.
- 5 Balducci S., Iacobellis G., Parisi L., et al. Exercise training can modify the natural history of diabetic peripheral neuropathy. *J Diabetes Complications.* 2006; 20: 216–223.
6. Betik A.C., Hepple R.T. Determinants of VO₂ max decline with aging: an integrated perspective. *Appl Physiol Nutr Metab* 2008; 33: 130–140.
7. Borjesson M., Urhausen A., Kouidi E., et al. Cardiovascular evaluation of middle-aged/senior individuals engaged in leisure-time sport activities: position stand from the sections of exercise physiology and sports cardiology of the EACPR. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2011; 18:446–458.
8. Calvert J.W., Condit M.E., Aragón J.P., et al. Exercise protects against myocardial ischemia-reperfusion injury via stimulation of $\beta(3)$ -adrenergic receptors and increased nitric oxide signaling: role of nitrite and nitrosothiols. *Circ Res.* 2011; 108:1448–1458.
9. Conraads V., Pattyn N., De Maeyer C., et al. Aerobic interval training and continuous training equally improve aerobic exercise capacity in patients with coronary artery disease the SAINTEX-CAD study. *Int J Cardiol.* 2015; 179:203-210.
10. Doenst T., Nguyen T.D., Abel E.D. Cardiac metabolism in heart failure: implications beyond ATP production. *Circ Res.* 2013; 113:709–724.
11. Egan B., Zierath J.R. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab.* 2013; 17:162–184.
12. Emter C.A., McCune S.A., Sparagna G.C., et al. Low-intensity exercise training delays onset of decompensated heart failure in spontaneously hypertensive heart failure rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005; 289:H2030–2038.
13. Fagard R.H. Athlete's heart: a meta-analysis of the echocardiographic experience. *Int J Sports Med.* 1996; 17(3):140–144.
14. Fagard R. Athlete's heart. *Heart.* 2003; 89:1455–1461.
15. Gibb A.A., Hill B.G. Metabolic coordination of physiological and pathological cardiac remodeling. *Circ Res* 2018; 123(1), 107-128.
16. Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. World Health Organization, Geneva, 2009.
17. Guazzi M., Bandera F., Ozemek C. et al. Cardiopulmonary exercise testing: what is its value? *JACC* 2017; 70 (13) 1618-1636.
18. Hellsten Y., Nyberg M. Cardiovascular Adaptations to Exercise Training. *Compr Physiol.* 2015; 6:1–32.
19. Ingwall J.S. Energy metabolism in heart failure and remodeling. *Cardiovasc Res* 2009; 81:412–419.
20. Kodama S, Saito K, Tanaka S, et al. Cardiorespiratory fitness as a quantitative predictor of all-cause mortality and cardiovascular events in healthy men and women: a meta-analysis. *JAMA* 2009; 301:2024–2035.
21. Konhilas J.P., Watson P.A., Maass A., et al Exercise can prevent and reverse the severity of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation research.* 2006; 98:540–548.
22. Lauschke J., Maisch B. Athlete's heart or hypertrophic cardiomyopathy? *Clin Res Cardiol.* 2009; 98:80–88.
23. Lollgen H., Bockenhoff A., Knapp G. Physical activity and all-cause mortality: an updated meta-analysis with different intensity categories. *Int J Sports Med* 2009; 30:213–224.
24. Maillet M., Van Berlo J.H., Molkenin J.D. Molecular basis of physiological heart growth: fundamental concepts and new players. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2013;14:38–48.
25. Maron B.J. Distinguishing hypertrophic cardiomyopathy from athlete's heart physiological remodeling: clinical significance, diagnostic strategies and implications for preparticipation screening. *Br J Sports Med.* 2009; 43:649–656.
26. Mezzani A. Cardiopulmonary exercise testing: basics of methodology and measurements. *Annals ATS* 2017; 14 (S1), 3-11.
27. Moore S.C., Patel A.V., Matthews C.E., et al. Leisure time physical activity of moderate to vigorous intensity and mortality: a large pooled cohort analysis. *PLoS Med.* 2012; 9:e1001335.
28. Nielsen, P.J., Hafdahl A.R., Conn V.S., et al. Meta-analysis of the effect of exercise interventions on fitness outcomes among adults with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2006; 74: 211–220.
29. O'Keefe J.H., Patil H.R., Lavie C.J., et al. Potential adverse cardiovascular effects from excessive endurance exercise. *Mayo Clin Proc* 2012; 87:587–595.
30. Olver T.D., Ferguson B.S., Laughlin M.H. Molecular Mechanisms for Exercise Training-Induced Changes in Vascular Structure and Function: Skeletal Muscle, Cardiac Muscle, and the Brain. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2015; 135:227–257.
31. Pelliccia A., Maron M., Maron B. Assessment of left ventricular hypertrophy in a trained athlete: differential diagnosis of physiologic athlete's heart from pathologic hypertrophy. *Prog Cardiovasc Dis.* 2012; 54:387–396.
32. Piepoli M.F., Hoes A.W., Agewall S., et al. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J.* 2016; 37(29):2315-2381.

33. Physical Activity Guidelines Advisory Committee Report, 2008. Physical Activity Guidelines Advisory Committee. Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Services, 2008.
34. Platt C., Houstis N., Rosenzweig A. Using exercise to measure and modify cardiac function. *Cell Metab.* 2015; 21:227–236.
35. Pluim B.M., Zwinderman A.H., van der Laarse A., van der Wall E. The athlete's heart. A meta-analysis of cardiac structure and function. *Circulation* 2000; 101:336–344.
36. Resolution WHA57.17. Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health. In: Fiftyseventh World Health Assembly. Geneva, 17–22 May 2004.
37. Ross R., Blair S., Arena R., et al. Importance of Assessing Cardiorespiratory Fitness in Clinical Practice: A Case for Fitness as a Clinical Vital Sign: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation* 2016; 134(24): e653–e699.
38. Sattelmair J., Pertman J., Ding E., et al. Dose response between physical activity risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Circulation* 2011; 124:789–795.
39. Schwingshackl L., Missbach B., Dias S., et al. Impact of different training modalities on glycaemic control and blood lipids in patients with type 2 diabetes: a systematic review and network meta-analysis. *Diabetologia* 2014; 57:1789–1797.
40. Teske A.J., Prakken N.H., De Boeck B.W., et al. Echocardiographic deformation imaging reveals preserved regional systolic function in endurance athletes with left ventricular hypertrophy. *Br J Sports Med.* 2010; 44:872–878.
41. Vanzelli A.S., Medeiros A., Rolim N., et al. Integrative effect of carvedilol and aerobic exercise training therapies on improving cardiac contractility and remodeling in heart failure mice. *PLoS One* 2013; 8:e62452.
42. Varnava A.M., Elliott P.M., Mahon N., et al. Relation between myocyte disarray and outcome in hypertrophic cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 2001; 88:275–279.
43. Vega R.B., Konhilas J.P., Kelly D.P., Leinwand L.A. Molecular mechanisms underlying cardiac adaptation to exercise. *Cell Metabol* 2017; 25:1012–1026.
44. Wilson M.G., Ellison G.M., Cable N.T. Basic science behind the cardiovascular benefits of exercise. *Br J Sports Med* 2016; 50: 93–99.
45. Xiang L., Hester R. *Cardiovascular Responses to Exercise.* San Rafael: Biota Publishing; 2011.
46. Yang L., Jia Z., Yang L. et al. Exercise protects against chronic beta-adrenergic remodeling of the heart by activation of endothelial nitric oxide synthase. *PLoS One* 2014; 9:e96892.

SUMMARY

INFLUENCE OF PHYSICAL ACTIVITY ON CARDIOVASCULAR SYSTEM AND PREVENTION OF CARDIOVASCULAR DISEASES (REVIEW)

Makar O., Siabrenko G.

Danylo Haltsky Lviv National Medical University; War Veterans' Regional Clinical Hospital of Kirovograd Regional Council, Ukraine

Regular physical activity causes many positive effects on the cardiovascular system and improves cardiorespiratory fitness. Long term exercise leads to physiologic remodeling of the heart,

including adaptive molecular and cellular reprogramming, that have cardioprotective effect. Aerobic physical activity, the most studied modality with beneficial dose–response effect on prognosis, is recommended for all healthy adults, subjects with coronary risk factors and patients with chronic cardiac diseases. To check cardiorespiratory fitness is recommended to carry out cardiopulmonary exercise testing with measuring VO₂max for risk assessment, exercise prescription, physical activity counseling and improving patient management.

Keywords: physical activity, cardiovascular system, heart, cardiopulmonary exercise testing.

РЕЗЮМЕ

ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТУЮ СИСТЕМУ И ПРОФИЛАКТИКУ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ОБЗОР)

Макар О.Р., Сябренько Г.П.

Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого; Областной клинический госпиталь ветеранов войны Кировоградского областного совета, Украина

Регулярная физическая активность приводит к многим положительным эффектам со стороны сердечно-сосудистой системы и улучшает кардиореспираторный фитнес. Длительные физические упражнения обуславливают физиологическое ремоделирование сердца, включая адаптивное молекулярное и клеточное перепрограммирование, которое оказывает кардиопротекторный эффект. Аэробная физическая активность, наиболее изученная модальность с благоприятным эффектом на прогноз, рекомендуется всем здоровым взрослым, субъектам с коронарными факторами риска и пациентам с хроническими сердечными заболеваниями. С целью исследования уровня кардиореспираторного фитнеса рекомендуется проводить кардиопульмональный нагрузочный тест с измерением VO₂max для оценки риска, назначения упражнений, консультирования по вопросам физической активности и улучшения качества лечения пациентов.

რეზიუმე

ფიზიკური აქტივობის გავლენა გულ-სისხლძარღვთა სისტემაზე და მათი დაავადების პროფილაქტიკაზე (მიმოხილვა)

ო. მაკარი, გ. სიაბრენკო

დანილა გალიცკის სახ. ლვოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი; კიროვოგრადის ომის ვეტერანთა საოლქო ჰოსპიტალი, უკრაინა

რეგულარული ფიზიკური აქტივობა დადებითად ზემოქმედებს გულ-სისხლძარღვთა სისტემის მდგომარეობაზე, აუმჯობესებს კარდიორესპირაციულ ფიტნესს. ხანგრძლივი ფიზიკური ვარჯიშები განაპირობებს გულის ფიზიოლოგიურ რემოდელირებას. ადაპტაციური მოლეკულური და უჯრედული გადაპროგრამირების გათვალისწინებით, რომელიც, თავის მხრივ, ახდენს

კარდიოპროტექტორულ ეფექტს. აერობული ფიზიკური აქტივობა სადღეისოდ წარმოადგენს კარგად შესწავლილ მოდელს პროგნოზზე დადებითი ეფექტით, რეკომენდებულია ყველა ზრდასრული ჯამნთელი პირებისათვის, ასევე სუბიექტებისათვის კორონარული რისკის ფაქტორებით, პაციენტებისათვის გულის ქრონიკული დაავადებით. კარდიორესპი-

რაციულ ფიტნესის დონის გამოკვლევის მიზნით რეკომენდებულია კარდიოპულმონული დატვირთვის ტესტის ჩატარება VO_{2max} -ის გაზომვით რისკების შეფასების, ვარჯიშების დანიშვნის მიზნით. ფიზიკური აქტივობის და მკურნალობის გაუმჯობესების მიზნით მიზანშეწონილია კონსულტაციების ჩატარება.

THE RESTLESS LEGS SYNDROME (REVIEW)

¹Japaridze G., ^{1,2}Kasradze S., ^{1,3}Maisuradze L., ⁴Popp R., ⁴Wetter Th.C.

¹Institute of Neurology and Neuropsychology, Tbilisi; ²Caucasus International University, Tbilisi; ³Ilia State University, Tbilisi, Georgia; ⁴Department of Psychiatry and Psychotherapy, University of Regensburg, Germany

Restless legs syndrome (RLS), also known as Willis-Ekbom disease is a neurological sensorimotor disorder often profoundly disturbing sleep and quality of life. RLS is primarily characterized by an urge to move the legs, usually accompanied by sensations that are described as unpleasant or even extremely unpleasant. Symptoms occur or increase when the patient is at rest i.e. sitting or lying down. Typically, the patients move or rub their legs or walk around to alleviate the sensations; in the case of very pronounced complaints, calm sitting, lying down is almost impossible and sleep is severely impaired. At the beginning, the symptoms typically occur in the evening or at night whereas later in the course of the disease, this circadian component may not be present and a spread of the complaints on previously unaffected limbs can be observed [1].

Diagnosis

The diagnosis is based on the criteria of the International RLS Study Group summarized in Table 1.

In clinical practice, the application of the criteria may be problematic because the symptoms are primarily subjective and based almost exclusively on the information provided by the patients [1]. Affected persons may have difficulties to describe the sensations as well as the urge to move appropriately. The symptoms are hardly comparable with other sensations, which is one of the main causes of the under- and misdiagnosis of RLS. The patients often do not perceive their complaints as symptoms of

a disease and are more likely to describe the consequences such as sleep disorders, fatigue, or exhaustion. The symptoms usually occur bilaterally between the ankle and knee, and may alternate between both legs. In addition, they often show a variable expression and vary from day to day.

RLS symptoms may already occur in children and adolescents and can be misdiagnosed as a “hyperactivity syndrome” or “growing pains”. The diagnosis may be difficult, because the diagnostic criteria require that the description of the symptoms should be given in own words. Therefore, it may also be difficult to diagnose RLS in patients with dementia [1].

In addition to the essential criteria, the IRLSSG identified clinical features supporting the RLS diagnosis:

- periodic leg movements;
- dopaminergic treatment response;
- family history of RLS among first-degree relatives;
- lack of profound daytime sleepiness.

As an objective feature, periodic leg movements (PLM) can occur during sleep (PLMS) or relaxed wakefulness (PLMW), the latter in more severe forms of RLS. PLM are detected in about 80-90% of RLS patients if sleep recordings are made during several nights by polysomnography (PSG) or actigraphy. PLMS are highly regular, jerky, unilateral or bilateral movements characterized by involuntary repetitive extensions of the toe, often accompanied by flexions of the ankles, knees or hip. According

Table 1. International Restless Legs Syndrome Study Group (IRLSSG) consensus diagnostic criteria for RLS [1]

Essential diagnostic criteria (all must be met):
1. An urge to move the legs usually but not always accompanied by, or felt to be caused by, uncomfortable and unpleasant sensations in the legs.
2. The urge to move the legs and any accompanying unpleasant sensations begin or worsen during periods of rest or inactivity such as lying down or sitting.
3. The urge to move the legs and any accompanying unpleasant sensations are partially or totally relieved by movement, such as walking or stretching, at least as long as the activity continues.
4. The urge to move the legs and any accompanying unpleasant sensations during rest or inactivity only occur or are worse in the evening or at night than during the day.
5. The occurrence of the above features is not solely accounted for as symptoms primary to another medical or a behavioral condition (e.g. myalgia, venous stasis, leg edema, arthritis, leg cramps, positional discomfort, habitual foot tapping).

to the international criteria based on PSG, PLMS include at least four consecutive leg movements with an intermovement interval of ≥ 10 s and ≤ 90 s with a duration of 0.5-10 seconds [12]. It is unclear to what extent PLMS without RLS are a stand-alone syndrome, a precursor of RLS or an endophenotype of the RLS genotype [37]. PLMS can be associated with EEG arousals and a short-term increase in heart rate, heart rate variability or blood pressure.

Because primary (idiopathic) and secondary (comorbid) RLS do not generally differ in clinical terms, further investigations may be necessary to exclude underlying treatable causes such as iron deficiency and to differentiate RLS from similar disorders that may mimic RLS. The clinical testing for RLS is summarized in Table 2.

Table 2. Clinical testing for RLS [43]

Tests considered mandatory
Hemoglobin
Urea
Creatinine and electrolytes
Serum ferritin and total iron binding capacity
Tests occasional helpful if clinical pointers
Thyroid function tests
Glucose
B12 and folate levels
Nerve conduction studies

Polysomnography

PSG often reveals significant abnormalities in patients with RLS. Sleep latency is typically increased whereas sleep efficiency and total sleep time is decreased and sleep continuity may be impaired by frequent awakenings and PLMS associated EEG arousals. In addition, there are alterations of sleep architecture such as an increase in light sleep and a decrease in sleep stage 3 (SWS) and REM sleep. Because RLS is a clinical diagnosis, PSG is not mandatory in most cases. However, possible indications for PSG may be the following [19]:

- persistent RLS complaints or severe sleep disorders under treatment;
- daytime sleepiness as the main symptom;
- before starting treatment with dopaminergic drugs or opiates in young patients with severe RLS;
- to rule out comorbid sleep-related breathing disorders.

Epidemiology

The prevalence varies depending on the population studied and the criteria used. If solely the diagnostic criteria are used, RLS complaints may be determined in up to 10% of the Caucasian population [18]. If the frequency of complaints is additionally assessed, the proportion of “RLS sufferers” (complaints at least 2 times/week) or RLS patients in need of treatment is between 1.5 and 2.7% [2]. In two prospective studies in Germany, a cumulative incidence of 9.1% and 7%, respectively (observation period: 5.2 and 2 years, respectively) was found [35]. RLS mostly affects middle-aged and older people. Women are significantly more affected than men (ratio between 1: 1.5 and 1: 2.0) [13] due to parity (the risk of developing RLS increases with increasing numbers of births). According to the epidemiological studies, RLS affects approximately 15 to 25% of pregnant women in Western countries. Some reports suggest marked ethnic and geographic differences in the prevalence of RLS with a lower proportion in most Asian countries. The prevalence of RLS in a Georgian primary healthcare setting is 11.3% [24].

Development and course

The onset of RLS ranges from childhood to elderly people, with a higher familial occurrence at early onset [3]. RLS is usually a chronic disease with a variable course. According to recent studies, the complaints persist in nearly 50% of cases in follow-up periods of 2 to 5.2 years [35]. It is distinguished between “chronic persistent RLS” i.e. symptoms when not treated occur on average at least twice weekly for the past year and “intermittent RLS” i.e. symptoms when not treated occur on average < 2 /week for the past year, with at least five lifetime events [1]. The course of the disease is also determined by the age of the first manifestation. In patients with a manifestation of symptoms before the age of 45 (“early onset RLS”) the course is usually characterized by longer periods of remission, whereas in those with an onset after the age of 45 years («late onset RLS») more unfavorable courses have been described [3].

Quality of life

The symptoms of RLS cause significant distress or impairment in social, occupational, educational or other important areas of functioning by their impact on sleep, vitality, daily activities, cognition or mood. The impact of an RLS on the quality of life is therefore far-reaching. RLS patients may suffer from a diminished ability to concentrate, psychomotor restlessness, anxiety and depressive disorders [overview in 44]. In severe forms of RLS, the quality of life is considered comparable to other chronic diseases (e.g. diabetes mellitus, polyneuropathy) or even worse.

Pathophysiological aspects

The etiology of RLS is still not fully understood. Current hypotheses on the pathophysiology of primary RLS favor a heterogeneously genetically determined, complex disorder of the cerebral iron stores with subsequent dysregulation of the dopaminergic system. Studies on large family pedigrees showed that RLS follows a pattern of autosomal-dominant inheritance. Family linkage analysis identified several associated loci with RLS (chromosomes 12q, 14q, 9p, 2q, 16p, 4q, 17p, 19p and 20p). In genome-wide association studies, single nucleotide polymorphisms (SNPs) were found in a number of genes, which are associated with an increased risk of RLS (*MEIS1*, *BTBD9*, *MAP2K5*, *PTPRD*, *SKOR1*, *TOX3*, *LBXCOR1*) [reviewed in 21]. The exact function of these genes often remains unclear, but seems to play an important role in embryonic development [31]. In addition, an involvement in the development of the basal ganglia was described for *MEIS1* [34]. Autopsy material from RLS patients revealed that the *MEIS1* gene is associated with an increase in the expression of H-ferritin, L-ferritin and divalent metal transporter-1 RNA in the thalamus [9]. This may be an indication that *MEIS1* gene mutations predispose to iron deficiency.

The serum iron is often normal in RLS patients; however, a state of low iron in the brain has been shown in a small sample by using magnetic resonance imaging (MRI) studies. These areas included the substantia nigra and, to a lesser extent the putamen and caudate nucleus. In addition, a significant decrease of ferritin and an increase of transferrin in the cerebrospinal fluid (CSF) were found in RLS patients compared with healthy controls [for review 11].

Positron emission tomography (PET) and single positron emission computed tomography (SPECT) findings support a dysfunction of dopaminergic pathways involving not only the nigrostriatal but also mesolimbic pathways. It is suggested that a reduction of brain iron may cause a dysfunction of mesolimbic and nigrostriatal dopaminergic pathways and in turn a dysregulation of limbic and sensorimotor networks [29].

Clinical observations of RLS in the context of myelopathies or following spinal anesthesia as well as neurophysiological studies demonstrating a spinal hyperexcitability favor a central role of the spinal cord in RLS. A dysfunction of the dopaminergic hypothalamo-spinal inhibitory descending pathways is suggested [25].

Differential diagnoses and “RLS mimics”

Leg muscle cramps and leg-associated pain syndromes are often the cause of misinterpretations, especially if they occur at rest or at night. Therefore, the term “RLS mimics” was introduced. If only the first 4 essential criteria are taken into consideration, a false positive diagnosis will be made in 16% of the cases [17]. The most common differential diagnoses of RLS are summarized in Table 3.

In contrast to RLS, nocturnal leg muscle cramps are usually not associated with an urge to move or movements of the extremities. A particularly important differential diagnosis is neuroleptic-induced akathisia, which may be induced by typical (and rarely atypical) neuroleptics.

Other disorders that should be distinguished from RLS include myelopathy, symptomatic venous insufficiency, peripheral arterial disease, orthopedic disorders and anxiety-induced restlessness or agitated depression. If the diagnosis of RLS is uncertain, the assessment of supportive characteristics of RLS, in particular PLMS or a positive family history, may be helpful, as well as the clinical response to treatment with dopaminergic substances.

Comorbidities

Diseases associated with an increased incidence of RLS are summarized in Table 4.

An association between iron deficiency and the occurrence of an RLS is sufficiently proven. It has been demonstrated that in patients with iron deficiency anemia, the RLS prevalence is about 6 times higher than in the general population [4]. For an indicator of the cerebral iron storage, the serum ferritin level is used. Even low normal levels of ferritin (<50 µg/l) may be associated with more severe RLS symptoms. Ferritin is also an acute phase protein and an increase in inflammation may indicate false high values. Therefore, transferrin saturation is often included as an additional parameter of the iron metabolism.

A 2 to 3-fold increase in RLS prevalence has been reported in patients with chronic renal insufficiency, with changes in iron metabolism as well as uremia [4]. In dialysis patients with RLS, symptoms usually remit after successful kidney transplantation [45].

Other comorbid internal disorders include hypertension and other cardiovascular diseases, diabetes mellitus, fibromyalgia and thyroid disorders. RLS has been associated with cardiovascular disease in both cross-sectional and prospective studies, although the latter are limited in number yielding conflicting results [22]. However, further studies are necessary to clarify this complex interaction.

An increased incidence of RLS has also been reported in peripheral neuropathies, narcolepsy, migraine, Parkinson’s disease, essential tremor and multiple sclerosis [8,44]. Frequent moderate to severe RLS has also been identified recently in patients with epilepsy, in particular, localization-related temporal lobe epilepsy [16]. Recent studies suggest that the number of comorbidities is more likely to be associated with an increased risk of RLS [36].

Table 3. Differential diagnoses of RLS [27]

Common disorders	Uncommon disorders
Leg muscle cramps	Myelopathy
Position-related paresthesia	Myopathy
Localized leg injuries	Arterial Disease
Arthritis	Orthostatic tremor
Leg edema	Drug- induced akathisia
Venous insufficiency	Painful-legs-and-moving-toes syndrome
Peripheral neuropathy	
Radiculopathy	
Myalgia	
Anxiety disorders	
Habitual foot tapping	

Table 4. Comorbidities of RLS [37]

Comorbidity	Comment
Iron deficiency	RLS patients have frequently lower serum ferritin levels, especially at early onset of disease, in women and in pregnancy
Kidney disease, uremia	Depending on creatinine or glomerular filtration rate
Polyneuropathy	Increased RLS incidence in different forms of polyneuropathy, especially in small-fiber neuropathy
Syringomyelia	Patients with cross-sectional symptoms and increased PLMS have been described
Spinocerebellar ataxia	Frequent occurrence of RLS described
Coeliac disease	Association with RLS may be due to iron deficiency
Rheumatic/oncological diseases	Association with RLS may be due to iron deficiency
Pregnancy (listed here although no comorbidity)	Relatively common cause of RLS especially in the last trimester

Pregnancy is associated with an increased risk of transient RLS, which in turn is associated with an increased likelihood of developing postpartum RLS [10]. RLS prevalence dramatically decreases around the time of delivery, ranging between 5 and 6% at six months post-partum. The peak of RLS manifestation is in the third trimester, and the symptoms may persist within a few months after birth. Familial predisposition, folic acid deficiency, estrogen status and changes in iron status have been postulated as the cause of the increased occurrence of RLS in pregnancy.

Comorbid anxiety disorders and /or depressive disorders show complex interactions with RLS. With regard to the management, it is important to distinguish whether RLS precedes the psychiatric symptoms or has been developed in the course of depression. In this case, an antidepressant treatment may be an underlying cause of RLS. In a prospective study assessing the risk of RLS in second-generation antidepressants, mirtazapine has been identified as the highest-risk antidepressant [30]. Sertraline, fluoxetine, and amitriptyline appear to increase PLMS that do not disrupt sleep and are thus unlikely to be clinically significant, while bupropion may reduce restless legs symptoms, at least in the short term [for review:23].

Management

The decision to start treatment should always depend on an individual's severity and frequency of symptoms and the degree to which they interfere both with daily activities and with noctur-

nal sleep. RLS severity can be quantified using the International RLS Severity Scale (IRLS) validated by the International RLS Study Group (scores 1-10: low RLS severity, 11-20: moderate, 21-30: strong, 31-40: very strong [42]. If an underlying potentially treatable cause is revealed, specific therapies such as iron replacement are appropriate. Furthermore, the use of any drugs that may increase RLS symptoms, such as antidepressants, dopamine blockers and antihistamines, should be re-evaluated and if possible reduced or eventually discontinued.

Dopaminergic agents

Levodopa

Evidence-based guidelines have identified levodopa as effective in the treatment of RLS [14,20]. Levodopa plus a decarboxylase inhibitor (carbidopa or benserazide) generally results in robust initial relief with the first dose. Controlled studies have shown the efficacy of levodopa both in idiopathic and uremic RLS. In subsequent comparative studies, levodopa was found to be effective in reducing RLS, but was inferior to pramipexole and ropinirole in that respect. To avoid augmentation, a serious problem with dopaminergic treatment, the daily dosage should be lower than 300 mg/day. Adverse events may also include dry mouth, nausea, vomiting, headache or drug-induced insomnia, and sleep disruption, especially in the elderly. Thus, levodopa can be recommended for patients with intermittent but not daily RLS (Table 5).

Table 5. Drug therapy for RLS

Drug	Initial dose	Usual dose range	Common adverse effects	Comment
<i>Dopaminergic substances</i>				
Levodopa-benserazide ¹	100/25mg	100/25-200/50mg	Nausea, orthostatic hypotension, augmentation	Not used for chronic treatment because of high risk of augmentation
Pramipexole ²	0,088 mg (Europe) or 0.125 mg (USA)	0,125-0,75 mg	Nausea, insomnia, daytime sleepiness, impulse control disorder, augmentation	Augmentation less common than with levodopa; extended release formulation not approved
Ropinirole ¹	0,25 mg	0,5-4,0 mg	Similar to pramipexole	Similar to pramipexole
Rotigotine transdermal patch ²	1mg/24 hours	1-3 mg/24 hours	Skin irritations at application site, otherwise similar to pramipexole	Augmentation possibly less common than with dopamine agonists
<i>Anticonvulsants (α-2-δ ligands)</i>				
Pregabalin	25 mg	150-300 mg	Somnolence, dizziness, ataxia; addictive behaviour	No reported augmentation
Gabapentin	100-300 mg	300-1800 mg	Somnolence, dizziness	No reported augmentation
<i>Intravenous iron formulation</i>				
Ferrocarymaltose	500 mg	500-1000 mg once	Dizziness, heat sensitivity	No reported augmentation
<i>Opioids</i>				
Oxycodone prolonged release ²	5 mg oxycodone /2,5mg naloxone twice daily	10-20 mg oxycodone/5-10 mg naloxone twice daily	Constipation, nausea, headache, somnolence, sleep apnea, addictive behaviour	No reported augmentation; approved as second line therapy

¹Approved in Germany, Austria, Switzerland; ²Approved in Europe by the European Medicines Agency; Dopamine agonists – non-ergot derivatives

Dopamine agonists are regarded as first-line treatment for moderate to severe primary RLS, especially if daily treatment is required. This is due to their well-documented effectiveness and overall good tolerability [for review 14,20]. The available dopamine agonists differ considerably with respect to pharmacokinetics (e.g. half-life), dopamine receptor profiles, potential serious side effects, availability of long-term experience, and licensing status. If dopamine agonists are considered, there is a need to increase the dosage slowly to avoid side effects, making these drugs less suitable to use on an intermittent basis. Concerns regarding the development of “sleep attacks”, following observations in Parkinson patients started on low-dose dopamine agonists, do not seem to be a major concern in RLS. However, although more common in levodopa treatment, long-term studies suggest that augmentation may also occur with most of the dopamine agonists. In addition, some patients may experience impulse control disorders, such as pathologic gambling.

Pramipexole has been shown to be effective in reducing sensory restless legs symptoms and PLM in controlled and open-label trials for time spans between one night and several months [26]. Titration of pramipexole is usually started at 0.125 mg and increased every few days. Most patients require 0.75 mg or less, and patients taking higher doses should be carefully monitored for adverse effects, especially augmentation (Table 6). Several placebo-controlled and open-label studies have shown that ropinirole is effective in significantly improving RLS. Ropinirole is usually started at 0.25 mg although most cases require around 2 mg with maximum doses in individual patients of up to 4 mg. Rotigotine is designed to be administered as a transdermal patch for 24 hours continuous dopaminergic stimulation. A multicenter controlled study has shown that rotigotine applied once a day for 6 months (dose range 1-3 mg/24 h) significantly relieved the night- and daytime symptoms of idiopathic RLS [38]. Application site reactions were the most common adverse events in comparison to oral agonists in which nausea can be a significant and limiting side effect (Table 5).

Augmentation

All dopaminergic agents, however, have the potential for causing “augmentation” of RLS symptoms in which restlessness and associated sensory phenomena occur earlier in the day, often in a more severe form involving additional body parts such as the arms (Table 6).

Augmentation may develop as early as during the first month and in up to 82% of patients taking levodopa [5]. The occurrence typically correlates with higher daily doses (e.g. levodopa >300 mg). In terms of dopamine receptor agonists (pramipexole, ro-

pirolole, rotigotine) augmentation may also occur, but probably less frequently compared with levodopa treatment and possibly less common with rotigotine than with other dopamine agonists, which have a shorter duration of action.

Because of augmentation, it may be necessary to discontinue levodopa and switch to dopamine agonists. If augmentation develops with dopamine agonists, it may be helpful to reduce and/or to split the dosage to an earlier time or to switch to rotigotine patch, a longer acting agonist. However, the physician should be aware that even low dose dopaminergics could cause augmentation. If augmentation still occurs, it is necessary to switch to α -2- δ -ligands or a combination therapy. In case of insufficient effects, a second-line therapy with opioids may be necessary [39].

Opioids

Opioids are recommended only in refractory RLS if symptoms fail to respond to dopaminergic medication or in cases where tolerance or augmentation are major issues [33]. In particular, a long-acting form of oxycodone may be appropriate as shown in a recent randomized controlled trial [40]. Prolonged-release oxycodone-naloxone is approved for RLS therapy in Europe. Adverse effects include nausea and constipation, dizziness, sedation, nocturnal confusion, and worsening or even the development of sleep-related breathing disorders. Screening overnight oximetry or polysomnography should be considered in case of suspected sleep apnea. Although addictive behaviour has to be carefully monitored, an escalation of dose does not seem to be a major risk in the absence of a history of substance abuse [33].

α -2- δ -ligands: Pregabalin, gabapentin and other anticonvulsants

Pregabalin (an analogue of γ -aminobutyric acid) or the structurally related compound gabapentin (α -2-d calcium channel ligands) may sometimes be considered as a drug of first line, particularly in patients with prominent unpleasant or frankly painful sensory symptoms. Both drugs are approved for the treatment of neuropathic pain and seizures, and pregabalin is licensed for treatment of anxiety disorders. In addition, pregabalin especially improves anxiety symptoms and sleep disturbances in RLS patients. Randomized controlled studies have shown favorable effects of gabapentin enacarbil (a prodrug of gabapentin, approved in the U.S. and Japan) and pregabalin [6]. Effective pregabalin doses are usually in the range of 150 to 300 mg/day. Adverse effects include dizziness, somnolence, and possibly addictive behavior with pregabalin treatment (Table 5).

Iron

Because iron deficiency is common in RLS, oral iron supplementation is an established treatment. Low ferritin concentra-

Table 6. Key features of augmentation [15]

A or B and C for at least 1 week and a minimum of 5 days per week	
A	Shifting of RLS symptoms to a period of time 2 h earlier than was the typical period of daily onset of symptoms before pharmacological intervention.
B	Two or more of the following features: - An increased overall intensity of the urge to move or sensation that is temporally related to an increase in daily medication dosage. - A decreased overall intensity of the urge to move or sensation that is temporally related to a decrease in the daily medication dosage. - The latency to RLS symptoms at rest is shorter than the latency with initial therapeutic response or before treatment. - The urge to move or sensations are extended to previously unaffected limbs or body parts. - The duration of treatment effect is shorter than the duration with initial therapeutic response. - Periodic limb movements while awake either occur for the first time or are worse than with initial therapeutic response or before treatment.
C	No other medical, psychiatric, behavior, or pharmacological factors explain the exacerbation of RLS.

tion has been associated with an increased severity of RLS and treatment has been shown to improve symptoms. In addition, very low ferritin levels increase the risk of treatment complications, specifically augmentation. Serum ferritin levels – an indirect measure of brain iron status – should be at least 50 µg/l, and transferrin saturation not less than 20%. Therefore, RLS patients with low ferritin levels should be treated with iron supplementation before starting dopaminergic therapy. A common therapeutic regimen 2 to 3 times a day is 325 mg of ferrous sulfate combined with 100 to 200 mg of vitamin C to enhance absorption. Follow-up ferritin level determinations are needed initially every 3 to 6 months. Oral iron therapy can cause constipation, nausea and abdominal discomfort. Likely efficacious are intravenous iron formulations (e.g. iron sucrose or ferrocarymaltose) [7,41] though not yet approved for RLS therapy (Table 5). Augmentation has not been reported. However, not all patients with iron deficiency benefit from iron supplementation. The current recommended treatment is to administer iron supplements to patients with iron deficiency and RLS, irrespective of whether they have associated anemia [39]. Potential serious anaphylactic adverse events that rarely may occur have to be considered.

Non-pharmacological treatment

Non-pharmacological treatments for mild RLS symptoms include sleep hygiene and behavioral therapy for increasing alertness (e.g., crossword puzzles, video games, increased physical activity) as well as modifications of lifestyle such as limiting alcohol and avoiding nicotine or caffeine. In idiopathic RLS, exercise was shown to improve restless legs symptoms in less severely affected patients. In hemodialysis patients, exercise may be also beneficial [32]. Autogenic training, progressive muscle relaxation or meditation have a negative effect often increasing the symptoms. Few publications report effects on restless legs symptoms in patients who were implanted or lesioned for other concurrent indications. Globus pallidus internus targets have been reported to improve RLS symptoms in patients when used to treat Parkinson's disease and dystonia in a small number of subjects [28].

Key points

- RLS is a common and underdiagnosed disorder with a wide spectrum of severity in neurological and sleep medicine practice.

- The diagnosis is based on the history. In the diagnostic work-up, it is important to search for potentially treatable causes for secondary RLS, such as iron deficiency.

- When moderate or severe, RLS is a treatable condition and dopamine agonists are regarded as first-line treatment. For patients with severe and refractory RLS opioid drugs are an option as second-line treatment.

- Augmentation is an important adverse effect of dopaminergic agents, and sometimes difficult to treat.

- Because iron deficiency is common in RLS, ferritin levels should be checked. In patients with low ferritin levels, iron supplementation should be the first-line therapy.

- Although controlled studies are lacking, there is some evidence for the efficacy of non pharmacological strategies in RLS.

REFERENCES

1. Allen R.P., Picchietti D.L., Garcia-Borreguero D. et al. Restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease diagnostic criteria: updated International Restless Legs Syndrome Study Group (IRLSSG) consensus criteria - history, rationale, description, and significance. *Sleep Med* 2014; 15: 860-873.

2. Allen R.P., Bharmal M., Calloway M. Prevalence and disease burden of primary restless legs syndrome: results of a general population survey in the United States. *Mov Disord* 2011; 26: 114-120.

3. Allen R.P., Picchietti D., Hening W.A. et al. Restless legs syndrome: diagnostic criteria, special considerations, and epidemiology. A report from the restless legs syndrome diagnosis and epidemiology workshop at the National Institutes of Health. *Sleep Med* 2003; 4:101-119.

4. Allen R.P., Earley C.J. The role of iron in restless legs syndrome. *Mov Disord* 2007; 22 (Suppl 18): S440-448.

5. Allen R.P., Earley C.J. Augmentation of the restless legs syndrome with carbidopa/levodopa. *Sleep* 1996; 19: 205-213.

6. Allen R.B., Chen C., Garcia-Borreguero D. et al. Comparison of pregabalin with pramipexole for restless legs syndrome. *N Engl J Med* 2014; 370: 621-631.

7. Allen R.P., Picchietti D.L., Auerbach M. et al. Evidence-based and consensus clinical practice guidelines for the iron treatment of restless legs syndrome / Willis-Ekbom disease in adults and children: an IRLSSG task force report. *Sleep Med*. 2018; 41: 27-44.

8. Bartl M., Winkelmann J., Högl B., et al. Häufige neurologische Erkrankungen assoziiert mit dem Restless-legs-Syndrom. *Nervenarzt* 2018; 89: 1156-1164.

9. Catoine H., Dion P.A., Xiong L., et al. Restless legs syndrome-associated MEIS1 risk variant influences iron homeostasis. *Ann Neurol* 2011; 70: 170-175.

10. Cesnik E., Casetta I., Turri M., et al. Transient RLS during pregnancy is a risk factor for the chronic idiopathic form. *Neurology* 2010; 75: 2117-2120.

11. Connor J.R., Patton S., Oexle K., et al. Iron and restless legs syndrome: treatment, genetics and pathophysiology. *Sleep Med* 2017; 31: 61-70.

12. Ferri R., Fulda S., Allen R.P. International and European Restless Legs Syndrome Study Groups (IRLSSG and EURLSSG). World Association of Sleep Medicine (WASM) 2016 standards for recording and scoring leg movements in polysomnograms developed by a joint task force from the International and the European Restless Legs Syndrome Study Groups (IRLSSG and EURLSSG). *Sleep Med* 2016; 26: 86-95.

13. Fulda S. Gender differences in the prevalence of restless legs syndrome / Willis-Ekbom disease. *Somnologie* 2013; 17: 246-251.

14. Garcia-Borreguero D., Silber M.H., Winkelmann J.W., et al. Guidelines for the first-line treatment of restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease, prevention and treatment of dopaminergic augmentation: a combined task force of the IRLSSG, EURLSSG, and the RLS-foundation. *Sleep Med* 2016; 21: 1-11.

15. Garcia-Borreguero D., Allen R.P., Kohonen R., et al. Diagnostic standards for dopaminergic augmentation of restless legs syndrome: Report from a World Association of Sleep Medicine – International Restless Legs Syndrome Study Group consensus conference at the Max Planck Institute. *Sleep Med* 2007; 8: 520-530.

16. Geyer J.D., Geyer E.E., Fetterman Z., et al. Epilepsy and restless legs syndrome. *Epilepsy Behav* 2017; 68: 41-44.

17. Hening W.A., Allen R.P., Washburn M. et al. The four diagnostic criteria for restless legs syndrome are unable to exclude confounding conditions („mimics“). *Sleep Med* 2009; 10: 976-981.

18. Högl B., Kiechl S., Willeit J. et al. Restless legs syndrome: a community based study of prevalence, severity, and risk factors. *Neurology* 2005; 64: 1920-1924.

19. Hornyak M., Kotterba S., Trenkwalder C., Members of the Study Group „Motor Disorders“ of the German Sleep Society. Indications for performing polysomnography in the diagnosis and treatment of restless legs syndrome. *Somnologie* 2001; 5: 159–162.

20. Hornyak M., Scholz H., Kohlen R., et al. What treatment works best for restless legs syndrome? Meta-analyses of dopaminergic and non-dopaminergic medications. *Sleep Med Rev* 2014; 18: 153-164.

21. Jiménez-Jiménez F.J., Alonso-Navarro H., Garcéa-Martín E., et al. Genetics of restless legs syndrome: an update. *Sleep Med Rev* 2018; 39: 108-121.

22. Katsanos A.H., Kosmidou M., Konitsiotis S., et al. Restless legs syndrome and cerebrovascular/cardiovascular events: Systematic review and meta-analysis. *Acta Neurol Scand* 2018; 137: 142-148.

23. Kolla B.P., Mansukhani M.P., Bostwick J.M. The influence of antidepressants on restless legs syndrome and periodic limb movements: A systematic review. *Sleep Medicine Reviews* 2018; 38: 131-140.

24. Kuchukhidze G., Toidze I., Khatiasvili I. et al. Prevalence of Restless Legs Syndrome in a Georgian Primary Healthcare Setting: A Pilot Study. *Eur Neurol* 2012; 68: 177–180.

25. Lanza G., Bachmann C.G., Ghorayeb I., et al. Central and peripheral nervous system excitability in restless legs syndrome. *Sleep Med* 2017; 31: 49-60.

26. Merlino A., Serafini F., Robiony M. et al. Clinical experience with pramipexole in the treatment of restless legs syndrome. *Expert Opin Drug Metabol* 2008; 4: 225–235.

27. Möller C., Wetter T.C., Köster J., et al. Differential diagnosis of unpleasant sensations in the legs: prevalence of restless legs syndrome in a primary care population. *Sleep Med* 2010; 11: 161–166.

28. Ondo W. Deep brain stimulation (DBS) for severe restless legs syndrome: therapeutic and physiologic considerations. *Sleep Med* 2017; 31: 93-94.

29. Rizzo G., Li X., Galantucci S., et al. Brain imaging and networks in restless legs syndrome. *Sleep Med* 2017; 31: 39-48.

30. Rottach K.G., Schaner B.M., Kirch M.H., et al. Restless legs syndrome as side effect of second generation antidepressants. *J Psychiatr Res* 2009; 34: 70–75.

31. Rye D.B. The molecular genetics of restless legs syndrome. *Sleep Med Clin* 2015; 10: 227–233.

32. Salminen A.V., Winkelmann J. Restless legs syndrome and other movement disorder of sleep – Treatment update. *Curr Treat Options Neurol* 2018; 20:55.

33. Silber M.H., Becker M., Earley C., et al. Willis-Ekbom Disease Foundation revised consensus statement on the management of restless legs syndrome. *Mayo Clin Proc* 2013; 88: 977–986.

34. Spieler D., Kaffe M., Knauf F. Restless legs syndrome-associated intronic common variant in MEIS1 alters enhancer function in the developing telencephalon. *Genome Res* 2014; 24: 592–603.

35. Szentkirályi A., Fendrich K., Hoffmann W., et al. Incidence of restless legs syndrome in two population-based cohort studies in Germany. *Sleep Med* 2011; 12: 815–820.

36. Szentkirályi A., Völzke H., Hoffmann W., et al. Multimorbidity and the risk of restless legs syndrome in 2 prospective cohort studies. *Neurology* 2014; 82: 2026–2033.

37. Trenkwalder C., Beneš H., Hornyak M., et al. Restless Legs Syndrom (RLS) und Periodic Limb Movement Disorder (PLMD), Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Neurologie

2012. <http://www.dgn.org/>

38. Trenkwalder C., Beneš H., Poewe W., et al. Efficacy of rotigotine for treatment of moderate-to-severe restless legs syndrome: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol* 2008; 7: 595–604.

39. Trenkwalder C., Winkelmann J., Inoue Y., et al. Restless legs syndrome – current therapies and management of augmentation. *Nat Rev Neurol* 2015; 11: 434-445.

40. Trenkwalder C., Beneš H., Grote L., et al. Prolonged release oxycodone-naloxone for treatment of severe restless legs syndrome after failure of previous treatment: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial with an open-label extension. *Lancet Neurol* 2013; 12: 1141-1150.

41. Trenkwalder C., Winkelmann J., Oertel W., et al. Ferric carboxymaltose in patients with restless legs syndrome and non-anemic iron deficiency: A randomized trial. *Mov Disord* 2017; 32: 1478-1482.

42. Walters A.S., Le Brocq C., Dhar A., et al. Validation of the international restless legs syndrome study group rating scale for restless legs syndrome. *Sleep Med* 2003; 4: 121-132.

43. Wetter T.C., Norra C. Restless legs syndrome and periodic limb movement disorder. In: *Sleep Disorders in Neurology*, S. Overeem, P. Reading, Eds. Wiley Blackwell, 2018, 193-210.

44. Wetter T.C., Mitterling T. Diagnosestellung und Therapie des Restless-Legs-Syndroms. *Somnologie* 2016; 20: 309-321.

45. Winkelmann J., Stautner A., Samtleben W., et al. Long-term course of restless legs syndrome in dialysis patients after kidney transplantation. *MovDisord* 2002; 17: 1072–1076.

SUMMARY

THE RESTLESS LEGS SYNDROME (REVIEW)

¹Japaridze G., ^{1,2}Kasradze S., ^{1,3}Maisuradze L., ⁴Popp R., ⁴Wetter Th.C.

¹*Institute of Neurology and Neuropsychology, Tbilisi*; ²*Caucasus International University, Tbilisi*; ³*Ilia State University, Tbilisi, Georgia*; ⁴*Department of Psychiatry and Psychotherapy, University of Regensburg, Germany*

The restless legs syndrome (RLS), also known as Willis-Ekbom disease, is a common sleep related neurological disorder with prevalence between 1 and 10%, increasing with age. Women are more frequently affected than men. RLS is characterized by an urge to move the legs accompanied by uncomfortable and unpleasant sensations in the legs, worsening of complaints during periods of rest, improvement by movement and an increase of symptoms in the evening or at night. In addition, affected patients may also suffer from severe sleep disorders and negative effects on daily activities. There is often a history of RLS among first-degree relatives, especially with the primary form. Among other, comorbidities or causal factors are iron deficiency, terminal renal insufficiency, pregnancy, polyneuropathy, or psychotropic drugs. The etiology of primary (idiopathic) RLS has not been clarified yet; however, genetic factors and dysfunctional dopaminergic neurotransmission as well as alterations of central iron metabolism play an important role. In addition to non-pharmacological treatment such as lifestyle modifications or behavioral strategies, levodopa, dopamine agonists, or anticonvulsants are effective. Opioids may be used in otherwise refractory forms. In the case of secondary or comorbid RLS, treatment of the underlying disease is necessary.

Keywords: Restless legs syndrome - sleep related movement disorder - differential diagnosis – comorbidity – clinical decision-making – treatment.

РЕЗЮМЕ

СИНДРОМ БЕСПОКОЙНЫХ НОГ (ОБЗОР)

Джапаридзе¹ Г.А., Касрадзе^{1,2} С.В., Мансурадзе^{1,3} Л.М., Попп⁴ Р., Веттер⁴ Т.К.

¹Институт неврологии и нейропсихологии, Тбилиси; ²Кавказский международный университет, Тбилиси; ³Государственный университет Ильи, Тбилиси, Грузия; ⁴Регенсбургский университет, отделение психиатрии и психотерапии, Германия

Синдром беспокойных ног (СБН), также болезнь Уиллиса-Экбома, является неврологическим расстройством двигательного характера с распространением от 1-10% и с превалированием среди взрослого населения женского пола. СБН характеризуется неприятными ощущениями в конечностях, которые появляются или обостряются в состоянии покоя вечером или ночью и сопровождаются непреодолимым желанием перемещения нижних конечностей. Симптомы, которые ослабляются или исчезают после моторной активности, усложняют процесс засыпания, нарушают ночной сон и подавляют дневную активность. Семейные случаи СБН отмечаются при первичных формах. СБН часто сопутствует дефициту железа, терминальной стадии почечных болезней, беременности и полинейропатии; иногда индуцирован лекарственными средствами. В случае неизвестной этиологии значимыми патофизиологическими факторами являются генетически обусловленные дисфункции дофаминергической нейротрансмиссии и центрального метаболизма железа. Рекомендованы нефармакологические стратегии лечения; эффективными средствами являются дофаминергические и противосудорожные препараты. При резистентных формах допустимо применение опиоидергических препаратов. В случае вторичного или сопутствующего СБН необходимо лечение основного заболевания.

რეზიუმე

მოუსვენარი ფეხების სინდრომი (მიმოხილვა)

¹გ. ჯაფარიძე, ^{1,2}ს.კასრაძე, ^{1,3}ლ. მაისურაძე, ⁴რ. პოპი, ⁴თ. ვეტერი

¹ნევროლოგიისა და ნეიროფსიქოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი; ²კავკასიის საერთაშორისო უნივერსიტეტი, თბილისი; ³ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო; ⁴რეგენსბურგის უნივერსიტეტი, ფსიქიატრიის და ფსიქოთერაპიის განყოფილება, გერმანია

მოუსვენარი ფეხების სინდრომი (მფს), ასევე ვილის-ეკბომის დაავადება, ძილის დარღვევით მიმდინარე ნევროლოგიური მდგომარეობაა, რომელიც აღენიშნება მოსახლეობის 1-დან 10%-ს, მნიშვნელოვნად უფრო ხშირია ზრდასრულებში და ქალებში. მფს ხასიათდება უსიამოვნო შეგრძნებებით კიდურებში, რომლებიც იწყება ან მწვავედება მოსვენების მდგომარეობაში, ძირითადად, საღამოს ან ღამით დაძინების წინა პერიოდში, და თან ახლავს ფეხების ამოძრავების დაუოკებელი სურვილი. სიმპტომები უკუეითარდება მოტორული აქტივობით, რაც ართულებს ჩაძინების პროცესს, არღვევს ღამის ძილს და შედეგად დაქვეითებულია დღის აქტივობა. მფს-ის ოჯახური შემთხვევები განსაკუთრებით ხშირია პირველადი ფორმებისას. მფს ხშირად თან ახლავს რკინის დეფიციტს, თირკმელების დაავადების ტერმინალურ სტადიას, ორსულობას და პოლინეიროპათიას, ზოგჯერ კი ინდუცირებულია წამლებით. უცნობი ეტიოლოგიის შემთხვევებში მნიშვნელოვან პათოფიზიოლოგიურ ფაქტორებად განიხილება გენეტიკურად განპირობებული დოფამინერგული ნეიროტრანსმისიისა და რკინის ცენტრალური მეტაბოლიზმის დისფუნქციები. მფს-ის დროს მიმართავენ არაფარმაკოლოგიურ სამკურნალო სტრატეგიებს, იყენებენ დოფამინერგულ და ანტიკონვულსიურ მედიკამენტებს, ხოლო რეზისტენტული ფორმებისას ოპიოიდერგულ პრეპარატებს. მეორადი ან თანმხლები მფს-ის შემთხვევაში აუცილებელია ძირითადი დაავადების მკურნალობა.

CLINICAL-PATHOGENETICAL ROLE OF TOLL-LIKE RECEPTOR 2 (RS 5743708) AND INTERLEUKIN-10 (RS 1800896) GENES POLYMORPHISM IN THE COURSE OF HERPES ZOSTER IN ADULTS

Onishchenko N., Riabokon Yu., Riabokon E.

Zaporizhzhya State Medical University, Ukraine

Herpes zoster is one of the global problem of the present time due to rapidly increase of morbidity level. Approximately one third of patients suffer from shingles during their life. The risk of manifestation herpes zoster among the population is about 30%, with a rapid increasing of incidences in the age over 50 years. Each year in Europe and the United States there are about

4-5 new cases of herpes zoster per 1000 population [19,28]. In Ukraine, the incidence is about 12-15 cases per 100,000 population. It is known, that morbidity of herpes zoster increasing with age, and reaches 10 cases per 1000 population [17,19]. The relapsing courses rate is regularly increasing and amounting for about 14 cases per 1000 population annually [17]. Only about

3% of patients with herpes zoster are hospitalized, which leads to untimely appointment of specific treatment, severe course of the disease and development complications [1]. The hospitalization rate of patients with shingles for ages more than 85 years is 75 times higher compared with patients younger than 30 years. Mortality rate from herpes zoster worldwide ranges from 0.017 to 0.465 cases per 100,000 population annually. According to some authors reported, up to 1% of hospitalized patients death with diagnosis "Herpes zoster" [17,19].

Reactivation of herpes zoster and severe course of the disease depends primarily on the age of patient, which is associated with a decrease in the activity of cellular immunity in elderly [15]. Female sex, the presence of comorbid pathology, trauma or operations in history are also risk factors for manifestation of shingles [18]. It has been proved that psychological stress during the six months contributes to development of herpes zoster and complicated by postherpetic neuralgia [21]. It should be noted that the family history of patients with herpes zoster included the presence of cases of the diseases in relatives [25]. Recently, the level of herpes zoster has morbidity rapidly rased among immunocompetent young and middle-aged people [6].

Thus, currently actual the study of the pathogenetic aspects of herpes zoster. A special place in the immunopathogenesis of varicella zoster virus reactivation and manifestation of shingles occupies the Th1-type cellular immunity [2]. The insufficiency of T-cell immunity leads to increase viral load in human blood and caused dissemination and generalization of infection [12]. An important role in the regulation of immune response is occupied by cytokines and the state of their immunoregulatory mechanisms. The production of cytokines by innate and acquired immunity is an important component of immune defense from varicella zoster virus [5]. Proinflammatory cytokines provide induction of local and systemic inflammation, anti-inflammatory - participate in limiting the inflammatory process and regulate the severity of lesions [7]. A special role is paid by Toll-like receptors, which are one of the most important signaling receptors of the immune system, performing the first line of protection against the infectious agent and activating production of cytokines by immunocompetent cells. Localized on the membrane, endosomes, or in the cytoplasm of immunocompetent cells toll-like receptors 2 specifically recognize lipoproteins and glycoproteins of bacteria cell, and dysfunction in their signaling system leads to persistence and reactivation of bacterial infections [16]. However, there are a few scientific studies that prove the role of cells toll-like receptors 2 in herpesvirus infections [14].

At the present time much attention is given to study single-nucleotides polymorphism of genes encoding activity of cytokines [23]. Investigation of interleukins genetic polymorphism is used for prognosis manifestation and severity of the disease, for prescribing adequate therapy and for prognosis of reconvalescence [4]. In our opinion, it is reasonable to determine the role of IL-10 and Toll-like receptors type 2 genes polymorphism in patients with shingles. It is known that IL-10 has inhibition function for inflammation and synthesis proinflammatory cytokines [23, 24]. By synthesizing many cells, IL-10 suppresses effector functions of macrophages, T cells, natural killers, neutrophils, is a co-stimulator of proliferation and maturation of thymocytes, chemotaxis [23], enhances the synthesis of mast cells, B cell proliferation and secretion of immunoglobulins, weakens the effect angiotensin II and restores vascular endothelium [24], has an analgesic effect [3]. It has been shown that increase in IL-10 level is important for produce immunity in varicella zoster virus infection, which affects the incidence of recurrences and

severity of the disease [11,13]. Thus, at the moderate course of herpes zoster in blood patients was registered increase of IL-10 levels, which indicated adequate immunological response to virus. Instead, in severe forms of the disease, the inadequate immunological reactivity of the organism was characterized by a unchanged level of IL-10 [2,11]. According to the other scientists, it was found that due to immune complexes exposed to macrophages, the development of IL-10 may increase sharply, what finally resulting to decrease specific immunity and chronization infection [20]. For the last time, an attempt has been made to find out the role of the single-nucleotide polymorphism of IL-10 gene in stability to herpesvirus infections [22]. The solitary studies have shown that toll-like receptors 2 also involve in the immunological response in varicella zoster virus infection, in particular the quality of immune reactivity of cytokines is due to toll-like receptors 2 activity [26].

The aim of the work – to determine the role of toll-like receptor 2 (rs 5743708) and interleukin-10 (rs 1800896) genes polymorphism in the course of herpes zoster in adults.

Material and methods. This study included 50 adult patients with herpes zoster who were treated at the Department №1 of the communal institution "Zaporizhzhia Regional Clinical Infectious Disease Hospital" of Zaporizhzhia Regional Council. The age of the patients ranged from 27 to 85 years and made up 66.5 [55.0; 77.0] years. Among the hospitalized patients there were 19 (38.0 %) men and 31 (62.0 %) women. For the first stage of the analysis of obtained data, the patients were divided into groups depending on the severity of shingles, which was determined based on the severity symptoms of intoxication, the duration and abundance of rash, the presence or absence of complications [27]. The moderate course of the disease was registered in 35 (70 %) patients, severe – in 15 (30 %) patients. At the next stage of the study all patients with shingles were divided into groups depending on the polymorphism of gene IL-10 (rs 1800896): 21 patients with the genotype TT, 14 patients with the genotype CC. Depending on the genetic polymorphism of the gene toll-like receptor 2 (rs 5743708) there were formed 3 groups: 6 patients with genotype AA, 2 patients with genotype AG, 42 patients with genotype GG. All patients were performed traditional clinical, laboratory and instrumental tests. All patients had a negative blood test for antibodies to the human immunodeficiency virus. All patients were included into the study randomly basis and by informed consent. The control group consisted of 40 healthy individuals who hadn't been sick of herpes zoster before. The age of persons of the control group ranged from 35 to 87 years, made up 64.5 [52.5, 73.5] years and weren't statistically different from the age of the examined patients ($p > 0.05$).

The genotype of the IL-10 (rs1800896) and toll-like receptor 2 (rs 5743708) genes polymorphism were performed using CFX-96 Touch polymerase chain reaction real-time product detection system («Bio-Rad Laboratories, Inc.», USA) using NP-512-100 (RF) kits. Special investigations were conducted at the ZSMU Scientific medical-laboratory center (Chief – Doctor of Medicine, Professor A. V. Abramov).

Statistical data processing was performed in «STATISTICA for Windows 13» (StatSoftInc., №JPZ804I382130ARC10-J) by the formed patient database. To compare allele frequencies between different groups, the χ^2 method was used. Relatively significant differences were considered at $P < 0.05$. The odds ratio (OR) was calculated using the formula: $OR = ad / bc$, where «a» is the frequency of a particular allele in the group of patients with herpes zoster, «b» is the frequency of a particular allele in

the comparison group, «c» and «d» are the total frequency of other alleles in the study and comparison groups, respectively. The boundaries of 95% confidence interval (CI) for OR were calculated using the Woolf method [13].

Results and their discussion. As a result of studies of toll-like receptor 2 (rs 5743708) gene polymorphism in patients with herpes zoster it has been established that genotype AA was associated with manifestation of shingles in adults, as evidenced by detection of this genotype in 12.0 % patients against absence of this genotype (p = 0.02) in healthy people who hadn't been sick of herpes zoster before. The analysis of influence toll-like receptor 2 (rs 5743708) gene polymorphism on the severity of shingle shown that genotype AA was significantly more registered in patients with moderate course of the disease compared with healthy persons ($\chi^2=7.83$, $p=0.02$) (Table 1). The significantly higher frequency of registration the genotype AA of gene toll-like receptor 2 (rs 5743708), which revealed in our study, allow to approve that carriage of this gene was associated with a high risk of varicella zoster virus reactivation and manifestation of shingles, moderate course (0.120 vs. 0.00, OR=11.83, 95% CI=0.65-216.71).

Our studies coincide with the results of other researches which proved association of toll-like receptor 2 activity with the quality of immune response when in infected varicella zoster virus. The pathogen activates synthesis of proinflammatory interleukins (IL-6, IL-8, TNF α) using toll-like receptors 2, level of which determines activity of the inflammatory process and possible development of hepatitis, bronchitis, pneumonia, encephalitis,

thrombocytopenia [26]. Also, it has been researched the role of genetic polymorphism of toll-like receptor 2 (Arg677Trp) in the development of cytomegalovirus infection in adults [14]. However, in modern literature we didn't find researches on studying the role of toll-like receptor 2 (rs 5743708) gene polymorphism in the manifestation and course of herpes zoster.

According to the results of the comparison of different genotypes of IL-10 gene (rs 1800896) in patients with herpes zoster and healthy people, no significant difference was detected ($p>0.05$). Thus, the genotype TT was detected in 35 (70,0%) patients with herpes zoster and in 32 (80,0%) healthy people ($p>0,05$), and the genotype CC was registered in 8 (20,0%) patients and 15 (30%) healthy people ($p>0.05$). However, it has been established that the polymorphism of gene IL-10 (rs 1800896) affected the severity of the herpes zoster in adults. It should be noted that in patients with severe course of the disease the genotype TT was registered 1.6 times more often ($\chi^2=5.56$, $p=0.02$), compared with patients with moderate course (Table 2). The additive inheritance model showed association of the genotype TT of gene IL-10 (rs 1800896) with a high risk of developing severe course of shingles (0.933 vs. 0.6, $\chi^2=5.56$, OR=9.33, 95% CI=1.10-79.21). The analysis of determining the role of IL-10 gene (rs 1800896) polymorphism in formation of herpes zoster complications has shown that patients with complicated course of the disease 1.7 times more often revealed the genotype TT and 2.5 times less detected genotype CC ($\chi^2 = 4,76$, $p=0.03$), compared with patients with uncomplicated course (Table 2).

Table 1. Comparison of the frequency of registration of toll-like receptor 2 (rs 5743708) gene polymorphism in patients with herpes zoster, depending on the severity of the disease, abs (%)

Indicator	Control group (n=40)	Patients with herpes zoster (n=50)	Patients with herpes zoster	
			moderate course (n=35)	severe course (n=15)
Genotype AA	0	6 (12,0 %) ¹	6 (17,1 %) ¹	0
Genotype AG	6 (32,0 %)	2 (4,0 %)	0	2 (13,3 %)
Genotype GG	34 (68,0 %)	42 (84,0 %)	29 (82,9 %)	13 (86,7 %)

notes: ¹ – the difference is significant, compared with healthy people ($p<0.05$)

Table 2. Comparison of the frequency of registration of IL-10 gene (rs 1800896) polymorphism in patients with different courses herpes zoster, abs (%)

Indicator	Patients with shingles (n=50)		χ^2 , p
	genotype TT (n=35)	genotype CC (n=15)	
Severe course (n = 15)	14 (93,3 %)	1 (6,7 %)	5,56, p=0.02
Shingles with complications (n=37)	29 (78,4 %)	8 (21,6 %)	4,76, p=0.03
Neurological (n=7)	7 (100 %)	0 (0 %)	2,38, p=0.12
Ophthalmic (n = 21)	18 (75,7 %)	3 (14,3 %)	1,54, p=0.21
Visceral (n = 10)	8 (80,0 %)	2 (20,0 %)	0,02, p=0.88
Postherpetic neuralgia (n = 3)	3 (100 %)	0 (0 %)	0,90, p=0.34
Relapsing course (n = 4)	1 (25,0 %)	3 (75,0 %)	4,19, p=0.04
Clinical forms, in particular:			
➤ localized (n = 42)	32 (76,2 %)	10 (23,8 %)	11,94, p=0.0003
➤ generalized (n = 3)	3 (100 %)	0 (0 %)	
➤ disseminated (n = 5)	0 (0 %)	5 (100 %)	
Localization of lesion in localized forms (n = 42):			
➤ trigeminal nerve (n = 33)	28 (84,8 %)	5 (15,2 %)	6,36, p=0.01
➤ paravertebral ganglia (n = 9)	4 (44,5 %)	5 (55,5 %)	
Secondary bacterial infection (n = 10)	6 (60,0 %)	4 (40,0 %)	2,73, p=0.09

Statistically significant higher frequency of registration the genotype TT gene IL-10 (rs 1800896) in patients with severe and complicated course of disease suggests association of IL-10 gene polymorphism with a high risk of developing severe complicated course of herpes zoster ($\chi^2 = 5,56$, $p = 0.02$, OR = 9.33, 95% CI = 1.10-79.21 and $\chi^2 = 4.76$, $p = 0.03$, OR = 4.23, 95% CI = 1.10-16.19, respectively). Analysis of the role of IL-10 gene (rs 1800896) polymorphism in the formation of certain complications of shingles in adults didn't reveal statistically significant differences ($P > 0.05$) (Table 2).

In modern literature there are solitary scientific researches which concern to determining the role of cytokines genes polymorphism in the course of herpes zoster. As a results of some researches [9], a special role of the haplotype ATA IL-10 has been proved, presence of which leads to insufficient production of IL-10 and causes reactivation of the virus. According to another study [10], the increased risk of development of herpes zoster is associated with the haplotype GCC, allele 1082, IL-10. Also there are scientific works that shown association with the genetic polymorphism of the main complex of histocompatibility HLA (Complex 5) and manifestation of shingles [8].

The analysis of the dependence of clinical course of herpes zoster in adult from the polymorphism of IL-10 gene (rs 1800896) showed that genotype CC was detected in all patients with disseminated form of shingles and was registered 4,2 times more often ($\chi^2 = 11,94$, $p = 0,0003$), compared with patients with a localized form of the diseases.

In addition, as a result of analyzing various localizations of lesions in localized forms, it was found that in patients with damage paravertebral ganglia genotype CC of gene IL-10 was detected 3.65 times more often ($\chi^2 = 6.36$, $p = 0.01$), compared with patients with affect trigeminal nerves. That is, the detected association of IL-10 (rs 1800896) gene polymorphism with prevalence and localization of herpes zoster lesions allows to consider the genotype CC as a genetically determined factor of development disseminated form, and also affect paravertebral ganglia (1.0 vs. 0.238, $\chi^2 = 11.94$, OR = 34.05 95% CI = 1.73 - 668.68 and 0.556 vs. 0.152, $\chi^2 = 6.36$, OR = 7.00 95% CI = 1.38 - 35.48, respectively). In available literature we haven't found researches on studying the role of IL-10 gene polymorphism in the formation of certain clinical forms of herpes zoster.

As a result of the analysis of registration frequency of recurrence course of herpes zoster depending on the genotypes of gene IL-10 (rs 1800896), it was found that in the majority (75.0%) part of patients with relapses was detected genotype CC, compared with patients with primary manifestation of shingles ($\chi^2 = 4.19$, $p = 0.04$) (Table 1).

Conclusion.

1. The genotype AA of gene toll-like receptor 2 (rs 5743708) was associated with reactivation of varicella zoster virus and manifestation of herpes zoster, moderate course (0.120 vs. 0.00, OR = 11.83, 95% CI = 0.65 - 216.71)

2. The genotype TT of gene IL-10 (rs 1800896) was associated with a high risk of development severe ($\chi^2 = 5.56$, $p = 0.02$) and complicated ($\chi^2 = 4.76$, $p = 0.03$) course of herpes zoster.

3. The genotype CC of gene IL-10 (rs 1800896) was associated with the development of disseminated form of shingles in adults ($\chi^2 = 11,94$, $p = 0,0003$). In the formation of localized form of herpes zoster in carriers of genotype CC more often were detected damage paravertebral ganglia ($\chi^2 = 6.36$, $p = 0.01$) and formation relapsing course of the disease ($\chi^2 = 4.19$, $p = 0.04$).

REFERENCES

1. Иванова М.Ф., Евтушенко И.С., Макачук О.А. Постгерпетическая опоясывающая невралгия и ее лечение амантадином (ПК-МЕРЦ). Міжнародний неврологічний журнал. 2012;8(54):77-84.
2. Железничкова Г.Ф., Скрипченко Н.В., Скрипченко Е.Ю. Вирус ветряной оспы-опоясывающего герпеса и иммунный ответ. Российский иммунологический журнал. 2013;7(16):35-48.
3. Карпова М.И. Изучение уровня цитокинов у больных мигренью и головной болью напряжения. Цитокины и воспаление. 2011;10:32-36.
4. Пузырева Л.В., Сафонов А.Д. Генетический полиморфизм цитокинов: прошлое и будущее. Инфекция и иммунитет. 2016;6(2):103-108.
5. Arvin A.M. Humoral and cellular immunity to varicella-zoster virus: an overview. J. Infect. Dis. 2008;197(2):58-60
6. Borbinha C., Marto J. P., Calado S., Viana-Baptista M. A Young Woman with Ischemic Stroke: Should We Pay More Attention to Varicella Zoster Infection. Case Rep Neurol. 2016;8(2):145-150.
7. Buchbinder E.I., McDermott D.F. Interferon, interleukin-2, and other cytokines. J Hematology/oncology Clin.of North America. 2014;28(3):571-583.
8. Crosslin D. R., Carrell D. S., Burt A., Kim D. S., Underwood J. G. et al. Genetic variation in the HLA region is associated with susceptibility to herpes zoster. Genes and Immunity. 2015;16(1):1-7.
9. Cho J. W., Shin D. H., Lee K. S. Polymorphism of the IL-10 gene is associated with susceptibility to herpes zoster in Korea. J Dermatol Sci. 2007;45(3):213-215.
10. Haanpaa M., Nurmikko T., Hurme M. Polymorphism of the IL-10 gene is associated with susceptibility to herpes zoster. Scand J Infect Dis. 2002;34(2):112-114.
11. Hai-Jun Shi, Zhi-Qiang Cui. Correlation of serum inflammatory cytokine and immunoglobulin content with post-herpetic neuralgia in patients with acute herpes zoster. Journal of Hainan Medical University. 2017;23(1):97-100.
12. Hao M., Wang X., Du J., Liu L., Jiao Y. et al. Cytokine levels are associated with the severity of varicella infections. Infect Dev Ctries. 2015;9(2):190-196.
13. Hoppe F. M., Hoppe D. J., Walter S. D. Explaining odds ratios as conditional risk ratios. Journal of Clinical Epidemiology. 2018;97:123-124.
14. Jablonska A, Paradowska E, Studzinska M, Suski P, Nowakowska D. et al. Relationship between toll-like receptor 2 Arg-677Trp and Arg753Gln and toll-like receptor 4 Asp299Gly polymorphisms and cytomegalovirus infection. International Journal of Infectious Diseases. 2015; 25: 11-15.
15. Johnson R. W., Alvarez-Pasquin M.-J., Bijl M., Franco E., Gaillat J., Clara J. G. et al. Herpes zoster epidemiology, management, and disease and economic burden in Europe: a multidisciplinary perspective. Therapeutic Advances in Vaccines. 2015;3(4):109-120.
16. Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. Front Immunol. 2014;5:461.
17. Kawai K, Gebremeskel B.G, Acosta C. Systematic review of incidence and complications of herpes zoster: towards a global perspective. BMJ Open. 2014;4(6):e004833.
18. Kawai K, Yawn B. Risk Factors for Herpes Zoster: a Systematic Review and Meta-Analysis. Open Forum Infectious Diseases. 2017;4(1): 313-314.

19. Koshy E, Mengting L, Kumar H, Jianbo W. Epidemiology, treatment and prevention of herpes zoster: A comprehensive review. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2018;84(3):251-262.
20. Kugelberg E. Opposing effects of IL-10. *Nature Reviews Immunology.* 2014;14:356-357
21. Marin M, Harpaz R, Zhang J, Wollan P. C, Bialek S. R. et al. Risk Factors for Herpes Zoster Among Adults. *Open forum infectious diseases.* 2016; 3(3):ofw119.
22. Moraru M., Cisneros E., Gomez-Lozano N., de Pablo R., Portero F. et al. Host genetic factors in susceptibility to herpes simplex type 1 virus infection: contribution of polymorphic genes at the interface of innate and adaptive immunity. *J Immunol.* 2012;188(9): 4412–4420.
23. Rojas J. M., Avia M., Martin V., Sevilla N. IL-10: A Multifunctional Cytokine in Viral Infections. *Journal of Immunology Research.* 2017:6104054.
24. Trifunovic J., Miller L., Debeljak Z., Horvat V. Pathologic patterns of interleukin 10 expression-a review. *Biochem Med (Zagreb).* 2015;25(1):36–48.
25. Tseng H. F, Chia M., Hung P., Harpaz R., Schmid D. S., LaRussa P., et al. Family history of zoster and risk of developing herpes zoster. *International Journal of Infectious Diseases.* 2018;66: 99–106.
26. Wang, Kurt-Jones. VZV activates inflammation cytokines in Human Monocytes and macrophagocytes via TLR2. *Journal Virology.* 2015; 79(20):12658-66.
27. Werner R. N., Nikkels A. F., Marinovic B., Schafer M., Czarnecka-Operacz M. et al. European consensus-based (S2k) Guideline on the Management of Herpes Zoster – guided by the European Dermatology Forum (EDF) in cooperation with the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV), Part 2: Treatment. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2016;31(1):20–29.
28. Yuan Liu. Advances in Epidemiological Studies of Herpes Zoster. *J Infection International.* 2015;4(4):116-120.

SUMMARY

CLINICAL-PATHOGENETICAL ROLE OF TOLL-LIKE RECEPTOR 2 (RS 5743708) AND INTERLEUKIN-10 (RS 1800896) GENES POLYMORPHISM IN THE COURSE OF HERPES ZOSTER IN ADULTS

Onishchenko N., Riabokon Yu., Riabokon E.

Zaporizhzhya State Medical University, Ukraine

The study included 50 adult patients with shingles by which analyzed the clinical course of the disease depending on the gene polymorphism of interleukin-10 (rs 1800896) and toll-like receptor 2 (rs 5743708). According to the results of our study, it was established that genotype AA of gene Toll-like receptor 2 was associated with a high risk of Varicella-Zoster virus reactivation and manifestation of herpes zoster, moderate course. Analysis of the IL-10 gene polymorphism showed that genotype TT was associated with a risk of the development severe complicated course of shingles. The genotype CC of gene IL-10 caused to formation of recurrence course of the disease, and also significantly more frequently registered in patients with disseminated form of herpes zoster compared with patients with localized and generalized forms of the disease ($\chi^2=11,94, p=0.0003$). Subject to the formation of localized form in carriers of genotype CC more often was occurred damage paravertebral ganglia ($p=0.01$).

Keywords: herpes zoster, interleukin-10, toll-like receptors 2, gene polymorphism.

РЕЗЮМЕ

КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ТОЛЛ-ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 2 (rs 5743708) И ИНТЕРЛЕЙКИНА-10 (rs 1800896) В ТЕЧЕНИИ ОПОЯСЫВАЮЩЕГО ГЕРПЕСА У ВЗРОСЛЫХ

Онищенко Н.В., Рябокони Ю.Ю., Рябокони Е.В.

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

В исследование включено 50 взрослых больных опоясывающим герпесом, которым проведен анализ клинического течения заболевания в зависимости от полиморфизма генов интерлейкина-10 (rs 1800896) и толл-подобного рецептора 2 (rs 5743708).

По результатам проведенного исследования установлено, что генотип AA гена толл-подобного рецептора 2 ассоциируется с высокими шансами реактивации вируса Варицелла-Зостер и манифестации опоясывающего герпеса, среднетяжелого течения. Анализ полиморфизма гена ИЛ-10 показал, что генотип ТТ ассоциируется с риском развития тяжелого осложненного течения опоясывающего герпеса. Генотип СС гена ИЛ-10 обуславливал формирование рецидивирующего течения заболевания, а также достоверно чаще регистрировался у больных диссеминированной формой герпеса зостера, в сравнении с пациентами с локализованной и генерализованной формами заболевания ($\chi^2=11,94, p=0.0003$). При условии формирования локализованной формы у носителей генотипа СС чаще имело место поражение паравертебральных ганглиев ($p=0.01$).

რეზიუმე

ტოლ – მაკვარი რეცეპტორი 2 (rs 5743708) და ინტერლეიკინი - 10 (rs 1800896) გენების პოლიმორფიზმის როლი სარტყლისებრი ჰერპესის მიმდინარეობისას მოზრდილებში

ნ. ინიშჩენკო, ი. რიაბოკონი, ე. რიაბოკონი

ზაპოროჟიეს სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

გამოკვლევაში ჩართული იყო სარტყლისებრი ჰერპესით დაავადებული 50 ზრდასრული პაციენტი, რომელთაც ჩატარდა დაავადების კლინიკური მიმდინარეობის ანალიზი, დამოკიდებული ინტერლეიკინ-10 (rs 1800896) და ტოლ-მაკვარი რეცეპტორი 2 (rs 5743708) გენის პოლიმორფიზმზე. ჩატარებული კვლევის შედეგების მიხედვით დადგინდა, რომ AA ტოლ-მსგავსი რეცეპტორი 2 გენის გენოტიპი ასოცირდება ვარიცელა-ზოსტერის ვირუსის რეაქტივაციის მაღალი შანსებით და სარტყლისებრი ჰერპესის მანიფესტაციით, ზომიერად მძიმე მიმდინარეობით. IL-10 გენის პოლიმორფიზმის ანალიზმა აჩვენა, რომ TT გენოტიპი ასოცირებულია სარტყლი-

სებრი პერპესის მიმე, გართულებული მიმდინარეობის რისკთან. IL-10 გენის CC გენოტიპმა განაპირობა დაავადების რეციდივიული მიმდინარეობა, რაც ასევე უფრო ხშირად აღინიშნებოდა დისიმინირებული გენოტიპის პერპესის მქონე პაციენტებში, ვიდრე და-

ავადების ლოკალიზებული და გენერალიზირებული ფორმების მქონე პაციენტებში ($\chi^2=11,94$, $p=0.0003$). CC გენოტიპის ლოკალიზებული ფორმის მატარებლებში აღგილი ჰქონდა პარავერტებრალური განვლიების უფრო ხშირ დაზიანებას ($p=0.01$).

THE ROLE OF PRO12ALA POLYMORPHISM OF THE PPAR- γ GENE IN THE GENESIS OF THE GESTATIONAL WEIGHT GAIN

¹Ostafichuk S., ¹Henyk N., ²Rossokha Z.

¹Ivano-Frankivsk National Medical University, Department of Obstetrics and Gynecology;

²State Institution "Reference Center for Molecular Diagnostics of the Ministry of Health of Ukraine", Kyiv, Ukraine

During pregnancy, the major changes in the metabolism of lipids and glucose occur in the maternal organism. The most variable of them is the fat component. Its increase during pregnancy is directly proportional to the gestational weight gain (GWG). Normally there is an intensive increase in fat stores in the first two trimesters with a subsequent decrease until the birth. There is an intensive synthesis of fats, hypertrophy of fat cells, decrease in lipolysis, which together lead to the increase of fat depot [1,2]. After 30 weeks of pregnancy, maternal and fetal energy is provided mainly due to glucose income. During the last 10 weeks, the transition of fatty acids and glucose increases through the placenta to the fetus, in which fat deposits increase progressively. Thus, energy consumption is sharply increased and the exogenous food intake can't adequately cover the rising energy input. The energy supply process continuity begins to be supported by the decomposition of accumulated fats under the influence of the hormones of the placenta. The increased utilization of fatty acids in the liver and hyperinsulinemia lead to an increase of the synthesis of triglycerides, cholesterol, low-density lipoproteins and very low-density lipoproteins [3]. After delivery in women with the recommended GWG the percentage of the fat content corresponds to the periconceptual level. However, excessive gestational weight gain leads to excessive accumulation of adipose tissue, a slow postpartum reduction with the possible development of metabolic syndrome [4].

Nowadays, there are many genes which provide regulatory pathways for weight gain through the development and metabolism of adipocytes. Among them, leptin receptors, melanocortin receptor-4, peroxisome proliferator-activated γ -receptors (PPAR- γ), neuropeptide Y, and ghrelin play a significant role [22]. PPAR- γ plays a key role in regulation of adipocyte differentiation, energy storage, insulin sensitivity, and lipid metabolism [24]. PPAR- γ controls not only the expression of the main lipid metabolism enzymes (lipoprotein lipase, binding and transport protein fatty acids, hormone-sensitive lipase), but also secretory proteins such as leptin and tumor-necrosis factor, thus affecting insulin sensitivity to skeletal the muscles [17].

A mutation detected on the B exon of the NH₂-terminal of the PPAR- γ gene, substituting alanine for proline at the position 12 (PPAR- γ Pro12 Ala SNP) (rs1801282), causes moderate decrease of its transcriptional activity and adipogenic potential [25]. There are many studies aimed at identifying the association between the Pro12Ala polymorphism of the gene PPAR- γ and overweight, type 2 diabetes and obesity. However, the results for

today are controversial. Several meta-analyzes indicate the direct link between this gene variant with body mass index (BMI) and the percentage of fat mass in different populations. Yao Y.S. et al. [29], Swarbrick M.M. et al. [27] showed a direct relationship between Pro12Ala polymorphism and BMI in individuals with obesity. Mattevil V.S. et al. [20] showed a positive association of this genetic variant with overweight only in men and the absence in women in the Brazilian population. Becer E. et al. [8] in Turkish population did not find a statistically significant association between the PPAR- γ Pro12Ala genotype and obesity, but obtained a significant effect on the lipid and adipokine levels. No association was found between this polymorphism and BMI by Buzzetti R. et al. in an Italian study [10], Swarbrick M.M. et al. in German women [27]. In the Ukrainian study Vilchynsky H.V. et al. [1] proved that women with the Ala12 genotype had higher atherogenic lipid levels than homozygous Pro patients.

The results of works performed with pregnant women are also different. Alison M. et al. [6], Chavan N.R. et al. [11] have proven the association of Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene with elevated GWG in pregnant women with prepregnancy obesity. Kolapo M.A. et al. [19] reported a positive correlation between this polymorphism and GWG in women with a high-energy diet. Dubossarska Z.M. and Duka Yu.M. [2] found a positive correlation of Pro12Ala polymorphism of PPAR- γ gene, increase in glycosylated hemoglobin concentrations in overweight pregnant women. Thus, it can be assumed that such controversial conclusions are associated with the involvement of the individuals of different age, race, lifestyle, concomitant diseases such as obesity, diabetes, hypertension to the study, and other researchers agree with this [8,14].

Weight gain is well recognized as an important determinant of pregnancy outcome. The problem of pathological GWG is very actual in terms of prediction of obstetric and perinatal complications: macrosomia, gestational hypertension, abnormal glucose tolerance, frequency of operative delivery, changes in weight and development of obesity after childbirth [7]. We can presume that if genetic variants associated with obesity and diabetes lead to a pathological weight gain during pregnancy, then excessive GWG can be a marker of genetic predisposition to the development of metabolic diseases. Nowadays, in vast majority of studies, including those done in Europe and the United States, we have not found the effect of Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene on the GWG in women without obesity and diabetes mellitus. Therefore, in our scientific research we have

planned to determine the role of this gene polymorphism with GWG in a group of women of reproductive age, with normal prepregnancy BMI, single-pregnancy, same population and race, and without severe chronic diseases.

The aim of the study was to determine the role of Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene, associated with lipid and carbohydrate metabolism, in the genesis of gestational weight gain.

Material and methods. There were studied 97 pregnant women with normal prepregnancy weight, who visited antenatal clinics in Ivano-Frankivsk, Ukraine during 2016-2018. Patients under 18 years old, diagnosed with multiple pregnancy, severe chronic diseases, overweight, obesity and diabetes mellitus were excluded from the study. All women have signed "Informed consent to participate in the study". The research design was approved by the Ethics Committee of the Ivano-Frankivsk National Medical University (№ 93/16 from 01.12.2016).

59 (60.8±5.0%) of the examined patients were nulliparous and 38 ((39.2±5.0) %) were multiparous women. The recommended GWG was diagnosed in 33 ((34.0±4.8) %), inadequate in 19 ((19.6±4.0) %), and excessive in 45 (46.4±5.1%) patients. The average age of patients was 27.8±3.1 years (95% CI 27.4-28.2) and did not differ significantly in the groups of women with different GWG ($p>0.05$). The average height of the patients was 165.1±5.2 cm (95% CI 164.3-165.9) and also did not differ between women with different weight gain ($p>0.05$). Prepregnancy weight was 55.2±4.8 kg (95% CI 54.4-56.0), BMI 20.3±1.5 kg/m² (95% CI 20.1-20.5), which corresponded to the normal weight due to recommendations of the Institute of Medicine (IOM) in the USA (2009) and the Order of the Ministry of Health of Ukraine №417 (2011) (BMI 18.5-24.9 kg/m²) [16, 4]. In our research 84 (86.6±3.5%) pregnant women were married and 13 (13.4±3.5%) were single. Half of women (52.6±5.1%) received higher education, (41.2±5.0%) – special education and (6.2±2.4%) of patients were without education. More than half of individuals (66.5±4.8%) were nonsmokers before and during pregnancy, 24 (24.7±4.4%) stopped smoking during pregnancy, and 9 (9.3±2.9%) continued to smoke throughout the gestational period. Antenatal care with nutrition and physical activity recommendations was carried out in accordance with existing Ukrainian guidelines [4].

Prepregnancy weight status of patients was assessed with BMI (kilogram/meter²) calculated from prepregnancy weight and height. Information on the body weight of women before pregnancy was obtained by interviewing patients and medical records. Anthropometry was performed at the first prenatal visit (9.8±1.4 weeks (95% CI 9.6-10.1)), during the 22-24 weeks, and before the delivery. Patients were weighted on the electronic scale to the nearest 0.1 kg. Height was measured using a digital stadiometer with an accuracy of 1.0 cm. GWG was evaluated by the difference between the weight before delivery and prepregnancy. The results were compared with the recommended weight gain for women with normal BMI – 11.5-16 kg – according to the recommendations of the Institute of Medicine (IOM) the USA (2009) and the Order of the Ministry of Health of Ukraine № 417 (2011) [4,16].

Study of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene was performed at the State Institution «Reference Center for Molecular Diagnostics of the Ministry of Health of Ukraine» (Kyiv). Genomic DNA for molecular-genetic studies was isolated from peripheral blood using a commercial «innuPREP Blood DNA Mini Kit» test system (Analytik Jena, Germany) using centrifuge filters. For the determination of the polymorphic variants of the genes, PPAR- γ (Pro12Ala) rs 1801282, modified protocols were used using the polymerase chain reaction (PCR) method and the subsequent analysis of restriction fragment length polymorphism (PDRF) (Canbay E. et al., 2012). Visualization was done by using the Vitran computer program (Fig. 1).

Lipid profile was found on the basis of the laboratory determination of the concentration of triglycerides (TGs) (Triglycerides SpL (SpinLab LLC, Ukraine)), total cholesterol (Cholesterol SPL (LLC SpinLab, Ukraine)), high-density lipoproteins, low-density lipoproteins and very low-density lipoproteins (HDL, LDL, VLDL) ("HDL-Cholesterol SPL" (LLC "SpinLab", Ukraine)). To study the carbohydrate status, the glucose and insulin at baseline were measured by the immunoassay method (Insulin Test System-2425-300 (Monobind Inc., USA)). Indices of insulin resistance we calculated by the formula for the homeostasis model assessment: HOMO-IR: Fasting glucose (mmol/l) x Fasting insulin (μ U/ml) / 22.5. Biochemical analyses we performed in according to standard methods [3] in the centralized clinical and diagnostic laboratory of the Regional Perinatal Centre (Ivano-Frankivsk). The determination was carried out in the first and third trimesters of pregnancy.

Statistical analyses were carried out using Statistical program "Statistica 6.0". We calculated the average arithmetic mean (M), the mean standard deviation (m), odds ratio (OR), confidence interval (CI), correlation (r), reliability of the difference between the results of the study (p). A two-tailed p -value in $p<0.05$ was considered statistically significant.

Results and their discussion. The Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene in 97 pregnant women with normal prepregnancy weight was studied. 69 (71.7±4.6%) patients were with Pro/Pro genotype, 26 (35.6±7.1%) – Pro/Ala genotype, and 2 (4.4±3.1%) – Ala/Ala genotype. The number of Ala/Ala homozygous patients was very small ($n=2$), so for the purpose of providing adequate statistical power, we combined pregnant women with pathological polymorphism Pro/Ala and Ala/Ala into one group – carriers of Ala allele – 28 (28.9±4.6%). The frequency of the variant of carriers of Ala-alleles 0,28 in our study is within the limits of the European population [21].

Prepregnancy weight among Pro/Pro pregnant women was 53.3±4.2 kg (95% CI 51.4-55.2), BMI 19.7±0.8 kg/m² (95% CI 19, 5-19.9), and carriers of Ala allele 59.5±4.1 kg (95% CI 58.0-61.0), BMI 22.1±1.7 kg/m² (95% CI 21.5-22.7), which were not significantly different ($p>0.05$). We did not find a significant difference between social status, education, parity in Pro/Pro genotype women and carriers of Ala allele the PPAR- γ ($p>0.05$). We diagnosed that the GWG in homozygous Pro-allele carriers was 12.1±2.6 kg (95% CI 11.1-13.1), in carriers of Ala allele



Fig. 1. Electrophoregram distribution of restriction fragment of gene PPAR- γ (Pro12Ala).

Specimens 1, 9, 15 - Pro/Ala genotype; specimens 2-8, 10-14, 16 - Pro/Pro genotype; specimen 17 is a molecular weight marker

19.5±2.7 kg (95% CI 17.8-21.2). Consequently, in women with PPAR-γ Ala12 polymorphism weight gain was 1.6 times significantly higher than the Pro/Pro genotype (p<0.05). The distribution of genotypes of PPAR-γ gene polymorphism in pregnant women with different GWG is represented in Table 1.

We found 84.8±6.2% homozygous Pro-allele carriers and 15.2±6.2% carriers of Ala-alleles among pregnant women with a recommended weight gain. Ala12-alleles genotype patients in this group were significantly lower as compared to Pro12 (p<0.001). In women with inadequate GWG, we did not observe a probable difference in the distribution of polymorphism of the PPARG gene compared to pregnant women with recommended weight gain within (p>0.05). In the group of patients with excessive GWG we diagnosed 1.4 times (OR 0.2; 95% CI 0.1-0.7, p<0.05) a significant decrease in women with Pro/Pro genotype and 2.6 times (OR 3.2; 95% CI 1.1-9.3, p<0.05) an increase of the carriers of Ala-allele compared to pregnant with normal weight gain. Only in this group we found 4.4±3.1% individuals of homozygous carriers of Ala - allele.

The results of the lipid metabolism indicated a significant interaction between high triglyceride levels (r=0.44, p<0.001), cholesterol (r=0.76, p<0.001), and GWG. Indicators of lipid metabolism in pregnant women depending on GWG are represented in Table 2.

In late pregnancy, we've detected a significant increase of triglycerides 1.8 times (p<0.002), total cholesterol 1.2 times (p<0.001), LDL 1.3 times (p<0.01) in patients with recommended weight gain. Inadequate GWG was not accompanied by significant changes in lipidogram, except a probable growth of total cholesterol concentration 1.2 times (p<0.05). Significant changes were noted in excessive weight gain group. Levels of triglycerides, total cholesterol, and LDL were significantly higher in late pregnancy 2.4 times (p<0.002), 1.3 times (p<0.001) and 1.4 times (p<0.01) as compared to the first trimester. This group the concentrations of atherogenic lipids were also significantly higher than those of normal GWG (p<0.05).

In studying the dynamics of laboratory parameters of fat metabolism in pregnant women, depending on PPARG-γ Pro12Ala polymorphism, we established the correspondence of lipid concentration at the beginning of pregnancy with the reference value and the absence of a significant difference in patients with Pro/Pro genotype and Ala carriers (p>0.05) (Table 3). However, in the third trimester, a triglycerides levels were significant increased 1.5 times and total cholesterol 1.1 times in pregnant women with PPAR-γ Ala polymorphism compared to homozygous Pro-carriers (both of them p<0.05).

Table 1. Distribution of Pro12Ala polymorphism of the PPAR-γ gene in pregnant women with different GWG (M±m), (n=97)

Genotype of PPAR-γ gene	Normal GWG, n=33	Inadequate GWG, n=19	Excessive GWG, n=45
Pro/Pro, n	28 (84.8±6.2%)	14 (73.7±10.1%) p ₂ >0.05	27 (60.0±7.3%) p ₂ <0.05
Ala12 carriers, n	5 (15.2±6.2%) p ₁ <0.001	5 (26.3±10.1%) p ₁ <0.01 p ₂ >0.05	18 (40.0±7.3%) p ₁ >0.05 p ₂ <0.05

notes: p₁ - compared to women-carriers of Pro/Pro genotype; p₂ - compared to women-carriers Pro and Ala - alleles with normal GWG

Table 2. Indicators of lipid metabolism in pregnant women depending on GWG (M±m), (n=97)

Indicators	Normal GWG, n=33		Inadequate GWG, n=19		Excessive GWG, n=45	
	I trimester	III trimester	I trimester	III trimester	I trimester	III trimester
Triglycerides, mmol/L	1.1±0.3	2.0±0.2 p ₁ <0,02	1.2±0.3	1.8±0.5	1.2±0.3	2.9±0.4 p ₁ <0.002 p ₂ <0.05
Total cholesterol, mol/L	4.9±0.2	5.8±0.3 p ₁ <0.02	5.0±0.3	5.8±0.2 p ₁ <0.05	4.9±0.2	6.6±0.2 p ₁ <0.001 p ₂ <0.05
HDL, mmol/L	1.6±0.1	1.9±0.2	1.6±0.1	2.1±0.3	1.7±0.2	1.6±0.1
LDL, mmol/L	2.4±0.2	3.2±0.2 p ₁ <0.01	2.5±0.2	3.1±0.3	2.5±0.2	3.6±0.3 p ₁ <0.01
VLDL, mmol/L	0.3±0.2	0.4±0.1	0.4±0.2	0.4±0.2	0.3±0.1	0.5±0.2

notes: p₁ - in comparison to the 1st trimester; p₂ - in comparison to women with normal GWG

Table 3. Indicators of lipid metabolism in pregnant women depending on Pro12Ala polymorphism of the PPAR-γ gene (M±m), (n=97)

Indicators	Pro/Pro, n=69		Ala-carriers, n=28	
	I trimester	III trimester	I trimester	III trimester
Triglycerides, mmol/L	1.1±0.3	2.1±0.4	1.3±0.3	3.1±0.3 *
Total cholesterol, mmol/L	4.9±0.2	5.9±0.3	4.9±0.2	6.7±0.2 *
HDL, mmol/L	1.6±0.1	1.9±0.3	1.6±0.1	1.6±0.1
LDL, mmol/L	2.4±0.2	3.3±0.3	2.4±0.2	3.5±0.3
VLDL, mmol/L	0.3±0.2	0.4±0.2	0.4±0.1	0.5±0.1

notes: * p < 0.05 - compared to women-carriers of Pro/Pro genotype

We've observed that in pregnant women with excessive GWG, total cholesterol and triglycerides (both of them $p < 0.05$) indices were higher in allele Ala12 carriers gene (Figs. 2, 3).

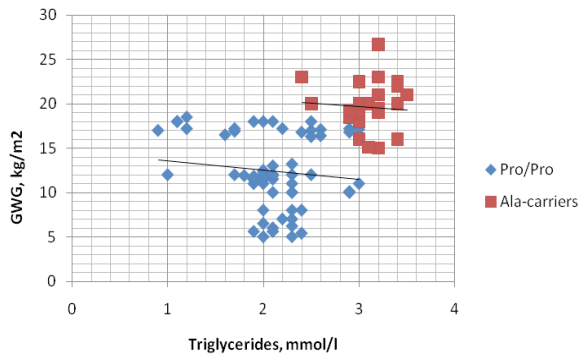


Fig. 2. Concentration of triglycerides in blood of pregnant women depending on Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene in the third trimester of pregnancy and GWG, $n=97$

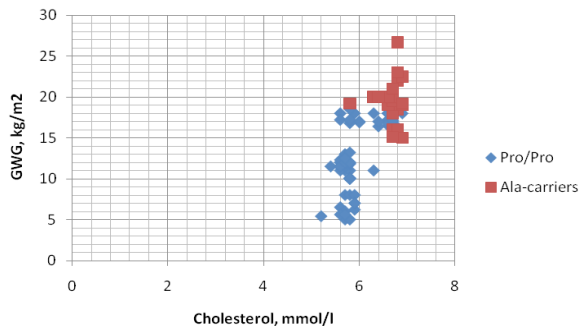


Fig. 3. Concentration of cholesterol in blood of pregnant depending on Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene in the third trimester of pregnancy and GWG, $n=97$

The analysis of carbohydrate metabolism in our study showed a positive correlation between the GWG and glucose level ($r=0.40$, $p < 0.001$), insulin level ($r=0.53$, $p < 0.001$) and HOMO-

IR ($r=0.53$, $p < 0.001$). However, the dynamics of these indicators during the gestational period varied in different groups (Table 4). There were no statistically significant dynamics of glucose level, insulin level and HOMO-IR index during pregnancy ($p > 0.05$). A significant reduction of glucose concentration 1.3 times and HOMO-IR index 1.5 in the third trimester was diagnosed in group of inadequate weight gain (both of them $p < 0.05$). In women with excessive GWG insulin level and HOMO-IR index significantly increased during pregnancy. In the third trimester, plasma insulin concentration 1.4 times ($p < 0.02$), HOMO-IR index 1.6 times ($p < 0.01$) were higher compared to early terms, and 1.4 times ($p < 0.01$) and 1.6 times ($p < 0.01$) significantly were higher compared to normal GWG. However, the HOMO-IR index at the end of pregnancy probably did not exceed the reference values (0-2.7) ($p > 0.05$).

Results of the PPAR- γ gene polymorphism study revealed no significant differences in glucose level, insulin level and HOMO-IR index in women with Pro/Pro genotype and carriers of Ala allele (both of them $p > 0.05$) (Table 5). However, the concentration of insulin was significantly 1.4 times higher in PPAR- γ Ala12 carriers at the end of pregnancy as compared to the 1st trimester ($p < 0.01$), and there was no significant difference in homozygous Pro genotype ($p > 0.05$).

Peroxisome proliferator-activating receptor-gamma (PPAR- γ) is a transcription factor, a member of the family of nuclear hormonal receptors, and is the central regulator of energy homeostasis: plays an important role in energy accumulation, adipocyte differentiation, insulin sensitivity and the metabolism of fatty acids [17]. The Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene is one of the most frequently studied genetic variants in pregnant women with obesity, diabetes mellitus and gestational diabetes. The study of the prevalence of this gene polymorphism among the Ukrainian population is perspective, as it can help to explain the mechanisms for implementing hereditary predisposition to metabolic disorders. As we know, this is the first work to study the role of the PPAR- γ Pro12Ala genotype in the genesis of GWG in women with normal weight before pregnancy and without severe chronic pathology.

In our study, we have shown a statistically significant association between the Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene and the weight gain in pregnancy. Thus, the frequency of the Ala12-carriers

Table 4. Indicators of carbohydrate metabolism in pregnant depending on GWG ($M \pm m$), ($n=97$)

Indicators	Normal GWG, $n=33$		Inadequate GWG, $n=19$		Excessive GWG, $n=45$	
	I trimester	III trimester	I trimester	III trimester	I trimester	III trimester
Glucose, mmol/L	4.4 \pm 0.3	4.0 \pm 0.3	4.5 \pm 0.3	3.4 \pm 0.4 $p_1 < 0.05$	4.4 \pm 0.2	4.8 \pm 0.3
Insulin, μ U/ml	8.5 \pm 1.0	9.3 \pm 1.1	9.0 \pm 1.0	8.1 \pm 1.0	9.0 \pm 1.0	12.9 \pm 1.1 $p_1 < 0.02$ $p_2 < 0.01$
HOMO-IR index	1.7 \pm 0.2	1.7 \pm 0.2	1.8 \pm 0.2	1.2 \pm 0.2 $p_1 < 0.05$	1.7 \pm 0.2	2.8 \pm 0.3 $p_1 < 0.01$ $p_2 < 0.01$

notes: p_1 - compared to the 1st trimester ; p_2 - compared to women with normal GWG

Table 5. Carbohydrate metabolism parameters in pregnant depending on Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene ($M \pm m$), ($n=97$)

Indicators	Pro/Pro, $n=69$		Ala-carriers, $n=28$	
	I trimester	III trimester	I trimester	III trimester
Glucose, mmol/L	4.4 \pm 0.3	4.0 \pm 0.5	4.4 \pm 0.2	4.9 \pm 0.2
Insulin, μ U/ml	8.8 \pm 1.1	9.9 \pm 2.1	8.9 \pm 0.9	12.8 \pm 1.1 *
HOMO-IR index	1.7 \pm 0.2	1.8 \pm 0.5	1.7 \pm 0.3	2.8 \pm 0.5

notes: * - compared to the 1st trimester

2.6 times (OR 3.2; 95% CI 1.1-9.3; $p < 0.05$) was higher in patients with excessive GWG than normal weight gain subjects. Our conclusions coincide with other scientific reports [6,28]. However, they differed from Garaulet M. et al. [12], who diagnosed the direct association between this gene polymorphism and GWG only in women who followed the Mediterranean diet during pregnancy.

We have found that in women with excessive GWG, Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene is associated with negative changes of plasma lipids, manifested by higher concentrations of triglycerides ($p < 0.05$), total cholesterol ($p < 0.05$), and the absence of statistically significant differences in glucose level ($p > 0.05$), insulin level ($p > 0.05$) and HOMO-IR index ($p > 0.05$) compared to Pro/Pro genotype. We found at the end of pregnancy normoglycemia in the background of hyperinsulinemia, a significantly increased HOMO-IR index in pregnant women with excess GWG, and the absence of a probable difference in carbohydrate metabolism between Pro/Pro and Ala-carriers may indicate an increased sensitivity to insulin of PPAR- γ Ala12 allele genotype. Stumvoll et al. [26] have also shown that the altered transcriptional activity of PPAR- γ in Ala-carriers results in effective suppression of lipolysis in adipose tissue and improves insulin-stimulating utilization of glucose in muscle. The expressed anti-lipolytic action of insulin changes the balance of lipolysis-lipogenesis to lipogenesis, which leads to the accumulation of triglycerides and contributes to excessive weight gain. This theory of higher BMI in the presence of Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene is also proved in two cohort studies [9,13].

Consequently, according to our study, it can be concluded that the Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene, associated with lipid and carbohydrate metabolism, has a direct effect on the weight gain during pregnancy. In our opinion, excessive GWG can be seen as a marker of the mother's genotype and genetic predisposition to the development of metabolic diseases after delivery.

REFERENCES

1. Вільчинський ГВ., Сінгх ОО., Петровська ВВ., Жебель ВМ. Особливості показників ліпідного спектру у жінок, хворих на гіпертонічну хворобу, носіїв різних генотипів пероксидом проліфератор-активуючих рецепторів- γ // Запоріжський медичний журнал. 2012;3:7-11.
2. Дубоссарська ЗМ., Дука ЮМ. Характеристика показників вуглеводного обміну у вагітних з ожирінням // Здоров'я жінчини. 2014;9(95):113-115.
3. Клиническая лабораторная диагностика. Национальное руководство. За ред. ВВ. Долгова в 2 томах. Том 1. 2013;934.
4. Наказ МОЗ України № 417 від 15.07.2011 «Методичні рекомендації щодо організації амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги».
5. Покусаева ВН., Трошина ЕА., Никифоровская ЕН., Вахрушина АС. Роль жирового компонента в гестационном увеличении массы тела//Ожирение и метаболизм. 2013;4:16-20.
6. Alison M, Stuebe H., Herring A, Ghosh J, Wise A, Kari E, et al. Obesity and diabetes genetic variants associated with gestational weight gain // Am J Obstet Gynecol. 2010;203(3):283-283.17.
7. Asvanarunat E. Outcomes of gestational weight gain outside the Institute of Medicine Guidelines // J Med Assoc Thai. 2014;97(11):1119-1125.
8. Becer E. Effect of the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 gene on lipid profile and gene of lipid and adipokines levels in obese subjects // BJMG. 2017;20(1):71-80.
9. Ben AS, Ben YF., Sediri Y, Kallel A, Ftouhi B, Feki M, et al. Gender-specific effect of Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor γ -2 gene on obesity risk and leptin levels in a Tunisian population // Clin Biochem. 2009;42(16-17):1642-1647.
10. Buzzetti R, Petrone A, Ribaud MC, Alemanno I, Zavarella S, Mein CA, et al. The common PPAR- γ 2Pro12 Ala variant is associated with greater insulin sensitivity // Eur J Hum Genet. 2004;12(12):1050-1054.
11. Chavan NR., Reynolds LJ, McQuerry K, Stromberg A, Kevin PJ, O'Brien JM. PPAR γ expression varies with excess gestational weight gain (GWG) in pregnancy: An important target in developmental programming // American Journal of Obstetrics & Gynecology Supplement to January. 2018:360.
12. Garaulet M, Smith CE., Hernández-González T, Lee Yu-Chi, Ordovás JM. PPAR γ Pro12Ala interacts with fat intake for obesity and weight loss in a behavioural treatment based on the Mediterranean diet // Mo. Nutr Food Res. 2011;55(12):1771-1779.
13. Ghossaini M, Meyre D, Lobbens S, Charpentier G, Clément K, Charles MA, et al. Implication of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ 2 gene in type 2 diabetes and obesity in the French population // BMC Med Genet. 2005;6(11):1-8.
14. Gouda HN, Sagoo GS, Harding AH, Yates J. The association between the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 (PPARG2) Pro12Ala gene variant and type 2 diabetes mellitus: a HuGE review and meta-analysis // Am J Epidemiol. 2010;171:645-655.
15. Hautero U., Laakso P., Linderborg K. Proportions and concentrations of serum n-3 fatty acids can be increased by dietary counseling during pregnancy // Eur J Clin Nutr. 2013;Vol.67(11):1163-1168.
16. IOM, Weight Gain During Pregnancy: Reexamining the Guidelines. Institute of Medicine and National Research Council of the National Academies, Committee to Reexamine IOM Pregnancy Weight Guidelines, Food and Nutrition Board on Children, Youth, and Families, ed. Rasmussen KM and Yaktine AL. 2009, Washington, D.C.: The National Academies Press.
17. Janani C, Ranjitha Kumari BD. PPAR gamma gene-a review // Diabetes Metab Syndr. 2015;9(1):46-50.
18. Kinnunen TI, Pasanen M, Aittasalo M. Reducing postpartum weight retention - a pilot trial in primary health care // Nutr J. 2007;Vol.10(6):21.
19. Kolapo MA, Emily JA, Shawn SD. Excessive gestational calorie intake in sows regulates early postnatal adipose tissue development in the offspring // BMC Nutrition. 2016;2:29.
20. Mattevil VS, Zembruski VM, Hutz MH. Effects of a PARG gene variant on obesity characteristics in Brazil Brazilian // Journal of Medical and Biological Research. 2007;40:927-932.
21. Meirhaeghe A, Amouyel P. Impact of genetic variation of PPAR gamma in humans // Mol Genet Metab. 2004;83:93-102.
22. Rankinen T, Zuberly A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, et al. The human obesity gene map: the 2005 update // Obesity 2006;14:529-644.
23. Ryan EA. Hormones and insulin resistance during pregnancy //Lancet. 2003;Vol.362(9398): 1777-1778.
24. Stump M, Mukohda M, Hu C, Sigmund CD. PPAR γ regulation in hypertension and metabolic syndrome // Curr Hypertens Rep. 2015;17(12):1-9.
25. Stumvoll M, Haring H. The peroxisome proliferator activated receptor-gamma2 Pro12Ala polymorphism. Diabetes //2002;51:2341-2347.
26. Stumvoll M, Wahl HG, Lo"blein K, Becker R, Machicao F, Jacob S, et al. Pro12Ala Polymorphism in the Peroxi-

some Proliferator-Activated Receptor- γ 2 Gene Is Associated With Increased Antilipolytic Insulin Sensitivity // *Diabetes*. 2001;50:876–881.

27. Swarbrick MM, Chapman CM, McQuillan BM, Thompson PL, Beilby JP. A Pro12Ala polymorphism in the human peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 is associated with combined hyperlipidaemia in obesity // *Eu. J Endocrinol*. 2001;144(3):277-282.

28. Tok EC, Ertunc D, Bilgin O, Erdal EM, Kaplanoglu M, Dilek S. PPAR- γ 2 Pro12Ala polymorphism is associated with weight gain in women with gestational diabetes mellitus // *European Journal of Obstetrics Gynecology & Reproductive Biology*. 2006;Vol.129(1):25–30.

29. Yao YS, Li J, Jin YL, Chen Y, He LP. Association between PPAR- γ 2 Pro12Ala polymorphism and obesity: A meta-analysis // *Mol Biol Rep*. 2015;42(6):1029-1038.

SUMMARY

THE ROLE OF PRO12ALA POLYMORPHISM OF THE PPAR- γ GENE IN THE GENESIS OF THE GESTATIONAL WEIGHT GAIN

¹Ostafichuk S., ¹Henyk N., ²Rosokha Z.

¹Ivano-Frankivsk National Medical University, Department of Obstetrics and Gynecology; ²State Institution "Reference Center for Molecular Diagnostics of the Ministry of Health of Ukraine", Kyiv, Ukraine

The aim of this study was to determine the role of Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene, associated with lipid and carbohydrate metabolism, in the genesis of gestational weight gain (GWG). We performed anthropometry, the determination of GWG, the study of PPAR- γ Pro12Ala polymorphism, the concentration of markers of lipid and carbohydrate metabolism in 97 pregnant women with normal body weight before pregnancy (55.2 \pm 4.8 kg, body mass index 20.3 \pm 1.5 kg/m²). The recommended GWG was diagnosed in 33 (34.0 \pm 4.8%), insufficient in 19 (19.6 \pm 4.0%), and excessive in 45 (46.4 \pm 5.1%) patients, according to the recommendations of the Institute of Medicine (USA, 2009) and the Order of the Ministry of Health of Ukraine № 417 (2011). The PPAR- γ Pro12Ala polymorphism was determined by a molecular genetic study. "Statistica 6.0" was used.

The frequency of Ala-allele carriers is 0.28. We studied that GWG is 1.6 times higher in women with PPAR- γ Pro12Ala polymorphism, than the Pro/Pro genotype ($p < 0.05$). The frequency of Ala-alleles carriers in a group of excessive GWG 2.6 times (OR 3.2; 95% CI 1.1-9.3; $p < 0.05$) higher compared to normal weight gain patients. In pregnant women with Ala12 polymorphism concentration of triglycerides ($p < 0.05$), cholesterol ($p < 0.05$) are increased and no differences in glucose level ($p > 0.05$), insulin level ($p > 0.05$), and HOMO-IR index ($p > 0.05$) compared to women with Pro/Pro genotype. The insulin concentration in PPAR- γ Ala12 carriers at the end of pregnancy was 1.4 times higher than the early terms ($p < 0.01$) on the background of normoglycemia and the normal HOMO-IR index.

The modified transcriptional activity of PPAR- γ gene, associated with lipid and carbohydrate metabolism, has a direct effect on the weight gain during pregnancy. Excessive GWG can serve as a marker for the maternal genotype and genetic predisposition to the development of metabolic diseases after delivery.

Keywords: gestational weight gain, Pro12Ala polymorphism of the PPAR- γ gene, lipid and carbohydrate metabolism.

РЕЗЮМЕ

РОЛЬ PRO12ALA ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА PPAR- γ В ГЕНЕЗЕ ГЕСТАЦИОННОГО УВЕЛИЧЕНИЯ МАССЫ ТЕЛА

¹Остафійчук С.А., ¹Геньк Н.И., ²Росоха З.И.

¹Ивано-Франковский национальный медицинский университет, кафедра акушерства и гинекологии; ²Государственное учреждение "Референс-центр по молекулярной диагностике МОЗ Украины", Киев, Украина

Целью исследования явилось определение роли Pro12Ala полиморфизма гена PPAR- γ , ассоциированного с липидным и углеводным обменом, в генезе гестационного увеличения массы тела.

Проведены антропометрия, определение гестационного увеличения массы тела (ГУМТ), исследования PPAR- γ Pro12Ala полиморфизма, концентрации маркеров липидного и углеводного обмена у 97 беременных женщин с нормальной прегравидарной массой тела (55,2 \pm 4,8 кг, индекс массы тела 20,3 \pm 1,5 кг/м²). Рекомендуемое ГУМТ диагностировано у 33 (34,0 \pm 4,8%), недостаточное - у 19 (19,6 \pm 4,0%), избыточное - у 45 (46,4 \pm 5,1%) пациенток, согласно рекомендациям Института медицины США (2009 г.) и приказа МОЗ Украины №417 (2011 г.). PPAR- γ Pro12Ala полиморфизм определяли на основе молекулярно-генетического исследования. Для статистической обработки материала использовали программу Statistica v. 6.0.

Измененная транскрипционная активность PPAR- γ ассоциируется с увеличенной чувствительностью тканей к инсулину, супрессией липолиза в жировой ткани и стимуляцией липогенеза, что способствует избыточной надбавке в весе. Чрезмерное ГУМТ может служить маркером генотипа матери и генетической предрасположенности к развитию метаболических заболеваний после родов.

რეზიუმე

PPAR- γ გენის PRO 12 ala პოლიმორფიზმის როლი სხეულის მასის გეგმატებაზე გესტაციურ პერიოდში

¹ს. ოსტაფიჩუკი, ¹ნ. გენიკი, ²ზ. როსოხა

¹ივანო-ფრანკოვსკის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, მეანობისა და გინეკოლოგიის კათედრა; ²"მოლეკულური დიაგნოსტიკის რეფერენს-ცენტრი", კიევი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ლიპიდურ და ნახშირწყლოვან ცვლასთან ასოცირებული PPAR- γ გენის PRO 12ala პოლიმორფიზმის როლის განსაზღვრა გესტაციურ პერიოდში სხეულის მასის ზრდის გენეზზე. ორსულობამდე სხეულის ნორმალური წონის მქონე 97 ქალს (55,2 \pm 4,8 კგ, სხეულის მასის ინდექსი 20,3 \pm 1,5 კგ/მ²) ჩატარდა ანთროპომეტრია, განისაზღვრა სხეულის მასის ზრდა გესტაციურ პერიოდში, PPAR- γ გენის PRO 12ala პოლიმორფიზმი, ტრიგლიცერიდების, საერ-

თო ქოლესტერინის, მაღალი, დაბალი და ძალიან დაბალი სიმკვრივის ლიპოპროტეიდების კონცენტრაცია, გლუკოზისა და ინსულინის დონე უზმოდ. მიზიგანის მედიცინის ინსტიტუტის (აშშ, 2009) და უკრაინის ჯანდაცვის სამინისტროს №427 (2011) რეკომენდაციების შესაბამისად, რეკომენდებული ზრდა აღენიშნა 33 (34,0±4,8%) პაციენტს, არასაკმარისი ზრდა - 19-ს (19,6±4,0%), ჭარბი - 45-ს (46,4±5,1%). PPAR-γ გენის PRO 12ala პოლიმორფიზმი განისაზღვრა მოლეკულურ-გენეტიკური კვლევით. მასალა სტატისტიკურად დამუშავდა პროგრამით Statistica 6,0.

PPAR-γ გენის შეცვლილი ტრანსკრიპციული აქტივობა ასოცირებულია ქსოვილების გაზრდილ მგრძობელობასთან ინსულინისადმი, ცხიმოვან ქსოვილში ლიპოლიზის სუპრესიასა და ლიპოგენეზის სტიმულაციასთან, რაც ხელს უწყობს სხეულის მასის ჭარბ ზრდას. გესტაციურ პერიოდში სხეულის მასის მომატებული ზრდა შეიძლება გამოყენებული იყოს დედის გენოტიპის და მშობიარობის შემდგომ მეტაბოლურ დაავადებათა განვითარებისადმი გენეტიკური მიდრეკილების მარკერად.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ САМОК КРЫС В ПОСЛЕРОДОВОМ ПЕРИОДЕ

Николаева О.В., Кузнецова М.А.

Харьковский национальный медицинский университет, Украина

Согласно данным эпидемиологических исследований, опубликованных Всемирной организацией здравоохранения, около 29млн. человек в европейских странах страдают хроническими заболеваниями печени [1]. Так около 0,1% европейского населения страдает циррозом печени (ЦП), что соответствует 14-26 новым случаям на 100 тыс. населения и примерно 170 тыс. летальных случаев в год [2]. В Украине наблюдается интенсивный рост числа больных заболеваниями печени. В связи с этим весьма актуальны исследования, направленные на изучение факторов риска патологии печени.

Установлено, что значимую роль в повреждении печени играют как экзогенные, так и эндогенные факторы. Среди экзогенных факторов, способствующих развитию морфофункциональных нарушений в печени ведущее место занимает стресс. Высокий стресс – наполненность жизни в современных социальных условиях диктует необходимость изучения механизма стрессорного повреждения печени [5]. В работах ряда исследователей указана связь между стрессовыми воздействиями и развитием различных заболеваний (сердечно-сосудистые заболевания, гипертоническая болезнь, диабет) [6,7]. В эксперименте на мышах установили, что повторяющийся стресс приводит к развитию гиперметаболического синдрома, сопровождающегося значительной потерей массы тела, гипергликемией, дислипидемией, ацидозом и как следствие резким сокращением индивидуальных энергетических резервов и устойчивости к воздействию стрессоров [3,5]. Имеются единичные работы, в которых изучается влияние стресса на функциональное состояние печени [6]. Установлено, что острый стресс провоцирует снижение интенсивности аэробного гликолиза и глюконеогенеза, активацию липолиза, а также напряжение системы антиоксидантной защиты и усиление процессов перекисного окисления липидов, что приводит к нарушению этерифицирующей функции печени. Однако, роль хронического стресса, как фактора повреждения печени, по сей день недостаточно изучена.

Целью исследования явилось определение морфологических и биохимических особенностей ткани печени самок крыс, подвергавшихся иммобилизационному стрессу во время беременности.

Материал и методы. Экспериментальное исследование проведено на 3-месячных рандомбредных крысах-самках популяции WAG/G Sto, которые были разделены на две группы: 7 самок, находившихся в период беременности в стандартных условиях вивария - I группа (контрольная); 7 самок, которые на протяжении беременности подвергались хроническому иммобилизационному стрессу - II группа (экспериментальная). Моделирование влияния стрессового фактора на крыс осуществлялось с использованием экспериментальной модели, разработанной на кафедре патологической физиологии им. Д.Е. Альперна Харьковского национального медицинского университета [4].

Морфологическое исследование ткани печени осуществлялось по общепринятым методикам [8,9]. Для оценки состояния эндотелия сосудов печени иммуногистохимическим методом выявляли экспрессию маркеров обмена оксида азота: эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) и индубибельной синтазы оксида азота (iNOS). Использовались концентрированные поликлональные кроличьи антитела (ПКАТ) фирмы Thermo scientific (Германия), Nitric Oxide Synthase inducible (iNOS) Rabbit Polyclonal Antibody в разведении 1:100, Nitric Oxide Synthase endothelial (eNOS) Rabbit Polyclonal Antibody в разведении 1:50. В гомогенатах ткани печени изучали фракционный состав липидов - холестерин (ХС), фосфолипиды (ФЛ), триглицериды (ТГ), незэтерифицированные жирные кислоты (НЭЖК) методом тонкослойной хроматографии на пластинах Silufol [10] и содержание гликогена (ГГ) спектрофотометрическим методом по В.Г. Асатиани [10]. В сыворотке крови определяли активность индикаторных ферментов: аланин- (АлАТ) и аспартаминотрансферазы (АсАТ), γ-глутамилтрансферазы (ГГТ), сорбитолдегидрогеназы (СДГ), содержание общего белка и его фракций (альбумины, α₁-, α₂-, β-, γ-глобулины), мочевины и глюкозы - спектрофотометрическим методом с помощью набора реактивов «Филисит Диагностикум» (Днепр, Украина), ХС, ТГ, липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) - с помощью набора реактивов фирмы «Ольвекс» (Россия), липопротеиды низкой и очень низкой плотности (ЛПНП, ЛПОНП) - расчётным методом [10].

Исследования выполнены с соблюдением правил и международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экс-

периментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986). Выведение животных из эксперимента проводилось сразу после рождения крысят путём декапитации. Для обезболивания использовали высокие концентрации диоксида углерода (CO₂). Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы STATISTICA-10. Для определения достоверности отличий использовали критерий U Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что макроскопически печень крыс экспериментальной группы значительно отличалась от контрольной - на разрезе она была мелкозернистая, коричнево-желтоватого цвета, что свидетельствует о наличии жирового гепатоза.

Микроскопически в печени крыс II группы отмечалось нарушение архитектоники долек печени в виде выраженной дисккомплексации балочно-радиального строения, которое резко отличалось от состояния органа в контрольной группе. Гепатоциты были неравномерно набухшие (в основном вокруг портальных трактов) с выраженной дисхромией цитоплазмы и неравномерным пикнозом ядер, что свидетельствует о гибели гепатоцитов, следовательно, и паренхимы печени.

Степень повреждения паренхимы печени оценивалась посредством определения регенеративной активности и относительного объёма элементов паренхимы и стромы с вычислением стромально-паренхиматозного индекса (СПИ), а также степени эндотелиальной дисфункции, путём выявления экспрессии маркеров обмена оксида азота: eNOS и iNOS.

Регенеративная активность печени оценивалась подсчётом количества двуядерных гепатоцитов в процентном соотношении к их одноядерным формам. Установлено, что у крыс II группы количество двуядерных гепатоцитов в 3,6 раз ($p < 0,05$) превышало их число в I группе (соответственно, $8,65 \pm 0,07\%$ и $2,37 \pm 0,03\%$), что свидетельствует о высокой интенсивности повреждения печени.

Результаты исследования структурных элементов печени представлены в таблице 1. Установлено, что у крыс II группы отмечается достоверное уменьшение объёма паренхимы и достоверное увеличение объёма стромы и СПИ, что свидетельствует о высокой интенсивности повреждения печени.

На нарушение морфофункционального состояния печени указывали также изменения, выявленные при иммуногистохимическом исследовании ткани печени. В печени крыс контрольной группы реакция на eNOS показывала чередование участков слабо окрашенных эндотелиальных структур в перипортальных зонах и участков с выраженной экспрессией эндотелиальной синтазы в центральных отделах долек. Причем как при слабой, так и при выраженной экспрессии определялись фокусы расщепления эндотелия в центральных венах, его сращивание с образованием «голых» фрагментов в стенках сосудов, а также плотные, конденсированные очаги слияния эндотелиальных клеток.

Индукцибельная NO-синтаза выявлялась в активированных клетках Купфера, эндотелии центральных вен и при-

лежащих к ним крупных гепатоцитах, мышечных стенках сосудов портальных трактов и в склерозированной соединительной ткани самих портальных трактов. Как и в случае с эндотелиальной синтазой оксида азота, фокусы с выраженной экспрессией iNOS перемежались с плохо окрашенными участками. Выявленные иммуноморфологические особенности подтверждают наличие высокой степени эндотелиальной дисфункции и потери функциональной активности паренхимы печени.

Для оценки функционального состояния печени проведен комплекс биохимических исследований сыворотки крови и гомогенатов ткани печени, результаты которых представлены в таблицах 2 и 3.

В сыворотке крови крыс II группы, отмечено достоверное повышение активностей АЛТ, АСТ и органоспецифических ферментов СДГ и ГГТ на 14,03% и 9,69%, соответственно, что может быть связано с дестабилизацией мембран гепатоцитов и утечкой цитоплазматических ферментов (таблица 2).

В протеинограмме крыс II группы обнаружено умеренное снижение общего белка и уровня α_2 - и γ -глобулина на 30,04% и 19,59% при нормальном уровне альбуминов, а также увеличение фракций α_1 - и β -глобулина на 36% и 13,11% в сравнении с контролем. Выявленные особенности протеинограммы указывают на диспротеинемию, вызванную длительным стрессом. Снижение γ -глобулинов свидетельствует об уменьшении продукции антител. Повышение β -глобулинов, по всей вероятности, связано с повышением продукции ЛПНП (обеспечение ХС для продукции антистрессорных гормонов - глюкокортикоидов). Снижение α_2 -глобулинов, вероятно, связано со снижением синтеза ферментов фибринолитической системы. В целом особенности протеинограммы свидетельствуют о нарушении белоксинтезирующей функции печени. Увеличение концентрации мочевины в сыворотке крови на 26,13% в сравнении с контролем свидетельствует о повышении катаболизма белков.

В липидном спектре сыворотки крови крыс II группы выявлено повышение уровня ХС, ТГ на 70,49%, ЛПОНП - на 67,05% и ЛПНП - на 4,19%. Данные изменения могут быть связаны с реализацией стресс - реакции так как в экспериментальных условиях повышается потребность тканей в ХС и ТГ, что подтверждается изменениями липидного спектра гомогената печени (увеличено содержание ТГ и ХС).

Накопление липидов в печени подтверждается повышением уровня ХС - на 35,94%, НЭЖК - на 130,59% и ТГ - на 9,81%, а также снижением уровня ФЛ на 45,59% в гомогенате печени крыс II группы, что, вероятнее всего, связано с усилением их синтеза и обратного захвата. Данные изменения могут быть результатом избыточной продукции катехоламинов и глюкокортикоидов.

Изучение показателей углеводного обмена выявило повышение уровня глюкозы на 17,85% при нормальном уровне кетоновых тел. Эти изменения, вероятно, связаны с понижением скорости гексокиназной реакции, что приводит к замедлению образования глюкозо-6-фосфата в клетках пе-

Таблица 1. Структурные элементы печени у крыс (M±m)

	Группа исследования	
	I группа, n=7	II группа, n=7
Строма, %	28,1±1,1	36,3±1,2*
Паренхима, %	71,9±1,1	63,7±1,2*
Стромально-паренхиматозный индекс (СПИ)	0,39±0,01	0,56±0,01*

примечание: * $p < 0,05$ сравнение с группой контроля

Таблица 2. Уровень биохимических показателей функционального состояния печени в сыворотке крови крыс (M±m)

Показатели	Группа исследования	
	I группа, n=7	II группа, n=7
АСТ, нмоль/с·л	27,07±0,84	29,56±1,45*
АЛТ, нмоль/с·л	28,13±0,92	30,42±1,54*
ГГТ, нмоль/с·л	143,65±3,67	157,57±2,45**
СДГ, нмоль/с·л	5,63±0,62	6,42±0,4
Общий белок, г/л	64,86±1,01	62,25±1,15*
Альбумин, %	52,48±0,75	52,72±0,98
α ₁ – глобулин, %	8,05±0,39	10,93±0,65**
α ₂ – глобулин, %	8,25±0,45	5,77±0,71**
β – глобулин, %	14,09±1,09	15,94±0,89
γ – глобулин, %	16,39±0,65	13,18±0,54**
Мочевина, ммоль/л	7,67±0,23	9,67±0,38**
Холестерин, ммоль/л	6,63±0,21	7,26±0,32*
Триглицериды, ммоль/л	1,07±0,32	1,82±0,16*
ЛПНП, ммоль/л	2,86±0,15	2,98±0,12*
ЛПОНП, ммоль/л	0,49±0,14	0,82±0,07*
ЛПВП, ммоль/л	3,24±0,32	3,46±0,37
Индекс атерогенности (ИА)	0,81±0,04	1,18±0,29*
Глюкоза, ммоль/л	6,17±0,34	7,27±0,09*
Кетоновые тела, ммоль/л	1,85±0,35	1,85±0,36

примечание: - * $p < 0,05$; - ** $p < 0,01$ сравнение с I группой

Таблица 3. Содержание липидных фракций и гликогена в гомогенате печени (M±m)

Показатели	Группа исследования	
	I группа, n=7	II группа, n=7
Холестерин, мг/г	0,64±0,04	0,87±0,1*
Фосфолипиды, мг/г	24,37±1,34	13,26±1,25**
Триглицериды, мг/г	5,71±0,82	6,27±1,01*
НЭЖК, мг/г	8,55±1,3	19,72±1,54**
Гликоген, мг/г	26,38±1,43	22,01±1,32*

примечание: - * $p < 0,05$; - ** $p < 0,01$ – сравнение с I группой

печени, а затем и использования этого метаболита на всех путях превращения его в клетке, т.е. процессах синтеза гликогена, пентозофосфатном цикле и гликолизе. Наряду с этим повышается активность гликогенфосфорилазы и глюкозо-6-фосфатазы в печени, что способствует усилению гликогенолиза и повышению уровня глюкозы в крови. Подтверждением этому является выявленное снижение содержания в печени гликогена - на 16,57% в сравнении с контролем в гомогенате печени.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют, что у крыс, подвергшихся хроническому иммобилизационному стрессу во время беременности, развивается дислипидемия с повышением уровня ХС, ЛПОНП, ЛПНП, ТГ, гипергликемия, что следует расценивать как риск развития СД типа 2.

Выявленные повышения уровня ХС и НЭЖК свидетельствуют о повышении накопления липидов в печени, что свидетельствует о наличии функциональных нарушений в органе на момент экспериментального исследования, которые могут стать причиной фиброза, портального цирроза печени и другой органической патологии.

Выводы.

1. Хронический стресс у беременных животных приводит к морфофункциональным нарушениям печени, проявляющимся выраженной дисконкомплексацией балочечно-радиального строения, жировой дистрофией гепатоцитов, повышенной регенераторной активностью органа и повышением СПИ в ткани печени, что способствует развитию фиброза и портального цирроза печени.

2. Изучение маркеров эндотелиальной дисфункции указывает на выраженное снижение уровня экспрессии эндотелиальной синтазы и свидетельствует о значительном органическом повреждении паренхимы печени беременных крыс, подвергшихся хроническому стрессовому воздействию.

3. Функциональные изменения печени, выявленные у крыс, находившихся в период беременности в условиях хронического стресса, проявлялись диспротеинемией, гиперлипидемией (повышение уровня ЛПОНП, ЛПНП, ХС, ТГ) и повышением уровня глюкозы. Характер обнаруженных изменений указывает на возможный риск развития инсулинорезистентности.

4. Биохимические показатели гомогенатов ткани печени свидетельствуют о нарушении секреции и обратного захвата липидов, что проявляется в повышении общего холестерина, НЭЖК и ТГ, а также в снижении ФЛ, свидетельствующих о наличии признаков жирового гепатоза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабак О.Я. Современная гепатология: достижения, проблемы и перспективы // Сучасна гастроентерологія. 2013. №2 (70). С.12.
2. Zatonski WA et al. Liver cirrhosis mortality in Europe, with special attention to Central and Eastern Europe// Eur Addict Res. 2010. Vol. 16. P.193-201.
3. Depke M., Fusch G., Domanska G., Geffers R., Volker U., Schuett C., Kiank C. Hypermetabolic syndrome, as a consequence, of repeated psychological stress in mice. Endocrinology. 2008. Vol. 149, 6. P. 2714 - 2723.
4. Пат. 82414 Україна МПК А61Д 99/00, G09В 23/28 (2006.01) Спосіб моделювання хронічного іммобілізаційного стресу/ Ніколаєва О.В., Ковальцова М.В., Євтушенко Т.Г.; заявник та патентовласник Харківський національний медичний університет. - № у 2013 03868; заявл. 29.03.2013; опубл. 25.07.2013. Бюл. №14.
5. Constantinof A, Moisiadis VG, Matthews SG. Programming of stress pathways: a transgenerational perspective [published online ahead of print October 22, 2015]. J Steroid Biochem Mol Biol. doi: 10.1016/j.jsbmb.2015.10.008.
6. Фоменко С.Е., Кушнерова Н.Ф., Спрыгин В. Г. и соавт. Нарушение обменных процессов в печени крыс под действием стресса// Тихоокеанский медицинский журнал. 2013. №2. С. 67-69.
7. Mairesse J., Lesage J., Breton C., et al. Maternal stress alters endocrine function of the fetoplacental unit in rats// Am J Physiol Endocrinol Metab. 2007. 292. P. E1526-E1533.
8. Марковський В. Д., Сорокіна І. І., Гольєва Н. В., Купріянова Л.С. Гістологічна, гістохімічна і імуногістохімічна техніки: Навчальний посібник для бакалаврів. – Харків: ХНМУ, 2011. – 152с.
9. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. 384с.
10. Камышников В. С. Методы клинических лабораторных исследований. Москва: «Медипресс-информ», 2016. 736 с.

SUMMARY

INFLUENCE OF CHRONIC IMMOBILIZATION STRESS DURING PREGNANCY ON MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE LIVER IN FEMALE RATS DURING POSTPARTUM PERIOD

Nikolayeva O., Kyznetsova M.

Kharkiv National Medical University, Ukraine

Morphofunctional state of the liver (in particular, indexes of carbohydrate, protein, and fat metabolism, structural elements and condition of vascular endothelium of the liver) in female rats subjected to immobilization stress during pregnancy, has been studied. Morphological changes in the liver include discomplexation of beam-radial structure, pyknosis of hepatocyte nucleus, increased regeneration activity of parenchyma, and

increased stromal parenchymal index. Functional disorders are manifested by development of dysproteinemia, hyperlipidemia, hyperglycemia, and increased activity of organo-specific liver enzymes. It testifies to risk of fibrosis and diffuse nodular cirrhosis development in the animals, as well as diabetes mellitus of type II in the future.

Keywords: morphofunctional state of the liver, immobilization stress, pregnant rats.

РЕЗЮМЕ

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ САМОК КРЫС В ПОСЛЕРОДОВОМ ПЕРИОДЕ

Николаева О.В., Кузнецова М.А.

Харьковский национальный медицинский университет, Украина

Изучено морфофункциональное состояние печени (показатели углеводного, белкового, жирового обмена, структурные элементы и состояние эндотелия сосудов печени) самок крыс, подвергшихся иммобилизационному стрессу во время беременности. Морфологические изменения печени заключались в дискомплексации балочно-радиального строения, пикнозе ядер гепатоцитов, повышении регенераторной активности паренхимы и стромально-паренхиматозного индекса. Функциональные нарушения проявлялись в развитии диспротеинемии, гиперлипидемии, гипергликемии и повышении активности органоспецифических ферментов печени, что свидетельствует о наличии риска развития у животных фиброза и портального цирроза печени, а также сахарного диабета типа 2.

რეზიუმე

მაკეობის პერიოდში ქრონიკული იმობილიზაციური სტრესის გავლენა ვირთავების ღვიძლის მორფოფუნქციური მდგომარეობაზე მშობიარობის შემდგომ პერიოდში

ო. ნიკოლაევა, მ. კუზნეცოვა

ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევაში შესწავლილია ღვიძლის მორფოფუნქციური მდგომარეობა (ნახშირწყლების, ცილების და ცხიმების ცვლის მაჩვენებლები, ღვიძლის სისხლძარღვების ენდოთელიუმის სტრუქტურული ელემენტები და მათი მდგომარეობა) მდედრ ვირთავებში, რომლებიც მაკეობის პერიოდში იმყოფებოდნენ ხანგრძლივი იმობილიზაციური სტრესის ზემოქმედების ქვეშ. ღვიძლის მორფოლოგიური ცვლილებები გამოიხატებოდა რადიალური შენების რღვევაში, ჰეპატოციტების ბირთვების პიკნოზში, პარენქიმის რეგენერაციული აქტივობის ზრდასა და სტრომა-პარენქიმული ინდექსის მომატებაში. ფუნქციური დარღვევები გამოვლინდა დისპროტეინემიის, ჰიპერგლიკემიის, ჰიპერგლიკემიის განვითარებასა და ღვიძლის ორ-

განოსპეციფიკური ფერმენტების აქტივობის მატება-
ში. ყოველივე მიუთითებს ცხოველების ორგანიზმში

ღვიძლის ფიბროზის და პორტული ციროზის, ასევე,
შაქრიანი დიაბეტი ტიპი 2-ის განვითარების რისკზე.

OVEREXPRESSED PROGENITOR GENE CSF1R IN PANCREATIC CANCER TISSUES AND NERVE INVASIVE PANCREATIC CANCER CELLS

^{1,2}Abiatari I., ¹Midelashvili T., ¹Motsikulashvili M., ^{1,3}Tchavtchavadze A., ⁴Tawfeeq S.M., ⁵Amiranashvili I.

¹Ilia State University, Institute of Medical Research, Tbilisi; ²Medical Center Innova, Tbilisi; ³Georgian National University, SEU, Tbilisi; ⁴P. Shotadze Tbilisi Medical Academy; ⁵Tbilisi State Medical University, Georgia

Pancreatic cancer is an important public health problem worldwide as one of the most aggressive human tumors and the fourth leading cause of cancer related deaths in the USA [1]. The rate of pancreatic cancer diagnoses is almost equal to the mortality rate of this disease [1] due to late clinical detection and its innate aggressiveness, stemming from its potential for early local invasion and metastasis [2,3] early metastasis to lymph nodes, the liver and other distant organs, also perineural invasion are key characteristics of pancreatic cancer's malignancy [3,4]. Perineural invasion (PNI), the growth of tumor cells along nerves, is a key feature of pancreatic cancer. PNI precludes radical resection in the majority of pancreatic cancer cases [5,6]. Thus, the prognosis of pancreatic cancer is extremely poor and 5-year survival is less than 5% [3]. Several mutations of well-studied genes are associated with pathogenesis of pancreatic cancer, such as for instance: Kras, p53, p16 etc. [7]. Deregulated expression of different molecular factors have also been identified in previous studies [8]. Nevertheless, little is known how endogenous expression/alteration of different genes can be linked particularly to PNI of pancreatic cancer cells.

The colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R) belongs to the platelet-derived growth factor (PDGF) family. The CSF1R gene is located on human chromosome 5 (5q32) and in a syntenic region on mouse chromosome 18 (18D) [9]. The protein encoded by this gene is the receptor of CSF1 and interleukin-34 (IL-34). CSF1R is implicated in progenitor activities and involved in embryonic and postnatal development of different tissues [10,11]. SF1R controls the production, differentiation, and function of macrophages, thus it occupies a central role in hematopoiesis [12]. The CSF1/CSF1R axis is thought to be involved in the development and aggressive behavior of several types of malignancies, including gastric, lung and ovarian cancers [13-15]. Several studies highlighted role of CSF1R expressing macrophages in pathogenesis and treatment of pancreatic cancer [16,17]; however, there are still limited knowledge about role of CSF1/CSF1R in pancreatic cancer pathogenesis. Previously we have established *ex vivo* model of perineural invasion and established highly nerve invasive clones of pancreatic cancer cells [8,18,19]. While making expression profiling we have identified, that CSF1R was significantly upregulated in nerve invasive pancreatic cancer cells [8]. Here we decided to further validate these results and analyzed endogenous expression of CSF1R on the transcriptional level in different pancreatic cancer cells and large scale of normal and pathological pancreatic bulk tissues. Furthermore, we have also evaluated association of this gene to

perineural invasion phenomenon of pancreatic cancer.

Material and methods. *Tissue sampling:* tissue specimens were obtained from patients who underwent treatment at the Departments of Surgery, University of Heidelberg, Germany. Normal human pancreatic tissue samples were obtained from previously healthy individuals through an organ donor program at the same university. The Human Subjects Committees of the University of Heidelberg approved all studies. Written informed consent was obtained from the patients.

Cell culture: Cell lines were routinely grown in DMEM medium supplemented with 10% fetal calf serum (FCS), 100 units/ml penicillin, and 100 mg/ml streptomycin (complete medium). Cells were maintained at 37°C in a humid incubator with 5% CO₂ and 95% of air atmosphere. Nine pancreatic cancer (wild type) cell lines were used for the experiment. Additionally for two of these cell lines (Panc1 and Colo357) highly nerve invasive clones were used in experiment as described before. [8] Human embryonic kidney cells HEK293 were used as control.

Real-time quantitative Polymerase Chain Reaction (QRT-PCR): Total cellular RNA isolation and RNA extraction from normal, chronic pancreatitis (CP) and pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) tissues was performed using the RNeasy Mini Kit according to the manufacturers' instructions and as described previously. [8, 20] Briefly, cDNA was synthesized from total RNA by reverse transcription using the QuantiTect Reverse transcription kit according to the manufacturers' recommendations; Real-Time PCR was performed with Light-cycler Fast-Start DNA SYBER Green kit. The number of specific transcripts was normalized to the housekeeping gene cyclophilin B (cpb) and presented as: copies/10,000 copies cpb. All primers were obtained from Search-LC (Heidelberg, Germany).

Results were expressed as mean ± SEM. For statistical analyses, the nonparametric Mann-Whitney U test was used. Differences in survival between the tumor cell expression/less-expression groups were analyzed using the Kaplan-Meier method. Significance was defined as P<0.05.

Results and their discussion. Previously we have developed an *ex-vivo* perineural invasion model for pancreatic cancer and described the consensus transcriptome signature of perineural invasion [8]. One of the genes which were found to be deregulated in perineural invasive pancreatic cancer cells, was colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R). Chip microarray analysis revealed 7.2 fold (log₂) upregulation of CSF1R in highly nerve invasive cells compared to cells with low nerve invasion capacity [8]. In this study, we sought to validate this finding and further

investigate this gene in wider set of experiments. Initially we decided to analyze expression of CSF1R gene in normal, chronic pancreatitis and pancreatic ductal adenocarcinoma tissues on transcriptional level. We used 20 normal pancreatic tissues (donor) 20 chronic pancreatitis (CP) and 58 ductal adenocarcinoma (PDAC) tissue samples for this experiment. Quantitative PCR analyze demonstrated that, CSF1R is significantly upregulated in pancreatic cancer and chronic pancreatitis bulk tissues compared to normal pancreatic tissues (Fig. 1-Left), ($P < 0,05$). Furthermore, we also investigated the survival rate of pancreatic cancer patients depending on CSF1R expression rate. The median CSF1R value in pancreatic cancer patients was taken as a cut-off to compare between patients with high CSF1R expression rate on transcriptional level and low CSF1R expression rate on transcriptional level as well. For this analysis, we used Kaplan-Meier method. The result of our study shows, that higher expression level of CSF1R gene indicates slight tendency for a worsened prognosis for pancreatic cancer patients (14 vs. 15 months) (Fig. 1-Right). However, this difference did not reach statistical significance ($P = 0,75$).

Next we sought to analyze expression of CSF1R in different widely used pancreatic cancer cell lines on the transcriptional level. Quantitative PCR analysis demonstrated that, CSF1R is expressed in all nine tested cancer cells. Among them highest expression was observed in Capan2 and Panc1 cells and lowest in Colo357 and T3M4 cells (Fig. 2-Left). Human embryonic kidney cells (HEK293), which were used as controls, demonstrated positive endogenous expression of CSF1R mRNA as well (Fig. 2-Left). Besides screening tests, our aim was to an-

alyze association of CSF1R expression to perineural invasion phenomenon of pancreatic cancer. Initially it was suggested, that this gene is upregulated in highly nerve invasive clones of pancreatic cancer [8]. To validate this result, we used highly nerve invasive clones of Panc1 and Colo357 pancreatic cancer cells and performed QRT-PCR analysis. Interestingly experiment demonstrated significant upregulation of CSF1R mRNA expression in highly nerve invasive pancreatic cancer cell clones (NP2 and NP3) compared to wild type cells (NP0) (Fig. 2-Right) and confirm previous suggestions.

Perineural invasion is one of the hallmark features of pancreatic cancer, which largely defines its aggressive behavior and poor patient survival [3]. This phenomenon was intensively addressed by scientists in last two decades using different experimental methods [4]. Initially our approach was to identify genetic profile of cells invading nerve tissue. We have performed Genome-wide expression profiling, using 51K Human Unigene III cDNA microarrays. The microarrays were designed generated and hybridized as described previously [8]. Our study suggested, that cancer cells upon invasion in nerve tissue acquires particular genetic alterations and are presented as deregulated expression of different genes [8,18-20]. These experiments identified, that CSF1R, the gene with progenitor activity is markedly upregulated in highly nerve invasive pancreatic cancer cells [8].

CSF1R - the colony-stimulating factor 1 receptor belongs to the PDGF family and is characterized as progenitor gene. The CSF1R is expressed at low levels on hematopoietic stem cells, [21,22] at higher levels on monocytes and tissue macrophages [23,24] osteoclasts, myeloid dendritic cells [25] microglia [26]

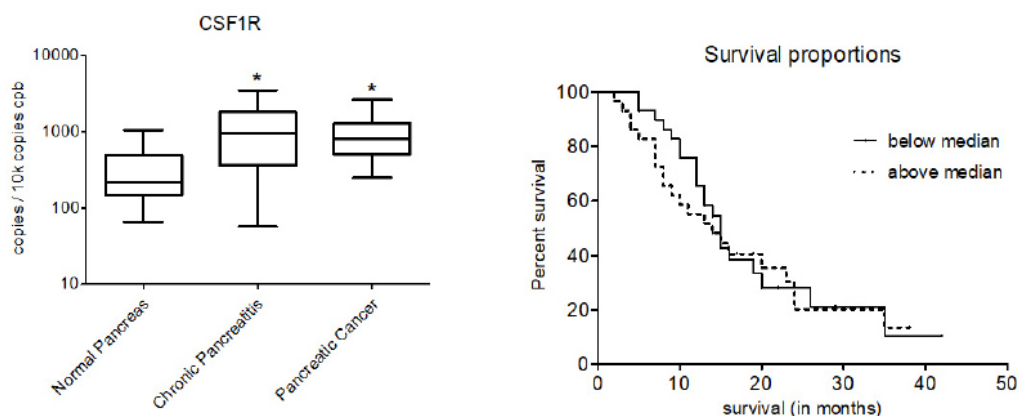


Fig. 1. (Left): Expression of CSF1R in human pancreatic tissues ($*P < 0,05$); (Right): Survival of pancreatic cancer patients depending on CSF1R expression rate ($P = 0,75$)

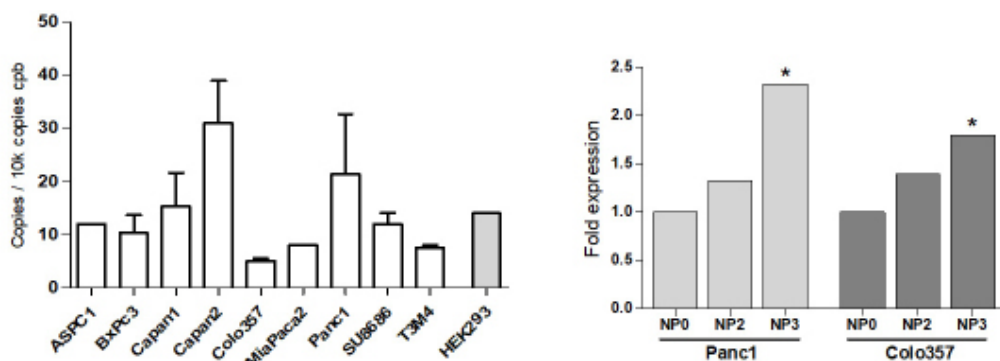


Fig. 2. (Left): Expression of CSF1R in human pancreatic cancer cell lines and embryonic kidney cells (HEK293); (Right): Expression of CSF1R in nerve invasive clones of Panc1 and Colo357. NP=wild type cells, NP2/NP3=highly nerve invasive clones ($*P < 0,05$)

and Paneth cells [27] and controls the development of these cell types. Initially the role of CSF1R in tumorigenesis was linked to macrophages. High expression of tumor-associated macrophages (TAMs) is considered as important factor for carcinogenesis. TAMs can promote proliferation, invasion, and metastasis of tumor cells, stimulate tumor angiogenesis, and inhibit antitumor immune response mediated by T cells, followed by the promotion of tumor progression [28,29]. The intratumoral presence of CSF1R-positive macrophages correlates with poor survival in various tumor types [30,31]. CSF1 (M-CSF)/CSF1R signaling is a key regulator of TAMs differentiation and survival. For these reasons, CSF1/CSF1R signaling is considered as an attractive target for cancer treatment [32,33]. CSF1R plays important roles in development and in innate immunity by regulating the development of most tissue macrophages and osteoclasts, of Langerhans cells of the skin, of Paneth cells of the small intestine, and of brain microglia [34]. Currently we don't know if TAMs are specifically involved in perineural invasion of cancer cells, however we gain more knowledge about macrophage biology and it becomes obvious, that the complex phenotypic and functional characteristics of macrophages are greatly influenced by a range of signals such as survival, differentiation, etc., within the specific tissue environment. Therefore, the role of macrophages in regulating carcinogenesis and the effect of depleting and/or reprogramming TAM as therapeutic approaches for cancer patients may differ greatly based on organ-specific features of these cells [14].

In this study, we showed, that CSF1R is overexpressed in pancreatic cancer and chronic pancreatitis tissues. We did not analyze localization of this gene, but increased expression of CSF1R in pathological bulk tissues of pancreas could also be due to increased number of inflammatory cells in these tissues. Consequently, we can assume, that CSF1R can be important factor for pancreatic cancer microenvironment. Nevertheless, we have also identified, that CSF1R is significantly upregulated in nerve invasive pancreatic cancer cells. This indicates, that endogenous expression of CSF1R in cancer cells can be relevant for tumor progression and expansion. Exact mechanisms of how CSF1R expression is linked to perineural invasion is not known yet, however it can be suggested, that CSF1R facilitates aggressive behavior of pancreatic cancer cells. Further studies are required to determine function of this gene in pancreatic cancer pathogenesis and progression. But based on our results we can suggest, that CSF1R may be used as a potential diagnostic marker or therapeutic target in clinical oncology.

Acknowledgments. The study was financially supported by Shota Rustaveli National Science Foundation of Georgia (grant #: YS15_2.1.6_96).

REFERENCES

1. Siegel, R.L., K.D. Miller, and A. Jemal, Cancer statistics, 2018 // *CA Cancer J Clin*, 2018. 68(1): p. 7-30.
2. Dai H., et al., Enhanced survival in perineural invasion of pancreatic cancer: an in vitro approach // *Hum Pathol*, 2007. 38(2): p. 299-307.
3. Kleff, J., et al., Pancreatic cancer: from bench to 5-year survival // *Pancreas*, 2006. 33(2): p. 111-8.
4. Bapat, A.A., et al., Blocking Nerve Growth Factor Signaling Reduces the Neural Invasion Potential of Pancreatic Cancer Cells // *PLoS One*, 2016. 11(10): p. e0165586.
5. Hirai, I., et al., Perineural invasion in pancreatic cancer//*Pancreas*, 2002. 24(1): p. 15-25.
6. Yi, S.Q., et al., Innervation of the pancreas from the perspective of perineural invasion of pancreatic cancer // *Pancreas*, 2003. 27(3): p. 225-9.
7. Fang, Y., et al., Genetic and molecular alterations in pancreatic cancer: implications for personalized medicine // *Med Sci Monit*, 2013. 19: p. 916-26.
8. Abiatari, I., et al., Consensus transcriptome signature of perineural invasion in pancreatic carcinoma // *Mol Cancer Ther*, 2009. 8(6): p. 1494-504.
9. Bonifer, C. and D.A. Hume, The transcriptional regulation of the Colony-Stimulating Factor 1 Receptor (csf1r) gene during hematopoiesis // *Front Biosci*, 2008. 13: p. 549-60.
10. Becker, A.M., B. Walcheck, and D. Bhattacharya, ADAM17 limits the expression of CSF1R on murine hematopoietic progenitors // *Exp Hematol*, 2015. 43(1): p. 44-52 e1-3.
11. Chitu, V. and E.R. Stanley, Regulation of Embryonic and Postnatal Development by the CSF-1 Receptor // *Curr Top Dev Biol*, 2017. 123: p. 229-275.
12. Lin, E.Y., et al., Colony-stimulating factor 1 promotes progression of mammary tumors to malignancy // *J Exp Med*, 2001. 193(6): p. 727-40.
13. Baghdadi, M., et al., High co-expression of IL-34 and M-CSF correlates with tumor progression and poor survival in lung cancers // *Sci Rep*, 2018. 8(1): p. 418.
14. Cannarile, M.A., et al., Colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R) inhibitors in cancer therapy // *J Immunother Cancer*, 2017. 5(1): p. 53.
15. Okugawa, Y., et al., Colony-stimulating factor-1 and colony-stimulating factor-1 receptor co-expression is associated with disease progression in gastric cancer// *Int J Oncol*, 2018. 53(2): p. 737-749.
16. Candido, J.B., et al., CSF1R(+) Macrophages Sustain Pancreatic Tumor Growth through T Cell Suppression and Maintenance of Key Gene Programs that Define the Squamous Subtype // *Cell Rep*, 2018. 23(5): p. 1448-1460.
17. Zhu, Y., et al., CSF1/CSF1R blockade reprograms tumor-infiltrating macrophages and improves response to T-cell checkpoint immunotherapy in pancreatic cancer models // *Cancer Res*, 2014. 74(18): p. 5057-69.
18. Abiatari, I., et al., The microtubule-associated protein MAPRE2 is involved in perineural invasion of pancreatic cancer cells// *Int J Oncol*, 2009. 35(5): p. 1111-6.
19. Klose, T., et al., The actin binding protein destrin is associated with growth and perineural invasion of pancreatic cancer // *Pancreatol*, 2012. 12(4): p. 350-7.
20. Abiatari, I., et al., Expression of YPEL1 in pancreatic cancer cell lines and tissues // *Georgian Med News*, 2009(175): p. 60-2.
21. Mossadegh-Keller, N., et al., M-CSF instructs myeloid lineage fate in single haematopoietic stem cells // *Nature*, 2013. 497(7448): p. 239-43.
22. Sarrazin, S., et al., MafB restricts M-CSF-dependent myeloid commitment divisions of hematopoietic stem cells // *Cell*, 2009. 138(2): p. 300-13.
23. Byrne, P.V., L.J. Guilbert, and E.R. Stanley, Distribution of cells bearing receptors for a colony-stimulating factor (CSF-1) in murine tissues // *J Cell Biol*, 1981. 91(3 Pt 1): p. 848-53.
24. Guilbert, L.J. and E.R. Stanley, Specific interaction of murine colony-stimulating factor with mononuclear phagocytic cells // *J Cell Biol*, 1980. 85(1): p. 153-9.
25. MacDonald, K.P., et al., The colony-stimulating factor 1 receptor is expressed on dendritic cells during differentiation and regulates their expansion // *J Immunol*, 2005. 175(3): p. 1399-405.

- 26 Nandi, S., et al., The CSF-1 receptor ligands IL-34 and CSF-1 exhibit distinct developmental brain expression patterns and regulate neural progenitor cell maintenance and maturation // *Dev Biol*, 2012. 367(2): p. 100-13.
27. Huynh, D., et al., Colony stimulating factor-1 dependence of paneth cell development in the mouse small intestine. *Gastroenterology*, 2009. 137(1): p. 136-44, 144 e1-3.
28. Grivennikov, S.I., F.R. Greten, and M. Karin, Immunity, inflammation, and cancer // *Cell*, 2010. 140(6): p. 883-99.
29. Schoppmann, S.F., et al., Tumor-associated macrophages express lymphatic endothelial growth factors and are related to peritumoral lymphangiogenesis // *Am J Pathol*, 2002. 161(3): p. 947-56.
30. Pedersen, M.B., et al., High intratumoral macrophage content is an adverse prognostic feature in anaplastic large cell lymphoma // *Histopathology*, 2014. 65(4): p. 490-500.
31. Zhang, Q., et al., Pancreatic Cancer Epidemiology, Detection, and Management // *Gastroenterol Res Pract*, 2016. 8962321.
- 32 Pixley, F.J. and E.R. Stanley, CSF-1 regulation of the wandering macrophage: complexity in action // *Trends Cell Biol*, 2004. 14(11): p. 628-38.
33. Pyonteck, S.M., et al., Deficiency of the macrophage growth factor CSF-1 disrupts pancreatic neuroendocrine tumor development // *Oncogene*, 2012. 31(11): p. 1459-67.
34. Stanley, E.R. and V. Chitu, CSF-1 receptor signaling in myeloid cells. // *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2014. 6(6).

SUMMARY

OVEREXPRESSED PROGENITOR GENE CSF1R IN PANCREATIC CANCER TISSUES AND NERVE INVASIVE PANCREATIC CANCER CELLS

^{1,2}Abiatar I., ¹Midelashvili T., ¹Motsikulashvili M., ^{1,3}Tchavtchavadze A., ⁴Tawfeeq S.M., ⁵Amiranashvili I.

¹Iliia State University, Institute of Medical Research, Tbilisi; ²Medical Center Innova, Tbilisi; ³Georgian National University, SEU, Tbilisi; ⁴P. Shotadze Tbilisi Medical Academy; ⁵Tbilisi State Medical University, Georgia

Aim- pancreatic ductal adenocarcinoma is one of the most aggressive oncological disease with early metastasis and high mortality rate. CSF1R is a gene with progenitor activity, which is also associated with different malignant diseases. In this study our objective was to analyze expression of CSF1R in pancreatic cancer tissues and nerve invasive cancer cells.

Quantitative real time polymerase chain reaction (QRT-PCR) was used to analyze the expression of CSF1R mRNA in nine cultured pancreatic cancer cell lines and pancreatic bulk tissues of the normal pancreas, chronic pancreatitis (n=20/20) and pancreatic ductal adenocarcinoma (n=58). Nerve invasive clones of two pancreatic cancer cell lines was also used.

QRT-PCR analysis revealed a significant up-regulation of

CSF1R mRNA expression in pancreatic adenocarcinoma tissues compared to normal tissues and low expression of this gene indicated a tendency for better survival of pancreatic cancer patients. Expression of CSF1R mRNA was present in all tested pancreatic cancer cell lines with comparably low to moderate expression levels. The CSF1R was significantly overexpressed in nerve invasive pancreatic cancer cells.

Increased expression of CSF1R in pancreatic cancer might be related to perineural invasion and poor prognosis. CSF1R might be an important factor during the development and malignant transformation of tissues.

Keywords CSF1R gene, pancreatic ductal adenocarcinoma, pancreatic cancer, expression of CSF1R mRNA.

РЕЗЮМЕ

ЭКСПРЕССИЯ ПРОГЕНИТОРНОГО ГЕНА CSF1R В ТКАНЯХ И В НЕРВ-ИНВАЗИВНЫХ КЛЕТКАХ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

^{1,2}Абиатар И.Т., ¹Миделашвили Т.Г., ¹Моцикулашвили М.Г., ^{1,3}Чавчavadze А.Ш., ⁴Тауфек С.М., ⁵Амиранашвили И.Д.

¹Государственный университет Илии, Институт медицинских исследований, Тбилиси; ²Медицинский центр Иннова, Тбилиси; ³Грузинский национальный университет, СЕУ, Тбилиси; ⁴Тбилисская медицинская академия им. П. Шотадзе, Тбилиси; ⁵Тбилисский государственный медицинский университет, Грузия

Аденокарцинома поджелудочной железы является одним из самых агрессивных онкологических заболеваний с ранним распространением и высокой смертностью. Ген CSF1R имеет прогениторную активность, экспрессия которого связана с различными злокачественными заболеваниями. Целью исследования явился анализ экспрессии гена CSF1R в тканях рака поджелудочной железы и в нерв-инвазивных раковых клетках.

Количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени (ПЦР) использована для анализа экспрессии мРНК CSF1R в девяти культивируемых клеточных линиях поджелудочного рака и тканях поджелудочной железы: нормальных, хронического панкреатита (n=20/20) и рака (n=58). Для анализа использованы также и нерв-инвазивные клоны двух линий клеток рака поджелудочной железы.

ПЦР-анализ показал значительное повышение экспрессии гена CSF1R в тканях рака поджелудочной железы в сравнении с нормальными тканями. Низкий уровень экспрессии этого гена выявил тенденцию улучшения выживаемости больных раком поджелудочной железы. Экспрессия гена CSF1R присутствовала во всех тестируемых клеточных линиях рака поджелудочной железы, однако была значимо повышена в нерв-инвазивных раковых клетках поджелудочной железы.

Таким образом, следует заключить, что повышенная экспрессия гена CSF1R при раке поджелудочной железы, по всей вероятности, связана с нервной инвазией и неблагоприятным прогнозом заболевания. CSF1R является значимым фактором при развитии и злокачественной трансформации тканей.

რეზიუმე

პროგნოზირებული აქტივობის მქონე გენ-CSF1R-ის ექსპრესია პანკრეასის კიბოს ქსოვილებში და ნერვებში ინვაზიურ პანკრეასის კიბოს უჯრედებში

^{1,2}ი. აბიათარი, ¹თ. მიდელაშვილი, ¹მ. მოციქულაშვილი,

^{1,3}ა. ჭავჭავაძე, ⁴ს.მ. ტაუფეკ, ⁵ი. ამირანაშვილი

¹ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი, მედიცინის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტი; ²სამედიცინო ცენტრი ინოვა; ³საქართველოს ეროვნული უნივერსიტეტი - სეუ; ⁴პ. შოთაძის სახ. თბილისის სამედიცინო აკადემია; ⁵თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, საქართველო

პანკრეასის სადინროვანი ადენოკარცინომა ერთ-ერთი ყველაზე აგრესიული ონკოლოგიური დაავადებაა, რომელიც გამოირჩევა ადრეული მეტასტაზირებით და მაღალი სიკვდილობის მაჩვენებლით. CSF1R არის გენი პროგნოზირებული აქტივობით, რომელიც დაკავშირებულია სხვადასხვა ავთვისებიან დაავადებებთან. კვლევის მიზანს წარმოადგენდა გენ CSF1R-ის ექსპრესიის შესწავლა პანკრეასის კიბოს ქსოვილებში და ნერვებში ინვაზიურ კიბოს უჯრედებში.

რაოდენობრივი პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდი (QRT-PCR) გამოყენებული იყო CSF1R-ის ინფორმაციული რნმ-ის ექსპრესიის განსაზღვრისთვის ცხრა პანკრეასის კიბოს უჯრედულ ხაზებში და პანკრეასის ქსოვილებში, მათ შორის ნორმალური პანკრეასის, ქრონიკული პანკრეატიტის (n=20/20) და პანკრეასის სადინროვანი ადენოკარცინომის (n=58) ქსოვილებში. ასევე გამოიყენებული იყო პანკრეასის კიბოს უჯრედების ნერვში ინვაზიური ორი კლონი.

QRT-PCR-ის ანალიზმა გამოავლინა CSF1R-ის ექსპრესიის მნიშვნელოვანი მომატება პანკრეასის ადენოკარცინომის ქსოვილებში ნორმალურ ქსოვილებთან შედარებით და ამ გენის დაბალი ექსპრესია პანკრეასის კიბოთი დაავადებულ პაციენტებში დაკავშირებული იყო სიცოცხლის ხანგრძლივობის უკეთეს მაჩვენებელთან. QRT-PCR მეთოდმა გამოავლინა CSF1R-ის რნმ-ის ექსპრესია ყველა პანკრეასის კიბოს უჯრედულ ხაზებში. CSF1R-ის ექსპრესია მნიშვნელოვნად იყო მომატებული ნერვში ინვაზიურ პანკრეასის კიბოს უჯრედებში.

CSF1R-ის ექსპრესია პანკრეასის კიბოში შეიძლება დაკავშირებული იყოს ნერვებში ინვაზიასთან და ცუდ პროგნოზთან. სავარაუდოა, რომ CSF1R-ასრულებს მნიშვნელოვან როლს ქსოვილების განვითარების და მალიგნიზაციის პროცესში.

СТРУКТУРА ПОДВЗДОШНОЙ КИШКИ ПОСЛЕ РЕЗЕКЦИИ ПАРЕНХИМЫ ПЕЧЕНИ

Татарчук Л.В., Гаргула Т.И., Гнатюк М.С., Слабый О.Б., Ясиновский О.Б.

Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского Министерства здравоохранения Украины», Тернополь, Украина

Сегодня в хирургических клиниках нередко выполняют резекцию части печени, которая показана при доброкачественных и злокачественных опухолях, метастазах, травмах печени, внутрипеченочном холангиолитиазе, альвеолярном эхинококкозе, трансплантации печени [2,10,11]. Резекция больших объемов паренхимы печени приводит к возникновению пострезекционной портальной гипертензии [2,3,5,6]. Портальная гипертензия – состояние организма, характеризующееся стойким повышением давления в бассейне воротной печеночной вены, обусловленное анатомической или функциональной обструкцией кровотока в системе воротной печеночной вены, печеночных венах, а также нижней полой вене. Основными клиническими признаками портальной гипертензии являются расширение и полнокровие воротной печеночной вены, брыжеечных вен, варикозное расширение вен пищевода и желудка, геморроидальных вен, передней брюшной стенки, желудочно-кишечные кровотечения, спленомегалия, асцит [3,7,10]. Гемодинамические изменения, которые возникают в системе воротной печеночной вены, сопровождаются венозным застоем в органах, венозный дренаж которых осуществляется через указанный сосуд, гипоксией и структурными изменениями в них. Подвздошная кишка относится к органам, венозный дренаж которых осуществляется через воротную печеноч-

ную вену, где гемодинамические расстройства осложняются различными морфологическими изменениями в сосудах и структурах исследуемого органа. Необходимо отметить, что особенности ремоделирования подвздошной кишки при пострезекционной портальной гипертензии изучены недостаточно [11].

Целью исследования явилось посредством количественных морфологических методов определить особенности ремоделирования подвздошной кишки при пострезекционной портальной гипертензии.

Материал и методы. Исследования проведены на 45 лабораторных половозрелых крысах-самцах, которые были разделены на 3 группы. I группа состояла из 15 интактных животных (контрольная), II – 15 крыс после резекции левой боковой доли – 31,5% паренхимы печени, III – 15 животных после резекции правой и левой боковых долей печени (58,1%) [3]. Эвтаназию животных осуществляли кровопусканием в условиях тиопентал-натриевого наркоза спустя 1 месяц от начала эксперимента. При проведении исследований придерживались общих этических принципов работы с экспериментальными животными [3]. Вирезанные кусочки из подвздошной кишки фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина и после соответствующего проведения через этиловые спирты возрастающей концен-

трации заливали в парафиновые блоки по общепринятой методике. Гистологические срезы толщиной 5-7 мкм после депарафинизации красили гематоксилин-эозином, по ван-Гизон, Маллори, Вейгерту, толуидиновым синим [1]. На гистологических микропрепаратах подвздошной кишки морфометрически определяли толщины слизистой (ТСО), мышечной (ТМО), серозной (ТСерО) оболочек, подслизистого слоя (ТПС), подслизисто-слизистый (ПСИ) и подслизисто-мышечный (ПМИ) индексы, длину (ДВ), ширину (ШВ) ворсинок, глубину (ГК), ширину (ШК) крипт, высоту эпителиоцитов (ВЭ), диаметр их ядер (ДЯЭ), ядерно-цитоплазматические отношения в этих клетках (ЯЦО), относительные объемы миоцитов (ООМ), стромы (ООС), стромально-миоцитарные (СМО) отношения в мышечной оболочке, относительные объемы поврежденных эпителиоцитов (ООПЭ) и миоцитов (ООПМ), диаметр миоцитов, их ядер, ядерно-цитоплазматические отношения (ДМ, ДЯМ ЯЦОМ). Количественные показатели обрабатывали статистически [1,3]. Обработка результатов выполнена в отделе системных статистических исследований Государственного высшего учебного заведения «Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского Министерства здравоохранения Украины» в программном пакете Statsoft STATISTIKA. Различия между сравниваемыми величинами определяли по критериям Манна-Уитни и Стьюдента [1,3].

Результаты и их обсуждение. Полученные морфометрические параметры структур подвздошной кишки исследуемых животных представлены в таблице. Анализом приведенных в таблице данных выявлено, что спустя месяц после резекции 31,5% паренхимы печени (II группа) определяемые показатели изменялись незначительно. В исследуемых экспериментальных условиях толщины слизистой, мышечной и серозной оболочек изменились, соответственно, на 2,6; 1,4 та 1,1%, а толщина подслизистого слоя – всего на 0,9%. Необходимо указать, что подслизисто-слизистый и подслизисто-мышечный индексы спустя месяц после резекции 31,5% паренхимы печени существенно не изменились ($p>0,05$), что указывает на стабильность органного структурного гомеостаза [1,3,8].

Высота ворсинок подвздошной кишки в данных экспериментальных условиях уменьшилась на 3,5% ($p<0,05$) в сравнении с контрольной величиной, а их ширина достоверно ($p<0,05$) увеличилась на 3,6%. Эти изменения структур слизистой оболочки подвздошной кишки спустя месяц после удаления 31,5% паренхимы печени свидетельствовали, что площадь их всасывающей поверхности не изменялась. Глубина крипт при этом уменьшилась на 3,9%, а их ширина возросла на 4,0%.

В исследуемых условиях эксперимента высота эпителиоцитов слизистой оболочки подвздошной кишки, диаметр ядер указанных клеток, ядерно-цитоплазматические отношения не изменялись. Последнее свидетельствует о постоянстве клеточного структурного гомеостаза. Относительные объемы миоцитов и стромы, стромально-миоцитарные отношения также существенно не изменялись. Постоянство стромально-миоцитарных отношений в мышечной оболочке подвздошной кишки указывает на стабильность тканевого структурного гомеостаза [8].

Спустя месяц после резекции 58,1% паренхимы печени (III группа) макроскопически отмечалось расширение и полнокровие воротной печеночной вены и брыжеечных вен, спленомегалия, асцит. Светооптически в микропрепаратах

подвздошной кишки наблюдалось расширение и полнокровие преимущественно венозных сосудов. В венозном звене микрогемодикуляторного русла отмечались расширенные, переполненные кровью микрососуды, стаз, тромбозы, диapedзные паравазальные кровоизлияния, отек, плазморрагия стенок сосудов и паравазальных тканей. Описанное свидетельствовало о наличии пострезекционной портальной гипертензии [3].

Спустя месяц после резекции 58,1% паренхимы печени толщина слизистой оболочки исследуемого органа статистически достоверно ($p<0,001$) уменьшилась с $320,4\pm 4,5$ мкм до $272,3\pm 3,2$ мкм, то есть на 15,0%. Толщина мышечной оболочки изменялась почти аналогично. В контрольной группе животных указанный морфометрический показатель исследуемого органа достигал $62,70\pm 0,84$ мкм, а спустя месяц после резекции 58,1% паренхимы печени – $58,90\pm 0,66$ мкм. Между приведенными морфометрическими параметрами выявлено статистически достоверное ($p<0,01$) различие. При этом последний показатель оказался меньше предыдущего на 6,1%. Толщина подслизистого основания подвздошной кишки в данных экспериментальных условиях статистически достоверно ($p<0,01$) увеличилась с $29,60\pm 0,39$ мкм до $31,80\pm 0,36$ мкм, т.е. на 7,4%. Серозная оболочка данного органа при этом также оказалась увеличенной и достигала $5,65\pm 0,06$ мкм. Данный показатель статистически достоверно ($p<0,05$) на 6,6% отличался от аналогичного контрольного морфометрического параметра. Подслизисто-слизистый индекс при этом возрос на 27,2% ($p<0,001$), а подслизисто-мышечный – на 14,4% ($p<0,001$) в сравнении с аналогичными контрольными морфометрическими показателями.

Анализ полученных морфометрических параметров слизистой оболочки подвздошной кишки спустя месяц после резекции 58,1% паренхимы печени выявил уменьшение длины ворсинок и глубины крипт. Длина ворсинок слизистой оболочки неповрежденной подвздошной кишки равнялась $145,5\pm 1,8$ мкм, а в III группе наблюдений $122,70\pm 1,41$ мкм. Данные морфометрические параметры с выраженной статистической достоверностью ($p<0,001$) отличались между собой. При этом последний количественный морфологический показатель уменьшился в сравнении с предыдущим на 15,7%. Почти такие же изменения выявлены при оценке структурной перестройки глубины крипт слизистой оболочки подвздошной кишки спустя месяц после удаления 58,1% паренхимы печени. Глубина крипт слизистой оболочки подвздошной кишки в исследуемых экспериментальных условиях статистически достоверно ($p<0,001$) уменьшилась на 15,4%, т.е. с $91,35\pm 1,20$ мкм до $77,30\pm 0,93$ мкм.

Ширина ворсинок и крипт слизистой оболочки подвздошной кишки спустя месяц после резекции 58,1% паренхимы печени увеличилась. Ширина ворсинок слизистой оболочки исследуемого органа контрольной группы животных достигала ($54,90\pm 0,72$) мкм, а при пострезекционной портальной гипертензии – $62,20\pm 0,69$ мкм. Между приведенными морфометрическими параметрами выявлено статистически достоверное ($p<0,001$) различие. При этом последний количественный морфологический показатель оказался увеличенным на 13,3% в сравнении с предыдущим. Ширина крипт слизистой оболочки подвздошной кишки в условиях пострезекционной портальной гипертензии достигала $32,90\pm 0,42$ мкм, а в контрольных наблюдениях – $28,80\pm 0,36$ мкм. Необходимо отметить, что данные морфометрические параметры с высокой статистической достоверностью ($p<0,001$) отличались между собой и последний количественный морфо-

Таблица. Морфометрическая характеристика подвздошной кишки экспериментальных животных ($M \pm m$)

Показатель	Группа наблюдения		
	I	II	III
ТСО, мкм	320,4±4,5	312,10±4,14	272,3±3,2***
ТПС, мкм	29,60±0,39	29,80±0,42	31,80±0,36**
ТМО, мкм	62,70±0,84	61,80±0,81	58,90±0,66*
ТСерО, мкм	5,30±0,06	5,36±0,05	5,65±0,06*
ПСИ	0,092±0,001	0,095±0,003	0,117±0,002***
ПМИ	0,472±0,006	0,482±0,003	0,540±0,007***
ДВ, мкм	145,5±1,8	140,4±1,5*	122,70±1,41***
ШВ, мкм	54,90±0,72	56,90±0,75*	62,20±0,69***
ГК, мкм	91,35±1,20	87,80±1,20*	77,30±0,93***
ШК, мкм	28,80±0,36	29,96±0,33*	32,90±0,42***
ВЭ, мкм	10,90±0,15	10,70±0,18	9,30±0,12***
ДЯЭ, мкм	3,30±0,03	3,28±0,03	3,31±0,03
ЯЦО	0,091±0,002	0,094±0,003	0,126±0,003***
ООПЭ, %	2,30±0,03	6,20±0,06***	64,50±0,72***
ООМ, %	88,6±0,6	88,5±0,7	86,6±0,6*
ООС, %	11,4±0,2	11,5±0,2	13,4±0,3**
СМО	0,128±0,001	0,130±0,003	0,155±0,003***
ООПМ, %	2,10±0,02	5,50±0,06***	41,10±0,54***
ДМ, мкм	9,10±0,06	9,20±0,07	9,30±0,06*
ДЯМ, мкм	2,83±0,02	2,85±0,003	3,55±0,05***
ЯЦОМ	0,097±0,002	0,096±9,004	0,146±0,003***

примечание. *- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$

логический показатель уменьшился в сравнении с предыдущим на 11,6%.

Спустя месяц после удаления 58,1% паренхимы печени высота эндотелиоцитов слизистой оболочки подвздошной кишки статистически достоверно ($p < 0,001$) снизилась с $10,90 \pm 0,15$ мкм до $9,30 \pm 0,12$ мкм, то есть на 14,7%. Размеры ядер в исследуемых условиях эксперимента существенно не изменились. Ядерно-цитоплазматические соотношения в эпителиоцитах слизистой оболочки неповрежденной подвздошной кишки достигали $0,091 \pm 0,002$, а при удалении 58,1% паренхимы печени – $0,126 \pm 0,003$. Между этими цифровыми величинами выявлено выраженное статистически достоверное различие ($p < 0,001$). При этом последний показатель превышал предыдущий на 38,6%. Значительное уменьшение ядерно-цитоплазматических отношений в эпителиоцитах слизистой оболочки подвздошной кишки после удаления 58,1% паренхимы печени указывало на нарушение клеточного структурного гомеостаза [3,8].

Известно, что пострезекционная портальная гипертензия приводит к выраженным нарушениям внутри – и внешнепеченочной гемодинамики, а также снижению адаптационно-компенсаторных возможностей сосудистой системы. Нарушение гемодинамики в сосудах портального тракта осложняется прогрессирующим расширением преимущественно его венозных сосудов, нарушениями гемомикроциркуляции [3]. Снижение высоты эпителиоцитов, толщины слизистой оболочки, высоты ворсинок слизистой оболочки подвздошной кишки при пострезекционной портальной гипертензии свидетельствовали об

атрофических процессах в исследуемом органе, обусловленные венозным полнокровием и гипоксией, местными иммунными процессами [3,4,9].

Относительный объем миоцитов в мышечной оболочке подвздошной кишки спустя месяц после резекции 58,1% паренхимы печени статистически достоверно ($p < 0,05$) снизился с $88,6 \pm 0,6\%$ до $86,6 \pm 0,6\%$, т.е. на 2,25% ($p < 0,05$).

Относительный объем стромы в мышечной оболочке исследуемого органа при смоделированной пострезекционной портальной гипертензии увеличился с $11,4 \pm 0,2\%$ до $13,4 \pm 0,3\%$. Между приведенными цифровыми величинами выявлено статистически достоверное ($p < 0,01$) различие. При этом последний морфометрический параметр превышал предыдущий на 17,5%. Выявленное диспропорциональное изменение относительного объема миоцитов и стромы в мышечной оболочке подвздошной кишки исследуемого органа после резекции 58,1% паренхимы печени приводило к выраженному нарушению отношений между количеством стромы и миоцитами. При этом стромально-миоцитарные отношения в мышечной оболочке неповрежденной подвздошной кишки достигали $0,128 \pm 0,001$, а спустя месяц после удаления 58,1% паренхимы печени – $0,155 \pm 0,003$. Представленные морфометрические параметры между собой статистически достоверно ($p < 0,001$) отличались и последний количественный морфологический показатель превышал предыдущий на 21,1%, указывая не только на выраженное увеличение стромы в мышечной оболочке органа, но и на нарушение тканевого структурного гомеостаза [3]. Относительный объем поврежденных миоцитов в мы-

щечной оболочке при этом увеличился в 19,6 раза и достигал $41,1 \pm 0,54\%$. Полученный морфометрический параметр свидетельствует о том, что при пострезекционной портальной гипертензии количество поврежденных миоцитов в мышечной оболочке подвздошной кишки было меньше в сравнении с поврежденными эпителиоцитами в слизистой оболочке исследуемого органа.

При резекции 31,5% паренхимы печени размеры миоцитов в мышечной оболочке подвздошной кишки, их ядер, ядерно-цитоплазматические отношения в исследуемых клетках почти не изменялись ($p > 0,05$). При удалении 58,1% паренхимы печени исследуемые морфометрические показатели мышечной оболочки исследуемого органа оказались существенно измененными. Диаметр миоцитов при этом статистически достоверно ($p < 0,05$) увеличился с $9,10 \pm 0,06$ до $9,30 \pm 0,05$, то есть на 2,2%. Увеличение диаметра ядер указанных клеток в исследуемых условиях эксперимента оказалось более выраженным. В контрольной группе наблюдений указанный морфометрический параметр был равен $2,83 \pm 0,02$ мкм, а спустя месяц после удаления левой и правой боковых частей печени – $3,55 \pm 0,05$ мкм. Между приведенными количественными морфологическими показателями выявлено выраженное статистически достоверное ($p < 0,001$) различие. При этом последний морфометрический параметр превышал предыдущий на 25,4%.

Неравномерное, диспропорциональное увеличение пространственных характеристик гладких миоцитов мышечной оболочки подвздошной кишки и их ядер в условиях эксперимента приводило к выраженным изменениям ядерно-цитоплазматических отношений. В контрольных наблюдениях указанный морфометрический параметр достигал $0,097 \pm 0,002$, а спустя месяц после удаления 58,1% паренхимы печени – $0,146 \pm 0,003$. Необходимо отметить, что последний количественный морфологический показатель с значительной статистической достоверностью ($p < 0,001$) отличался от предыдущего и превышал его на 50,5% и указывал на значительное доминирование размеров ядра в сравнении с цитоплазмой исследуемых клеток.

Таким образом, анализ полученных в результате проведенного исследования морфометрических параметров подвздошной кишки показал, что спустя месяц после резекции 58,1% паренхимы печени возникает пострезекционная портальная гипертензия, которая осложняется существенными нарушениями органного, тканевого и клеточного структурных гомеостазов в исследуемом органе. Известно, что выраженное нарушение органного, тканевого и клеточного структурных гомеостазов может приводить к дисфункции органа [1,3,9]. При этом пространственные и патологические изменения в структурах подвздошной кишки неодинаковые, что подтверждается полученными морфометрическими параметрами. В большей степени при пострезекционной портальной гипертензии страдает слизистая оболочка подвздошной кишки в сравнении с мышечной (относительный объем поврежденных миоцитов в слизистой оболочке достигал $64,50 \pm 0,72\%$, а миоцитов в мышечной оболочке – $41,10 \pm 0,54\%$). По-видимому, это связано с более выраженным функционированием слизистой оболочки и местными иммунными реакциями, которые доминируют в указанной оболочке кишки и первыми реагируют на повреждение клеток и тканей [11].

Гистологически в оболочках стенки подвздошной кишки наблюдали выраженные сосудистые расстрой-

ства, отек стромы, очаги дистрофически, некротически и апоптически измененных эпителиоцитов, миоцитов, клеточных инфильтратов и разрастание соединительной ткани. Отмечался также отек эндотелиоцитов, их дистрофия, некробиоз, десквамация и пролиферация. Последнее свидетельствовало о наличии гипоксии. Выраженные повреждения большинства эндотелиоцитов может привести к эндотелиальной дисфункции и усилить повреждение клеток и тканей [3,9]. Необходимо также указать, что выявленные патогистологические повреждения стенки подвздошной кишки в условиях пострезекционной портальной гипертензии коррелировали с такими морфометрическими параметрами как подслизисто-слизистый и подслизисто-мышечный индексы, ядерно-цитоплазматические отношения в эпителиоцитах и миоцитах, стромально-миоцитарные отношения в мышечной оболочке органа, относительные объемы поврежденных эпителиоцитов и миоцитов. При значительном изменении указанных количественных показателей патогистологические повреждения структур оболочек подвздошной кишки были более выраженными.

Выводы. На основании полученных результатов можно заключить, что удаление больших объемов паренхимы печени приводит к пострезекционной портальной гипертензии, выраженной структурной перестройке (ре-моделирование) структур подвздошной кишки, которая характеризуется диспропорциональными изменениями пространственных характеристик структур органа, нарушением соотношений между ними, сосудистыми расстройствами, отеком, дистрофическими и некробиотическими изменениями эпителиоцитов, гладких миоцитов, эндотелиоцитов и элементов стромы, а также инфильтративными и склеротическими изменениями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Березовський В.Я. Цитоморфометричні зміни паренхіми печінки під впливом гіпо- та гіпероксичних газових сумішей / В.Я. Березовський, Р.В. Янко // Український морфологічний альманах. – 2011. – Т.9, № 1. – С. 14-18.
2. Вишневський В. А. Сегментарные резекции, отдаленные результаты при злокачественных опухолях печени / В. А. Вишневский, М. Г. Ефанов, И. В. Казаков // Укр. журнал хирургии. – 2012. – № 1 (16). – С. 5–15.
3. Гнатюк М. С. Морфометрична оцінка особливостей ремоделювання структур дванадцятипалої кишки при резекції різних об'ємів печінки / М.С. Гнатюк, Л.В. Татарчук, О.Б. Ясіновський // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина». – 2016. – Вип. 1 (53). – С. 92-95.
4. Лазарик О.Л. Лектингістохімічна характеристика реактивності дванадцятипалої кишки щурів у експерименті / О.Л. Лазарик, О.А. Григор'єва // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2016. – Т.15, № 1. – С.36-38
5. Колесник О.О. Волкуметрия при розширених резекція печінки / О.О. Колесник, А.А. Бурлака, О.В. Ганіч, М.І. Палій // Онкологія. – 2016. – Т.18, № 2. – С.137-141.
6. Котенко О.Г. Тактика хірургічного лікування гепатоцелюлярної карциноми з пухлинним тромбозом воротної вени / О.Г. Котенко, М.Я. Калита, І.В. Гомолко, О.В. Гриненко // АМІ. – 2014. – Т.16, № 3. – С.20-27.
7. Пилипко І.В. Синдром портальної гіпертензії та механізми його розвитку при печінковій патології / І.В. Пилипко // Вісник наукових досліджень. – 2015. – № 4. – С.7-10.

8. Серышев О.Ю. Морфофункциональная характеристика эпителия двенадцатиперстной кишки у потомства самок крыс с экспериментальным поражением печени / О. Ю. Серышева, О. В. Брюхин // *Морфология*. – 2013. – № 4. – С. 36-41.

9. Сливка Н.О. Ендотеліальна дисфункція і печінковий кровотік при алкогольній хворобі печінки / Н.О. Сливка, І.А. Плеш, В.А. Голідуков, Л.П. Полухович // *Буковинський медичний вісник*. – 2015. – Т.19, № 2(74). – С.177-179.

10. Nanashima A. A modified grading system for post-hepatectomy metastatic liver cancer originating from colorectal carcinoma / A. Nanashima, Y. Sumida, T. Abo // *J. Surg. Oncol.* – 2008. – № 98. – P. 363–370.

11. Palavecino M I. Major hepatic resection for hepatocellular carcinoma with or without portal vein embolization: Perioperative outcome and survival / M. Palavecino, I. S. Chun, D. C. Madoff // *Surgery*. – 2009. – Vol. 145, № 4. – P. 399–405.

SUMMARY

THE STRUCTURE OF THE ILEUM AFTER THE RESECTION OF LIVER PARENCHYMA

Tatarchuk L., Gargula T., Hnatiuk M., Slabyi O., Yasinovskiy O.

State Higher Educational Institution "I. Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University of Ministry of Health Ukraine", Ukraine

The ileum was morphologically examined in 45 sexually mature white male rats, which were divided into 3 groups: I group included 15 intact animals, II – 15 rats, in which 31.5% of the liver parenchyma was removed, III - 15 animals after resection 58,1% of liver parenchyma. Euthanasia of rats was performed by bloodletting under the conditions of thiopental anesthesia 1 month after the beginning of the experiment. Histological micropreparations were made from the ileum, which were studied morphometrically. Quantitative indicators were processed statistically. It was revealed that after resection of 31.5% of the parenchyma of the liver, the morphometric parameters studied were insignificantly altered. Resection of 58.1% of the liver parenchyma lead to postresectional portal hypertension, which was characterized by venous full-blood in the veins of the portal hepatic vein system and morphological changes in the ileum.

Venous thrombosis, edema, dystrophic, necrotic, infiltrative, sclerotic and atrophic processes were observed in the investigat-

ed organ. The relative volume of the damaged epitheliocytes of the mucous membrane of the ileum reached $64.50 \pm 0.72\%$, and myocytes in the muscular membrane - $41.10 \pm 0.54\%$. The pronounced changes in nuclear-cytoplasmic relations in epitheliocytes and stromal-myocytic muscle tissue testified to violations of tissue and cellular structural homeostasis. Thus, the removal of large volumes of liver parenchyma leads to postresectional portal hypertension expressed by remodeling of the structures of the ileum, which is characterized by uneven disproportional changes in the spatial characteristics of the organ structures, disturbances between them, vascular disorders, edema, dystrophic, necrobiotic changes in epitheliocytes, endothelial cells, myocytes, stromal elements, infiltrative, sclerotic and atrophic processes.

Keywords: resection, liver parenchyma, portal hypertension, ileum.

РЕЗЮМЕ

СТРУКТУРА ПОДВЗДОШНОЙ КИШКИ ПОСЛЕ РЕЗЕКЦИИ ПАРЕНХИМЫ ПЕЧЕНИ

Татарчук Л.В., Гаргула Т.И., Гнатюк М.С., Слабий О.Б., Ясиновский О.Б.

Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского Министерства здравоохранения Украины», Тернополь, Украина

Морфологически исследована подвздошная кишка 45 половозрелых белых крыс-самцов, которые были разделены на 3 группы: I группа включала 15 интактных животных, II – 15 крыс, у которых было удалено 31,5% паренхимы печени, III – 15 животных после резекции 58,1% паренхимы печени. Эвтаназия крыс осуществлялась кровопусканием в условиях тиопенталового наркоза спустя 1 месяц от начала эксперимента. Из подвздошной кишки изготавливали гистологические микропрепараты, которые изучали морфометрически. Количественные показатели обрабатывали статистически. Выявлено, что при резекции 31,5% паренхимы печени исследуемые морфометрические показатели изменялись незначительно. Резекция 58,1% паренхимы печени приводит к пострезекционной портальной гипертензии, которая характеризуется венозным полнокровием в системе воротной печеночной вены и морфологическими изменениями подвздошной кишки. В исследуемом органе наблюдалось венозное полнокровие, отек, дистрофические, некротические, инфильтративные, склеротические и атро-

фические процессы. Относительный объем поврежденных эпителиоцитов слизистой оболочки подвздошной кишки достигал $64,50 \pm 0,72\%$, а миоцитов в мышечной оболочке – $41,10 \pm 0,54\%$. Выраженные изменения ядерно-цитоплазматических соотношений в эпителиоцитах и миоцитах, а также стромально-миоцитарных в мышечной оболочке, свидетельствуют о нарушениях гомеостаза на клеточном и тканевом уровне.

Таким образом, удаление больших объемов паренхимы печени приводит к пострезекционной портальной гипертензии, выраженному ремоделированию структур подвздошной кишки, что характеризуется неравномерными диспропорциональными изменениями пространственных характеристик структур органа, нарушением отношений между ними, сосудистыми расстройствами, отеком, дистрофическими и некробиотическими изменениями эпителиоцитов, эндотелиоцитов, миоцитов и стромальных элементов, инфильтративными, склеротическими и атрофическими процессами.

რეზიუმე

თემოს ნაწლავის რემოდელირების თავისებურებანი პოსტრეპექციული პორტალური ჰიპერტენზიის დროს

ლ. ტატარჩუკი, ტ. გარგულა, მ. გნატიუკი, ო. სლაბი, ო. იასინოვსკი

უმაღლესი სახელმწიფო სასწავლო დაწესებულება "უკრაინის ჯანდაცვის სამინისტროს ი. გორბანევის სახ. ტერნოპოლის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი", უკრაინა

მორფოლოგიურად გამოკვლეულია 45 ზრდასრული მამრი ვირთაგას თემოს ნაწლავი. ვირთაგვები გაყოფილი იყვნენ 3 ჯგუფად: I ჯგუფი - ინტაქტური ცხოველები (n=15), II - ცხოველები, რომლებსაც ამოკვეთილი ჰქონდათ ღვიძლის 31,5% (n=15) და III ჯგუფი - ცხოველები ღვიძლის პარენქიმის 58,1% რეზექციის შემდეგ (n=15). ვირთაგვების ეტანაზია ხორციელდებოდა სისხლისგან დაცვის მეშვეობით, ტიოპენტალური ნარკოზის პირობებში, ექსპერიმენტის დაწყებიდან ერთი თვის შემდეგ. თემოს ნაწლავისგან მზადდებოდა ჰისტოლოგიური მიკროპრეპარატები, რომლებიც შეისწავლებოდა მორფოლოგიურად. რაოდენობრივი მანვენებლების დამუშავება ხდებოდა სტატისტიკურად. გამოვლინდა, რომ 31,5% ღვიძლის პარენქიმის რეზექციის შემთხვევაში საკვლევი მორფომეტრული მანვენებლების ცვლილებები

იყო სრულად უმნიშვნელო. ღვიძლის პარენქიმის 58,1%-ის რეზექციის შემთხვევაში ვითარდებოდა პოსტრეპექციული პორტალური ჰიპერტენზია, რომელიც ხასიათდებოდა ვენური სისხლსაგვებით ღვიძლის პორტალური ვენის სისტემაში და თემოს ნაწლავის მორფოლოგიური ცვლილებებით. საკვლევი ორგანოში აღინიშნებოდა ვენური სისხლსაგვებობა, შემუპება, დისტროფიული, ნევროტიული, ინფილტრაციული, სკლეროზული და ატროფიული პროცესები. თემოს ნაწლავის ლორწოვანი გარსის დაზიანებული ეპითელიოციტების ფარდობითი მოცულობა აღწევდა $64.50 \pm 0.72\%$, ზოლო მიოციტების მოცულობა კუნთოვან გარსში - $41.10 \pm 0.54\%$. ეპითელიოციტებისა და მიოციტებში ბირთვულ-ციტოპლაზმური დამოკიდებულების გამოხატული ცვლილებები და სტრომალურ-მიოციტური კუნთოვან გარსში, მიუთითებს ქსოვილოვანი და უჯრედოვანი სტრუქტურული ჰომოსტაზის დარღვევებზე.

ავტორები დაასკვნის, რომ ღვიძლის პარენქიმის დიდი მოცულობით ამოკვეთა იწვევს პოსტრეპექციული სტრუქტურის გამოსატულ რემოდელირებას, რაც ხასიათდება ორგანოს სტრუქტურის სივრცობრივი მახასიათებლების დისპროპორციული არათანმიმდევრული ცვლილებებით, მათ შორის კავშირის მოშლით, სისხლძარღვოვანი დარღვევით, შემუპებით, ეპითელიოციტების, ენდოთელიოციტების, მიოციტების და სტრომული ელემენტების დისტროფიული და ნეკრობიოტიკური ცვლილებებით, ინფილტრაციული სკლეროზით და ატროფიული პროცესებით.

COMPARATIVE ANALYSIS OF WHOLE CARTILAGE TISSUE THERMOSTABILITY IN DISEASED PATIENTS VERSUS INJURED PATIENTS

²Monaselidze J., ³Kikalishvili L., ⁴Sharia Sh., ³Ramishvili M., ¹Lezhava T.

¹I. Javakhishvili Tbilisi State University, ²E. Andronikashvili Institute of Physics; ³Tbilisi State Medical University; ⁴Sokhumi State University, Tbilisi, Georgia

In organism, collagen carries out different biological functions. Its important role is cogently proved by various inherit genetic defects which are bound to mutations in collagen molecule. As a result of mutation, procollagen chains are formed incorrectly what results in creation of abnormal trimeric collagen which forms defective fibers [2,3].

Among inherit diseases of musculoskeletal system prevail hip dislocation. In Georgia share of this disease among children is around 4% and among adults 2.8%. To clinical morphological manifestations of hip dysplasia-relate changes connected with damage of collagen fibers, cartilage and in case of skin its hyperelasticity and tendency to trauma. Joint pathology results in excessive mobility of joints, dislocations, subluxations determined by weak collagen fibers, unable to withstand proper mechanical burdens [7]. The goal of this work is to reveal that fine changes

of collagen fiber thermostability of whole cartilage in tissue of patients with inherit hip dislocation.

Material and methods. DSC (differential scanning calorimeter) research was carried out by devise with sensitivity 0.1 μW. [1,4]. Temperature range of the measurement is 20-130°C. Volume of measuring cells 0.3 ml. heating rate in all experiments 0.5°C/min. As a biological object for research, we use connective tissue of capsule of hip joints received after surgery and cartilaginous femoral tissue of patients aged 5-30 year taken after traumatic amputation, which were used as a control. Measurements were made on 5 samples of patients with physical trauma and 5 patients with inherit diseases.

Results and their discussion. Experimental data. Fig. 1 shows cartilages and skin tissues DSC curves of injured (healthy) and not healthy patients. We see that denaturation pro-

cess in all 3 cases is characterized by one intensive heat absorption peak, place of which on temperature scale depends on tissue type, Weak shoulder around 50-60°C, Diffusive heat absorption within 80-120°C.

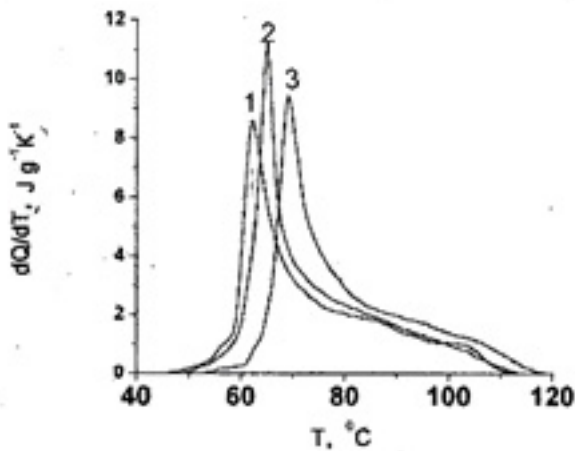


Fig. 1. Heat absorption of human tissue calculated on 1gr dry biomass: 1. cartilaginous femoral tissue of 5 year old girl with inherit hip dislocation, 2. Hand skin tissue of injured 21 year old man, 3. Cartilaginous femoral tissue of 30 year old sportsman.

Difference between denaturation curves of healthy and diseased patients is that in case of cartilage tissues – heat absorption peak maximum of diseased patient is shifted by 6.4°C to lower temperatures and skin tissue heat absorption peaks shifted by 3.5°C to lower temperatures.

Areas under curves within temperature interval 18-120°C presents heat value absorbed during denaturation process of studied objects and in case of cartilage tissue, skin tissue and pathological cartilage tissue are: 52 ± 2.6 , 51 ± 2.6 and 50 ± 2.5 J/g of dried biomass accordingly.

In order to clear question of collagen fibers denaturation with in temperature range 75-120 °C (Fig. 1) we increased concentration of biopolymer in tissue by evaporation free water on 30°C (Fig. 2). This method was used due to fact that denaturation temperature of collagen solutions and its native fibers are in strong correlation with polymer concentration while for globular proteins and elastin such correlation is not observed [6].

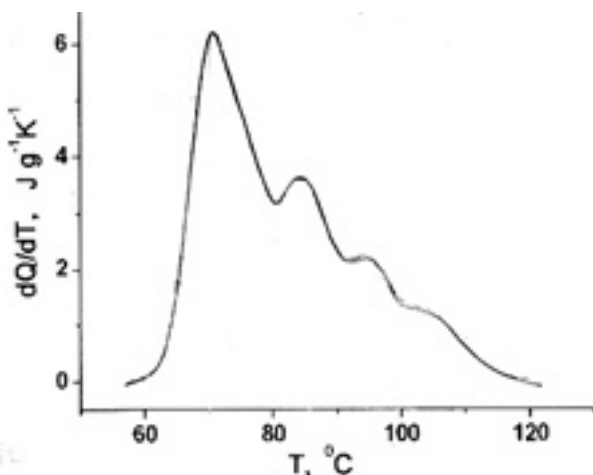


Fig. 2. Heat absorption of human femoral tissue with inherit hip dislocation, calculated on 1gr dry biomass after evaporation from wet mass 15% of water.

DSC denaturation measurements of: Injured (healthy) cartilage tissue with 60.5% protein and 39.5% water content and pathological tissue - 45% protein and 55% water content shows that heat absorption curves have 3 clear and intensive maximum peaks around 78, 86 and 105°C. From the three 78°C peak is dominant (Fig. 2). These temperature values well match with weak shoulders and maximums observed on denaturation curves of normal and pathologic tissue (Fig. 1). Acquired data directly shows that weak diffusive peaks on curves 1,2,3 (Fig. 1) within temperature range 75-110°C corresponds to collagen fiber denaturation with different density order. This statement is supported by data, according to which in case of decreasing water volume in collagen solutions and collagen fibers thermostability increases notably [1].

REFERENCES

1. Monaselidze D.P., Bakradze N.G. Исследование концентрационной зависимости процесса плавления коллагена калориметрическим методом. Доклады Академии Наук СССР 1969; Том 189, №4: 899-901.
2. Andriotis O.G., Chang S.W. Vanleene M., Howarth P.H., Davies D.E., Shefelbine S.J., Buehler M.J., Thurner P.J. Structure-mechanics relationships of collagen fibrils in the osteogenesis imperfecta mouse model. J R Soc Interface. 2015 Oct 6; 12(111): 20150701.
3. Boot-Handford RP, Tuckwell DS. Fibrillar collagen: the key to vertebrate evolution? A tale of molecular incest // BioEssays. 2003;25:142-51.
4. Kikalishvili L., Ramishvili M., Nemsadze G., Monaselidze J. Thermal stability of blood plasma proteins of breast cancer patients, DSC study. Thermal stability of blood plasma proteins of breast cancer patients, DSC study // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 2015; 120(1): 501-505.
5. Miles C.A., Ghelashvili M. Polymer-in-a-box mechanism for the thermal stabilization of collagen molecules in fibers // Biophys J. 1999 Jun; 76(6): 3243-3252.
6. Privalov PL. Book: Microcalorimetry of Macromolecules: The Physical Basis of Biological Structures. 1 ed. Publisher: Wiley; 2012.
7. Riveline D, Zamir E, Balaban NQ, Schwarz US, Ishizaki T, Narumiya S, et al. Focal contacts as mechanosensors: externally applied local mechanical force induces growth of focal contacts by an mDia1-dependent and ROCK-independent mechanism // J Cell Biol. 2001;153:1175-86.

SUMMARY

COMPARATIVE ANALYSIS OF WHOLE CARTILAGE TISSUE THERMOSTABILITY IN DISEASED PATIENTS VERSUS INJURED PATIENTS

²Monaselidze J., ³Kikalishvili L., ⁴Sharia Sh., ³Ramishvili M., ¹Lezhava T.

¹I. Javakhishvili Tbilisi State University, ²E. Andronikashvili Institute of Physics; ³Tbilisi State Medical University; ⁴Sokhumi State University, Tbilisi, Georgia

We conducted comparative thermodynamic analysis of femoral cartilages tissue of injured (healthy) patients and patients with congenital hip dislocation. It is shown, that temperature which corresponds to maximum of heat absorption peak of

femoral cartilages tissue of diseased patient is on 6.4°C lower than heat absorption peak of femoral cartilages tissue of healthy patient. Heat absorbed during denaturation process in all these cases are close to each other with experimental error accuracy and corresponds to 52±2.6, 51±2.6 and 50±2.5 J/g of dried biomass accordingly.

Analysis of the published data makes it possible to assert that the dominant heat absorption stage on DSC curves of tested fresh tissues samples is associated with melting of collagen fibers, hence the thermal stability of the collagen fibers in the patient's tissue is reduced relative to norm.

Keywords: cartilage tissue, collagen fibers, DSC, hip dislocation.

РЕЗЮМЕ

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТИ ЦЕЛЬНОЙ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ ПАЦИЕНТОВ И ТКАНЕЙ ТРАВМИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ

²Монаселидзе Дж.Р., ³Кикалашвили Л.А.,
⁴Шария Ш.Г., ³Рамишвили М.Б., ¹Лежава Т.А.

¹Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, ²Институт физики им. Е. Андроникашвили; ³Тбилисский государственный медицинский университет; ⁴Сухумский государственный университет; Тбилиси, Грузия

Проведен сравнительный термодинамический анализ бедренной хрящевой ткани травмированных (здоровых) пациентов и пациентов с врожденным вывихом бедра. Показано, что температура, соответствующая максимуму пика теплопоглощения бедренного хрящевой ткани больного пациента, на 6,4°C ниже температуры денатурации бедренной хрящевой ткани травмированных пациентов (норма). Суммарные величины теплопоглощения в процессе денатурации в обоих случаях близки друг к другу с точностью экспериментальной ошибки и соответствует 52±2,6, 51±2,6 и 50±2,5 Дж/г сухой биомассы. Полученные результаты позволяют заключить, что основная стадия теплопоглощения

на кривых дифференциального сканирующего колориметра свежей ткани исследуемых образцов связана с плавлением коллагеновых фибрил, следовательно, термостабильность коллагеновых волокон в составе ткани больных пациентов понижена относительно к норме.

რეზიუმე

პაციენტების ქსოვილის და ტრავმირებული პაციენტების მთლიანი სრტილოვანი ქსოვილების თერმოსტაბილობის შედარებითი ანალიზი

²ჯ. მონასელიძე, ³ლ. კიკალიშვილი,
⁴შ. შარია, ³მ. რამიშვილი, ¹თ. ლეჟავა

¹ი. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ²ე. ანდრონიკაშვილის სახ. ფიზიკის ინსტიტუტი; ³თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; ⁴სოხუმის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

ჩატარებულია შედარებითი თერმოდინამიკური ანალიზი სრტილოვანი ქსოვილების ტრავმირებული პაციენტისა (ნორმა) და პაციენტის თანდაყოლილი პიპდისლოკაციით. ნაჩვენებია, რომ ტემპერატურა, რომელიც შეესაბამება სრტილოვანი ქსოვილის სითბოს შთანთქმის მრუდის მაქსიმუმს პაციენტისა თანდაყოლილი პიპდისლოკაციით 6,4°C დაბალია ჯანმრთელი პაციენტის სითბოს შთანთქმის მრუდის მაქსიმუმისგან.

ჯამურად შთანთქმული სითბოს რაოდენობა ორივე შემთხვევაში ერთმანეთს უტოლდება ექსპერიმენტული ცთომილების ფარგლებში და არის 52±2.6, 51±2.6 და 50±2.5 ჯ/გ გამომშრალ ბიომასაზე. მიღებული მონაცემები გვაძლევს საშუალებას დავასკვნათ, რომ სითბოს შთანთქმის ძირითადი სტადია დაკავშირებულია კოლაგენის ფიბრილების დნობასთან, შესაბამისად, დავადებული პაციენტების კოლაგენური ფიბრილების თერმოსტაბილურობა ჯანმრთელთან შედარებით უფრო დაბალია.

THE EFFECT OF VIBRO-ACOUSTIC STIMULATION ON CELL DYNAMICS OF INFLAMMATION IN RATS AND THE POSSIBILITIES FOR VIBROACOUSTIC SOUND THERAPY IN COMPLEX TREATMENT OF BRONCHITIS IN CHILDREN

¹Nechypurenko O., ²Kaliuzhka A., ²Lutsenko O.

¹Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education; ²Kharkiv National Medical University, Ukraine

Inflammation is the basis of most human diseases and, in particular, with the development of bronchitis in children. Scientific research on this problem is conducted throughout the history of medicine and does not lost its relevance up to nowadays. Involvement in the inflammation process of many types of cells, subcellular elements, and body systems predetermines the formation of complex, multilevel mechanisms of regulation of inflammatory and immune reactivity both at the local level and throughout the body.

Modern problems and tendencies in the development of bronchitis in children suggest that the number of obstructive and relapsing forms of this pathology increases [1, 6, 14]; the propor-

tion of patients with immunodeficiency states increases [2, 8, 12]. Due to various concomitant pathologies, including allergic processes the premorbid background of the disease worsens [6, 9, 13], the etiological structure of pathogens of bronchopulmonary pathology changes, their resistance to pharmacological preparations increases [2, 11, 12]. Regarding the problem, the expansion of knowledge in this area dictates the need for new approaches to the prevention and treatment of bronchitis in children. An important role in solving this problem should be played by studying and developing new complex methods of anti-inflammatory therapy with the use of physiotherapeutic factors. It is known [7] that they can influence not only the multi-

level hierarchy of pathogenetic links, developing pathological processes, but also the physiological measures of protecting the organism, the main component of which is sanogenesis that includes the following basic processes: immunity, compensation, restitution, repair, adaptation reaction, antioxidant protection system [3, 12].

One of the methods of physiotherapy, which is used in the complex treatment of various diseases based on the inflammatory process, is vibroacoustic exposure (VAE) using the Vitaфон apparatus [4].

The main mechanisms of vibroacoustic exposure are lying in the ability to increase blood and lymph flow that is achieved by two basic physical effects: the first one is the reduction in vascular resistance to blood movement under the influence of microvibrations of continuously changing sound frequency, with each vessel diameter having its own optimum frequency. The second one is the effect of a hydrodynamic pump in the veins. Yet the mechanisms of the anti-inflammatory effect of VAE have been poorly studied

The objective of this work was to study the effect of VAE on the cellular dynamics of the inflammation focus in the experiment.

Material and methods. The experimental study was performed on 72 male Wistar rats weighing 180-200 g. The age of the rats was 1-1.5 months. All painful and stressful procedures were carried out under ether drug (in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals (Strasbourg, 08.03.1986). Acute aseptic inflammation of the soft tissues of the thigh of rats was caused by the injection of 5 mg λ -caraginen ("Sigma" .USA) in 1 ml of isotonic sodium chloride solution. The animals were sacrificed by decapitation at different periods of inflammation. The animals were divided into the main and control groups of 36 in each group. The rats of the main group immediately after the injection of λ -caraginen were subjected to VAE at the area of the inflammatory focus from the Vitaфон apparatus, daily, for 10 days, in 1 constant mode, with frequency subranges from 20 to 18,000 Hz, and the microvibration amplitude of the membrane within 2, 8 - 5.4 microns, exposure 10 minutes. Cell-tissue dynamics of the inflammation focus was studied after 6 hours, and on the 1-, 3-, 7-, and 10th days. In the control group the inflammation proceeded naturally. To study the content of neutrophils, macrophages, immature and mature fibroblasts, fibrocytes, and granulation tissue formation histological preparations were stained with haematoxylin-eosin according to Van Gieson by standard methods. Statistical processing of the study results was carried out by the methods of variation statistics using the Student t-test, estimating the probability of the results obtained at a significance level of not less than 95% ($P < 0.05$).

Results and their discussion. As a result of an experimental study on the rats, it was established that the development of caraginen acute aseptic inflammation was accompanied by inflammatory changes in the leukocyte reaction of the focus. The dynamics of the cellular composition of the soft tissues of the rat's thigh against the background of VAE and with the natural development of aseptic inflammation is presented in the Table.

The data obtained in the experiment showed a marked leukocyte infiltration of tissues, primarily neutrophilic, in the inflammatory focus.

It was found that the number of neutrophils in the focus of inflammation was maximal after six hours and on the first day, then it decreased significantly, yet it exceeded the initial number on the third, seventh days and did not differ significantly from the initial data on the tenth day. In course of inflammation

against the background of VAE the accumulation of neutrophils in the focus was markedly reduced, compared to that in the natural course of the process, by the sixth hour and by the third day accordingly.

Monitoring the dynamics of the quantitative composition of monocytes - macrophages in the natural development of caraginous inflammation and against the background of VAE, showed that the number of these cells initially was decreasing up to the sixth hour, and then it increased to the maximum on the third day and returned to the initial quantity on the seventh day, both in the natural course of inflammation, and in course against the background of VAE.

In inflammation against the background of VAE the accumulation of monocyte-macrophages was increased on the first and third days, but decreased on the seventh and tenth days; the peak of this accumulation was noted earlier - on the first day against the third in the natural course of inflammation.

The dynamics of the quantitative composition of immature fibroblasts in the natural development of inflammation and against the background of VAE was as follows: the content of immature fibroblasts was reduced to the sixth hour and in the first day, but significantly exceeded the initial amount on the third - the tenth day, with the peak on the seventh day at the natural development of inflammation. The number of immature fibroblasts on the background of VAE was greater on the third and seventh days, their peak was observed earlier - on the third day instead of the seventh in the natural course of inflammation.

The study of the dynamics of the quantitative composition of mature fibroblasts in the natural development of caraginenic inflammation and against the background of VAE showed that in the natural course of inflammation the content of mature fibroblasts was decreased by the sixth hour and the first day, but increased against the initial on the third - the tenth day, on the seventh day. The number of mature fibroblasts with inflammation on the background of VAE was also greater by the third - the tenth day. However, with the development of inflammation against the background of VAE, the number of mature fibroblasts on the third day significantly exceeded their number with the natural development of inflammation ($p < 0.05$) with a maximum on the third day instead of the seventh day with the usual course of inflammation.

The dynamics of the quantitative composition of fibrocytes in the natural development of inflammation and against the background of VAE was the following: the content of fibroblasts was reduced in all terms of the study, both with the natural development of inflammation and with the development of inflammation against the background of VAE. With the natural development of inflammation, a gradual tendency toward recovery of fibroblasts was observed on the seventh and tenth days. In inflammation against the background of VAE the content of fibroblasts was higher already on the third day, followed by an increase on the seventh and tenth day. Since fibroblasts participate in the localization of microorganisms, inflammatory processes, produce fibroblastic interferon, an earlier restoration of their number contributes to the development of the above processes.

The results of the experimental study showed that when the inflammation develops against the background of VAE, the neutrophil reaction is markedly inhibited and the macrophage-fibroblastic reaction is enhanced. Taking into account the leading role of neutrophils in the deployment, and monocyte-macrophages and fibroblasts - in the subsidence of inflammation [6], it can be considered that the anti-inflammatory effect of VAE consists in limiting the alterative and enhancing reparative phenomena.

Table. Dynamics of the cellular composition of the soft tissues of the thigh of rats against the background of vibroacoustic exposure and with the natural development of aseptic inflammation

Cells	Development of inflammation on the background of BAE main group (n - 36)						The natural development of inflammation control group (n-36)					
	Baseline data	6 hours	1 st day	3 rd day	7 th day	10 th day	Baseline data	6 hours	1 st day	3 rd day	7 th day	10 th day
Neutrophils, %	1,50 ±0,43 t=0,31 P>0,05	50,33 ±1,48 t=7,01 P<0,001	35,17 ±1,40 t=8,41 P<0,001	9,00 ±0,37 t=5,79 P<0,01	1,17 ±0,31 t=1,72 P>0,05	0,83 ±0,31 t=0,96 P>0,05	1,33 ±0,33	65,67 ±1,61	51,83 ±1,40	15,67 ±1,09	2,00 ±0,37	1,33 ±0,42
Macrophages, %	24,67 ±0,84 t=0,34 P>0,05	22,67 ±1,41 t=4,17 P<0,01	42,00 ±1,55 t=9,46 P<0,001	33,00 ±1,13 t=5,85 P<0,005	20,17 ±0,70 t=1,99 P>0,05	19,83 ±0,79 t=3,70 P<0,05	25,33 ±1,73	13,50 ±1,69	23,17 ±1,25	44,17 ±1,54	22,83 ±1,14	23,67 ±0,67
Immature fibroblasts, %	2,33 ±0,21 t=0,42 P>0,05	1,33 ±0,33 t=0,67 P>0,05	1,50 ±0,43 t=0,62 P>0,05	13,50 ±0,72 t=7,41 P<0,001	6,00 ±0,37 t=5,82 P<0,005	1,83 ±0,31 t=7,63 P<0,001	2,17 ±0,31	1,00 ±0,37	1,17 ±0,31	6,83 ±0,54	9,17 ±0,40	6,00 ±0,45
Mature fibroblasts, %	20,17 ±0,79 t=1,09 P>0,05	11,00 ±0,63 t=2,09 P<0,05	11,83 ±0,60 t=0,003 P>0,05	30,17 ±1,49 t=3,94 P<0,05	33,17 ±0,79 t=3,90 P<0,05	28,33 ±1,33 t=1,96 P>0,05	19,00 ±0,73	9,33 ±0,49	11,67 ±0,56	23,67 ±0,71	38,17 ±1,01	31,50 ±0,92
Fibrocytes, %	51,33 ±0,84 t=0,71 P>0,05	14,67 ±0,63 t=3,00 P<0,05	9,67 ±0,42 t=3,92 P<0,05	14,33 ±0,49 t=2,55 P<0,05	39,33 ±0,67 t=9,89 P<0,001	48,67 ±0,67 t=9,54 P<0,001	52,71 ±1,74	11,50 ±0,85	12,17 ±0,48	9,67 ±1,76	27,83 ±0,95	37,5 ±0,96

Complex of treatment for ASB in children. The results of our experimental study, constantly expanding knowledge of pathogenetic and sanogenetic mechanisms of the development of acute simple bronchitis (ASB) in children were the basis for the inclusion of VAE in the complex of treatment for ASB in children that we have developed. It includes a combination of the following physiotherapeutic factors: the electric field of UHF, vibroacoustic exposure, singlet-oxygen therapy. Our physiotherapeutic complex treatment for ASB was used in 46 children of the main and 40 children of the control group at the age from 6 to 14 years. The results of clinical observation of the children of the main and control groups showed that the inclusion of a new complex of physiotherapy in children with ASB has a more pronounced effect on the positive dynamics of clinical symptoms in the children of the main group compared with those of the control group of patients. The duration of treatment for ASB in the children of the main group was on average 3 days less compared to the control group of patients ($p<0.05$).

Conclusion.

1. In the experiment on rats, it was established that when inflammation occurs on the background of VAE, the accumulation of neutrophils in the focus is markedly reduced in comparison with the accumulation of neutrophils in the natural course of the process.

2. Analysis of the dynamics of the macrophage-fibroblastic reaction according to the results of the experiment indicates that, in comparison with the natural development of inflammation, inflammation on the background of the VAE demonstrates a marked increase in it.

3. Anti-inflammatory effect of VAE consists in limiting damaging and enhancing reparative phenomena, taking into account that neutrophils play a leading role in the development of the inflammatory process, and monocytes-macrophages and fibroblasts - in its attenuation.

4. Results of an experimental study of the effect of VAE on the cellular dynamics of the inflammatory focus show that VAE exerts a pronounced anti-inflammatory effect by active involving the cellular component of physiological body protection measures.

REFERENCES

- Абатуров А.Е. Прогнозирование индивидуального развития бронхиальной обструкции при острых бронхитах у детей раннего возраста / А.Е. Абатуров, А.А. Русакова // Здоровье ребенка 2015; 1: 55-60.
- Колосова Н.Г. Бронхиты у детей: этиология, диагностика, осложнения и лечение / Н.Г. Колосова // Поликлиника 2016; 4: 40-43.
- Нечипуренко О.Н. Физические методы лечения и реабилитация в педиатрии: современные концепции и новые возможности / О.Н. Нечипуренко // Восточноевропейский журнал внутренней и семейной медицины 2016. 2: 71-76.
- Пархоменко Л.К. Новые возможности комплексной терапии острого бронхита у детей / Л.К. Пархоменко, О.Н. Нечипуренко Медицина Фармация :научные ведомости Белгородского государственного университета 2013; Выпуск 22, № 11 (154): 118-122.
- Пауков В.С. Иммунное грануломатозное воспаление как

- приспособительная реакция организма / В.С. Пауков, Е.А. Коган // Архив патологии 2014; 4(76): 39-44.
6. Савенкова Н.Д. Рецидивирующий бронхит у детей: состояние проблемы / Н.Д. Савенкова, А.А. Джумагазиев, Д.А. Безрукова // Астраханский медицинский журнал 2014; 1: 29-37.
7. Тондий Л.Д. Механизмы самозащиты организма и пути их мобилизации лечебными физическими факторами / Л.Д. Тондий, Л.Я. Васильева- Линецкая, Н.А. Клименко и соавт. – Харьков: Финарт, 2015; 201.
8. Юлиш Е.И. Бронхиты у детей и выбор противокашлевой терапии / Е.И. Юлиш // Здоровье ребенка 2015; 2: 133-140.
9. Bonyavanich S., Kim J.S., Sicherer S.H. Principles of Treatment of Allergic Disease // Nelson Textbook of Pediatrics. Elsevier, Inc: 2016; 1082-1088.
10. Cheemarla N.R. Neutrophils regulate the lung inflammatory response via $\gamma\delta$ T cell infiltration in an experimental mouse model of human metapneumovirus infection / N.R. Cheemarla, M.D.R. Baños-Lara, S. Naidu, A. Guerrero-Plata // J. Leukoc. Biol. 2017; 101(6): 1383-1392.
11. Little P., Stuart B., Hobbs R. Antibiotic strategies for acute sore throat: a prospective observational cohort study // The Lancet Infectious Diseases, Early Online Publication, 17 January 2014; doi: 10.1016/S1473-3099 (13)70294-9
- 12.. Raniszewska A Recurrent respiratory tract infections in children — analysis of immunological examinations / A. Raniszewska, E. Górska, I. Kotuła, A. Stelmaszczyk-Emmel, K. Popko, O. Ciepiela // Cent. Eur. J. Immunol. 2015; 40(2): 167-173.
13. Seidman M.D., Gurgel R.K., Lin S.Y. et al. Clinical practice guideline: allergic rhinitis // Otolaryngol Head Neck Surg. 2015; 152 (suppl. 1.): 1-43.
14. Verhagen L.M. Recurrent, protracted and persistent lower respiratory tract infection: A neglected clinical entity / L.M. Verhagen, R. de Groot // J. Infect. 2015; 71(1): 106-111.

SUMMARY

THE EFFECT OF VIBRO-ACOUSTIC STIMULATION ON CELL DYNAMICS OF INFLAMMATION IN RATS AND THE POSSIBILITIES FOR VIBROACOUSTIC SOUND THERAPY IN COMPLEX TREATMENT OF BRONCHITIS IN CHILDREN.

¹Nechypurenko O.,²Kaliuzhka A.,²Lutsenko O.

¹Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education;
²Kharkiv National Medical University, Ukraine

One of the methods of physiotherapy used in the complex treatment of various diseases is vibroacoustic exposure (VAE), however, the anti-inflammatory effect of this factor has not been studied insufficiently. The purpose of this research was to study the effect of VAE on the cellular dynamics of the inflammation focus. The experimental study was performed on 72 male Wistar rats weighing 180-200 g. The age of the rats was 1-1.5 months. All painful and stressful procedures were performed under ether drug (according to the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals (Strasbourg, 08.03.1986). Acute aseptic inflammation of the soft tissues of the thigh of rats was caused by injection of 5 mg λ -caraginen («Sigma». USA) in 1 ml of isotonic sodium chloride solution The animals were sacrificed by decapitation at different periods of inflammation The main and control groups consisted of 36 animals in each group. After

the introduction of λ -caraginen in the main group, animals were subjected to VAE at the area of the inflammatory focus from the Vitaфон apparatus, daily, for 10 days, in 1 mode, with frequency subranges from 20 to 18000 Hz, and the amplitude of microvibration of the membrane within 2.8-8.4 microns, exposure 10 minutes. Cell-tissue dynamics in the focus of inflammation was studied after 6 hours, as well as on the 1-, 3-, 7-, and 10th days. In the control group the inflammation proceeded naturally. The results of an experimental study carried out on the rats showed that the physiotherapeutic factor VAE has an anti-inflammatory effect due to the active involving of the cellular components of physiological body protection measures. Activation of the mechanisms of sanogenesis under the influence of VAE resulted in its inclusion in the physiotherapeutic complex for the treatment of acute simple bronchitis in children, that helped to shorten the periods of their treatment. The anti-inflammatory effect of VAE consists in limiting alternative and enhancing reparative phenomena, considering that neutrophils play a leading role in the development of the inflammatory process, and monocytes-macrophages and fibroblasts - in its attenuation.

Keywords: vibroacoustic sound in therapy, vibroacoustic anti-inflammatory effect, bronchitis in children, physiotherapeutic treatment.

РЕЗЮМЕ

ВЛИЯНИЕ ВИБРОАКУСТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА КЛЕТОЧНУЮ ДИНАМИКУ ОЧАГА ВОСПАЛЕНИЯ У КРЫС И ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВИБРОАКУСТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ БРОНХИТА У ДЕТЕЙ

¹Нечипуренко О.Н.,²Калюжка А.А.,²Луценко Е.В.

¹Харьковская медицинская академия последипломного образования;
²Харьковский национальный медицинский университет, Украина

Одним из методов физиотерапии, который применяется в комплексном лечении различных заболеваний является виброакустическое воздействие (ВАВ), однако, противовоспалительный эффект данного фактора недостаточно изучен.

Целью исследования явилось изучение влияния виброакустического воздействия на клеточную динамику очага воспаления.

Экспериментальное исследование выполнено на 72 крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г. Возраст крыс составил 1-1,5 месяца. Все болезненные и стрессовые процедуры выполнялись под эфирным наркозом в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 08.03.1986 г.) Острое асептическое воспаление мягких тканей бедра крыс вызывали введением 5 мг λ -карагинена («Sigma», США) в 1 мл изотонического раствора натрия хлорида. Животных забивали декапитацией в разные сроки воспаления. Основная и контрольная группы состояли из 36 животных в каждой. В основной группе животным сразу после введения λ -карагинена проводилось ВАВ на область очага воспаления аппаратом «Витафон», ежедневно, в течение 10 дней, в 1 режиме, с частотными поддиапазонами от 20 до 18000 Гц и амплитудой микровибрации мембраны в пределах 2,8-5,4 мкм, экспозиция 10

мин. Клеточно-тканевую динамику очага воспаления изучали спустя 6 часов, а также на 1, 3, 7, 10 сутки. В контрольной группе воспаление протекало естественным путем. Результаты экспериментального исследования, проведенного на крысах-самцах показали, что физиотерапевтический фактор ВАВ обладает противовоспалительным действием за счет активного включения клеточного состава физиологических мер защиты организма. Активизация механизмов саногенеза под влиянием ВАВ явились основанием для его включения, в разработанный нами физиотерапевтический комплекс лечения острого простого бронхита у детей, что позволило сократить сроки их лечения. Противовоспалительный эффект ВАВ заключается в ограничении альтеративных и усилении репаративных явлений, учитывая, что нейтрофилы играют ведущую роль в разрывании воспалительного процесса, а моноциты-макрофаги и фибробласты - в его затухании.

რეზიუმე

ვიბროაკუსტიკური მოქმედების ფიზიოთერაპიული ფაქტორის მოქმედების მექანიზმების გავლენის შესწავლა ანთების კერის უჯრედულ დინამიკაზე და მისი გამოყენება ბავშვებში ბრონქიტის კომპლექსურ მკურნალობაში

¹ო. ნეჩიპურეკო, ²ა. კალიუჟკა, ²ე. ლუცენკო

¹ხარკოვის დიპლომის შემდგომი განათლების სამედიცინო აკადემია; ²ხარკოვის ნაციონალური სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

ანთება საფუძვლად უდევს ადამიანის დაავადებათა უმეტესობას. ამ პრობლემასთან დაკავშირებული სამეცნიერო კვლევები მედიცინის განვითარების ყველა ეტაპზე მიმდინარეობდა და ის დღესაც სიღრმისეულად შეისწავლება. თანამედროვე ფარმაკოთერაპიის მიღწევების მიუხედავად, ბავშვებში ბრონქოპულმონური დაავადებების ზრდის ტენდენცია აღინიშნება, რაც ბრონქიტის მკურნალობის პრობლემას აქტუალურს ხდის. დღის წესრიგში დგება ბავშვებში ბრონქიტის მკურნალობის ახალი კომპლექსური მეთოდების შემუშავება ფიზიოთერაპიული ფაქტორების ჩართვით, რომლებიც პათოლოგიური პროცესის განვითარების

არამარტო პათოგენეზურ, არამედ სანოგენურ მექანიზმებზეც მოქმედებენ. ვიბროაკუსტიკური ზემოქმედება (ვაზ) სხვადასხვა დაავადებათა კომპლექსურ მკურნალობაში გამოყენებული ფიზიოთერაპიული მეთოდია. მისი ანთებისსაწინააღმდეგო ეფექტი არასაკმარისადაა შესწავლილი. წინამდებარე კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ანთების კერის უჯრედულ დინამიკაზე ვაზ-ის გავლენის შესწავლა. ექსპერიმენტული კვლევა ჩატარდა ვისტარის ჯიშის 72 მამრ ვირთაგავზე მასით 180-200 გ. ვირთაგავს ასაკი იყო 1-1,5 თვე. ყველა მტკივნეული და სტრესული პროცედურა ტარდებოდა ეთერის ნარკოზით (ხერხემლიანი ცხოველების დაცვის ევროპული კონვენციის შესაბამისად (სტრასბურგი, 08.03.86წ.). ვირთაგავს ბარდაყის რბილი ქსოვილების მწვავე ასეპტიკურ ანთებას ვიწვევდით ნატრიუმის ქლორიდის 1 მლიზოტონურ ხსნარში გახსნილი 5 მგ λ – კარაგინენით («Sigma», აშშ). ანთების სხვადასხვა ვადაზე ცხოველებს ვკლავდით დეკაპიტაციით. ძირითად და საკონტროლო ჯგუფებში იყო 36-36 ცხოველი. ძირითად ჯგუფში, λ-კარაგინენის შეყვანისთანავე ანთების კერაზე ტარდებოდა ვაზ-ი აპარატით „ვიტაფონი“. ვაზ-ი ტარდებოდა ყოველდღე 10 დღის განმავლობაში 1 რეჟიმით, სისხლის ქვედიაპაზონით - 20-დან 18000 ჰც-მდე, მემბრანის მიკროვიბრაციის ამპლიტუდით - 2,8-5,4 მკმ, 10-წუთიანი ექსპოზიციით. ანთებითი კერის უჯრედულ-ქსოვილოვანი დინამიკა შეისწავლებოდა 6 საათის, ასევე 1, 3 7, 10 დღის შემდეგ. საკონტროლო ჯგუფში ანთება ჩვეული გზით ვითარდებოდა. ექსპერიმენტულმა კვლევამ აჩვენა, რომ ვაზ ფიზიოთერაპიული ფაქტორი ხასიათდება ანთებისსაწინააღმდეგო მოქმედებით, რასაც ორგანიზმის დასაცავად უჯრედული ფიზიოლოგიური ფაქტორების ჩართვა განაპირობებს. ვაზ-ის ჩართვა ბავშვებში ბრონქიტის მკურნალობის კომპლექსში ემყარება მისი გავლენით სანოგენეზის მექანიზმების გააქტიურებას, რამაც მკურნალობის ხანგრძლივობის შემცირება უზრუნველყო. თუ გავითვალისწინებთ, რომ ნეიტროფილები ანთების ჩამოყალიბებაში, ხოლო მონოციტი-მაკროფაგები და ფიბრობლასტები მის ჩაცხრობაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ, შეიძლება დავასკვნათ, რომ ვაზ-ის ანთებისსაწინააღმდეგო ეფექტი ალტერაციული პროცესების შეზღუდვასა და რეპარაციული პროცესების გაძლიერებაში მდგომარეობს.

SELECTION OF THE ACTIVE PHAGES AGAINST B.FRAGILIS FOR FURTHER STUDY OF THERAPEUTIC PERSPECTIVES

^{1,2}Bakuradze N., ^{1,2}Makalatia Kh., ^{1,3}Merabishvili M., ⁴Togoshvili L., ^{1,2}Chanishvili N.

¹G. Eliava Institute of Bacteriophage, Microbiology and Virology, Tbilisi; ²I. Javakhishvili Tbilisi State University; ³Ghent University, Laboratory of Bacteriology Research, University Hospital, Gent, Belgium; ⁴Eliava Diagnostic Center, Tbilisi, Georgia

B.fragilis is a Gram-negative obligatory anaerobic bacteria that colonize the intestinal lumen, but is also found in other parts of the digestive tract. It has been shown that normally *B.fragilis* serves as one of the major components of gut microflora which

takes part in maturation of immune system [9]. *B.fragilis* is the most virulent amongst *Bacteroides* species [16]. Within this species two major classes of strains may be identified: enteropathogenic *B.fragilis* (ETBF) and non-enterotoxigenic *B.fragilis*

(NETBF). The ETBF contain pathogenic island in their genome, encoding enterotoxin called fragilysin, which is a zinc-dependent metalloprotease toxin that disrupts tight junctions between the intestinal epithelial cells by cleaving an intercellular adhesion protein e-cadherin. Toxic effect leads to increased permeability between the epithelium lining the intestines, which is clinically expressed as acute diarrhea [15]. In case of chronic carrier state, showing no signs and symptoms, the risk of developing colon cancer is likely to increase substantially [12]. The studies show that the ETBF can be cultured more frequently from patients with inflammatory bowel syndrome than from the unaffected population and have been detected in 20 % of colon cancer patients [12].

Although *B.fragilis* represents 0.5% of normal intestinal microbiome, it is the major anaerobic bacteria isolated from abscesses and septic infections. Virulence of non-enterotoxigenic strains is due to the polysaccharide capsule they possess [1]. Septic disease, like peritonitis, sepsis and abscesses of different body organs, can be caused due to the spread of non-enterotoxigenic *B.fragilis* (NETBF) directly from intestines or via bloodstream [15]. Sepsis and inflammatory infections that together with *B.fragilis* are polymicrobial are mainly treated with metronidazole. On the other hand, diarrhea and chronic carrier state is rarely if ever treated [14].

Bacteriophages (phages) have been recently suggested as alternative treatment of infectious diseases. Although phage therapy has been in practice since the World War I, already for a century, it remained in use for treating different topical and systemic bacterial infections only in some of the post-Soviet and Eastern countries, namely, Georgia and Poland [2].

Due to growing resistance towards antibiotics, the idea of treating with phages recently has become more appealing. Another benefit of phage therapy is its high specificity towards the target microbe and the absence of side effects like dysbiosis, which is a common consequence for most antimicrobial drugs [7].

Currently, a growing number of *in vitro* and *in vivo* studies are dedicated to evaluating the efficacy of phages in treatment and prevention of infectious bacterial diseases. At the same time, there are numerous studies indicating that bacteriophages play important roles in keeping healthy gut microbiome [8].

Though antibiotic therapy remains the main course for treatment of infections caused by *B.fragilis*, we suggest the phages to be used as a tool for reducing the number or eradicating the ETBF from intestines and thus to decrease the risk for development of colon cancer. It should be noted that so far *B.fragilis* specific phages have had been used only for monitoring of fecal contamination of water [6].

The aim of the present study was to isolate and select lytic phages that would be active against pathogenic strains of *B.fragilis* carrying *bft* gene as well as for nonpathogenic *B.fragilis*.

Material and methods. *Isolation and identification of B.fragilis strains*

Eight clinical strains of *B.fragilis* were provided by the Department of Clinical Biology, Microbiology and Immunology, Ghent University, Belgium. The rest of the strains were isolated from the clinical stool samples of the 80 randomly selected patients. For presumptive identification of bacteria, the 10th dilution of the fecal specimens were first cultured on bile-esculin (BE) agar medium (Highmedia Laboratories) enriched with 0,5% hemin (Sigma) and vitamin K1 (Liofilchem) and gentamycin (80mcg/ml) for selection of *Bacteroides* species.

Further identification included biochemical and morphologi-

cal studies, such as Gram-staining (Deltalab), catalase and ready to use indole tests (Liofilchem) held according to the Wadsworth's manual of anaerobic bacteriology [15].

Presumably identified strains were then examined using MULDI-TOF spectrometry (Bruker Dultonics muldi biotyper). Small fraction of pure colonies of each strain were gently spread on the biotyper plate and 0.5µl of matrix added on the top of each of distributed strain. The plate was then placed inside the biotyper for the identification process [3].

Isolation and of B.fragilis specific bacteriophage

For phage isolation the waste water samples were collected from different locations in Tbilisi (Georgia) and Ghent (Belgium). Clinical fecal samples appropriately handled by the diagnostic center of Eliava Institute were also used as the source for phage isolation. The enrichment method was used for isolation of bacteriophages [4]. For this purpose 1 ml of BPRMB liquid medium was inoculated with 9ml of each waste water or fecal sample (in the last case 1g of feces were diluted in 10ml of saline solution) and mixed with 1 ml of each *B.fragilis* cultures. The mixture was incubated in 40ml tubes at 37°C for 48 hours anaerobically with CO₂ 10% using anaerobic sachets (BD). After incubation, the mixture was centrifuged at 6000g (Thermo IEC 220/240) and the supernatant was filtered using 0.45µm milipore filters (Pall Corporation). A spot test method [5] was used for evaluation of the presence of phages in the filtrated solution.

Preparation of bacteriophage stocks. Phage stocks were collected using double layer plating methods according to the protocol [5].

Transmission electron microscopy. The morphology of the phages was studied by transmission electron microscopy (TEM Tecnai G2). 10 µl of a phage lysate with the titer of 10¹⁰ was spotted onto carbon coated grids and stained with 1% uranyl acetate. The negatively stained grids were observed in the Tecnai G2 transmission electron microscope at 80kV.

Spot test assay (STA) is commonly used for evaluation of the host range of the phages that are considered to be used in therapy [10]. For this purpose the bacterial strains were grown in enriched BHI (Liofilchem) broth. The inoculums were used in an exponential growth phase to make the bacterial streaks on the Petri dish with BHI solid medium using 10µl loops (Deltalab). A 10 µl drop of the phage lysate with the titer 10⁸ pfu/ml were spotted onto the surfaces of dried bacterial streaks. The plates were incubated at 37°C for 18-24 hr. anaerobically, after which the results were evaluated according to visible lyses. Lytic activity was qualified as: confluent (CL), overgrown (OL), super overgrown lyses (SOL) and formation of individual plaques (IP) on the strain all were considered as positive results demonstrating killing activity of phages

Evaluation of the efficiency of plating (EOP). 5 different dilutions of each phage were plated on the lawn with the bacterial strains that were found to be susceptible on spot test assay. Bacterial strains were grown in the same conditions. Double layer plating method was used for testing diluted phage lysate activity. 10⁹, 10⁸, 10⁷, 10⁶, 10⁵, dilutions were plated with 200µl of bacterial culture. After overnight incubation number of the plaque forming units (PFU) on each dilution were counted. EOP of each strain was calculated by dividing the number of PFU formed on target bacteria by the number of PFU of the host bacteria [10].

Results and their discussion. From the fecal samples cultured on BBE solid medium we have selected grey, smooth edged colonies, with Ø 1-3 mm that were stained as Gram-negative coco-bacilli, showing variable catalase and indole-negative activities. Presumptive identification revealed 27 samples of

Table 1. Characterization of the isolated phages

Phage	Place of isolation	Source of isolation	Titer pfu/ml	Colony Morphology	Dimensions of Phage	
					Head	Tail
ΦVA-7	Tbilisi, Georgia	Waste water	10 ⁸	Ø 2mm, clear regular edged	60 nm	100nm
ΦMTK	Tbilisi, Georgia	Waste water	10 ¹¹	Ø 2,5mm, clear regular edged	42 nm	166nm
UZ-1	Ghent, Belgium	Waste water	10 ⁶	Ø 1,5mm, clear regular edged	266 nm	54nm

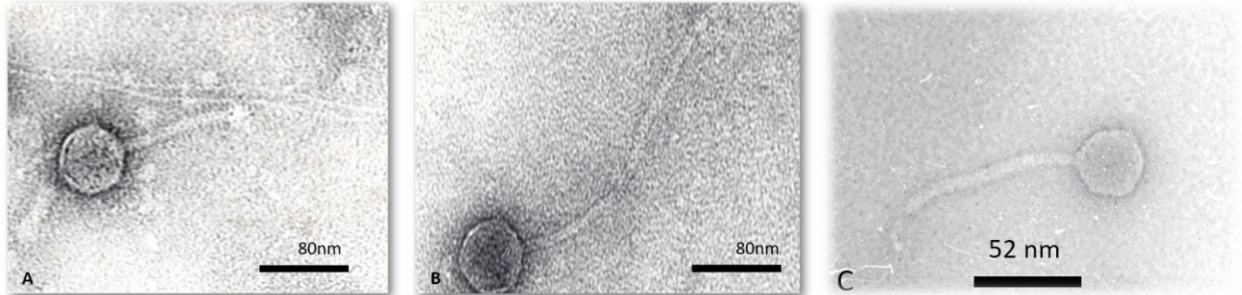


Fig. 1. TEM images of phages: Phage ΦVA-7(A), phage ΦUZ-1 (B), phage MTK (C). Magnification x 250 000

Table 2. Results of spot test assay

Phage	<i>B.fragilis</i> strains	Other <i>Bacteroides</i> species
ΦVA-7	10/18	0/12
ΦUZ-1	4/18	0/12
ΦMTK	17/18	0/12

Table 3. Results of EOP

Strains /Phages	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	SI	S2	S3	S6	S10	S11	S16	E1	E3	E6	E8	A5	A6	A7	33	M3	69
ΦVA7	-	0.03	0.2	-	0	0.1	0	-	0.1	0	-	-	0.1	H	-	0.1	-
ΦMTK	0	0	0.3	0	0	0	0	H	0	0	0	0	0	0	0	0	0

note: ΦVA7 has been testes on 10 and ΦMTK on 17 bacterial strains that gave positive results on STA. H stands for host strain

B.fragilis. However, after testing those on Bruker MULDI-biolyser only 15 of them were confirmed as the representatives of *B.fragilis* species and the rest turned out to be either *B.vulgatus* (6), *B.thetaiotaomicron* (2) or belong to *Parabacteroides* spp. (4). Among 8 strains received from Ghent University (Belgium) we selected three. Two out of them showed enterotoxigenic properties, while one was a nonenterotoxigenic standard strain (ATCC 25285).

From the waste water samples obtained in Tbilisi (Georgia) and Ghent (Belgium), we have isolated three lytic phages. According to the TEM imaging all of them turned out to be the tailed phages with hexagonal heads characteristic to Siphoviridae family (Fig. 1).

Spot test assay was performed by use of three phages against 18 strains related to *B.fragilis* and 12 other species, such as *B.vulgatus* (6), *B.thetaiotaomicron* (2) and *Parabacteroides* spp. (4). Lytic activity was qualified as: confluent (CL), overgrown (OL), super overgrown lyses (SOL) and formation of individual plaques (IP) on the strain streaks after overnight incubation at 37°C, all were considered as positive results demonstrating killing activity of phages. Two phages, ΦVA-7 and ΦMTK showed significant activity by lysing 10 (56%) and 17 (94%) out of 18

tested strains, respectively. The phage ΦUZ-1 which was isolated from the waste water samples obtained in Ghent (Belgium) had relatively weak lytic effectiveness on the both Georgian and Belgian bacterial strains by lysing only 4 strains out of 18 (22%) (Table 2). Therefore, this phage was not further included into the experiment. All three clones of phages did not lyse any other strains related to *Bacteroides* species. This fact indicates on their high specificity to *B.fragilis*.

Two phages, ΦVA-7 and ΦMTK showing broad host ranges were selected for more precise evaluation of their reproductive ability on the host cells by use of efficiency of plating (EOP) test. The results showed that the phage ΦVA-7 having relatively narrow host range activity demonstrated higher EOP index, in contrast with the phage ΦMTK with a broad host coverage showed lower EOP index than expected (Table 3).

Up to date *Bacteroides* bacteriophages were studied as an indicator for water pollution [11] and have been never evaluated for antimicrobial therapy of infectious diseases caused by *B.fragilis*.

In the scope of this research three new phage clones were isolated from the river and sewage water samples collected in Ghent (Belgium) and Tbilisi (Georgia) by using conventional

enrichment method. Similarly to other known *B. fragilis* phages used for evaluation of water pollution all newly isolated phages morphological properties typical for Siphoviridae family [11] as well. The phages demonstrated high specificity to *B. fragilis*, while they appeared completely ineffective to other *Bacteroides* species, such as: *B. vulgatus*, *B. thetaiotaomicron* and to *Parabacteroides* spp.

Bacteriocidal potential of these phages were evaluated according to the spot test assay. Phage ΦMTK showed broad host coverage, phage ΦVA-7 – moderate, and phage ΦUZ-1 - weak bacteriocidal activities to clinical strains of *B. fragilis*. However, according to literature [10] for the phages to be considered applicable for human or animal therapy, evaluation of the effectiveness of plating (EOP) is required to approve a productive infection of the virus. The phage ΦMTK which was characterized by the broad host range showed lower EOP index in contrast to phage ΦVA7, which demonstrated the narrow host range, but a better index of productive infection. Thus, taking into consideration the above results only ΦVA7 can be selected as the best candidate for the model *in vitro* tissue culture experiments aiming demonstration of the therapeutic and prophylactic potential of phages against ETBF and/or NETBF.

Acknowledgement. The research has been funded by the Shota Rustaveli National Science Foundation grant FR/235/7-250/14.

REFERENCES

1. Boleij A., Hechenbleikner M. Elizabeth, et al.. The *Bacteroides fragilis* Toxin Gene Is Prevalent in the Colon Mucosa of Colorectal Cancer Patients // Clin.Infect Dis. 2015 January 15; 60 (2): 208-215.
2. Chanishvili N. Phage therapy--history from Twort and d'Herelle through Soviet experience to current approaches // Adv Virus Res 2012; 83: 3-40.
3. Dingle TC, Butler-Wu S. M. Maldi-TOF mass spectrometry for microorganism identification // Clin Lab Med. 2013 Sep; 33(3):589-609.
4. ISO 10705-4:2001 Water quality -- Detection and enumeration of bacteriophages -- Part 4: Enumeration of bacteriophages infecting *Bacteroides fragilis*.
5. Jassim, Sabah A.A., Limoges, Richard, Bacteriophages: Practical applications for nature's biocontrol. Chapter 1. Enhanced bacteriophages. Springer International Publishing AG 2017.
6. Lin D.M., Koskella B., Lin H.C. Phage therapy: An alternative to antibiotics in the age of multi-drug resistance // World J Gastrointest Pharmacol Ther 2017 August 6; 8(3): 162-173.
7. Löfmark S, Edlund C, Nord CE Metronidazole is still the drug of choice for treatment of anaerobic infections // Clin. Infect Dis. 2010 Jan. 1;50 Suppl 1:S16-23.
8. Manrique P., Dills M., and Young J.M. The Human Gut Phage Community and Its Implications for Health and Disease // Viruses. 2017;9(6).
9. Mazmanian, S. K., C. H. Liu, A. O. Tzianabos, and D. L. Kasper. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system // Cell. 2005. 122:107–118.
10. Pilar ManriqueKhan Mirzaei M, Nilsson AS (2015) Isolation of Phages for Phage Therapy: A Comparison of Spot Tests and Efficiency of Plating Analyses for Determination of Host Range and Efficacy // PLoS ONE. – 2015. - 10(3): e0118557.
11. Queralt N., Jofre J., Araujo R., Muniesa M. Homogeneity of the morphological groups of bacteriophages infecting *Bacteroides fragilis* strain HSP40 and strain RYC2056 // Current Microbiology, (2003) 46:163-168.
12. Shaoguang Wu, Patrice J. Morin, Djik Maouyo, Cynthia L. Sears. *Bacteroides fragilis* Enterotoxin Induces c-Myc Expression and Cellular Proliferation // Gastroenterology 2003;124:392–400.
13. Daniel Ekane Nane. Sustainable microbial water quality monitoring programme design using phage-lysis and multivariate techniques Author links open overlay panel Daniel Ekane Nnane. Science of The Total Environment 2011; 409(24): 5188-5195.
14. Tzianabos A.O., Onderdonk A.B., Rosner B., Cisneros R.L. Kasper D.L. Structural features of polysaccharides that induce intraabdominal abscesses // Science 1993. 262:416–419.
15. Hannele R.Jousmies Somer, Paula Summanen, Diana M. Citron, Ellen Jo Baron, Hannah M. Wexler, Sydney M. Finegold Wadsworth Anaerobe Laboratory, Greater Los Angeles VA Healthcare Systems, and Department of Medicine, University of California, Los Angeles, California.
16. Wexler M. Hannah: *Bacteroides*: the Good, the Bad, and the Nitty-Gritty // Clinical Microbiology Reviews 2007; 20(4): 593–621.

SUMMARY

SELECTION OF THE ACTIVE PHAGES AGAINST *B.FRAGILIS* FOR FURTHER STUDY OF THERAPEUTIC PERSPECTIVES

¹Bakuradze N., ^{1,2}Makalatia Kh., ^{1,3}Merabishvili M., ⁴Togoshvili L., ^{1,2}Chanishvili N.

¹G. Eliava Institute of Bacteriophage, Microbiology and Virology, Tbilisi; ²I. Javakhishvili Tbilisi State University; ³Ghent University, Laboratory of Bacteriology Research, University Hospital, Gent, Belgium; ⁴Eliava Diagnostic Center, Tbilisi, Georgia

B. fragilis is an obligate anaerobic commensal colonizing human intestines and carries number of physiological functions. At the same time *B. fragilis* is commonly isolated from the septic clinical samples and due to its capsule represents one of the provoking agents for abscess development. Enterotoxigenic *B. fragilis* (ETBF) strains also increase the likelihood of developing colon cancer. Increasing incidence of antibiotic-resistant pathogens led to the high demand to alternative antimicrobials. Bacteriophage (phage) therapy already practiced for a century in some of the Post-Soviet countries including Georgia has been suggested as a substitute of antibiotics. It should be noted that this study is the first attempt to isolate virulent *B. fragilis* phages for further therapeutic application as all phages known up until now were used for detection of fecal water contamination only. The aim of the study was to isolate *B. fragilis* specific phages for their further use against infections caused by this bacteria

Eighteen *B. fragilis* strains were isolated from human feces using conventional microbiological methods and precise identification was done via MULDI-TOF mass spectrometry. Three ETBF strains were provided by the University of Ghent (Belgium). Three lytic phages (ΦVA7, ΦMTK and ΦUZ-1) of Siphoviridae family were isolated from the waste water samples collected in Tbilisi and in Ghent using conventional phage isolation and enumeration techniques. Electron microscopy was used for the visualization of the phage particles. To determine lytic activity of the isolated phages and estimate their antimicrobial efficacy the spot test assay and efficiency of plating (EOP) were studied using 18 clinical strains of *B. fragilis* and 12 intestinal

commensal strains related to *Bacterioides* spp. and *Parabacterioides* spp.. Although according to the spot test results two of the isolated phages expressed high specificity to *B.fragilis* demonstrating broad host range within this species, however EOP results showed that only ΦVA7 can be selected as the best candidate for the model *in vitro* tissue culture experiments aiming demonstration of the therapeutic and prophylactic potential of phages against ETBF and/or NETBF.

Keywords: *B.fragilis*, Bacteriophage (phage), phage therapy.

РЕЗЮМЕ

ОТБОР ФАГОВ АКТИВНЫХ ПО ОТНОШЕНИЮ К *B.FRAGILIS* ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕГО ИЗУЧЕНИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПЕРСПЕКТИВ

^{1,2}Бақурადзе Н.Т., ^{1,2}Мақалатия Х.Б.,

^{1,3}Мерабишвили М.Т., ⁴Тогошвили Л.Г., ^{1,2}Чанишвили Н.А.

¹Институт бактериофагии, микробиологии и вирусологии им. Г. Элиава, Тбилиси; ²Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, Грузия; ³Гентский университет, Университетский госпиталь лаборатория бактериологического исследования, Бельгия; ⁴Диагностический Центр им. Г. Элиава, Тбилиси, Грузия

B.fragilis является обязательным анаэробным комменсалом, колонизирующим кишечник человека и определяющий некоторые физиологические функции. *B.fragilis* обычно выделяется из клинических септических образцов, и, благодаря своей капсуле, является одним из провоцирующих агентов развития абсцесса. Энтеротоксигенные штаммы *B.fragilis* (ETBF) способны также повышать вероятность развития рака толстой кишки. Рост показателей заболеваемости антибиотикорезистентными патогенами привело к повышенному спросу на альтернативные противомикробные препараты. Бактериофаговая (фаговая) терапия, применявшаяся в течение столетия в некоторых постсоветских странах, включая Грузию, была предложена в качестве замены антибиотиков. Проведенное исследование является первой попыткой выделить вирулентные фаги *B.fragilis* для их дальнейшего терапевтического применения, так как все ранее известные фаги по сей день использовались только для обнаружения фекального загрязнения воды.

Целью исследования явилось изолировать специфические фаги *B.fragilis* для их дальнейшего использования против инфекций, вызванных этими бактериями.

С использованием обычных микробиологических методов из человеческих фекалий выделены восемнадцать штаммов *B.fragilis*, точная идентификация которых проводилась с помощью масс-спектрометрии MULDI-TOF. Три штамма ETBF предоставлены Университетом Гента (Бельгия). Три литических фага (ΦVA7, ΦMTK и ΦUZ-1) относящиеся к семейству Siphoviridae выделены из проб сточных вод, собранных в Тбилиси и в Генте, с использованием обычных методов выделения и подсчета фагов. Для визуализации фаговых частиц использована электронная микроскопия. Для определения литической активности изолированных фагов и оценки их антимикробной эффективности использовали спот-тест и метод эффективности посева (ЭП). Тесты проводили с использованием 18 клинических штаммов *B.fragilis* и 12 кишечных комменсальных штаммов, относящихся к *Bacterioides* spp. и *Parabacterioides* spp. Согласно резуль-

татам спот-теста два из исследованных фагов показали высокую специфичность к *B.fragilis*, демонстрируя широкий диапазон действия в пределах данного вида, однако результаты ЭП показали, что только ΦVA7 может быть отобран в качестве наилучшего кандидата для *in vitro* модельных экспериментов, ставящих целью демонстрацию терапевтического и профилактического потенциала фагов против ETBF и/или NETBF.

რეზიუმე

B.FRAGILIS მიმართ აქტიური ფაგების სელექცია შემდგომი თერაპიული პერსპექტივების შესწავლის მიზნით

^{1,2}ნ. ბაკურაძე, ^{1,2}ხ. მაკალათია, ^{1,3}მ. მერაბიშვილი, ⁴ლ. თოგოშვილი, ^{1,2}ნ. ჭანიშვილი

¹გ. ელიავას სახ. ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტი, თბილისი; ²ი. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო; ³გენტის უნივერსიტეტი, საუნივერსიტეტო ჰოსპიტალი, ბაქტერიოლოგიური კვლევის ლაბორატორია, ბელგია; ⁴გ. ელიავას სახ დიაგნოსტიკური ცენტრი, თბილისი, საქართველო

B. fragilis არის სავალდებულო ანაერობული კომენსალი, რომელიც ახდენს ადამიანის ნაწლავის კოლონიზაციას და განსაზღვრავს ზოგიერთ ფიზიოლოგიურ ფუნქციას. *B. fragilis* ჩვეულებრივ გამოიყოფა კლინიკური სექტიკური ნიმუშებიდან და მისი კაფსულა წარმოადგენს აბსცესის განვითარების ერთ-ერთ მაპროვოცირებელ აგენტს. *B. fragilis* ენტეროტოქსიგენური (ETBF) შტამებმა ასევე შეიძლება გაზარდოს მსხვილი ნაწლავის კიბოს განვითარების ალბათობა. ანტიბიოტიკრეზისტენტული პათოგენების გავრცელება ზრდის ალტერნატიული ანტიბიოტიკების საშუალებების მიმართ მოთხოვნილებების ზრდას. ბაქტერიოფაგებით (ფაგებით) თერაპია, რომელიც უკვე საუკუნის განმავლობაში გამოიყენება პოსტსაბჭოთა ქვეყნებში, მათ შორის საქართველოში, ამჟამად შემოთავაზებულია როგორც ანტიბიოტიკების შემცვლელი თერაპია. უნდა აღინიშნოს, რომ ჩატარებული კვლევა წარმოადგენს თერაპიული გამოყენებისათვის *B. fragilis* ფაგების გამოყოფის პირველ მცდელობას, ვინაიდან ყველა სხვა ცნობილი ფაგი გამოიყენებოდა მხოლოდ წყლის ფეკალური დაბინძურების დეტექციისათვის. კვლევის მიზანი იყო *B. fragilis* ბაქტერიის სპეციფიკური ფაგების გამოყოფა მათი შემდგომი თერაპიული გამოყენებისათვის ამ ბაქტერიებით გამოწვეული ინფექციების სამკურნალოდ.

B. fragilis თერაპეტი შტამი გამოყოფილი იყო ადამიანის ფეკალიებიდან ტრადიციული მიკრობიოლოგიური მეთოდების გამოყენებით, ხოლო მათი ზუსტი განსაზღვრა განხორციელდა MULDI-TOF მას-სპექტრომეტრიის ეშეობით. სამი ETBF-ის შტამი მიღებული იყო გენტის უნივერსიტეტიდან (ბელგია). Siphoviridae მორფოლოგიური ოჯახისადმი კუთვნილი სამი ლითიური ფაგი (ΦVA7, ΦMTK და ΦUZ-1) გამოყოფილი იყო ჩამდინარე წყლების ნიმუშებიდან თბილისსა და გენტში, რისთვისაც გამოიყენებული იყო ფაგების იზოლაციის და რიცხობრიობის დადგენის ზოგადად მიღებული მეთოდები. ფენების ნაწილაკების ვიზუალიზაცია განხორციელდა ელექტრონულ მიკროსკოპის მაშველ-

ბიო. იზოლირებული ფაქტების ლითური აქტივობის განსაზღვრისა და მათი ანტიმიკრობული ეფექტურობის შეფასებისთვის გამოყენებული იყო სპოტ-ტესტი და დათესვის ეფექტურობის (დე) მეთოდი. ეს ტესტები ჩატარდა *B. fragilis* 18 კლინიკური შტამისა და 12 ნაწლავური *Bacteroides spp.* და *Parabacterioides spp.* კომენსალური შტამის გამოყენებით. მიუხედავად იმისა, რომ ჩატარებული კვლევის შედეგების

მიხედვით, ორმა ფაგმა აჩვენა მაღალი სპეციფიურობა *B. fragilis* მიმართ და პატრონთა ფართო სპექტრი ამ სახეობის შიგნით, დეს შედეგების მიხედვით მხოლოდ ΦVA7 შეიძლება შეირჩეს როგორც საუკეთესო კანდიდატი *in vitro* სამოდელო ექსპერიმენტებში, რომელთა მიზანია ETBF და/ან NETBF-ის წინააღმდეგ ფაგის თერაპიული და პროფილაქტიკური პოტენციალის დემონსტრირება.

INTERACTION BETWEEN THE THALAMIC NUCLEUS AND PREOPTIC AREA NEURONS

^{1,2}Bilanishvili I., ¹Barbakadze M., ¹Khizanishvili N., ^{1,2}Gaikharashvili T., ^{1,3}Nanobashvili Z.

¹I. Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi; ²P. Shotadze Tbilisi Medical Academy;

³Caucasus International University, Tbilisi, Georgia

The study was aimed at clarifying the relationship between the thalamic reticular nucleus and the preoptic area neurons.

The thalamic reticular nucleus which is known to delineate the dorsal thalamus stipulates development of inhibitory processes in the thalamo-cortical neurons that is necessary for generating slow (8-12 Hz), high-amplitude electric activity in this system [7,14]. The thalamic reticular nucleus neuron activity was also shown to vary in different phases of the sleep-waking cycle – their activity enhances in the slow-wave phase also after administration of small doses of barbiturates to animals when recorded in electroencephalogram is the so-called “spindle” activity [5,7,14]. At the same time, the importance of a preoptic area and adjacent structures in sleep regulation was stated still by Economo – as damage to these areas in humans caused insomnolence [6]. Further, this fact was confirmed also by experiments on animals [3,4]. Even more, it was demonstrated that majority of preoptic area neurons get activated during slow-wave sleep [3,8,9,12,15]. Activation of neurons in the anterior hypothalamus and preoptic area during slow-wave sleep and synchronization of the brain electric activity was demonstrated still by Parmegiani et al. [11].

A systematic study was pursued by Oniani and assoc. [2] of the interaction between desynchronizing and synchronizing structures of the brain electric activity and of changes in preoptic area neuron activity at different stages of the sleep-waking cycle.

It was demonstrated that the axons of galanine and GABA containing preoptic area neurons project to the neurons of the activating systems histaminergic (tuberomammillary), serotonergic (raphe) and noradrenergic (loc. coeruleus) nuclei and have an inhibitory action on their activity [13].

Material and methods. Under acute conditions experiments were carried out on mature cats (n=6). Steel electrodes were implanted in the mesencephalic reticular formation and preoptic area with the coordinates from the atlas of Reinoso-Suarez [12]. Surgery, insertion of electrodes and bilateral pneumothorax were performed in ether narcotized animals, thereafter occurred immobilization of animals via administration of d-tubocurarine into the blood. Low doses (4-5 mg/kg) of Nembutal were used. Brain electrical activity was recorded throughout the entire experimental period.

Recording of preoptic area i was performed using the wolfram microelectrodes (tip diametr 6-8 μm, resistance 12-15 MΩ). For this we used multilevel amplitude selector which enabled to divide multineuronal activity according to their amplitude and their isolated recording (for details see – [1]).

Results and their discussion. It was demonstrated that of 85 neurons recorded from preoptic area 45 (52.9%) appeared facilitated in response to thalamic reticular nucleus stimulation, 28 (32.9%) neurons activity was inhibited, whereas 12 (14.1%) neurons activity did not change either during stimulation period or after cessation of stimulation.

At the same time, at mesencephalic reticular formation stimulation of 85 neurons recorded from preoptic area 55 (64.7%) underwent inhibition, 16 (18.8%) neurons activated and 14 (16.4%) neurons activity remained unchanged during stimulation and after its cessation as well.

The results of one of such experiments is shown in Fig.1. The Fig. represents spontaneous activity of two simultaneously recorded neurons from preoptic area. Spontaneous activity of the first (2) neuron is characterized by a high-frequency group-activity, while the other neuron (3) underwent tonic activation. As seen from the Figure, in response to MRF high-frequency (80Hz; 0,3 msec) threshold stimulation there occurred a significant attenuation of spontaneous activity of both recorded neurons (Fig. 1B), that was expressed in different degrees. In response to thalamic reticular nucleus stimulation with the same parameters there occurred a significant enhancement of neuron activity in preoptic area, reflected in development of high-frequency, sustainable group discharges (Fig. 1C).

In the subsequent Figures is shown in response to thalamic reticular nucleus (Fig.2A,B) and mesencephalic reticular formation stimulation a graphical designation of changes in spontaneous activity of three neurons simultaneously recorded from preoptic area. As seen from the graphs, thalamic reticular nucleus stimulation caused intensification of the neurons activity that persisted during several seconds after offset of stimulation (Fig.2A). In contrast, activity of recorded neurons tangibly inhibited in response to mesencephalic reticular formation stimulation (Fig.2B). In this case inhibition after-effect occurred.

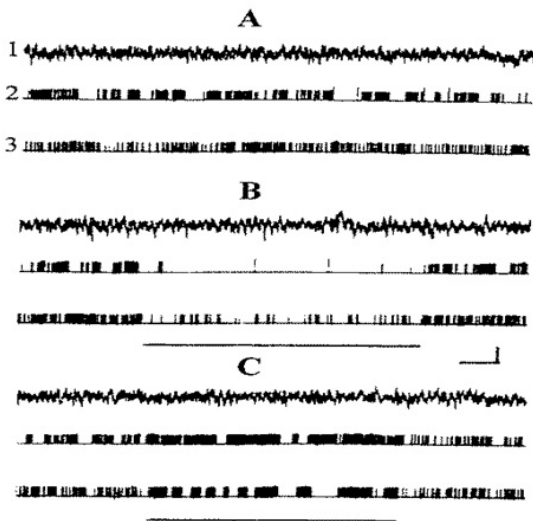


Fig. 1. Influence of the thalamic reticular nucleus and mesencephalic reticular formation stimulation on the activity of the preoptic neurons. Lines indicate moments of stimulation. Calibration – 2 sec., 250 μV

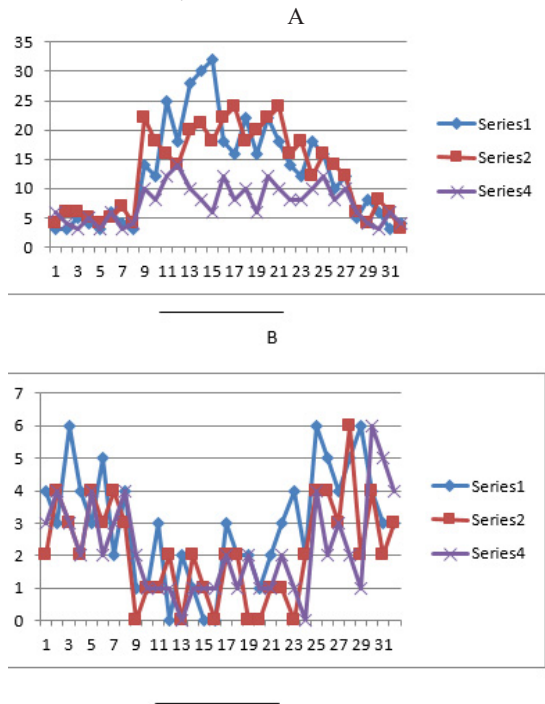


Fig. 2. Changes in three preoptic neurons at thalamic reticular nucleus (A) and mesencephalic reticular formation (B) threshold (80 Hz; 0.3 msec) stimulation. The figure shows average value of 6-6 stimulation.

Abscissa – time in sec; Ordinate – number of spikes. Lines indicate moments of stimulation

It is remarkable that against a background of thalamic reticular nucleus stimulation evoked activation of preoptic area neurons, mesencephalic reticular formation stimulation on the one hand suppressed the thalamic reticular nucleus stimulation effects and on the other hand, suppressed spontaneous activity of neurons (Fig. 3A). On the background of mesencephalic reticular formation stimulation evoked preoptic area neuron activity suppression, thalamic reticular nucleus stimulation caused on the one hand blockade of

mesencephalic reticular formation influence and on the other hand, enhanced activity of neurons (Fig.3B).

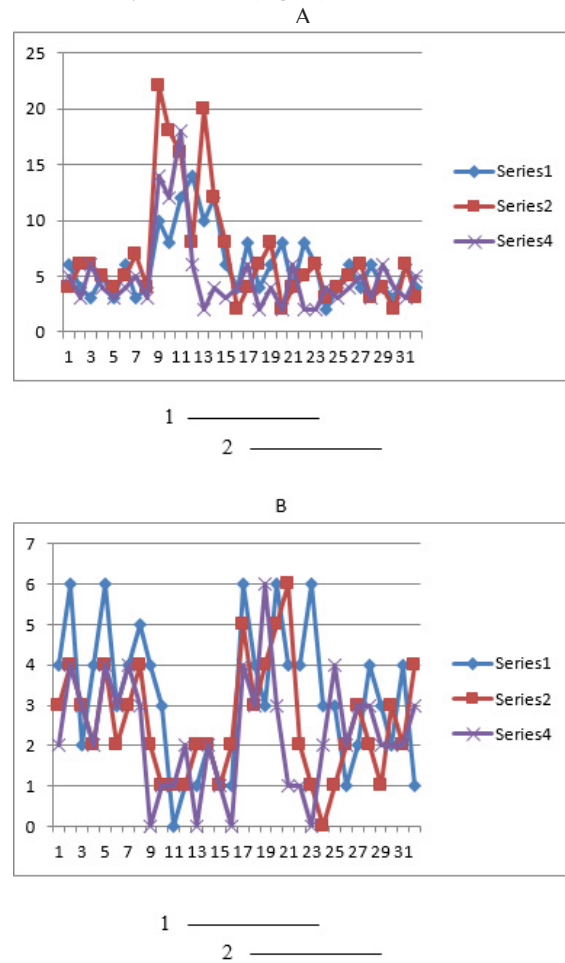


Fig. 3. Graphically depicted changes in the same 3 neurons (as in Fig. 2) of preoptic area at thalamic reticular nucleus and mesencephalic reticular formation conjugated stimulations: A – thalamic reticular nucleus (1) + mesencephalic reticular formation (2). B – mesencephalic reticular formation (1) + thalamic reticular formation (2). The rest is the same as in Fig. 2.

The conducted experiments clarified that thalamic reticular nucleus activation stipulated activation of preoptic area neurons. It was also shown that on the background of thalamic reticular nucleus stimulation and preoptic area neurons activation, mesencephalic reticular formation stimulation blocked the recorded neurons activity. Also, during mesencephalic reticular formation stimulation and inhibition of preoptic area neurons, thalamic reticular nucleus stimulation caused intensification of the recorded neurons action, though this intensification appeared to be weak as compared to thalamic reticular nucleus isolated stimulation effects.

For interpretation of data obtained the following is to be taken into account: a) there is a reciprocal interrelation between the mesencephalic reticular formation and preoptic area neurons [2]; b) activation of thalamic reticular nucleus conditions inhibition of mesencephalic reticular formation neurons activity; c) activity of thalamic reticular nucleus and preoptic area enhances in the presence of slow oscillations in the EEG and during slow-wave sleep [4,10,13,15]. Therefore it is no wonder that blockade of preoptic area neuron activity during mesencephalic reticular formation stimulation and the fact that on the background of mesencephalic reticular formation stimulation thalamic reticu-

lar nucleus stimulation elicited preoptic area neurons activation must be in part stipulated by the fact that thalamic reticular nucleus activation leads to suppression of mesencephalic reticular formation neuron activity. Respectively, blocking of mesencephalic reticular formation inhibitory effect on preoptic area neurons must be stipulated by activating action of thalamic reticular nucleus neurons. Although a direct impact of thalamic reticular nucleus neurons on preoptic area neurons is not excluded [5].

Similarly, on a background of thalamic reticular nucleus stimulation, in response to mesencephalic reticular formation stimulation, inhibition of preoptic area neuron activity might be caused by mesencephalic reticular formation inhibitory action on thalamic reticular nucleus neuron activity. At the same time there is no doubt that mesencephalic reticular formation exercises a direct inhibitory action on preoptic area neuron activity.

Acknowledgements. The authors thank Ms. Ninelli Skhirtladze for her help in the preparation of the manuscript.

REFERENCES

1. Нанобашвили З.И., Нарикашвили С.П. Синее пятно и нейронная активность ретикулярного ядра таламуса // Физиол. Журнал СССР им. И.М. Сеченова. 1985; 63(1): 15-21.
2. Ониани Т.Н. Динамика нейронной активности лимбических структур при развитии мотивированных поведенческих актов // В кн. Интегративная функция лимбической системы. Мецниереба 1980; 149-155.
3. Alam MA, Kumar S, McGinty D, Alam MN, Szymusiak R. Neuronal activity in the preoptic hypothalamus during sleep deprivation and recovery sleep // J Neurophysiol 2014; 111: 287-299.
4. Barker DJ, Miranda-Barrientos J, Zhang S, Root DH, Wang HL, Liu B, Calipari ES, Morales M. Lateral Preoptic Control of the Lateral Habenula through Convergent Glutamate and GABA Transmission // Cell Rep. 2017; 21(7):1757-1769.
5. David F. Essential thalamic contribution to slow waves of natural sleep // J. Neurosci. 2013; 33: 19599-19610.
6. Economo C. Sleep as a problem of localization // J. Nerv. Ment. Dis. 1930; 71: 249-256.
7. Gent TC, Bandarabadi M, Herrera CG, Adamantidis AR. Thalamic dual control of sleep and wakefulness // Nature Neuroscience 2018; 21 (974): 974-984.
8. Gvilia I., Suntsova N., Kumar S., McGinty D., Ronald Szymusiak R. Suppression of preoptic sleep-regulatory neuronal activity during corticotropin-releasing factor-induced sleep disturbance // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2015; 309: 1092-1100.
9. Jego S. Optogenetic identification of a rapid eye movement sleep modulatory circuit in the hypothalamus // Nat. Neurosci. 2013; 16: 1637-1643.
10. Kroeger D, Bandaru SS, Ferrari LL. Cholinergic, glutamatergic, and GABAergic neurons of the pedunculopontine tegmental nucleus have distinct effects on sleep/wake behavior in mice // J. Neurosci. 2017; 37: 1352-1366.
11. Parmeggiani P.L., Franzini C. On the functional significance of subcortical single unit activity during sleep. Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 1973; 34:495-508.
12. Reinoso-Suares F. Topografischer hirnatlas der Katze. Darmstadt, 1961.
13. Saito YC, Maejima T, Nishitani M, Hasegawa E, Yanagawa Y, Mieda M, Sakurai T. Monoamines Inhibit GABAergic Neurons in Ventrolateral Preoptic Area That Make Direct Synaptic Connections to Hypothalamic Arousal Neurons // J Neurosci. 2018; 38(28): 6366-6378.
14. Steriade M. Sleep, epilepsy and thalamic reticular inhibitory neuron // Trends in Neurosciences. 2005; 28(6): 317-324.
15. Szymusiak R., McGinty D. Hypothalamic regulation of sleep and arousal // Ann NY Acad Sci 2008;1129: 275-286.

SUMMARY

INTERACTION BETWEEN THE THALAMIC NUCLEUS AND PREOPTIC AREA NEURONS

^{1,2}Bilanishvili I., ¹Barbakadze M., ¹Khizanishvili N.,
^{1,2}Gaikharashvili T., ^{1,3}Nanobashvili Z.

¹I. Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi;
²P. Shotadze Tbilisi Medical Academy; ³Caucasus International University, Tbilisi, Georgia

The thalamic reticular nucleus which is known to delineate the dorsal thalamus stipulates development of inhibitory processes in the thalamo-cortical neurons that is necessary for generating slow (8-12 Hz), high-amplitude electric activity in this system.

It was demonstrated that majority of preoptic area neurons get activated during slow-wave sleep. Activation of neurons in the anterior hypothalamus and preoptic area during slow-wave sleep and synchronization of the brain electric activity was demonstrated.

The study was aimed at clarifying the relationship between the thalamic reticular nucleus and the preoptic area neurons. Under acute conditions experiments were carried out on mature cats.

It was shown that blockade of preoptic area neuron activity during mesencephalic reticular formation stimulation and the fact that on the background of mesencephalic reticular formation stimulation thalamic reticular nucleus stimulation elicited preoptic area neurons activation must be in part stipulated by the fact that thalamic reticular nucleus activation leads to suppression of mesencephalic reticular formation neuron activity.

Keywords: thalamus, preoptic area, neuron, cat.

РЕЗЮМЕ

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕЖДУ НЕЙРОНАМИ РЕТИКУЛЯРНОГО ЯДРА ТАЛАМУСА И ПРЕОПТИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ ПЕРЕДНЕГО МОЗГА

^{1,2}Биланишвили И.Г., ¹Барбакадзе М.Д., ¹Хизанишвили Н.А.,
²Гаикхарашвили Т.З., ^{1,3}Нанобашвили З.И.

¹Центр экспериментальной биомедицины им. И. Бериташвили, Тбилиси; ²Тбилисская медицинская академия им. П.Шотадзе; ³Кавказский международный университет, Тбилиси, Грузия

В работе экспериментально исследовано взаимоотношение между нейронами ретикулярного ядра таламуса и преоптической области переднего мозга.

Эксперименты проводились на взрослых кошках в условиях острого опыта. Показано, что раздражение ретикулярного ядра таламуса вызывает усиление спонтанной активности нейронов преоптической области переднего мозга. Раздражением мезэнцефалической ретикулярной формации тормозится активность нейронов преоптической области переднего мозга. На фоне раздражения мезэнцефалической ретикулярной формации и торможения активности нейронов преоптической области переднего мозга, стимуляция ретикулярного ядра таламуса оказывает активирующее влияние.

яние на активность нейронов преоптической области переднего мозга, что, очевидно, обусловлено тормозным влиянием ретикулярного ядра таламуса на активность нейронов мезэнцефалической ретикулярной формации. Не исключена возможность и прямого влияния ретикулярного ядра таламуса на активность нейронов преоптической области переднего мозга.

რეზიუმე

ურთიერთობა თალამუსის რეტიკულურ ბირთვსა და წინა ტვინის პრეოპტიკურ უბანს შორის

^{1,2} ი. ბილანიშვილი, ¹ მ. ბარბაქაძე, ¹ ნ. ხიზანიშვილი,

^{1,2} თ. გაიხარაშვილი, ^{1,2} ზ. ნანობაშვილი

¹ ი. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრი, თბილისი, საქართველო; ² პ. შოთაძის სახ. თბილისის სამედიცინო აკადემია; ³ კავკასიის საერთაშორისო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს შეადგენდა ორი მასინქრონიზირებული სტრუქტურის - თალამუსის რეტიკულურ ბირთ-

ვისა და წინა ტვინის პრეოპტიკური უბნის ნეირონებს შორის ურთიერთქმედების შეფასება და თითოეულის წვლილის დადგენა თავის ტვინის სინქრონული ელექტრული აქტივობის ფორმირებაში.

ექსპერიმენტები ჩატარდა ზრდასრულ კატებზე (n=6), მწვავე ცდის პირობებში. დადგენილია, რომ თალამუსის რეტიკულური ბირთვის გაღიზიანება განაპირობებს წინა ტვინის პრეოპტიკული უბნის ნეირონთა გააქტივებას. მეზენცეფალური ბადებრივი ფორმაციის გაღიზიანებით კი იბლოკება წინა ტვინის პრეოპტიკული უბნის ნეირონთა მოქმედება. მეზენცეფალური ბადებრივი ფორმაციის გაღიზიანების ფონზე თალამუსის რეტიკულური ბირთვის სტიმულაცია იწვევს წინა ტვინის პრეოპტიკული უბნის ნეირონთა აქტივაციას, რაც თალამუსის რეტიკულური ბირთვის მეზენცეფალური ბადებრივი ფორმაციის ნეირონებზე შემაკავებელი მოქმედებით უნდა იყოს განპირობებული. თუმცა, არაა გამორიცხული თალამუსის რეტიკულური ბირთვის ნეირონების პირდაპირი გავლენაც წინა ტვინის პრეოპტიკული უბნის ნეირონებზე.

РАДИОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИМЕТОКСИЛИРОВАННЫХ ФЛАВОНОИДОВ ЦИТРУСОВОГО ЭКСТРАКТА

Гвилава И.В., Ормоцадзе Г.Л., Чхиквишвили И.Д., Гиоргобანი М.Т., Кипиани Нина В., Саникидзе Т.В.

*Тбилисский государственный медицинский университет,
Центр экспериментальной биомедицины им. И. Бериташвили, Грузия*

В последние десятилетия ионизирующее облучение интенсивно применяется в сфере диагностики и радиотерапии [3,8]. Во время радиотерапии возникает проблема защиты здоровых тканей от радиация-индуцированных повреждений, что, в свою очередь, требует снижения радиотерапевтических доз и, соответственно, ограничивает эффективность лечения [3,14]. Для выявления эффективных радиопротекторов проведено множество исследований [3,6,8,9,13].

Целью настоящего исследования явилось установление радиопротекторной активности полиметоксилированных флавоноидов цитрусового экстракта на модели X-облученных крыс.

Материал и методы. Эксперименты проводились на 100 белых крысах линии Wistar весом 180-200 г. Животные рандомизированно разделены на 3 группы и облучались рентгеновскими лучами в дозе 5 Гр (I группа, n=40) и 7 Гр (II группа, n=40) с помощью аппарата РУМ-17. III группу составляли 20 крыс, в которых имитировали процесс облучения (ложно-облученные) - животные помещались в радиационную камеру без наличия источника облучения. В каждой группе 20 животных (подгруппа Ia, IIa и IIIa) спустя 2 часа после облучения, а затем ежедневно, в течение 7 дней, внутримышечно вводили раствор полиметоксилированных флавоноидов цитрусового экстракта (ПМФЦЭ) в качестве радиопротектора, в дозе 30 мг/кг. После чего животные распределялись по клеткам и наблюдались.

Животные содержались в стандартных условиях на стандартной диете и потребляли воду *ad libitum*. Протокол проведения экспериментов и содержания животных одобрен Этическим комитетом проведения экспериментов на животных Тбилисского государственного медицинского университета (протокол №1 от 4.07.2014 г.)

Спустя 2 часа после облучения и в течение последующих 7 дней у крыс из хвостовой вены забирали кровь (0,5 мл) для определения содержания липопероксирадикалов. На 3 день после облучения по 3 крысы из каждой группы умерщвлялись методом декапитации под эфирным наркозом и забирали образцы крови для исследования антиоксидантного статуса.

Определение активности антиоксидантных ферментов.

В плазме крови определяли активность антиоксидантных ферментов - супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ). Метод определения активности КАТ основывался на способности перекиси водорода образовывать окрашенный комплекс с солями молибдена; интенсивность окраски определяли спектрофотометрически на длине волны 110 нм. Определение активности СОД основывалось на способности фермента конкурировать с тетразолам за присоединение супероксид-радикалов [7].

Определение липопероксирадикалов (LOO).

Содержание LOO в крови определяли методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) с помощью спинметки α -фенил-тетр-бутилнитрон (PBN, SIGMA), которую добавляли в кровь в дозе 1,5 мМ/мл [16]. В крови ЭПР

сигналы регистрировались при комнатной температуре и микроволновой мощности 20 мВт на радиоспектрометре РЭ-1307 (Россия).

Статистическую обработку данных проводили методом вариационного анализа (ANOVA) с помощью математического пакета "STATISTICA 12".

Результаты и их обсуждение. На рис. 1А,Б приведены данные о кумулятивной выживаемости X-облученных животных (группы I, Ia и II, IIa). Из данных рис. 1А явствует, что на 14 день наблюдения погибло 50% крыс, облученных дозой 5 Гр; в группе животных, облученных дозой 7 Гр уже на 3 день наблюдения смертность составила 55%, на 5 день наблюдения все крысы погибли. ПМФЦЭ не оказывал статистически достоверного радиопротекторного эффекта на животных, облученных дозой 5 Гр, однако при дозе 7 Гр на 3 день облучения снизили смертность крыс на 20%, при этом общая продолжительность жизни животных увеличилась вдвое (до 7 дней).

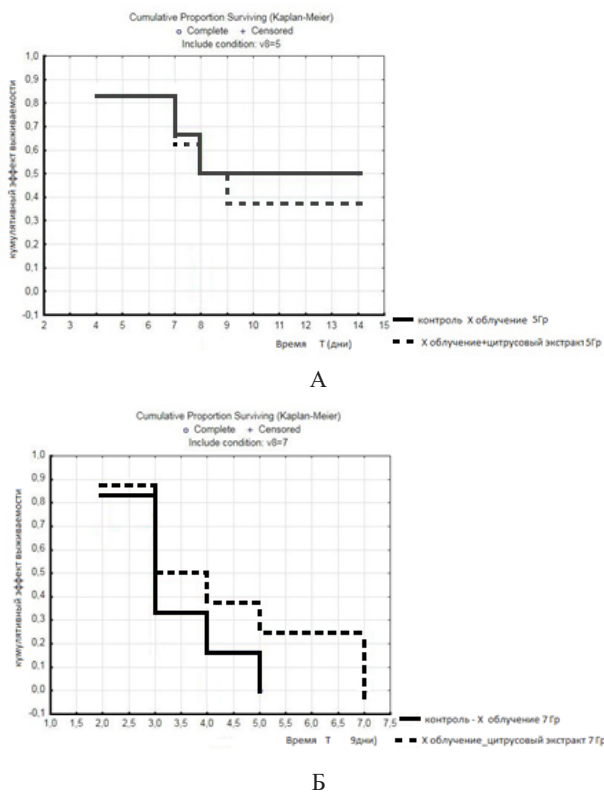


Рис. 1. Кривые кумулятивной выживаемости крыс в условиях X-облучения дозами 5Гр (А) и 7Гр (Б) при пострadiационном воздействии ПМФЦЭ и без него

Результаты наблюдений показали, что ПМФЦЭ не оказывал влияния на продолжительность жизни ложно-облученных крыс (группа III, IIIa) (данные не приведены).

На рис. 2 приведены данные динамики содержания липопероксид-радикалов в крови X-облученных крыс (5 Гр, 7 Гр) в условиях 7-дневного лечения ПМФЦЭ и без него.

Как следует из приведенных на рис. 2 данных, непосредственно после X-облучения спустя 2 часа в крови животных фиксировалось интенсивное дозозависимое образование липопероксид-радикалов (LOO[•]), что является следствием пострadiационного лавинного образования реактивных соединений кислорода (РСК) - супероксид-радикалов (O₂⁻)

и продуктов их дисмутации, H₂O₂, инициации окислительного стресса, изменения активности антиоксидантных ферментов (КАТ, СОД), интенсификации цепных реакций перекисного окисления мембранных липидов.

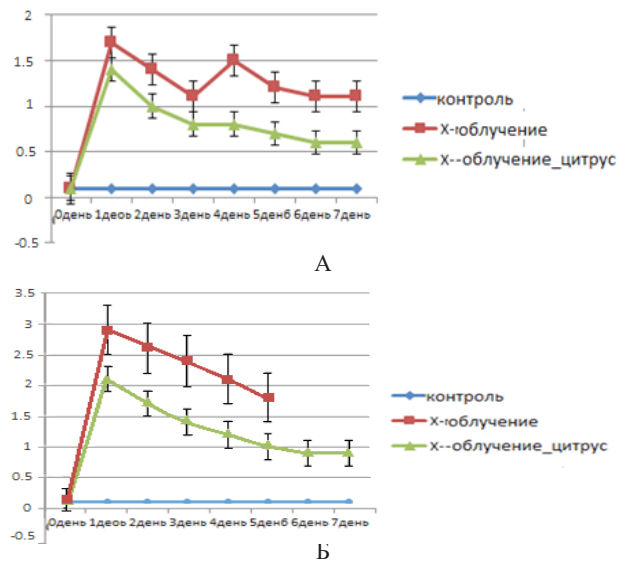


Рис. 2. Динамика содержания липопероксид-радикалов в крови X-облученных животных в дозах 5Гр (А) и 7Гр (Б) в условиях пострadiационного воздействия ПМФЦЭ и без него

В таблице приведены данные активности антиоксидантных ферментов (КАТ, СОД) в крови X-облученных животных на 3 день после облучения.

Из данных, приведенных в таблице явствует, что в крови X-облученных крыс спустя 3 дня после облучения активность антиоксидантных ферментов (КАТ, СОД) дозозависимо уменьшается (КАТ - на 43% при облучении 5 Гр и на 65% при облучении 7 Гр; СОД - на 60% при облучении 5 Гр и на 69% при облучении 7 Гр). Как следует из данных, приведенных в таблице, активность СОД резко уменьшается и практически не зависит от дозы облучения, тогда как изменение активности КАТ несет выраженный дозо-зависимый характер.

КАТ и СОД – значимые звенья эндогенной антиоксидантной системы организма от РСК. Иницированный СОД процесс дисмутации супероксид-радикалов (O₂⁻), завершается КАТ, которая обеспечивает преобразование H₂O₂ (образовавшегося в процессе дисмутации супероксид-радикала) в воду. В условиях окислительного стресса избыток РСК может вызвать инактивацию антиоксидантных ферментов. Показано, что избыток H₂O₂ способствует инактивации СОД, следовательно, КАТ обеспечивает сохранение активности СОД, с другой стороны, O₂⁻ ингибирует КАТ. Эти данные указывают, что КАТ и СОД образуют взаимозащитный ферментный комплекс, работающий по принципу прямой и обратной связи и обеспечивающий осуществление антиоксидантной защиты в организме [11]. В условиях интенсивного радиогенного окислительного стресса в организме избыток H₂O₂, образующийся при дисмутации O₂⁻, может способствовать подавлению активности СОД, а накопление необезвреженных супероксид-радикалов - инактивации КАТ. В результате возможно нарушение механизма прямой и обратной связи,

Таблица. Активность антиоксидантных ферментов (КАТ, СОД) в крови X-облученных крыс дозами 5Гр и 7 Гр (в условиях пострадиационного воздействия ПМФЦЭ и без)

	n	КАТ акт/мг белка	СОД акт/ мг белка
X-облучение (I группа, 5 Гр)	3	0,395±0,158* **	0,205±0,127*
X-облучение+ ПМФЦЭ (I группа, 5 Гр)	3	0,502±0,190	0,308±0,195*
X-облучение (II группа, 7 Гр)	3	0,220±0,104*	0,127±0,093*
X-облучение + ПМФЦЭ (II группа, 7 Гр)	3	0,340±0,095* ***	0,334±0,125* ***
Контроль (III группа)	3	0,625±0,173	0,503±0,135
Контроль+ ПМФЦЭ (III группа)	3	0,648±0,150	0,512±0,102

* - статистически значимая разница в сравнении с контролем ($p < 0.01$);

** - статистически значимая разница между дозами ($p < 0.01$);

*** - статистически значимая разница на фоне воздействия ПМФЦЭ ($p < 0.01$)

регулирующего сохранение активности антиоксидантных ферментов (СОД и КАТ).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о неспособности эндогенной СОД полностью дисмутировать большое количество супероксид-радикалов (O_2^-), образующихся в течение короткого пострадиационного периода в жидких средах организма вследствие радиолиза воды, что подтверждается высоким содержанием липопероксид-радикалов (LOO) в крови животных и указывает на интенсификацию цепных реакций перекисного окисления мембранных липидов. В условиях высокой дозы X-облучения (5Гр, 7Гр) интенсификация радиогенного окислительного стресса превышает эндогенные ресурсы СОД и избыток супероксидрадикалов (O_2^-) вызывает дозо-зависимую активацию процессов липопероксидации и инактивацию КАТ (особенно высокая при облучении дозой 7 Гр). Накопление перекиси водорода (H_2O_2), обусловленное снижением активности КАТ, в свою очередь, обеспечивает подавление активности СОД и дальнейшую интенсификацию окислительного стресса. Следовательно, при X-облучении в дозе 7 Гр высокий уровень LOO в крови животных указывает на интенсификацию образования радиогенных РСК, инактивацию антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ) и на развитие интенсивного окислительного стресса в организме, сопровождающегося быстрой гибелью животных - на 3-5 дни после облучения. При облучении дозой 5 Гр уровень LOO в крови животных был сравнительно ниже, что свидетельствует о низкой интенсивности окислительного стресса, умеренной инактивации СОД и КАТ и увеличении выживаемости животных - на 8 день после облучения 50% выживаемость.

Как следует из данных, приведенных на рис. 2, явствует, что эффективность антирадикальной активности ПМФЦЭ зависит от дозы радиационного облучения: при сравнительно низких дозах облучения (5 Гр) содержание липопероксидов в крови животных (Ia группа) в первые 3 дня после облучения достоверно снижалось в сравнении с показателями у нелеченных животных (I группа), тогда как с увеличением дозы облучения (7 Гр) выявлен статистически достоверный антирадикальный эффект ПМФЦЭ (IIa группа) (статистически достоверное снижение содержания липопероксид-радикалов). Под действием ПМФЦЭ в кро-

ви облученных крыс активность КАТ и СОД хотя и проявляла тенденцию к увеличению, однако показатели были статистически недостоверны. Соответственно, ПМФЦЭ не оказывал статистически достоверного воздействия на кумулятивную выживаемость животных, облученных дозой 5 Гр, а в случае дозы 7 Гр снизили смертность крыс на 20% (на 3 день облучения) и способствовали увеличению продолжительности жизни животных в 2 раза (до 7 дней). В данном случае проявляется дуальный цитопротекторный/цитотоксический эффект ПМФЦЭ на организм в условиях окислительного стресса, характерный для различных натуральных антиоксидантов (витамин С, катехины зеленого чая, гесперидин цитрусов) [4,15]. Известно, что фенольные соединения (катехины зеленого чая, цитрусовые флавоноиды), а также различные неферментные антиоксиданты (витамин С) проявляют цитотоксичность, сопровождающуюся инициацией апоптоза, как посредством H_2O_2 -зависимого окислительного стресса, так и путем активации H_2O_2 -независимых стрессорных сигналов и ядерных факторов [1,17]. Пусковые механизмы антирадикальной защиты организма при радиационном поражении по сей день до конца не установлены, однако существуют данные о значимой роли эндогенной неферментной антирадикальной системы [2,8,12]. Следует предположить, что в условиях радиационного поражения особенно высокой интенсивности (7 Гр) экзогенные антиоксиданты синергически с дозозависимо-активирующейся эндогенной неферментативной системой организма [7,12] способствуют эффективному подавлению окислительного стресса, цепных реакций процессов перекисного окисления, снижению интенсивности смертности и увеличению продолжительности жизни животных.

В результате исследования радиопротекторной активности ПМФЦЭ на модели X-облученных крыс было установлено, что ПМФЦЭ способствуют снижению интенсивности процессов липопероксидации в организме и частичному восстановлению активности антиоксидантных ферментов (СОД и КАТ) крови облученных животных. Выявленное увеличение кумулятивной выживаемости крыс X-облученных дозой 7 Гр (но не 5 Гр) позволяет предположить, что в условиях радиационного поражения особенно высокой интенсивности (7 Гр) экзогенные антиоксиданты

синергически с дозозависимо активирующейся эндогенной неферментативной системой организма способствуют эффективному подавлению цепных реакций процессов перекисного окисления, снижению смертности и увеличению продолжительности жизни животных. Для установления механизмов радиопротекторной активности ПМФИЦЭ необходимо проведение дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Akagawa Mitsugu, Tomoko Shigemitsu & Kyoza Suyama. Production of Hydrogen Peroxide by Polyphenols and Polyphenol-rich Beverages under Quasiphysiological Conditions, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 2000; 3 (67): 2632-2640.
2. Courtney K. Robinson, Kim Webb, Amardeep Kaur, Pawel Jaruga, Miral Dizdaroglu, Nitin S. Baliga, Allen Place, Jocelyne Di Ruggiero. A Major Role for Non-Enzymatic Antioxidant Processes in the Radioresistance of Halobacterium salinarum. *J. Bacteriol.* 2011.
3. Dörr W. Radiation effect in normal tissue - principles of damage and protection *Nuklearmedizin.* 2010; 49(1):53-8.
4. Du Juan, Sean M. Martin, Mark Levine, Brett A. Wagner, Garry R. Buettner⁴, Sih-han Wang, Agshin F. Taghiyev, Changbin Du, C. Michael Knudson, and Joseph J. Cullen¹ „Mechanisms of ascorbate-induced cytotoxicity in pancreatic cancer“ *Clin Cancer Res.* 2010; 16(2): 509-520.
5. Fardid R., Ghorbani Zh., Haddadi Gh., Behzad-Behbahani A., Arabsolghar R., Kazemi E., Okhovat M. A., Hosseini-mehr S. J. Effects of Hesperidin as a Radioprotector on Apoptosis in Rat Peripheral Blood Lymphocytes after Gamma Radiation *J Biomed Phys Eng* 2016; 6(4) 217-228.
6. Fischer N, Seo EJ, Efferth T. Prevention from radiation damage by natural products. *Phytomedicine.* 2018; 47:192-200.
7. Gvilava I, Chkhikvishvili I, Sanikidze T, Giorgobiani M, Kipiani VN. Study of total antioxidant status of the organism as a possible biomarker of dose and effect of radiation exposure. *Georgian Medical News,* 177-183.
8. Mettler FA Jr, Brenner D, Coleman CN, Kaminski JM, Kennedy AR, Wagner LK.. Can radiation risks to patients be reduced without reducing radiation exposure? The status of chemical radioprotectants. *AJR Am J Roentgenol.* 2011; 196(3):616-8.
9. Montoro A., J. F. Barquinero, M. Almonacid, A. Montoro, N. Sebastia, G. Verdú, V. Sahuquillo, J. Serrano, M. Saiz, J. I. Villaescusa, and J. M. Soriano. Concentration-Dependent Protection by Ethanol Extract of Propolis against γ -Ray-Induced Chromosome Damage in Human Blood Lymphocytes *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011; 2011: 174853.
10. Mun GI, Kim S, Choi E, Kim CS, Lee YS. Pharmacology of natural radioprotectors. *Arch Pharm Res.* 2018; 41(11):1033-1050.
11. Norihide Shimizu, Kazuo Kobayashi, Koichiro Hayashi. The Reaction of Superoxide Radical with Catalase. *Journal of biological chemistry* 1984; 259(7): 4414-4418.
12. Sanikidze T., Ormotsadze G., Chkhikvishvili I., Gvilava I., Gogebashvili M., Buleishvili M. High-sensitive biomarkers of blood total antiradical activity in mice exposed to gamma-irradiation. The joint International Symposium on EPR dosimetry and dating (EPR) and the International Conference on Biological Dosimetry (BioDose). Munich, Germany, 2018: 27.
13. Saralidze MA, Papava MB, Datunashvili IT, Sanikidze TV, Bakhtashvili VI. Effectiveness of pliferon LB in gamma-radiotherapy. *Georgian Medical News* 2005; 75-79.
14. Schwartz DL, Hutcheson K, Barringer D, Tucker SL, Kies M, Holsinger FC, Ang KK, Morrison WH, Rosenthal DI, Gardin AS, Dong L, Lewin JS. Candidate dosimetric predictors of long-term swallowing dysfunction after oropharyngeal intensity-modulated radiotherapy *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010; 1;78(5):1356-65.
15. Sutherland Brad A., Rosanna M.A. Rahman, Ian Appleton. Mechanisms of action of green tea catechins, with a focus on ischemia-induced neurodegeneration *J Nutr Biochem.* 2006 May;17(5):291-306.
16. Tabatabaie T, Kotake Y, Wallis G, Jacob JM, Floyd RA. Spin trapping agent phenyl N-tert-butyl nitron protects against the onset of drug-induced insulin-dependent diabetes mellitus. *FEBS Lett.* 1997;407(2):148-52.
17. Tang Yue, Naomi Abe, Hang Qi, Beiwei Zhu, Yoshiyuki Murata, Yoshimasa Nakamura. Tea Catechins Inhibit Cell Proliferation Through Hydrogen Peroxide-Dependent and -Independent Pathways in Human T Lymphocytic Leukemia Jurkat Cells. *Food Science and Technology Research,* 2014; 20(6): 1245-1249.

SUMMARY

RADIOPROTECTIVE ACTIVITY OF POLYMETOXYLATED FLAVONOIDS OF CITRUS EXTRACT

Gvilava I., Ormotsadze G., Chkhikvishvili I., Giorgobiani M., Kipiani Nina V., Sanikidze T.

Tbilisi State Medical University; I. Beritashvili Center for Experimental Biomedical Medicine, Georgia

The aim of the study was to establish the radioprotective activity of citrus polymetoxylated flavonoids extract (CPMFE) on the X-irradiated rats.

The experiments were carried out on white Wistar rats. Animals were irradiated with X rays in doses of 5 Gy and 7 Gy. The control group consisted the sham-irradiated rats. Part of animals of each group were treated with intramuscular injections of CPMFE (dose 30 mg/kg) during 7 days; blood was taken from the tail vein (0.5 ml) for detection of lipoperoxides (LOO.) content. On the 3rd day after irradiation 3 animals from each group were sacrificed (under ether anesthesia) and blood samples were taken for the study of antioxidant status. The activity of antioxidant enzymes (catalase (CAT) and superoxidodismutase (SOD)) was determined by the spectrophotometric method; the content of LOO.in the blood was determined by electron paramagnetic resonance (EPR) method.

In group of irradiated rats a sharp dose-dependent inactivation of blood antioxidant enzymes (SOD, CAT) and intensification of the lipid peroxidation were detected. The direct and feedback mechanism in the regulation of CAT and SOD activity, ensuring the implementation of antioxidant protection in the body was revealed. Under irradiation with 7Gy rapid death of animals (on 3-d day after irradiation the mortality of animals was 70%, and on the 5th day all died) were detected. During irradiation with dose 5 Gy the survival of animals increased (on the 8-th day after irradiation - 50% survival rate).

CPMFE in dose-dependent manner supported the reduce the intensity of lipid peroxidation processes - at relatively low doses of radiation (5Gy) during the first 3 days the content of LOO.in the blood decreased insignificantly compared with indices in untreated animals, whereas with an increase in the dose of irradiation (7Gy) a statistically significant antiradical effect of CPMFE (a statistically significant decrease in the LOO. content) was detected. Under the effect of CPMFE in the blood of rats irradiated

with a dose of 5 Gy and 7 Gy, the activity of CAT and SOD, not statistically significant tends to increase (more significant with a dose of 7 Gy). CPMFE did not affect the cumulative survival of animals irradiated with a dose of 5 Gy, but reduced the mortality of rats by 20% (on the 3rd day of irradiation), and contributed to an increase in the life expectancy of animals by 2 times (up to 7 days) in the case of dose 7 Gr.

Based on the analysis of the research results, it can be assumed that under conditions of radiation damage, exogenous antioxidants synergistically with a dose-dependently activated endogenous non-enzymatic antioxidant system of the body (especially at 7Gy) contribute to the effective suppression of chain reactions of peroxidation, reduction of mortality and increase in life expectancy of animals.

Keywords: radioprotective activity, citrus polymetoxylated flavonoids extract (CPMFE), the X-irradiated rats.

РЕЗЮМЕ

РАДИОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИМЕТОКСИЛИРОВАННЫХ ФЛАВОНОИДОВ ЦИТРУСОВОГО ЭКСТРАКТА

Гвилава И.В., Ормоцадзе Г.Л., Чхиквишвили И.Д., Гиоргобидани М.Т., Кипиани Нина В., Саникидзе Т.В.

Тбилисский государственный медицинский университет, Центр экспериментальной биомедицины им. И. Берташвили, Грузия

Целью исследования явилось установление радиопротекторной активности полиметоксилированных флаваноидов цитрусового экстракта на модели X-облученных крыс.

Эксперименты проводились на белых крысах линии Wistar (n=100). Животные облучались рентгеновскими лучами в дозах 5 Гр и 7 Гр. Контрольная группа включала крыс, которым имитировали процесс облучения (ложно-облученные). 20 животным в каждой группы ежедневно, в течение 7 дней, внутримышечно вводили раствор полиметоксилированных флаваноидов цитрусового экстракта (ПМФЦЭ) в дозе 30 мг/кг, из хвостовой вены забирали кровь (0,5мл) для определения содержания липопероксидрадикалов (LOO). На 3 день после облучения по 3 крысы из каждой группы умерщвлялись (под эфирным наркозом) и забирали образцы крови для исследования антиоксидантного статуса. Активность антиоксидантных ферментов: каталазы (КАТ) и супероксиддисмутазы (СОД) в крови определяли спектрофотометрическим методом; содержание LOO - методом электронного парамагнитного резонанса.

При X-облучении в крови животных наблюдалась резкая дозо-зависимая инактивация антиоксидантных ферментов (СОД и КАТ) и генерация LOO. Выявлено наличие механизма прямой и обратной связи в регуляции активности КАТ и СОД, обеспечивающей антиоксидантную защиту в организме. При облучении дозой 7 Гр смертность животных на 3 день после облучения составила 55%, а на 5 день все погибли; при облучении дозой 5 Гр выживаемость животных была сравнительно выше - на восьмой день после облучения составила 50%.

Полиметоксилированные флаваноиды цитрусового экстракта дозозависимо снижали интенсивность процессов липопероксидации в крови X-облученных крыс – при сравнительно низких дозах облучения (5 Гр) содержание LOO

в крови в первые 3 дня после облучения под действием ПМФЦЭ снижалось недостоверно в сравнении с показателями нелеченных животных, тогда как с увеличением дозы облучения (7 Гр) выявлен статистически достоверный антирадикальный эффект ПМФЦЭ - статистически достоверное снижение содержания LOO). Под действием ПМФЦЭ в крови крыс, облученных дозами 5 Гр и 7 Гр, активность КАТ и СОД хотя и проявляла тенденцию к увеличению, однако показатели были статистически недостоверны. ПМФЦЭ не оказывал воздействия на кумулятивную выживаемость животных, облученных дозой 5 Гр, однако, при облучении дозой 7 Гр снизили смертность крыс на 20% (на 3 день облучения) и способствовали увеличению продолжительности жизни животных в 2 раза (до 7 дней).

На основании анализа результатов исследования можно предположить, что в условиях радиационного поражения экзогенные антиоксиданты синергически с дозо-зависимо активирующейся эндогенной неферментативной системой организма (особенно при 7 Гр) способствуют эффективному подавлению цепных реакций процессов перекисного окисления, снижению смертности и увеличению продолжительности жизни животных.

რეზიუმე

ციტრუსის ექსტრაქტის პოლიმეტოქსილიური ფლავონოიდების რადიოპროტექტორული აქტივობა

ი. გვილავა, გ. ორმოცაძე, ი. ჩხიკვიშვილი
მ. გიორგობიანი, ნინა ვ. კიპიანი, თ. სანიკიძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ი. ბერიტაშვილის სახ. ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ციტრუსების პოლიმეტოქსილიური ფლავონოიდების რადიოპროტექტორული აქტივობის დადგენა X-დასხივებულ ვირთაგვებში.

ექსპერიმენტები ჩატარდა თეთრი Wistar ხაზის 100 ვირთაგვებზე. ცხოველებს ვასხივებით დოზებით 5 გრ და 7 გრ. საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვები ექმედებარებოდნენ დასხივების პროცესის იმიტაციას. თითოეულ ჯგუფში ცხოველებს ყოველდღიურად, 7 დღის განმავლობაში, უკეთებოდა ციტრუსების პოლიმეტოქსილიური ექსტრაქტის ინიექციები, ლიმპოპეროქსიდრადიკალების (LOO) განსაზღვრისათვის ხდებოდა სისხლს ახება (0,5 მლ) კუდის ვენიდან. დასხივებიდან 3 დღის შემდეგ თითოეული ჯგუფიდან 3 ვირთაგვის დეკაპიტაციის შემდეგ (ეთერის ნარკოზის ქვეშ) ხდებოდა სისხლის აღება ანტიოქსიდანტური სტატუსის გამოკვლევისათვის. ანტიოქსიდანტური ფერმენტების - კატალაზას და სუპეროქსიდდისმუტაზას (სოდ) აქტივობის განსაზღვრა ხდებოდა სპექტროფოტომეტრული მეთოდით; სისხლში LOO-ს შემცველობას - ელექტრონული პარამაგნიტური რეზონანსის მეთოდით.

X-დასხივების შემდეგ ცხოველების სისხლში გამოვლინდა ანტიოქსიდანტური ფერმენტების (კატალაზა, სოდ) მკვეთრი დოზოდამოკიდებული ინაქტივაცია და LOO-ს გენერაცია. კატალაზას და სოდ-ის რეგულაციის მექანიზმებში გამოვლენილია პირდაპირი და უკუკავშირის მექანიზმის არსებობა, რომელიც უზრუნველყოფს ანტიოქსიდანტურ ფერმენტულ დაცვას ორგანიზმში. 7 გრ დოზით დასხივების დროს და-

კვირებიდან 3 დღის შემდეგ ცხოველების სიკვდილობა შეადგენდა 55%-ს, მე-5 დღეს ყველა ცხოველი დაიღუპა; 5 გრ დოზით დასხივების 8 დღის შემდეგ ცხოველების გადარჩენის მაჩვენებელი შეადგენდა 50%-ს.

ციტრუსების პოლიმეთოქსილური ფლავონოიდები დოზოდამოკიდებულად აქვეითებს პეროქსიდაციული პროცესების ინტენსივობას დასხივებული ცხოველების სისხლში - დასხივების შედარებით დაბალი რეჟიმების დროს (5 გრ) LOO-ს შემცველობა სისხლში პირველი 3 დღის განმავლობაში სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ იცვლებოდა არანამკურნალები ცხოველებისათვის დამახასიათებელ მაჩვენებლებთან შედარებით, მაშინ როდესაც დასხივების დოზის ზრდასთან ერთად (7 გრ) ვლინდება ციტრუსების პოლიმეთოქსილური ფლავონოიდების სტატისტიკურად სარწმუნო ანტირადიკალური ეფექტი. ციტრუსების პოლიმეთოქსილური ფლავონოიდების ზემოქმედების დროს დასხივებული

(5 გრ, 7 გრ) ვირთაგვების სისხლში გამოვლინდა ანტიოქსიდანტური ფერმენტების აქტივობის ზრდის სტატისტიკურად არასარწმუნო ტენდენცია. ციტრუსების პოლიმეთოქსილური ფლავონოიდები არ ავლენს ზემოქმედებას 5 გრ დოზით დასხივებულ ვირთაგვების სიცოცხლისუნარიანობაზე, მაგრამ 20%-ით ამცირებს სიკვდილობას 7 გრ დოზით დასხივებულ ცხოველებში მე-3 დღეს და ხელს უწყობს სიცოცხლისუნარიანობის გახანგრძლივებას 7 დღემდე.

მიღებული შედეგების ანალიზის საფუძველზე ავტორები დაასკვნა, რომ რადიაციული დასხივების პირობებში ეგზოგენური ანტიოქსიდანტები ორგანიზმის დოზოდამოკიდებულად გააქტიურებული ანდოგენურ არაფერმენტულ ანტიოქსიდანტურ სისტემასთან სინერგიულად (განსაკუთრებით 7 გრ დასხივების პირობებში) ხელს უწყობს პეროქსიდაციური ჯაჭვური რეაქციების დათრგუნვას, ცხოველების სიკვდილობის დაქვეითებას და სიცოცხლის ხანგრძლივობის ზრდას.

AWARENESS OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCY DISEASES AMONG MEDICAL STUDENTS

¹Boyarchuk O., ¹Volyanska L., ¹Kosovska T., ²Lewandowicz-Uszynska A., ¹Kinash M.

¹I. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine; ²Wroclaw Medical University, Poland

Primary immunodeficiency diseases (PID) are a group of more than 300 rare, chronic disorders in which a part of the body's immune system is missing or functions improperly.

Early detection of PID is very important for adequate prevention and management of PID infectious complications. Previously PID were considered rare diseases, however, in recent years the use of modern diagnostic methods uncovered more evidence of their wide distribution [1]. Many patients with PID are undiagnosed, under-diagnosed, or misdiagnosed [2]. In most countries, including Ukraine, the delayed and poor diagnosis of PID is an important problem.

At least 1-2% of the world population are affected with PID [3]. It is thought that worldwide about 6 million of people have PID, while only 27 to 60 thousands had been diagnosed.

In Ukraine, the number of PID diagnoses has increased in recent years, but it remains much lower than in the EU and USA. Currently in Ukraine there are about 1,500 children with PID under immunological specialist care, which is only a few percent of the expected number [4].

The late detection of PID, which in many cases lasts from 8 to 10 years, also indicates the low awareness of doctors to these diseases. Often children die before the diagnosis is being set, or irreversible morphological changes develop in their organs. Worldwide, the mean diagnostic delay between the onset of symptoms and the date of diagnosis is currently 4.08 years [5]. A similar situation is in Ukraine, particularly in Ternopil region. Most cases of PID in Ternopil region were diagnosed in patients older than 4 years of age; a process where children are being examined and treated by a variety of medical specialists [6] precedes the diagnosis.

Therefore, the issue of early diagnosis, timely and effective

treatment, prevention of complications and improved prognosis remains extremely relevant. One of the main reasons of current situation is poor awareness of physicians concerning these rare disorders.

The aim of this study was to assess the awareness of graduating medical university students about the signs of primary immunodeficiency in children and adults.

Material and methods. We conducted a survey among sixth year (graduating) students of the Faculty of Medicine of I.Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine on their awareness of PID. The study was conducted in June 2017. 271 students answered the questionnaires, which were offered in the classrooms after the last exam.

The questionnaire consisted of 25 questions (Table 1). It can be divided into four sections: warning signs of PID in children (4 questions) and adults (2 questions); general signs of PID (5 questions); specific signs of PID (9 questions); and treatment strategies and immunization of patients with PID (5 questions). The questionnaire was developed by immunologists, and contained only True or False statements.

Verbal consent was obtained before conducting the questionnaire survey; the participants were informed of the reasons why the information was collected and how it would be used. Prior to handling the questionnaire, a statement was read to participants informing them that their participation was voluntary and assured that their answers were anonymous and confidential.

Ethical approval for the study was provided by the scientific ethics committee at I. Horbachevsky Ternopil State Medical University.

The study conformed to the principles outlined in the WMA Declaration of Helsinki.

The results were analyzed using standard procedures with Statistica StatSoft 6.0 software package. The distribution of variables was assessed by Chi-square test and the Fisher's exact test. Significance level of the tests was set at $\alpha=0.05$.

Results and their discussion. Age of the respondents ranged from 23 to 31 years. The majority of the surveyed students were women (64.6%). The list of the questions and percentage of answers options of all the respondents are presented in Table 1.

Table 1. Survey questions, number and percentage of response options given by the surveyed students (n=271)

N	Question	Yes		No		Don't know	
		abs.	%	abs.	%	abs.	%
1.	Primary immunodeficiencies occur only in children	72	26.6	188	69.4	11	4.1
2.	Telangiectasia may be specific to ataxia-telangiectasia (A-T) syndrome (Louis-Bar syndrome)	206	76.0	16	5.9	49	18.1
3.	The absence of thymus confirms Di George syndrome	173	63.8	94	34.7	4	1.5
4.	Common variable immunodeficiency is most oftenly diagnosed in children	168	62.0	91	33.5	12	4.5
5.	Oncological diseases can be a sign of PID	180	66.4	85	31.4	6	2.2
6.	Alpha-fetoprotein (AFP) appears in high concentrations in A-T syndrome	149	55.0	111	40.9	11	4.1
7.	Four or more new ear infections within 1 year may be a warning sign of PID	193	71.2	70	25.8	8	3.0
8.	Failure of a child to gain weight normally may be a sign of PID	171	63.1	89	32.8	11	4.1
9.	Repeated abscesses of skin and organs (without damage to the tissue integrity caused by trauma) may be a sign of PID	223	82.3	40	14.8	8	2.9
10.	Numerous (6 and more) of 'coffee-with-milk' colored spots are particularly specific to Nijmegen breakage syndrome (NBS)	142	52.4	56	20.7	73	26.9
11.	Two or more cases of pneumonia in a year may be the only clinical manifestation of PID	111	41.0	159	58.7	1	0.3
12.	Four or more episodes of infection (otitis, bronchitis, pneumonia) in an adult patient may be a sign of PID	189	69.7	76	28.1	6	2.2
13.	In adults, two or more cases of pneumonia (radiographically confirmed) within three years may be a sign of PID	105	38.7	165	60.9	1	0.4
14.	Children diagnosed with microcephaly should undergo genetic testing	68	25.1	198	73.1	67	1.8
15.	Infections with atypical localization or caused by atypical pathogen may be a sign of PID	206	76.0	56	20.7	9	3.3
16.	Dismorphic facial features are specific to common variable immunodeficiency (CVID)	139	51.3	61	22.5	71	26.2
17.	The only method of treatment for PID with antibody deficiency is therapy with intravenous or subcutaneous immunoglobulin agents	218	80.4	49	18.1	4	1.5
18.	Normal levels of leukocytes (WBC), hemoglobin, platelets, HCT are sufficient to exclude neutropenia	106	39.1	160	59.0	5	1.9
19.	Live vaccines are contraindicated for patients with NBS	173	63.8	78	28.8	20	7.4
20.	Inflammation+ thrombocytopenia + eczema may be a sign of Wiskott-Aldrich syndrome	194	71.6	41	15.1	39	13.3
21.	In cases of Nijmegen syndrome chest X-ray examination is allowed	161	59.4	107	39.5	3	1.1
22.	Live vaccines can be administered to children with severe PID	74	27.3	188	69.4	9	3.3
23.	Vaccination against pneumococcus should be given to children with PID that retained the ability to synthesize antibodies (within the risk group)	189	69.7	79	29.2	3	1.1
24.	All adults with primary and secondary asplenia should be vaccinated against pneumococcus and meningococcus	155	57.2	112	41.3	4	1.5
25.	Autoimmune diseases are much more common in patients with PID	170	62.7	99	36.5	2	0.7

The list of the questions and proportion of correct answers out of all responses are presented in Table 2.

Table 2. Percentage of correct answers for each question given by the surveyed students (n=271)

No.	Question	Correct answer
		%
1.	Primary immunodeficiencies occur only in children	69.4
2.	Telangiectasia may be specific to ataxia-telangiectasia (A-T) syndrome (Louis-Bar syndrome)	76.0
3.	The absence of thymus confirms Di George syndrome	63.8
4.	Common variable immunodeficiency is most oftenly diagnosed in children	33.5
5.	Oncological diseases can be a sign of PID	66.4
6.	Alpha-fetoprotein (AFP) appears in high concentrations in A-T syndrome	55.0
7.	Four or more new ear infections within 1 year may be a warning sign of PID	71.2
8.	Failure of a child to gain weight normally may be a sign of PID	63.1
9.	Repeated abscesses of skin and organs (without damage to the tissue integrity caused by trauma) may be a sign of PID	82.3
10.	Numerous (6 and more) of 'coffee-with-milk' colored spots are particularly specific to Nijmegen breakage syndrome (NBS)	52.4
11.	Two or more cases of pneumonia in a year may be the only clinical manifestation of PID	41.0
12.	Four or more episodes of infection (otitis, bronchitis, pneumonia) in an adult patient may be a sign of PID	69.7
13.	In adults, two or more cases of pneumonia (radiographically confirmed) within three years may be a sign of PID	38.7
14.	Children diagnosed with microcephaly should undergo genetic testing	25.1
15.	Infections with atypical localization or caused by atypical pathogen may be a sign of PID	76.0
16.	Dismorphic facial features are specific to common variable immunodeficiency (CVID)	22,5
17.	The only method of treatment for PID with antibody deficiency is therapy with intravenous or subcutaneous immunoglobulin agents	80.4
18.	Normal levels of leukocytes (WBC), hemoglobin, platelets, HCT are sufficient to exclude neutropenia	59.0
19.	Live vaccines are contraindicated for patients with NBS	63.8
20.	Inflammation+ thrombocytopenia + eczema may be a sign of Wiskott-Aldrich syndrome	71,6
21.	In cases of Nijmegen syndrome chest X-ray examination is allowed	39.4
22.	Live vaccines can be administered to children with severe PID	69.4
23.	Vaccination against pneumococcus should be given to children with PID that retained the ability to synthesize antibodies (within the risk group)	69.7
24.	All adults with primary and secondary asplenia should be vaccinated against pneumococcus and meningococcus	57.2
25.	Autoimmune diseases are much more common in patients with PID	62.7
	Total	59.2

The average percentage of correct answers given by the surveyed students to each questions was 59.2±10.9% (ranging from 22.5% to 82.3%). Satisfactory response rate (over 75%) was given to the questions about some warning signs of PID, in particular repeated abscesses of skin and organs (82.3%) and infections with atypical localization or caused by atypical pathogen (76.0%). Students know quite well the treatment methods for PID with antibody deficiency (80.4% of correct answers) and specific signs of ataxia-telangiectasia (76.0%).

However, only 33.5% of medical students know that common variable immunodeficiency (CVID) is often diagnosed in adults and 22.5% know that dismorphic facial features are not specific to this PID. The students demonstrated insuffi-

cient knowledge about specific features of NBS. Thus, only 25.1% of students indicated that children with microcephaly should be directed to genetic testing and only 39.4% of them indicated that chest X-ray examination is contraindicated for children with NBS.

The percentage of correct answers among surveyed students ranged from 26 to 88%. 223 medical students (82.3%) had answered more than 50% of their questions correctly, however only 21 person (7.7%) had more than 75% of correct answers.

Analysis of the answers was conducted in the context of different groups of the questions. The number and percentage of correct answers to the questions about the warning signs of PID in children and adults are presented in Table 3.

Table 3. Number and percentage of correct answers to the questions about warning signs in children and adults

N	Question	n	%
	Warning signs in children	698	64.4
1.	Four or more new ear infections within 1 year may be a warning sign of PID	193	71.2
2.	Failure of a child to gain weight normally may be a sign of PID	171	63.1
3.	Two or more cases of pneumonia in a year may be the only clinical manifestation of PID	111	41.0
4.	Repeated abscesses of skin and organs (without damage to the tissue integrity caused by trauma) may be a sign of PID	223	82.3
	Warning signs in adults	294	54.2
1.	Four or more episodes of infection (otitis, bronchitis, pneumonia) in an adult patient may be a sign of PID	189	69.7
2.	In adults, two or more cases of pneumonia (radiographically confirmed) within three years may be a sign of PID	105	38.7

Table 4. Number and percentage of correct answers to the questions about general signs of PID

N	Question	n	%
1.	Primary immunodeficiencies occur only in children	188	69.4
2.	Common variable immunodeficiency is most oftenly diagnosed in children	91	33.5
3.	Oncological diseases can be a sign of PID	180	66.4
4.	Autoimmune diseases are much more common in patients with PID	170	62.7
5.	Infections with atypical localization or caused by atypical pathogen may be a sign of PID	206	76.0
	Total	835	61.6

Table 5. Number and percentage of correct answers to the questions about specific signs of PID

N	Question	n	%
1.	Telangiectasia may be specific to ataxia-telangiectasia syndrome (Louis-Bar syndrome)	206	76.0
2.	The absence of thymus confirms Di George syndrome	173	63.8
3.	Numerous (6 and more) of 'coffee-with-milk' colored spots that are particularly specific to Nijmegen breakage syndrome (NBS)	142	52.4
4.	Dismorphic facial features are specific to common variable immunodeficiency (CVID)	61	22.5
5.	Inflammation+ thrombocytopenia + eczema may be signs of Wiskott-Aldrich syndrome	194	71.6
6.	Alpha-fetoprotein (AFP) appears in high concentrations in A-T syndrome	149	55.0
7.	Normal levels of leukocytes (WBC), hemoglobin, platelets, HCT are sufficient to exclude neutropenia	160	59.0
8.	In cases of NBS chest X-ray examination is allowed	107	39.5
9.	Children diagnosed with microcephaly should undergo genetic testing	68	25.1
	Total	1260	51.7

Medical students demonstrated average knowledge of the warning signs of PID in children. The average percentage of correct answers was 64.4%; it ranged from 41.0% to 82.3%. Unfortunately, students did not show better awareness of PID warning signs in adults (54.2% of correct answers). The percentage of correct answers to the questions about warning signs in adults was significantly lower than in children ($p=0.0491$).

The answers to the questions about general signs of PID are presented in Table 4.

The percentage of correct answers to this block of questions ranged from 33.5% to 76%. Most students thought that CVID is found primarily in children. Medical students demonstrated slightly better knowledge of general signs of PID, such as autoimmune diseases, oncopathology, and atypical infections.

The answers to the questions about specific signs of certain PID are presented in Table 5.

The percentage of correct answers to the questions about specific signs of certain PIDs was 51.7%, ranging from 22.5 to 76.0%. The lowest knowledge was shown about NBS and CVID. The most difficult topic for students was the correct signs and appropriate management of NBS.

The percentage of correct answers to the questions about specific signs of PID was significantly lower than the percentage of correct answers to the questions about general signs of PID ($p=0.0016$).

The analysis of the answers to the questions about treatment and immunization of children with PID in terms of specialties is presented in Table 6.

Table 6. Number and percentage of correct answers to the questions about treatment and vaccination of children with PID

N	Question	n	%
1.	The only method of treatment for PID with antibody deficiency is therapy with intravenous or subcutaneous immunoglobulin agents	218	80.4
2.	Live vaccines are contraindicated for patients with NBS	173	63.8
3.	Live vaccines can be administered to children with severe PID	188	69.4
4.	Vaccination against pneumococcus should be given to children with PID that retained the ability to synthesize antibodies (within the risk group)	189	69.7
5.	All adults with primary and secondary asplenia should be vaccinated against pneumococcus and meningococcus	155	57.2
	Total	923	68.1

The average percentage of correct answers to the questions about vaccination was 65.0%, ranging from 57.2 to 69.7%.

Diagnostic delay not only reduces the quality and duration of life of children with PID, but it also has significant economic costs [3]. Taking into account that the number of PIDs increases every year due to the discovery of new genetic defects, there is a great need to improve knowledge about diagnosis of PID not only among primary care physicians and specialists, but also among students of medical universities who will undoubtedly encounter these diseases in their daily practice.

A number of studies examined PID awareness among physicians of the first contact, pediatricians and residents [7-10]. Our study targeted PID knowledge of graduating medical students.

In our opinion, it is very important to raise awareness for PID in physicians starting from the student's age, as these diseases are being encountered in the practice of various specialists, such as surgeons, ENTs, neurologists, rheumatologists, cardiologists, etc. Currently, in Ukraine, postgraduate education of surgeons and physicians of adult specialties does not include the study of primary immunodeficiencies.

Signs of such PID, as Di George syndrome, Wiskott-Aldrich syndrome and A-T syndrome are better known to students as they are in the curriculum. Good knowledge and the possibility of genetic confirmation of Di George syndrome made it possible to improve its diagnosis in Ukraine and in Ternopil region, despite the variability of clinical symptoms [11].

Consequently, education and training programs of medical universities should give more attention to teaching about the warning signs of PIDs. This knowledge will be necessary in the practice of both primary care physicians and physicians of sub-specialties.

In recent years a number of educational campaigns and activities were developed all over the world targeting both physicians and general public. Since 2003 the Jeffrey Modell Foundation (JMF) implemented a physician education and public awareness program for the earliest diagnosis, appropriate treatment, and proper care management of PID with a view to reducing morbidities and mortalities related to PID [2,12].

PID can cause severe, sometimes life-threatening, infections if not diagnosed and treated appropriately [1,3]. That why timely diagnosis and registration of PID cases is very important, given that appropriate therapy prevents the development of severe and irreversible changes, significantly improves the quality of life and prognosis of patients, and changes the attitude toward PID as incurable and hopeless diseases.

Conclusions. The average percentage of correct answers given by the surveyed students was 59.2 % (ranging from 22.5% to 82.3%), pointing the lack of awareness of PID among medi-

cal students. The lowest knowledge among PID-related subjects was about the warning signs in adults; specific signs of PID; and verification and management of specific diseases such as Nijmegen breakage syndrome and common variable immunodeficiency. This study suggests a significant need to increase the knowledge of medical students about primary immunodeficiencies, taking into account low incidence of diagnosis of these diseases in Ukraine and the need for improved knowledge and awareness about PID for physicians of all specialties.

Acknowledgments. The authors wish to thank Jeffrey Modell Foundation for the financial support of this study.

REFERENCES

1. Bousfiha AA, Jeddane L, Ailal F, Benhsaien I, Mahlaoui N, Casanova JL, et al. Primary immunodeficiency diseases worldwide: more common than generally thought // *J Clin Immunol.* 2013;33(1):1-7.
2. Modell V, Knaus M, Modell F, Roifman C, Orange J, Notarangelo LD. Global overview of primary immunodeficiencies: a report from Jeffrey Modell Centers worldwide focused on diagnosis, treatment, and discovery // *Immunol Res.* 2014;60(1):132-144.
3. Modell V, Orange JS, Quinn J, Modell F. Global report on primary immunodeficiencies: 2018 update from the Jeffrey Modell Centers Network on disease classification, regional trends, treatment modalities, and physician reported outcomes // *Immunologic Research.* 2018; 66:367-380.
4. Chernyshova LI, Bondarenko AV, Kostyuchenko LV, Savvo OM, Volokha AP, Rabosh OV. Epidemiology of primary immunodeficiencies in Ukraine according to the register of patients // *Child's Health.* 2015;7(67):16-23.
5. Modell V, Quinn J, Ginsberg G, Gladue R, Orange J, Modell F. Modeling strategy to identify patients with primary immunodeficiency utilizing risk management and outcome measurement // *Immunologic Research.* 2017;65:713.
6. Boyarchuk O, Lewandowicz-Uszynska A, Kinash M, Haliyash N, Sagal I, Kovalchuk T. Physicians' awareness concerning primary immunodeficiencies in the Ternopil region of Ukraine // *Pediatrica Polska.* 2018;93(3):221-228.
7. Dantas EO, Arandaa CS, Rêgo Silva AM, Tavares FS, Severo Ferreira JF, et al. Doctors' awareness concerning primary immunodeficiencies in Brazil // *Allergol Immunopathol (Madr).* 2015;43:272-8.
8. Mohammadzadeh I, Moazzami B, Ghaffari J, Aghamohammadi A, Rezaei N. Primary immunodeficiency diseases in Northern Iran // *Allergologia et Immunopathologia.* 2017;45(3):244-250.
9. Adeli M, Hendaus M, Imam L, Alhammadi A. The impor-

tance of educating pediatricians about primary immunodeficiency disorders: a tertiary hospital experience. Georgian Medical News. 2015; Sep;(246):66-72.

10. Orange JS, Seeborg FO, Boyle M, Scalchunes C, Hernandez-Trujillo V. Family Physician Perspectives on Primary Immunodeficiency Diseases. Front Med (Lausanne). 2016;3:12.

11. Boyarchuk O, Volyanska L, Dmytrash L. Clinical variability of chromosome 22q11.2 deletion syndrome // Centr Eur J Immunol. 2017;42(4):412-417.

12. Modell V, Quinn J, Ginsberg G, Gladue R, Orange J, Modell F. Modeling strategy to identify patients with primary immunodeficiency utilizing risk management and outcome measurement // Immunologic Research. 2017;65:713.

SUMMARY

AWARENESS OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCY DISEASES AMONG MEDICAL STUDENTS

¹Boyarchuk O., ¹Volyanska L., ¹Kosovska T.,
²Lewandowicz-Uszynska A., ¹Kinash M.

¹I. Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine;
²Wroclaw Medical University, Poland

Primary immunodeficiency diseases (PID) are a group of more than 300 rare, chronic disorders in which a part of the body's immune system is missing or functions improperly. The issue of early diagnosis, timely and effective treatment, prevention of complications and improved prognosis remains extremely relevant.

The aim of this study was to assess the awareness of graduating medical university students about the signs of primary immunodeficiency in children and adults.

A survey on awareness of primary immunodeficiencies was conducted among sixth year (graduating) students of the Faculty of Medicine of I.Horbachevsky Ternopil State Medical University, Ukraine. Questionnaires were offered to 271 students. The questionnaire consisted of 25 questions.

The average percentage of correct answers given by the surveyed students for each question was 59.2% (ranging from 22.5% to 82.3%). The percentage of correct answers to the questions about warning signs of PID in children was 64.4%, and in adults was 54.2% (p=0.0491). The percentage of correct answers to the questions about general signs of PID was 61.6% and about specific signs of PID 51.7% (p=0.0016). The percentages of correct answers among surveyed students ranged from 26 to 88%. 223 (82.3%) medical students gave more than 50% of correct answers to all questions, but only 21 surveyed students (7.7%) gave more than 75% of correct answers.

This study has revealed the lack of awareness for PID among medical students. The lowest knowledge was about PID warning signs in adults and the specific signs of PID, especially those concerning verification and management of Nijmegen breakage syndrome and common variable immunodeficiency. This study indicates a significant need to increase knowledge of medical students about primary immunodeficiencies, taking into account low levels of diagnosis of these diseases in Ukraine and the need to raise knowledge and awareness about PID among physicians of all specialties.

Keywords: primary immunodeficiencies, students' awareness, Ukraine.

РЕЗЮМЕ

ОСВЕДОМЛЕННОСТЬ О ПЕРВИЧНЫХ ИММУНОДЕФИЦИТАХ СРЕДИ СТУДЕНТОВ-МЕДИКОВ

¹Боярчук О.Р., ¹Волянская Л.А., ¹Косовская Т.М.,
²Левандович-Ушинская А., ¹Кинаш М.И.

¹Тернопольский государственный медицинский университет им. И. Горбачевского, Украина; ²Вроцлавский медицинский университет, Польша

Целью исследования явилась оценка осведомленности выпускников медицинских университетов о признаках первичных иммунодефицитов у детей и взрослых.

Обследование первичных иммунодефицитов (ПИД) проведено среди студентов шестого курса (выпускников) медицинского факультета Тернопольского государственного медицинского университета им. И. Горбачевского, Украина. Анкеты были предложены 271 студенту. Вопросник состоял из 25 вопросов.

Проведенное исследование показало недостаточную осведомленность о ПИД среди студентов-медиков. Самые низкие знания касались настораживающих признаков ПИД у взрослых и специфических признаков ПИД, особенно тех, которые касаются диагностики и лечения Ниймеген синдрома и общего вариабельного иммунодефицита. Результаты проведенного исследования указывает на высокую потребность в улучшении знаний студентов-медиков о первичных иммунодефицитах с учетом низкого уровня диагностики этих заболеваний в Украине и необходимости повышения знаний и осведомленности о ПИД среди врачей всех специальностей.

რეზიუმე

სტუდენტ-მედიკოსების გაცნობიერებულობა პირველადი იმუნოდეფიციტების შესახებ

¹ო. ბოიარჩუკი, ¹ლ. ვოლიანსკაია, ¹ტ. კოსოვსკაია,
²ა. ლევანდოვიჩ-უშინსკაია, ¹მ. კინაშა

¹ტერნოპილის ი. გორბაჩევსკის სახ. სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა; ²ვროცლავის სამედიცინო უნივერსიტეტი, პოლონეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სამედიცინო უნივერსიტეტების კურსდამთავრებულთა გაცნობიერებულობის შეფასება პირველადი იმუნოდეფიციტების ნიშნების შესახებ ბავშვებსა და მოზრდილებში.

კვლევა ჩატარდა ტერნოპილის ი. გორბაჩევსკის სახ. სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტის მეექვსე (დამამთავრებელი) კურსის სტუდენტებს შორის. 25 შეკითხვის შემცველი ანკეტები დაურიგდა 271 სტუდენტს.

ჩატარებული კვლევით გამოვლინდა სტუდენტ-მედიკოსების არასაკმარისი გაცნობიერებულობა პირველადი იმუნოდეფიციტების შესახებ. ყველაზე დაბალი ცოდნა აღინიშნა პირველადი იმუნოდეფიციტების სავანგაშო ნიშნებთან მიმართებით ბავშვებსა და მოზრდილებში, განსაკუთრებით, იმ ნიშნებისა, რომელიც შეეხება ნიშნების სინდრომის და ზოგადი ვარიანტების

ლური იმუნოდეფიციტის დიაგნოსტიკას და მკურნალობას. ჩატარებული კვლევა მიუთითებს პირველადი იმუნოდეფიციტების შესახებ სტუდენტ-მედიკოსების ცოდნის ამდლების მნიშვნელოვან საჭიროებაზე, მათ

შორის, უკრაინაში ამ დაავადებათა დიაგნოსტიკის დაბალი დონის და პირველადი იმუნოდეფიციტების შესახებ ყველა სპეციალისტის ექიმის გაცნობიერებულობისა და ცოდნის ამდლების აუცილებლობის გათვალისწინებით.

PUBLIC ATTITUDES TOWARDS THE USE OF ANIMALS IN BIOMEDICAL RESEARCH IN GEORGIA

Melikishvili M., Mitskevich N., Pitskhelauri N., Lobzhanidze G., Chikhladze N.

I. Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia

Animal testing has a long history upon which many development and findings are based [1,2]. However, the modern biomedical research requires to provide proper care to laboratory animals and respect ethical aspects based on internationally approved ethical guidelines and regulatory norms [3,4]. In different societies there are different opinions about moral and ethical aspects of animal testing in biomedical research. Many studies have been conducted in different countries since 1980s to evaluate public perception and attitude towards the animal research [5-15]. In developed countries, ethical handling of animals for biomedical research is regulated by national guidelines and legal standards on protection of vertebrate animals testing for experimental purposes. In order to minimize the differences between the legislation and ethical regulations specifically across the European countries, EU Directive 2010/63/EU is used additionally. Moreover, in order to promote acceptance of alternative 3Rs approaches (replacement, reduction and refinement) in biomedical research the H2020 and FP7 reference document „Ethics Review Checklist on Research on Animals” has been elaborated by EC [16].

In EU Eastern Neighboring Countries, including Georgia, ethical aspects of animal usage for biomedical experiments have not been well emphasized. There are no ethical-legal regulations on animal use for biomedical research in Georgia neither on national nor on institutional level.

At the same time, public attitude concerning the animal testing for scientific research is unclear.

The aim of the study is to explore public attitudes towards the animal research in Georgia for the first time. The assumption is to explore how society is treating animals and what is their attitude towards animal testing.

Material and methods. In this survey quantitative and qualitative research method was used. A special questionnaire was developed and an individual interview method was utilized. Questionnaire consisted of 11 questions, among them 10 closed and 1 open question.

Closed questions examined what kind of attitude did the respondents have had towards the animal testing and additionally open questions gave possibility to specify why did they have this or that attitude.

Questionnaire also included questions about personal characteristics that might theoretically influence their answers and underlie these attitudes (age, gender, place of residence, education, occupation, experience of owning a pet/animal). The survey was conducted in capital (Tbilisi) and in 4 randomly selected regions in Georgia in summer 2016. It was used Random approach to the citizens in the streets of 5 cities.

Additionally, 210 representatives of Academia, academic personnel and students from TSU the biggest state University

in Georgia were interviewed (30 randomly selected academic personnel and 30 randomly selected students from seven different Faculties). The exclusion criterion was the respondents' age - less than 17 years. Totally 750 interviews were conducted and 715 questionnaires were used for analysis (response rate 72,8%).

Before the start of each interview, respondents were informed about the voluntary participation and anonymity of the survey. Codified questionnaires were included in the database and then analyzed using SPSS 27 software. The technique of cross-tabulation was used for the bivariate analysis.

Results and their discussion. The larger percentage of the respondents was female (69.0%), with higher education (54.0%), living in urban areas (68,0%), with experience of owning a pet/animal, employed in non-academic field, 43,0% of the respondents were in the age interval of 26-50. For most respondents (98.0% of respondents) it was known that animals were used in experimental studies, and their main part is lab-farmed (72.0% of respondents). 68.0% of respondents fully or partly agree to the concept that animal testing is essential, while 66,0% and 74,0% fully and partly agree to the concept that animal testing is recommended correspondingly in basic (e.g. research in anatomy and physiology) and applied (e.g. Studying diseases and their causes, testing medications) research.

For 72,0% of respondents it is acceptable if a couple of animals die for saving lots of human lives, and 57,0% of respondents partly or fully disagree with concept that human beings have no right to perform animal research despite the potential benefits for the society. 84,0% of respondents partly or fully agree with the concept, that future generations will use the knowledge obtained through biomedical research conducted on animals.

Most of the respondents didn't have an information about International norms or alternative 3R approaches in this field, and after had been informed about that during the interview process, 82,0% fully or partly agreed with the concepts, that Involving animals in experiments which comply to the principles of international norms and regulations (reduction of the number of animals, improving the experiment / lowering pain for animals, and using alternative methods) is acceptable, and 77,0% of respondents partly or fully agree with the concept that in case of the Ethics Committee approval, the use of animals in experiments is acceptable.

With open questions, it was possible to obtain scarce information. However, it should be noted here, that respondents who agreed to the use of animals in biomedical research have brought some arguments to strengthen their position. For example, “if research will bring real and useful results to scientific field”; “if the research serves the purpose of creation of a new drug necessary for disease treatment”; And the respondents who disagreed with the use of animals in biomedical research, do not give any

arguments in favor of their position. For example, they just replied: "I do not agree" or „In any case “.

Age. Data received from bivariate analysis showed statistically significant difference between respondents of different ages in their attitude to ethical aspects of animal use in biomedical studies. Involvement of animals in biomedical studies is acceptable for most of the respondents in all age groups. However, number of those who agree to the involvement of animals in biomedical studies, increases with age: in 17-25 age group 57.8%, in 26-50 age group 69.4%, and more than 51 age group 79.6%. Pearson Chi-Square = 32.479, df = 8, $p < 0.05$ ($p = 0.000$).

The use of animals in basic research (e.g. research in anatomy and physiology) is also acceptable for the majority of respondents in all age groups. However, number of those who agree to the use of animals in basic research, increases with age: in 17-25 age group 56.6%, in 26-50 age group 68.2%, and more than 51 age group 76.2%. Pearson Chi-Square = 23.141, df=8, $p < 0.05$ ($p = 0.003$).

The use of animals in applied research (e.g. studying diseases and their causes, testing medications) in comparison with basic research is acceptable for approximately 10% more respondents in all age groups: in 17-25 age group 65.2%, in 26-50 age group 76.5%, and more than 51 age group 83.7%. Pearson Chi-Square = 20.010, df = 8, $p < 0.05$ ($p = 0.007$).

The statement, that future generations will use the knowledge obtained through biomedical research conducted on animals, is acceptable for 79.1% of respondents in 17-25 age group, for 85.0% in 26-50 age group, and 87.8% in more than 51 age group. Pearson Chi-Square = 16.320, df=8, $p < 0.05$ ($p = 0.038$).

Involving animals in experiments which comply to the principles of international norms and regulations (reduction of the number of animals, improving the experiment / lowering pain for animals, and using alternative methods) is acceptable for 77.2% of respondents in 17-25 age group, for 84.6% in 26-50 age group, and for 86.4% in more than 51 age group. Pearson Chi-Square = 30.553, df=8, $p < 0.05$ ($p = 0.000$).

In case of the Ethics Committee approval, the use of animals in experiments is acceptable for 67.8% of respondents in 17-25 age group, for 80.3% in 26-50 age group and for 85.0% in more than 51 age group. Pearson Chi-Square = 31.630, df=8, $p < 0.05$ ($p = 0.000$).

Education. Data analysis has shown statistically significant difference between respondents with different level of education (secondary, professional, higher, scientific degree) in their attitude towards the ethical aspects of animal use in biomedical studies.

Most of the respondents with various levels of education (secondary, professional, higher, scientific degree) agree with the necessity of animal use in biomedical studies. However, the increase in the level of education increases the number of respondents who agree with this concept: 50.5% of respondents with secondary education; 61.8% of respondents with professional education; 68.5% of respondents with higher education; 73.9% of respondents with scientific degree. Pearson Chi-Square = 27.850 df = 12, $p < 0.05$ ($p = 0.006$).

The use of animals in basic research is also acceptable for the majority of the respondents (with secondary, professional, higher, scientific degree). However, the increase in the level of education increases the number of respondents who agree with this concept: 52.0% of respondents with secondary education, 56.7% of respondents with professional education; 66.5% of respondents with higher education; 71.8% of respondents with scientific degree. Statistically significant difference is: Pearson Chi-Square = 30.233 df=12, $p < 0.05$ ($p = 0.003$).

Similar trend has been observed for the use of animals in applied research, which is acceptable for 58.6% of respondents

with secondary education, 70.2% of respondents with professional education, 74.9% of respondents with higher education, 79.8% of respondents with scientific degree; Statistically significant difference is: Pearson Chi-Square = 26.201 df=12, $p < 0.05$ ($p = 0.010$).

Involving animals in experiments with respect to the principles of international norms and regulations is acceptable for 70.7% of respondents with secondary education, for 69.4% of respondents with professional education, for 83% of respondents with higher education and for 89.4% of respondents with scientific degree. Statistically significant difference has been observed: Pearson Chi-Square = 42.045 df=12, $p < 0.05$ ($p = 0.000$).

In case of the Ethics Committee approval, the use of animals in experiments is acceptable for 58.6% of respondents with secondary education, 69.4% of respondents with professional education; 77.9% of respondents with higher education; 84.5% of respondents with scientific degree. The statistically significant difference was observed: Pearson Chi-Square = 45.452 df=12, $p < 0.05$ ($p = 0.000$).

Occupation. Data analysis has shown statistically significant difference between the respondents with different occupations (academic field, non-academic field) and students cohort concerning some topics of the questionnaire. The necessity of involvement of animals in biomedical studies is acceptable for respondents in academic and non-academic fields - 74.8% and 60.6% respectively, and for 63.8% of student respondents. Pearson Chi-Square = 37.767 df = 16, $p < 0.05$ ($p = 0.002$).

Similar tendency was seen concerning the use of animals in basic research, which is acceptable for the majority of respondents in academic and in non-academic fields - 71.8% and 57.0% respectively, and for 64.6% of student respondents. Pearson Chi-Square = 29.527 df = 16, $p < 0.05$ ($p = 0.021$).

Use of animals in applied research (e.g. studying diseases and their causes, testing medications) is acceptable for the majority of respondents in all groups: 80.2% in academic field, 67.2% in non-academic field and 69.5% in student group. Pearson Chi-Square = 26.434 df=16, $p < 0.05$ ($p = 0.048$).

If the issue is related to the sacrifice of the lives of several animals to save the lives of a large number of people, then the attitude of the respondents in the academic field does not change significantly (76.1% of respondents agree) while it increases up to 72% in non-academic field. In a student group, 63.4% of the respondents agree to the statement above. Pearson Chi-Square = 26.970 df=16, $p < 0.05$ ($p = 0.042$).

The statement, that future generations will use the knowledge obtained through biomedical research conducted on animals, is acceptable for 85.2% of student respondents, 87.7% of academic field respondents and 75.9% for the rest of the respondents. Pearson Chi-Square=25.909 df=16, $p > 0.05$ ($p = 0.055$).

Involving animals in experiments with respect to the principles of international norms and regulations is acceptable for 88.5% of respondents in academic field, for 73.6% of respondents in non-academic field and for 82.6% of students. Statistically significant difference has been observed: Pearson Chi-Square = 28.667 df = 16, $p < 0.05$ ($p = 0.026$).

In case of the Ethics Committee approval, the use of animals in experiments is acceptable for 85.4% of respondents employed in academic field, for 68.5% of respondents in non-academic field and for 73.3% of students. Pearson Chi-Square = 37.327 df=16, $p < 0.05$ ($p = 0.002$).

Different characteristics that influence public attitude towards animals testing in biomedical research are well identified in the literature [5-14]. We selected and included in the questionnaires the most influential factors.

The results of the study have demonstrated that the attitude of the study sample towards the animal testing in biomedical research is influenced by age, education and occupation. With increase of age and level of education, the number of respondents who agree with animal testing also increases.

Age related results of our study correspond with those in most of other similar studies [5,17-21], where age correlates with the moral acceptance of animal testing.

Some authors describe it as cohort effect, some others - attitudinal change with age. We agree with the later opinion, and apparently, the result is due to the experience and responsibilities of respondents which increases with age. 40-50 years and above is the period of life of social commitments. People of this age use knowledge, experience and skills not only to solve their problems but also to solve the problems of other people (family, community, and work). Consequently, they are more supportive of biomedical research on animals, as results of such studies can bring positive results to the public. In addition, the age-related risks are related to health problems, and therefore elderly people consider outcomes of biomedical research on animals significant, as they can address health problems of the older people.

Results related to education, similarly to other studies also demonstrate positive correlation of level of education with moral acceptance of animal testing.

Gender, living area and experience with owning a pet (animal) are factors, which have influence on public attitude. Some studies have shown that for respondents with rural place of residence and from least industrialized countries animal use is more acceptable, but for pet owners and female respondents - animal use is less acceptable [8,20,22-26]. Although, according our results there's no statistically significant difference between genders. Place of residence and experience owning the pet/animal doesn't have statistically significant influence on the public attitude either.

Conclusion. The results of our study highlight that animal testing in biomedical research is acceptable for more than a half of the respondents involved in the study. The same time, most of them consider animal testing in applied research more appropriate, with immediate benefit to humanity (drugs, treatment methods) or next generations. Most of the respondents consider use of International regulations highly important.

REFERENCES

1. Horton-Szar, Dan and Johnston, Carolyn. Medical Ethics and Sociology. //Elsevier, UK, 2013.
2. Simon, Festing and Robin, Wilkinson. The ethics of animal research: Talking Point on the use of animals in scientific research. // Embo Report. 2007: Vol 8, Number 6:526-530.
3. Jann, Hau and Steven J. Schapiro. Handbook of Laboratory Animal Science. //CRC Press, Second Edition, 2003.
4. Talbot, Marianne. Bioethics an introduction. // Cambridge University Press, 2012.
5. Kellert S.R, Berry J.K. Knowledge, Affection and Basic Attitudes toward Animals in American Society. // National Technical Information Services; Springfield, VA, USA. 1981:81-173106.
6. Gallup G.G, Beckstead J.W. Attitudes towards animal research. // Am. Psychol. 1988, 43:474-476.
7. Ormandy E.H, Schuppli C.A, Weary D.M. Factors affecting people's acceptance of the use of zebrafish and mice in research. // Altern Lab Anim. 2012 Dec; 40(6):321-33.
8. Sarah Knight, Louis Barnett. Justifying attitude toward Animal Use: A Qualitative Study of People's Views and Beliefs. // Anthrozoös. 2008: Vol 21; Issue 1:31-42.
9. Fabienne crettaz von Roten FC. Public perceptions of animal experimentation across Europe. // Public Underst Sci. 2013 Aug; 22(6):691-703.
10. Driscoll J.W. Attitudes towards animal use. // Anthrozoös. 5. 1992:32-39.
11. Sarah Knight, Aldert Vrij, Julie Cherryman & Karl Nunkoosing. Attitudes towards animal use and belief in animal mind. // Anthrozoös, 2015, 17:1, 43-62.
12. Fabienne Crettaz von Roten. Public perceptions of animal experimentation across Europe. // J. of Public Understanding of Science. 2013, Volume 22 issue 6: 691-703.
13. Serpell, J Factors influencing human attitudes to animals and their welfare. // Animal Welfare 2004: N13:145-151.
14. Pifer, L, Shimizu, K, Pifer, R. Public attitudes toward animal research: Some international comparisons. // Society & Animals, 1994: 2(2): 95-113.
15. N. Taylor & T.D. Signal Empathy and attitudes to animals. // Anthrozoös. 2015: 18:1, 18-27.
16. Rowena Rodrigues. Principles and approaches in ethics assessment The use of animals in research. // EC, 2015. <http://satoriproject.eu/media/1.f-The-use-of-animals-in-research.pdf> (accessed on 20 September 2017).
17. Hagelin, J.; Carlsson, H.-E.; Hau, J. An overview of surveys on how people view animal experimentation: Some factors that may influence the outcome. Public Underst. Sci. 2003, 12: 67-81.
18. Ormandy, E.H.; Schuppli, C.A.; Weary, D.M. Public attitudes toward the use of animals in research: Effects of invasiveness, genetic modification and regulation. // Anthrozoös 2013, 26:165-184.
19. Driscoll, J.W. Attitudes towards animal use. // Anthrozoös. 1992, 5: 32-39.
20. Furnham, A.; Pinder, A. Young people's attitudes to experimentation on animals. // The Psychologist 1990, October: 444-448.
21. Medical Research Council. Animals in Medicine and Science. // Medical Research Council: London, UK, 1999.
22. Janis Wiley Driscoll. Attitudes Toward Animal Use. // Anthrozoös, 2015: 5:1, 32-39.
23. Adrian Furnham, Chris McManus & David Scott. Personality, empathy and attitudes to animal welfare. // Anthrozoös, 2015: 16:2, 135-146.
24. Harold A. Herzog. Gender Differences in Human-Animal Interactions: A Review. // Anthrozoös, 2015: 20:1, 7-21.
25. Swami, V.; Furnham, A.; Christopher, A. Free the animals? Investigating attitudes toward animal testing in Britain and the United States. // Scand. J. Psychol. 2008, 49: 269-276.
26. Crettaz von Roten, F. Public perceptions of animal experimentation across Europe. // Public Underst. Sci. 2013, 22: 691-703.

SUMMARY

PUBLIC ATTITUDES TOWARDS THE USE OF ANIMALS IN BIOMEDICAL RESEARCH IN GEORGIA

Melikishvili M., Mitskevich N., Pitskhelauri N., Lobzhanidze G., Chikhladze N.

I. Javakhishvili Tbilisi State University, Georgia

In different societies there are different opinions about moral and ethical aspects of animal testing in biomedical research. Many studies have been conducted worldwide since 1980s to evaluate public perception and attitude towards the animal re-

search. In EU Eastern Neighboring Countries, including Georgia, ethical aspects of animal usage for biomedical experiments have not been well emphasized. There are no ethical-legal regulations on animal use for biomedical research in Georgia neither on national nor on institutional level. At the same time, public attitude concerning the animal testing for scientific research is unclear. The aim of the study has been to explore public attitudes towards the animal research for the first time in Georgia.

In this survey quantitative and qualitative research methods had been used. A special questionnaire was developed and an individual interview method was utilized. Totally 750 interviews were conducted and 715 questionnaires were used for analysis. Codified questionnaires were included in the database and then analyzed with SPSS 27 software. The technique of cross-tabulation was used for the bivariate analysis.

For most respondents (68.0%) animal use in Biomedical research is acceptable. 82.0% of respondents fully or partly agreed with the concept, that involvement of animals in experiments which comply to the principles of international norms and regulations (reduction of the number of animals, improving the experiment/lowering pain for animals, and using alternative methods) is acceptable. The results of the study have demonstrated that the attitude of the study sample towards the animal testing in biomedical research is influenced by age (Pearson Chi-Square=32.479, df=8, $p<0.05$; $p=0.000$), education (Pearson Chi-Square=27.850 df=12, $p<0.05$; $p=0.006$) and occupation (Pearson Chi-Square = 37.767 df=16, $p<0.05$; $p=0.002$). Gender, place of residence and experience with owning the pet/animal doesn't have statistically significant influence on the public attitude.

The results of our study highlight that animal testing in biomedical research is acceptable for the respondents involved in the study. However, most of the respondent's consider use of International regulations highly important.

Keywords: animal testing, public attitude, animal research, ethics committee, ethical standards.

РЕЗЮМЕ

ОТНОШЕНИЕ ОБЩЕСТВЕННОСТИ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ЖИВОТНЫХ В БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ В ГРУЗИИ

Меликишвили М.Н., Мицкевич Н.Г., Пицхелаури Н.В., Лобжанидзе Г.В., Чихладзе Н.Н.

Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, Грузия

О моральных и этических аспектах использования животных в биомедицинских исследованиях существуют различные мнения. С 1980 гг. проведено множество исследований с целью оценки общественного отношения к опытам на животных. В восточных соседних странах ЕС, включая Грузию, этические аспекты использования животных для биомедицинских экспериментов не разработаны. Не существует этико-правовых норм использования животных для биомедицинских исследований в Грузии, ни на национальном, ни на институциональном уровнях. Общественное отношение к опытам на животных для научных исследований не изучено.

Целью исследования явилось определить отношение общества к опытам на животных в Грузии.

В исследовании использованы количественные и качественные методы исследования. Разработан специальный вопросник и использован индивидуальный метод собеседования. Проведено 750 интервью, для анализа использовано 715 вопросников. Кодированные вопросники были включены в базу данных, а затем проанализированы с помощью программного обеспечения SPSS v.27. Для двумерного анализа применена методика кросс-табуляции.

Большинство респондентов (68,0%) опыты на животных в биомедицинских исследованиях считают приемлемыми. 82,0% респондентов полностью или частично согласились с понятием "вовлечение животных в эксперименты, которые соответствуют принципам международных норм и правил (сокращение количества животных, улучшение эксперимента/снижение боли для животных и использование альтернативных методов)". Результаты исследования продемонстрировали, что отношение к опытам на животных в биомедицинских исследованиях зависит от возраста респондентов (Pearson Chi-Square = 32,479, df=8, $p<0,05$, $p=0,000$), образования (Pearson Chi -Square=27,850 df=12, $p<0,05$, $p=0,006$) и рода занятий - профессии (Pearson Chi-Square = 37,767 df=16, $p<0,05$, $p=0,002$). Пол, место жительства и опыт владения домашним животным не оказывают статистически значимого влияния на общественное отношение.

Результаты исследования показали, что проведение опытов на животных в биомедицинских исследованиях для большинства респондентов приемлемо, однако, большая часть респондентов считает, что использование международных правил об использовании животных в эксперименте необходимо.

რეზიუმე

ბიოსამედიცინო კვლევებში ცხოველების გამოყენების მიმართ საზოგადოების დამოკიდებულება საქართველოში

მ. მელიქიშვილი, ნ. მიცკევიჩი, ნ. ფიცხელაური, გ. ლობჯანიძე, ნ. ჩიხლაძე

ი. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო

სხვადასხვა საზოგადოებებში არსებობს სხვადასხვა მოსაზრება ბიოლოგიურ კვლევებში ცხოველთა გამოყენების მორალური და ეთიკური ასპექტების შესახებ. 1980 წლიდან მსოფლიოს მასშტაბით მრავალი კვლევა ჩატარდა ცხოველების კვლევებში გამოყენების მიმართ საზოგადოების აქტის და დამოკიდებულების შეფასების მიზნით. ევროკავშირის აღმოსავლეთ მეზობელ ქვეყნებში, მათ შორის საქართველოში, ბიოსამედიცინო კვლევებში ცხოველების გამოყენების ეთიკური ასპექტები საკმარისად არ არის საზგანმშედი, არ არის ჩამოყალიბებული ბიოსამედიცინო კვლევებში ცხოველების გამოყენების ეთიკური ნორმები არც ეროვნულ და არც ინსტიტუციონალურ დონეზე. ამავდროს, უცნობია საზოგადოების დამოკიდებულება ბიოსამედიცინო კვლევებში ცხოველების გამოყენების მიმართ. კვლევის მიზანი იყო პირველად საქართველოში შესწავლილიყო საზოგადოების დამოკიდებულება ბიოსამედიცინო კვლევებში ცხოველების გამოყენების მიმართ.

ამ კვლევაში გამოყენებულია რაოდენობრივი და თვისობრივი კვლევითი მეთოდები. შეიქმნა სპეციალ-

ური კითხვარი და გამოყენებულ იქნა ინდივიდუალური ინტერვიუს მეთოდი. სულ ჩატარდა 750 ინტერვიუ და 715 კითხვარი გამოყენებულ იქნა ანალიზისთვის. მონაცემთა ბაზაში შეტანილი კოდირებული კითხვარი გაანალიზებულ იქნა SPSS 27 პროგრამით. ბივარიაციული ანალიზისთვის გამოყენებულია კროს-ტაბულაციის ტექნიკა.

რესპონდენტთა უმეტესობისთვის (68.0%) ცხოველთა გამოყენება ბიოსამედიცინო კვლევებში მისაღებია. გამოკითხულთა 82.0% სრულადან ნაწილობრივ ეთანხმება კონცეფციას, რომ ექსპერიმენტებში ცხოველების ჩართვა მისაღებია, თუ კვლევა შეესაბამება საერთაშორისო ნორმებსა და რეგულაციის პრინციპებს (ცხოველთა რიცხოვნობის შემცირება, ექსპერიმენტის გაუმჯობესება/ცხოველების ტკივილის შემცირება და ალტერნატიული მეთოდების გამოყენება).

კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ ბიოსამედიცინო კვლევებში ცხოველთა გამოყენების მიმართ დამოკიდებულებაზე გავლენას ახდენს მკვლევარების ასაკი (Pearson Chi-Square = 32.479, df=8, p<0.05; p=0.000), განათლება (Pearson Chi-Square=27.850 df=12, p<0.05; p=0.006) და საქმიანობა (Pearson Chi-Square = 37.767 df=16, p<0.05; p=0.002). სქესი, საცხოვრებელი ადგილი და ცხოველების ყოლის გამოცდილება არ ახდენს სტატისტიკურად მნიშვნელოვან გავლენას საზოგადოებრივ დამოკიდებულებაზე.

კვლევის შედეგები ხაზს უსვამს იმ გარემოებას, ბიოსამედიცინო კვლევებში ცხოველთა გამოყენება მისაღებია კვლევაში მონაწილე რესპონდენტებისთვის. თუმცა, რესპონდენტების უმრავლესობა მიიჩნევს, რომ საერთაშორისო რეგულაციების გამოყენება ძალიან აუცილებელია.

* * *