

GEORGIAN MEDICAL NEWS

ISSN 1512-0112

№ 11 (296) Ноябрь 2019

ТБИЛИСИ - NEW YORK



ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Медицинские новости Грузии
საქართველოს სამედიცინო სიახლენი

GEORGIAN MEDICAL NEWS

No 11 (296) 2019

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

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Нино Микаберидзе

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Николай Пирцхалаишвили

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Зураб Вадачкориа - председатель Научно-редакционного совета

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

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Константин Кипиани - 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 Гогебашвили, Николай Гонгадзе, Лия Дваладзе, Манана Жвания, Ирина Квачадзе,
Нана Квирквелия, Зураб Кеванишвили, Гурам Кикнадзе, Теймураз Лежава,
Нодар Ломидзе, Джанлуиджи Мелотти, Марина Мамаладзе, 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.

EDITOR IN CHIEF

Nino Mikaberidze

DEPUTY CHIEF EDITOR

Nicholas Pirtskhalaishvili

SCIENTIFIC EDITORIAL COUNCIL

Zurab Vadachkoria - Head of Editorial council

Michael Bakhmutsky (USA), Alexander Gënning (Germany),

Amiran Gamkrelidze (Georgia), David Elua (USA),

Konstantin Kipiani (Georgia), Giorgi Kamkamidze (Georgia), Paata Kurtanidze (Georgia),

Vakhtang Maskhulia (Georgia), Tamara Mikaberidze (Georgia), Tengiz Riznis (USA),

Revaz Sepiashvili (Georgia)

SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD

Konstantin Kipiani - 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, Otari Gerzmava, Elene Giorgadze,

Liana Gogiashvili, Nodar Gogebashvili, Nicholas Gongadze, Rudolf Hohenfellner,

Zurab Kevanishvili, Ramaz Khetsuriani, Guram Kiknadze, Irina Kvachadze, Nana Kvirkvelia,

Teymuraz Lezhava, Nodar Lomidze, Marina Mamaladze, 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

WEBSITE

www.geomednews.org

CONTACT ADDRESS IN NEW YORK

NINITEX INTERNATIONAL, INC.

3 PINE DRIVE SOUTH

ROSLYN, NY 11576 U.S.A.

Phone: +1 (917) 327-7732

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. Корректурa авторам не высылается, 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. რენტგენოგრამების 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:

Doskhanov M., Kausova G., Chormanov A., Vaimakhanov B., Askeev B. BILIARY COMPLICATIONS AFTER LIVER TRANSPLANTATION.....	7
Дабрундашвили З.Г., Бахтадзе Л.А., Бахтуридзе Д.Г., Дабрундашвили Н.Г. ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ В ПРЕ- И ПАРАТРАХЕАЛЬНЫЕ ЛИМФАТИЧЕСКИЕ УЗЛЫ ПРИ РАКЕ ГОРТАНИ С РАСПРОСТРАНЕНИЕМ НА ПОДСКЛАДОЧНЫЙ ОТДЕЛ.....	12
Фищенко Я.В., Рой И.В., Владимиров А.А., Кравчук Л.Д. ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФИЗИЧЕСКИХ УПРАЖНЕНИЙ В РЕАБИЛИТАЦИИ ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ ПРОЦЕДУРУ РАДИОЧАСТОТНОЙ НЕЙРОАБЛЯЦИИ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА	16
Бахтияров К.Р., Строгонова В.В. ВОЗМОЖНОСТИ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ В ДИАГНОСТИКЕ ЭНДОМЕТРИОЗА.....	22
Nazaryan R., Tkachenko M., Kovalenko N., Babai O., Karnaukh O., Gargin V. ANALYSIS OF LOCAL IMMUNITY INDICATORS OF THE ORAL CAVITY AND DEGREE OF GINGIVITIS DEPENDING ON MUTATION OF CFTR GENE IN CHILDREN WITH CYSTIC FIBROSIS	27
Nykytuk S., Klymnyuk S., Levenets S. LABORATORY DIAGNOSTICS OF LYME BORRELIOSIS IN CHILDREN WITH TICKS BITES IN TERNOPIIL REGION.....	32
Gumenyuk S., Hrubar I., Hrubar Y., Hrabuk N., Saprun S. PHYSICAL TRAINING IN REHABILITATION OF 10-13 YEARS OLD CHILDREN WITH FRACTURES OF BONES OF THE LOWER THIRD OF FOREARM	36
Головко Т.А., Шевченко Н.С., Богмат Л.Ф., Раковская Л.А., Евдокимова Т.В. АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПОДРОСТКОВ С НЕВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ МИОКАРДА С УЧЕТОМ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЕРДЦА	42
Куликова Е.А., Головко Н.А., Чумакова А.В., Панченко Т.Ю. ЛЕЧЕНИЕ СЕКРЕТОРНОГО СРЕДНЕГО ОТИТА У ДЕТЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ПРОЦЕССА И ФОНОВЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ	49
Масик О.И., Подолян В.Н., Масик Н.П. ПРИМЕНЕНИЕ КЛИЕНТ-ЦЕНТРИРОВАННОЙ ПСИХОТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПОДРОСТКОВ С ПСИХОСОМАТИЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ	55
Demchenko A., Horbachova S., Revenko A. ANTIOXIDATIVE EFFICACY OF NEUROPROTECTIVE THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC CEREBRAL ISCHEMIA.....	62
Ларина С.Н., Сахарова Т.В., Горожанина Е.С., Бурдаев Н.И., Чебышев Н.В. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ УСТОЙЧИВОСТИ К МАЛЯРИИ (ОБЗОР).....	66
Kononets O., Lichman L., Karaiev T. SOME CLINICAL, NEUROLOGICAL AND NEUROPSYCHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE	71
Горбунова О.Е., Чернышева Е.Н. НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА СИНДРОМ ЖИЛЬБЕРА (ОБЗОР)	75
Линник Н.И., Гуменюк Н.И., Калабуха И.А., Лискина И.В., Гуменюк Г.Л., Магетный Е.Н. ИНФОРМАТИВНОСТЬ КОМПЬЮТЕРНОЙ ДЕНСИТОМЕТРИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ АКТИВНОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА ПРИ ТУБЕРКУЛОМАХ ЛЕГКИХ.....	81
Karacaer C., Sunu C., Kalpakci Y., Varim C., Yaylaci S. CLINICAL CHARACTERISTICS OF BLOOD TRANSFUSION IN GERIATRIC PATIENTS	86

Brechka N., Bondarenko V., Morozenko D., Grushanska N., Sharandak P., Selukova N., Danylchenko S. THE STATE OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN PROSTATE GLAND OF RATS WITH CRYOTRAUMA AND ITS CORRECTION WITH DRUGS OF NATURAL ORIGIN.....	91
Lykhatskyi P., Fira L., Garlitska N., Fira D., Soroka Yu., Lisnychuk N., Delibashvili D. CHANGES OF CYTOLYSIS INDICATORS IN RATS' BLOOD RESULTED FROM SIMULTANEOUS INTOXICATION WITH TOBACCO SMOKE AND SODIUM NITRITE AFTER USING MILDRONATE.....	96
Bukia N., Jojua N., Butskhrikidze M., Machavariani L., Svanidze M. THE ACOUSTIC RANGE ELECTRIC-MAGNETIC FIELD EFFECT ON THE PASSIVE AVOIDANCE TASK IN DEPRESSED RATS.....	102
Fik V., Kovalyshyn O., Pal'tov Ye., Kryvko Yu. SUBMICROSCOPIC ORGANIZATION OF THE PERIODONTIUM WITH EXPERIMENTAL SIX-WEEK OPIOID ACTION AND MEDICINAL CORRECTION.....	107
Джохадзе Т.А., Буадзе Т.Ж., Гаюзишвили М.Н., Кириа Н.А., Худжадзе И.Г., Лежава Т.А. ЧАСТОТА ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ GSTT1 И GSTM1 ГЕНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ В ГРУЗИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ.....	111
Popov A., Ashukina N., Maltseva V., Gurin I., Ivanov G. HISTOMORPHOMETRIC EVALUATION OF BONE REPAIR AFTER CARBON/CARBON COMPOSITE IMPLANTATION IN LUMBAR VERTEBRAE IN RATS.....	117
Hryn V. INTERNAL STRUCTURE OF THE LYMPHOID NODULES OF THE PEYER'S PATCHES OF SMALL INTESTINE IN ALBINO RATS.....	122
Manjgaladze K., Tevdorashvili G., Muzashvili T., Gachechiladze M., Burkadze G. TLR9 EXPRESSION, LANGERHANS CELL DENSITY AND LYMPHOCYTIC INFILTRATION IN PROGRESSING CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA	126
Borzenko I., Konkov D., Kondratova I., Basilyashvili O., Gargin V. INFLUENCE OF ENDOTHELIOPATHY OF SPIRAL ARTERIES ON PLACENTAL ISCHEMIA.....	131
Pochynok K., Antonova O., Varehamian S., Tykhomyrova G., Severinova O. THE CHALLENGES OF LEGAL REGULATION OF PUBLIC PROCUREMENT OF MEDICINES AND MEDICAL PRODUCTS IN UKRAINE	135
Степанюк Н.Г. ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ КВЕРЦЕТИНА И ЕГО ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ КОРВИТИНА НА МОДЕЛИ ДИКЛОФЕНАК-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГАСТРОПАТИИ	140
Tamazashvili T. SYSTEMIC STEM CELLS EQUILIBRIUM THEORY – THE LAW OF LIFE.....	144
Досжан А.Д., Бектаева Р.Р., Иманбаева Н.Д., Галиева А.Ж., Курманкина А.Т. РОЛЬ ИНТЕРЛЕЙКИНА 8 / CXCL8 В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ И КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ (ОБЗОР).....	150
Теремецкий В.И., Чмелюк В.В., Мацюк В.Я., Галаган В.И., Удовенко Ж.В. ПРОБЛЕМА ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРАВА НА МЕДИЦИНСКУЮ ПОМОЩЬ ЗАДЕРЖАННОГО (СОДЕРЖАЩЕГОСЯ ПОД СТРАЖЕЙ) ЛИЦА В УГОЛОВНОМ ПРОЦЕССУАЛЬНОМ ЗАКОНОДАТЕЛЬСТВЕ: ОПЫТ УКРАИНЫ И ЗАРУБЕЖНЫХ СТРАН	154
Сарана С.В., Фаст А.А., Сидоренко В.В., Олейник О.А., Литвин Н.А. ОСОБЕННОСТИ НАЛОГООБЛОЖЕНИЯ ОПЕРАЦИЙ ПО ОКАЗАНИЮ УСЛУГ ПО ОХРАНЕ ЗДОРОВЬЯ В УКРАИНЕ	160
Чеховская И.В., Мичурин Е.А., Самсин И.Л., Избаш Е.С., Дундич Л.В. КОСМЕТОЛОГИЧЕСКИЕ УСЛУГИ: СРАВНИТЕЛЬНО-ПРАВОВОЙ АНАЛИЗ	165
Саникидзе Т.В., Шекиладзе Э.Р., Енукидзе М.Г., Мачавариани М.Г., Кипиани Нина В., Чхиквишвили И.Д. ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛИПОСОМАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ВИТАМИНА С И ВИТАМИНА Е НА НОРМАЛЬНЫЕ И ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ.....	170

BILIARY COMPLICATIONS AFTER LIVER TRANSPLANTATION

¹Doskhanov M., ¹Kausova G., ¹Chormanov A., ²Baimakhanov B., ¹Askeev B.

¹Syzganov's National Scientific Center of Surgery, Department of Hepatopancreatobiliary Surgery and Liver Transplantation;
²City Clinical Hospital №7, Department of HPB Surgery, Almaty, Kazakhstan

Biliary complications (BCs) are the Achilles' heel after liver transplantation [1], and are a problem both in the Republic of Kazakhstan and the rest of the world. Liver transplantation (LT) is used to treat end-stage liver disease. In developed countries, living donor liver transplantation (LDLT) is often performed to compensate for a shortage of deceased donors [2].

BCs, including bile leakage and biliary stricture—both in the recipient and the donor—represent the most frequent form of complication after LDLT; occur because of anatomical peculiarities or due to technical issues during the operation [3]. The incidence of BCs after deceased donor liver transplantation (DDLT) is 5-15%, while that after LDLT it is 24–60% [4-12]. Asian transplant centers have the greatest experience in LDLT; it accounts for 90% and 70% of the LT procedures performed in Japan and South Korea, respectively [13-15]. The aim of our research is to perform a retrospective analysis of all cases of BCs after LT in two transplant centers of Kazakhstan.

Material and methods. In the period from December 2011 and December 2019, 106 adult patients underwent LT at Syzganov's National Scientific Center of Surgery and City Clinical Hospital №7, Almaty, Kazakhstan. Eighty-nine (84%) patients underwent living donor liver transplantation (LDLT) from an adult donor, while 17 (16%) patients underwent deceased donor liver transplantation. The graft types were as follows: whole liver (n=17; 16%), right lobe (n=82; 77.3%), left lobe (n=6; 5.6%), and right posterior section (n=1; 0.9%).

The indications for LT were liver cirrhosis due to: hepatitis C virus (HCV) (n=11), hepatitis B virus (HBV) (n=17), HBV+HDV (n=47), primary biliary cirrhosis (PBC) (n=21), autoimmune hepatitis (n=5), cryptogenic liver cirrhosis (n=4), and an alimentary and toxic origin (n=1).

The examination of living donors. Before surgery all 89 (80%) living donors underwent magnetic resonance cholangiography (MRC) to determine the biliary tract anatomy. The presence of more than two biliary tracts in a planned part of the liver graft was a contraindication for donation. During the examination of the donors, we performed MRC to select potential donors according to types of biliary tracts using the classification of Couinaud (1957). According to the classification of Couinaud, the types of biliary tracts were as follows: A (n=57), B (n=9), and C (n=11). This selection decreases the risk of BCs in both the donor and recipient.

Donor surgery and intraoperative cholangiography (IOC). With regard to peculiarities in the donor stage of the operation, obtaining a healthy vascularized biliary tract is important for accurately separating the biliary tracts, the minimal dissection of the layer is important for preventing the devascularization of the lobar biliary tract, and the perpendicular crossing of the biliary tract for the prevention ischemia at the lateral edge of the biliary tract.

We performed IOC three times in donors. IOC was first performed just after cholecystectomy in order to compare the re-

sults of preoperative MRC and to detect additional biliary tracts (it is not always possible to visualize small biliary tracts on MRC) and to determine the lines for the transection of the liver in relation to the biliary tracts and to maximize the preservation of the blood supply of the biliary tracts.

IOC was performed a second time, after the separation of the liver parenchyma in order to determine the lines for the transection of the biliary tracts, to determine the optimal length of the biliary tract for the graft, and to ensure that the length of the stump of the biliary tract of the remaining liver is sufficient to achieve confluence.

IOC was performed a third time after the transection of the biliary tracts in order to determine the condition of the biliary tracts of the remaining liver, the points were assessed: leak-proofness, narrowing, passability, and the leakage of bile on the resected liver edge.

Ductoplasty. In cases involving multiple bile ducts, ductoplasty was performed as a backtable procedure. We usually perform ductoplasty if the distance between two ducts is not more than 3 mm. Ducts were connected into one orifice by sutures using 6-0 polydioxanone suture thread (PDS II, Johnson & Johnson international, Belgium). Ductoplasty was performed in 7 cases.

Recipient surgery and the implantation of the liver fragment.

Principles: The length of the biliary tree should be sufficient for the free extension of anastomosis, blood flow and the pericommun bile duct connective tissue should be preserved, and the extent of dissection between the biliary tract and hepatic artery should be minimized.

The peculiarities associated with the harvesting of biliary tracts include separation of the left branch of the portal vein and the left hepatic artery with part of the parenchyma, the crossing of the left lobar duct at the level of the Rex line and at the level of the segmental ducts, the crossing of the right lobar duct maximum to the liver, chiliary part is crossed with the particular seizure of the liver parenchyma.

After the implantation of the right lobe of the liver, hepatic vein anastomosis and portal vein anastomosis, arterial anastomosis is performed. Depending on the quantity of biliary tracts in a graft. Duct-to-duct (DD) anastomosis is performed at the level of the blood consumption of the biliary ducts at 0.5 - 1.0 cm from the mucous membrane to prevent ischemia of the distal segments of the biliary ducts. If there is a biliary tract of a graft, then the lumen the left and right lobar biliary ducts from the recipient is connected in the form of 'telescope' (sometimes cystic ducts were connected with left lobar ducts). Sutures for anastomosis are applied on the side of the mucous membrane of the recipient's biliary tract, deviating from the distal edge by 0.5-1.0 cm.

Biliary splint draining of the biliary tracts was performed, if a patient had a Model for End-Stage Liver Disease (MELD) score of >20, or a biliary tract size of <5.0 mm. For a tube splint, we used a chloride vinyl tube of 2-mm in diameter, which was originally used for retrograde transhepatic biliary drainage. The

biliary splint was established after ending the sutures along the posterior wall of DD anastomosis; the distal end of the drainage was carried out to the segmental tracts, while the proximal end was withdrawn through a common bile duct incision below the biliary tract or through a cystic duct; the anterior wall of DD anastomosis was then formed. After the formation of DD anastomosis, control IOC is mandatory to exclude bile leakage from the resected edge of the graft and from the anastomotic site, and to determine the condition of anastomosis (to exclude narrowing or bending). Interrupted sutures with PDS II 6-0 and 7-0 were used for bile duct anastomosis. After a biochemical analysis revealed the normalization of the liver enzyme levels (total bilirubin, ALT, AST) at 14–28 days after the operation, the biliary splint was closed until 3 months. The biliary splint was removed after control MRC and fistulography at 3-6 months after the operation.

Results and their discussion. DD anastomosis was performed in 102 cases, the types of which were as follows single duct-to-duct anastomosis (n=95; 93.1%), double duct-to-duct anastomosis (n=5; 4.9%), combined-type anastomosis (duct-to-duct anastomosis and roux-en-Y hepaticojejunostomy (RYHJ); n=2; 1.9%). RYHJ was performed in 3 cases. A biliary splint was used in 37 (36.2%) cases; biliary splints were not used in 40 (39.2%) cases. Table presents the characteristics of the recipients, including age, sex, BMI, MELD score, Child–Pugh score, and standard liver volume (SLV).

In preoperative MRC, the following types of biliary tracts were detected in the donors: type A (n=57; 53.7%), type B (n=9, 8.4%), and type C (n=11, 10.3%). In 5 cases additional biliary tracts were detected at the intraoperative stage. IOC before liver transection revealed additional biliary tracts in 5 donors that were not found on preoperative MRC. In 1 case an additional biliary tract of the right liver lobe in the donor was detected on IOC after transection of the liver parenchyma.

During the postoperative period 26 (24.5%) patients developed BCs. The BCs included bile leakage (n=9; 34.6%) and biliary stricture (n=25; 96.1%). Nine (34.6%) patients developed biliary stricture after bile leakage, and one patient died in the postoperative period with a background of cholangitis, cholangiogenic abscess and sepsis.

Single DD anastomosis was performed in 95 (93.1%) cases; 17 (17.8%) of these patients developed BCs. Double DD anastomosis was performed in 5 (4.9%) cases; 3 (60%) of these patients developed BCs. The 2 (1.9%) patients who underwent RYHJ alone did not develop BCs, while one of the 2 (50%) patients who underwent combined biliary reconstruction (DD + RYHJ) developed a BC in the form of stenosis of the RYHJ.

In the RYHJ group, the absence of BCs was influenced by the early death of one of the two patients.

The analysis of the BCs according to the types of biliary tracts revealed the following findings: type A biliary tracts were de-

tected in 57 (53.7%) patients, 13 (22.8%) of whom developed BCs (bile leakage [n=2], stricture [n=13]). Type B biliary tracts were detected in 9 (8.4%) patients, 5 (55.5%) patients of whom developed BCs (bile leakage [n=2], stricture [n=4]). Type C biliary tracts were detected in 11 (10.3%) patients, 8 (72.7%) of whom developed BCs (bile leakage [n=4], stricture [n=8]).

The cases of biliary stricture were divided into early and late complications according to the time of occurrence (≤ 3 months and > 3 months after surgery, respectively). From 25 recipients with biliary stricture, 10 (40%) patients developed early stricture of DD anastomosis, while 14 (56%) developed late stricture. BCs were detected in 12 (33.4%) of 37 cases in which biliary splints were used (bile leakage [n= 3; 8.1%]; stricture [n=11; 29.7%]). Late biliary stricture occurred in 6 patients. There were 5 cases of early biliary stricture among the cases in which biliary splints were used.

BCs were detected in 14 (42.5%) of the 40 cases in which biliary splints were not used (bile leakage [n=6, 15%]; stricture [n=14; 35%]). Early stricture was found in 5 (12.5%) cases whereas late stricture was detected in 9 cases. One patient developed arterial thrombosis after LT, and developed a BC 1.5 years later. Liver retransplantation (associated with BCs) was performed for 1 recipient.

Treatment. The correction of BCs depends on the type (bile leakage, biloma, or stricture). Three basic methods are performed for the correction of BCs after LT: percutaneous minimally invasive methods, endoscopic methods, and open surgery.

In the treatment of the bile leakage, percutaneous minimally invasive methods were used for the treatment of biloma in 4 patients, open surgery was used for the treatment of biliary peritonitis in 1 patients, and dynamic monitoring was used for 1 patient with an incomplete external biliary fistula, the biliary fistula closed spontaneously after 2 weeks; however, biliary stricture occurred at 1.5 years after surgery.

In all cases in which stricture-associated BCs were detected, minimally invasive methods of correction were initially attempted. Twenty-two patients with biliary stricture underwent endoscopic retrograde cholangiography (ERCP) with endobiliary stenting; this proved effective in 17 (77.2%) cases. One patient underwent percutaneous transhepatic biliary drainage (PTBD) with antegrade stenting. Two patients underwent the ‘rendezvous’ (PTBD + ERCP) method.

When minimally invasive methods were ineffective, we performed open surgical correction that consisted of disjoining the site of DD anastomosis and the formation of RYHJ in 4 patients; this was completed successfully in 3 cases. One patient developed a recurrent scarring in RYHJ. One recipient with BCs successfully underwent DDLT after initially undergoing LDLT.

LT is the only method for treating end-stage liver disease and its complications. LDLT is often performed in countries with a shortage of deceased donors. Right lobe LDLT is performed more frequently than left lobe LDLT, as it allows the solution of

Table. Recipients' characteristics

Recipients	LDLT in adults (n=102)
Age	36.2 (0.5-60)
Sex m/f	25/42
BMI (kg/m ²)	21.7 (16.2-30.8)
MELD	16.7 (8-32)
Child Pugh	10.0 (8-15)
SLV (ml)	1132 (961-1386)

problems such as small graft syndrome (small for size). Nevertheless, BCs occur in up to 50% of procedures involving right lobe grafts [7-11,16].

The significance of the screening donors for contraindications at the stage of examination is important living donor transplantation. In particular, preoperative MRC can help to predict and enable prophylaxis against BCs [17]. However, data from studies from Asan Medical Center (2015), one of the great world transplantation centers and Queen Mary Hospital in Hong Kong, on the contraindications for living donor transplantation did not establish criteria for cases involving complex biliary tract anatomy [18-20]. Variations in the biliary anatomy and surgical methods are widely recognized as risk factors for the development of BCs after LT [21-23]. Cases involving types B and C - which were detected in 16 patients—were most likely to develop BCs. In our study population, 8 of the 16 (50%) patients involving patients with type B and C anatomy developed BCs after LDLT.

IOC is routinely used throughout the world to evaluate donors before and after the resection of the liver parenchyma, in order to determine the condition of the biliary tracts and the line of transection [24]. Indeed, IOC in liver donors is advantageous for prophylaxis against BCs in both the recipient and donor. The method gives a detailed picture of the anatomical peculiarities of the biliary tracts in the donor and improves safety [25-29]. IOC is supplemented by MRC and plays an important role in the verification and detection of additional biliary tracts, which are also needed for reconstruction [29].

In our study, IOC detected additional biliary tracts in 5 (4.7%) donors; 5 (4.7%) were detected before liver transection, while 1 (1.5%) was detected after liver transection. In cases in which the graft contained multiple biliary tracts that were localized close to each other, ductoplasty was performed to combine the tracts as a back table procedure; the joined biliary tract was then connected to the biliary tract of the recipient [1]. With regard to the numbers of biliary tracts within the graft, one tract was found in 49% of the grafts, two were found in 44%, and three were found in 7%. Bile leakage and ductoplasty were risk factors for BCs [31]. BCs were found in 28.4% cases involving anastomosis of one biliary tract, and in 34.8% of cases involving with anastomosis of 2 biliary tracts [32]. Our analysis revealed that 17.3% of the patients with an ordinary biliary tract developed BCs, while 50% of the patients in whom the graft contained 2 or more biliary tracts developed BCs. Ductoplasty was performed in 4 cases; BCs developed in 3 (75%) of these cases.

The issue about whether to use a biliary splint after DD anastomosis is controversial, some studies have shown evidence of a decreased rate of biliary tract complications. The properties of the biliary splint are also reported to cause a foreign body reaction and fibrosis [10,33-34]. In transplantation centers that use biliary splints, the incidence of BCs is lower, and early stricture is rarely found [24]. Biliary splinting provides an easy approach to the biliary tree, decreases the pressure on the biliary system, helps in the monitoring of quality and bile production, and reduces the rate of anatomical stricture [32,35]. Our results show that biliary splinting in DD anastomosis during LT significantly reduced the risk of bile leakage from 27.8% to 14.9% and early biliary stricture from 29.4% to 0% in the postoperative period.

Although the incidence of BCs is being reduced year by year, they still occur. However, many patients can be effectively treated using minimally invasive methods, which reduces the need for invasive open surgery [17]. ERCP and PTBD are the methods that are most widely used for the treatment of BCs. It is estimated that ERCP is useful in the treatment of 75% of cases

of biliary tract stricture [36]. When ERCP cannot successfully correct biliary stricture, PTBD often provides good results. The presence of dilated intrahepatic biliary tracts is an indication for minimally invasive percutaneous transhepatic methods [37,38].

In some cases, an endoscopic approach is not successful. In such cases, alternative methods should be considered to facilitate the cannulation of the biliary tracts. Cannulation can be achieved in cases of biliary stricture using a hybrid combination of PTBD and ERCP with a transpapillary approach [39-41].

Open surgery is usually performed to correct BCs if PTBD and ERCP are unsuccessful. Minimally invasive methods were found to be effective in the treatment of 6 (52.9%) cases involving recipients with biliary complications. When minimally invasive methods were ineffective, we converted to open surgical operations that involved disjoining the site of DD anastomosis and the formation of RYHJ in 4 (29.4%) cases; this was effective in 75% of the cases (1 patient developed a recurrent BC in the form of scarring stricture of the RYHJ). With regard to the rate of recurrence, our methods of correction were associated with good results: 80% of the cases experienced no recurrence [42].

Conclusion. Preoperative and intraoperative investigation methods (MRC, IOC) of the biliary tracts can reveal the types of biliary tracts and useful for planning the type of biliary reconstruction. Various types of biliary reconstruction are associated with a high risk of biliary complications after liver transplantation. Biliary splinting in duct-to-duct anastomosis reduces the incidence of biliary complications.

REFERENCES

1. Floris JM, RoosBsc, Jan-Werner P, Wojciech GP, Herold JM. Biliary complications after liver transplantation; recent developments in etiology, diagnosis and endoscopic treatment. // *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2017; 31(2):227-235.
2. Yoshiya S, Shirabe K, Matsumoto Y, Ikeda T, Soejima Y, Yoshizumi T, et al. Rendezvous Ductoplasty for Biliary Anastomotic Stricture After Living-Donor Liver Transplantation // *Transplantation.* 2013;95;10:1278-1283.
3. Simoes P, Kesar V, Ahmad J. Spectrum of biliary complications following live donor liver transplantation. // *World Journal of Hepatology.* 2015;7(14):1856-1865.
4. Trotter JF, Wachs M, Everson GT, Kam I. Adult-to-adult transplantation of the right hepatic lobe from a living donor. // *N Engl J Med* 2002; 346:1074-1082.
5. Busutti RW, Farmer DG, Yersiz H, Hiatt JR, McDiarmid SV, Goldstein LJ, et al. Analysis of long-term outcomes of 3200 liver transplantations over two decades: a single-center experience. // *Ann Surg* 2005; 241: 905-916; discussion 916-918.
6. Verdonk RC, Buis CI, Porte RJ, Van der Jagt EJ, Limburg AJ, Van den Berg AP, et al. Anastomotic biliary strictures after liver transplantation: causes and consequences. // *Liver Transpl* 2006; 12: MID: 16628689.
7. Koneru B, Sterling MJ, Bahramipour PF. Bile duct strictures after liver transplantation: a changing landscape of the Achille's heel. // *Liver Transpl* 2006; 12: 702-704.
8. Colonna JO, Shaked A, Gomes AS, Colquhoun SD, Jurim O, McDiarmid SV, et al. Biliary strictures complicating liver transplantation. Incidence, pathogenesis, management, and outcome. // *Ann Surg.* 1992; 216 (3): 344-352.
9. Heffron TG, Emond JC, Whittington PF, Thistlethwaite JR, Jr, Stevens L, Piper J, et al. Biliary complications in pediatric liver transplantation: a comparison of reduced-size and whole grafts. // *Transplantation.* 1992;53:391-395.

10. Qian YB, Liu CL, Lo CM, Fan ST. Risk factors for biliary reconstructions after liver transplantation. // Arch Surg. 2004;139:1101–1105.
11. Nakamura T, Tanaka K, Kiuchi T, et al. Anatomical variations and surgical strategies in right lobe living donor liver transplantation: lessons from 120 cases. // Transplantation. 2002;73:1896–1903.
12. Grewal HP, Shokouh-Amiri MH, Vera S, Stratta R, Bagous W, Gaber AO. Surgical technique for right lobe adult living donor liver transplantation without venovenous bypass or portocaval shunting and with duct-to-duct biliary reconstruction. // Ann Surg. 2001;233:502–508.
13. Gondolesi GE, Varotti G, Florman SS, Muñoz L, Fishbein TM, Emre SH et al. Biliary complications in 96 consecutive right lobe living donor transplant recipients. // Transplantation 2004; 77: 1842-1848.
14. Hsieh TH, Mekeel KL, Crowell MD, Nguyen CC, Das A, Aqel BA, et al. Endoscopic treatment of anastomotic biliary strictures after living donor liver transplantation: outcomes after maximal stent therapy. // GIE. 2013;77:47-54.
15. Wang SF, Huang ZY. Biliary complications after living donor liver transplantation. // Liver Transpl. 2011; 17: 1127-1136.
16. Lo CM, Fan ST, Liu CL, Lo RJ, Lau GK, Wei WI, et al. Extending the limit on the size of adult recipient in living donor liver transplantation using extended right lobe graft. // Transplantation. 1997;63;10:1524-1528.
17. Abdullah K, Abdeldayem H, Salama IA, Badah K, Al-Somali B, Abdulkareem A. Retrospective analysis of the causes of rejection of potential donors for living related liver transplantation. Author information: Liver Transplant Center, King Abdul Aziz Medical City, Riyadh, Saudi Arabia. // Hepatology International. 2007;1;4:431–436.
18. Lee SG. A Complete Treatment of Adult Living Donor Liver Transplantation: A Review of Surgical Technique and Current Challenges to Expand Indication of Patients. // American Journal of Transplantation. 2015;15: 17–38.
19. Song GW, Lee SG, Hwang S, Sung GB, Park KM, Kim KH, et al. Preoperative evaluation of biliary anatomy of donor in living donor liver transplantation by conventional nonenhanced magnetic resonance cholangiography. // Transpl Int. – 2007. - 20 (2):167–173.
20. Lo CM. Expanding living donor liver transplantation. // Liver Transpl. 2016; 22(S1):37-39.
21. Yazumi S, Chiba T. Biliary complications after a right-lobe living donor liver transplantation. // Journal of Gastroenterology. 2005;40;9:861–865.
22. Tezcaner T, Dinç N, Karakayalı FY, Kırnap M, Coşkun M, Moray G, et al. Effect of Right Posterior Bile Duct Anatomy on Biliary Complications in Patients Undergoing Right Lobe Living Donor Liver Transplant. // Experimental and Clinical Transplantation: Official Journal of the Middle East Society for Organ Transplantation. 27 Jan 2017.
23. Chang JH, Lee IS, Chun HJ, Choi JY, Yoon SK, Kim DG et al. Comparative study of rendezvous techniques in post-liver transplant biliary stricture. // World J Gastroenterol. 2012;18:5957–5964.
24. Bauschke A, Altendorf-Hofmann A, Malessa C, Rohland O, Settmacher U. Einfluss der Gallengangsanatomie auf biliäre Komplikationen bei Lebendspenden des rechten Leberlappens. // Der Chirurg. 2018;89;3:222–228.
25. Pagano D, Cintorino D, Li Petri S, Paci M, Tropea A, Ricotta C, et al. Intra-Operative Contrast Cholangiography in Living Donor Liver Transplantation: The ISMETT Experience. // Transplantation proceedings. 2015;47;7:2159–2160.
26. Gao F, Xu X, Zhu YB, Wei Q, Zhou B, Shen XY, et al. Impact of intra-operative cholangiography and parenchymal resection to donor liver function in living donor liver transplantation. // Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International. 2014;13;3:259-263.
27. Jeng KS, Huang CC, Lin CK, Lin CC, Chen KH, Chu SH. Repeated intraoperative cholangiography is helpful for donor safety in the procurement of right liver graft with supraportal right bile duct variants in living-donor liver transplantation. // Transplantation proceedings. 2014;46;3:686–688.
28. Marubashi S, Dono K, Nagano H, Kobayashi S, Takeda Y, Umeshita K, et al. Biliary Reconstruction in Living Donor Liver Transplantation: Technical Invention and Risk Factor Analysis for Anastomotic Stricture. Transplantation. 2009;88;9:1123-1130.
29. Ragab A, Lopez-Soler RI, Oto A, Testa G. Correlation between 3D-MRCP and intra-operative findings in right liver donors. // Hepatobiliary Surg Nutr. 2013; 2(1): 7.
30. Yaprak O, Dayangac M, Akyildiz M, Demirbas T, Guler N, Bulutcu F, et al. Biliary complications after right lobe living donor liver transplantation: a single-centre experience. // HPB. 2012; 14; 1:49–53.
31. Shaha SA, Granta DR, McGilvraya ID, Greiga PD, Selznera M, Lillyb LB, et al. Biliary Strictures in 130 Consecutive Right Lobe Living Donor Liver Transplant Recipients: Results of a Western Center. // American Journal of Transplantation. 2007; 7: 161–167.
32. Azzam AZ, Tanaka K. Biliary complications after living donor liver transplantation: A retrospective analysis of the Kyoto experience 1999–2004. // Indian Journal of Gastroenterology. 2017;36;4:296–304.
33. Chan SC, Fan ST. Biliary complications in liver transplantation. // Hepatol Int. 2008;2:399–404.
34. Kasahara M, Egawa H, Takada Y, Oike F, Sakamoto S, Kiuchi T, et al. Biliary reconstruction in right lobe living-donor liver transplantation comparison of different techniques in 321 recipients. // Ann Surg. 2006;243:559–566.
35. Wojcicki M, Milkiewicz P, Silva M. Biliary tract complications after liver transplantation: a review. // Dig Surg. 2008;25: 245-257.
36. Shah JN, Ahmad NA, Shetty K, Kochman ML, Long WB, Brensinger CM, et al. Endoscopic management of biliary complications after adult living donor liver transplantation. // Am J Gastroenterol. 2004;99:1291–1295.
37. Egawa H, Inomata Y, Uemoto S, Asonuma K, Kiuchi T, Fujita S, et al. Biliary anastomotic complications in 400 living related liver transplantations. // World J Surg. 2001;25:1300–1307.
38. Cheng YF, Chen CL, Chen YS, Huang TL, Chen TY, Lee TY, et al. Interventional radiology in the treatment of post-liver transplant complications. // Transplant proc. 2000;32:2196–2197.
39. Chang JH, Lee I, Choi MG, Han SW. Current diagnosis and treatment of benign biliary strictures after living donor liver transplantation. // World J Gastroenterol. 2016;22:1593–1606.
40. Kawano Y, Mizuta K, Hishikawa S, Egami S, Fujiwara T, Hyodo M, et al. Rendezvous penetration method using double-balloon endoscopy for complete anastomosis obstruction of hepaticojunostomy after pediatric living donor liver transplantation. // Liver Transpl. 2008;14:385–387.
41. Zhang S, Zhang M, Xia Q, Zhang JJ. Biliary reconstruction and complications in adult living donor liver transplantation: systematic review and meta-analysis. // Transplantation proceedings. 2014;46;1: 208–215.
42. Reichman TW, Sandroussi C, Grant DR, Cattral MS, Greig PD. Surgical revision of biliary strictures following adult live

donor liver transplantation: patient selection, morbidity, and outcomes. // *Transplant International*. 2011; 25; 2012: 69–77.

SUMMARY

BILIARY COMPLICATIONS AFTER LIVER TRANSPLANTATION

¹Doskhanov M., ¹Kausova G., ¹Chormanov A.,
²Baimakhanov B., ¹Askeev B.

¹Syzganov's National Scientific Center of Surgery, Department of Hepatopancreatobiliary Surgery and Liver Transplantation;
²City Clinical Hospital №7, Department of HPB Surgery, Almaty, Kazakhstan

The aim of our research is to perform a retrospective analysis of all cases involving biliary complications after liver transplantation in two transplant centers of Kazakhstan. In the period from December 2011 and December 2019, 106 adult patients underwent LT at Syzganov's National Scientific Center of Surgery and City Clinical Hospital №7, Almaty, Kazakhstan. Eighty-nine (84%) patients underwent living donor liver transplantation (LDLT) from an adult donor, while 17 (16%) patients underwent deceased donor liver transplantation. The graft types were as follows: whole liver (n=17; 16%), right lobe (n=82; 77.3%), left lobe (n=6; 5.6%), and right posterior section (n=1; 0.9%). Duct-to-duct anastomosis was performed in 102 cases, the types of which were as follows single duct-to-duct anastomosis (n=95; 93.1%), double duct-to-duct anastomosis (n=5; 4.9%), combined-type anastomosis (duct-to-duct anastomosis and roux-en-Y hepaticojejunostomy [n=2; 1.9%]). Roux-en-Y hepaticojejunostomy was performed in 3 cases. A biliary splint was used in 53 (52%) cases; biliary splints were not used in 49 (48%) cases. Preoperative and intraoperative methods of investigating (MRC, IOC) the biliary tracts can reveal the types of biliary tracts and are useful for planning the type of biliary reconstruction. Various types of biliary reconstruction are associated with a high risk of biliary complications after liver transplantation. Biliary splinting in duct-to-duct anastomosis reduces the incidence of biliary complications.

Keywords: liver transplantation, living donor liver transplantation, biliary complications, biliary stricture, duct to duct anastomosis.

РЕЗЮМЕ

БИЛИАРНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ

¹Досханов М.О., ¹Каусова Г.К., ¹Чорманов А.Т.,
²Баймаханов Б.Б., ¹Аскеев Б.Т.

¹Национальный научный центр хирургии им. А.Н. Сызганова, отделение гепатопанкреатобилиарной хирургии и трансплантации печени; ²Городская клиническая больница №7, отделение хирургии, Алматы, Казахстан

Цель исследования - ретроспективный анализ билиарных осложнений после трансплантации печени в 2 центрах трансплантации в Казахстане. В период с декабря 2011 г. по декабрь 2019 г. 106 пациентам выполнена трансплантация печени в Национальном научном центре хирургии им.

А.Н. Сызганова. Трансплантация печени от живого донора (ТПЖД) выполнена 89 (84%) пациентам, трансплантация печени от трупного донора - у 17 (16%) пациентам. По типу графта: целая печень - у 17 (16%) пациентов, ТПЖД правая доля - у 82 (77,3%), левая доля печени от живого донора - у 3 (5,6%), задне-латеральный сектор - у 1 (0,9%) пациента. При трансплантации правой доли печени выполнены следующие анастомозы: Билио-билиарный анастомоз (ББ) выполнен в 102 (85,8%) случаях, из них ББ анастомоз с одним протоком в 95 (93,1%) случаях, билиарный анастомоз - в 5 (4,9%), холангиоеноанастомоз (ХЕА) - в 3 (3,7%), а комбинированная билиарная реконструкция (ББ+ХЕА) выполнена в 2 (1,9%) случаях. Каркасный дренаж использовался в 53 (52%) случаях, не использовался - в 49 (48%). Пре- и интродоперативные методы исследования используются для выявления типа желчных протоков и для дальнейшего планирования видов билиарных реконструкций. Различные виды билиарных реконструкций чреватвы высоким риском развития билиарных осложнений после трансплантации печени. Проведенное исследование выявило, что применение каркасного дренажа во время ББ анастомоза уменьшает количество билиарных осложнений.

რეზიუმე

ბილიარული გართულებები ღვიძლის ტრანსპლანტაციის შემდეგ

¹მ.დოსხანოვი, ¹გ.კაუსოვა, ¹ა.ჩორმანოვი, ²ბ.ბაიმახანოვი, ¹ბ.ასკეევი

¹სიზგანის ქირურგიის ეროვნული ცენტრი, ХПБ и ЛТ კათედრა; ²ქალაქის №7 კლინიკური საავადმყოფო, ქირურგიის განყოფილება, ალმატი, ყაზახეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ბილიარული გართულებების რეტროსპექტული ანალიზი ყაზახეთის ორ ტრანსპლანტაციურ ცენტრში ჩატარებული ღვიძლის ტრანსპლანტაციის შემდეგ. 2011 წლის დეკემბრიდან 2019 წლის დეკემბრამდე პერიოდში ღვიძლის ტრანსპლანტაცია ჩატარდა 106 მოზრდილ პაციენტს. ТПЖД ჩატარდა 89 (84%) პაციენტს, ТПЖД - 17 (16%) პაციენტს. გრაფტის ტიპის მიხედვით: მთლიანი ღვიძლი (n=17; 16%), ТПЖД მარჯვენა წილი (n=82; 77,3%), ცოცხალი დონორის მარცხენა წილი (n=3; 5,6%), უკანა-ლატერალური სექტორი (n=1; 0,9%). ღვიძლის მარჯვენა წილის ტრანსპლანტაციისას გაკეთდა შემდეგი ანასტომოზები: ББ -102 (85,8%) შემთხვევაში, მათგან ББ ერთი სადინარით - n=95; 93,1%, БиББ - n=5; 4,9%, ХЕА - n=3 3,7%, კომბინირებული რეკონსტრუქციული ბილიარული რეკონსტრუქცია - n=3 (3,7%). კარკასული დრენაჟი გამოყენებული იყო 53 (52%) შემთხვევაში, 49 (48%) შემთხვევაში კი იგი არ იქნა გამოყენებული. კვლევის პრე- და ინტროპერაციული მეთოდების გამოყენება ხელს უწყობს ნაღვლის სადინარების ტიპის დადგენას და სასარგებლო ბილიარული რეკონსტრუქციების სახეობის დაგეგმარებისათვის. ბილიარული რეკონსტრუქციის სხვადასხვა ტიპს ღვიძლის ტრანსპლანტაციის შემდეგ მოხდევს სხვადასხვა ბილიარული გართულების განვითარების რისკი. ჩატარებული კვლევით დადგენილია, რომ კარკასული დრენაჟის გამოყენება ББ ანასტომოზის დროს ამცირებს ბილიარული გართულების განვითარების სისშირეს.

ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ В ПРЕ- И ПАРАТРАХЕАЛЬНЫЕ ЛИМФАТИЧЕСКИЕ УЗЛЫ ПРИ РАКЕ ГОРТАНИ С РАСПРОСТРАНЕНИЕМ НА ПОДСКЛАДОЧНЫЙ ОТДЕЛ

Дабрундашвили З.Г., Бахтадзе Л.А., Бахтуридзе Д.Г., Дабрундашвили Н.Г.

Онкологический научно-исследовательский центр Грузии; Тбилисский государственный медицинский университет, Институт медицинской биотехнологии, Грузия

На фоне роста общей онкологической заболеваемости проблема регионарного метастазирования злокачественных опухолей головы и шеи остается актуальной и до конца нерешенной. Особый интерес представляет лимфатическая система, которая в значительной степени предопределяет особенности распространения опухоли по протяженности и метастазированию [1]. В слизистой оболочке подскладочного отдела гортани расположена сеть мелких лимфатических сосудов, которые формируются в крупные передние и заднебоковые сосуды. Отток лимфы из подскладочного отдела гортани происходит через предгортанные, предтрахеальные лимфатические узлы [2,3]. После введения меченого коллоидного ^{198}Au , 96% препарата было обнаружено на одной стороне подскладочного отдела в паратрахеальных узлах, что указывает на специфичность лимфооттока данного отдела гортани.

Высокая летальность при данной патологии и тяжесть хирургического лечения больных особенно обостряют проблему и диктуют необходимость усовершенствования тактики лечения путем разработки и внедрения новой тактики с учетом традиционных методов (хирургический, лучевой и лекарственный) [4], что позволяет обеспечить оптимальные результаты лечения пациентов.

Целью исследования явилась оценка эффективности выбранной авторами тактики лечения рака гортани с распространением на подскладочный отдел.

Материалы и методы. Основным методом лечения больных с метастазами в лимфатических узлах шеи является хирургический, который основан на топографоанатомических данных, особенностях лимфатической системы и закономерностях метастазирования.

Изучены и проанализированы 2151 история болезни пациентов получившие лечение в ОНЦ Грузии с 2000 по 2017 гг.с диагнозом рака гортани Из них изолированное поражение подскладочного отдела гортани диагностировано у 103 пациентов и у 296 больных обнаружено распространение опухоли на подскладочный отдел. Средний возраст больных варировал в пределах от 51 до 62 лет. Пациенты как с раком подскладочного отдела гортани, так и при распространении на подскладочный отдел разделены на две условные группы:

А группа – пациенты с раком подскладочного отдела гортани и В группа – больные с распространением рака на подскладочный отдел. Каждая из этих групп подразделена на две подгруппы: 1А группа – пациенты, которым проведено традиционное лечение, включающее ларингэктомию с доили постоперационной лучевой терапией (n=39);

2А группа – пациенты с подскладочной локализацией опухоли, которым проводилась расширенно-комбинированная ларингэктомию (n=64).

1В группа - больные с распространением рака на подскладочный отдел, которым проводилась боковая шейная лимфодиссекция с удалением гортани (n=154);

2В группа - больные с распространением рака на подскладочный отдел, которым проводилась расширенно-комбинированная ларингэктомию с боковой шейной лимфодиссекцией (n=142).

С целью оценки эффективности профилактики метастазирования в пре- и паратрахеальные зоны осуществлен сравнительный анализ проведенных комбинированно-расширенных ларингэктомию с традиционными методами лечения, включающих ларингэктомию с постоперационным облучением. Анализ проводился с учетом формы роста, дифференциации опухоли и частоты метастазирования в пре- и паратрахеальные лимфатические узлы. Сравнимые группы являлись сопоставимыми по полу, возрасту пациентов, локализации и степени распространения опухолевого процесса, морфологической структуре опухоли, наличию сопутствующей патологии.

Основными методами инструментального исследования при выборе масштаба хирургического вмешательства является фиброларингоскопия, позволяющая определить локализацию и рост опухоли с дальнейшей верификацией. Ультразвуковое исследование (УЗИ) позволяет определить наличие или отсутствие увеличенных лимфатических узлов в пре- и паратрахеальных зонах при раке подскладочного отдела гортани, однако УЗИ имеет ряд недостатков, одним из них является невозможность проведения прицельной тонкоигольной аспирационной биопсии ввиду многочисленности лимфатических узлов, их малых размеров, глубокой локализации и близкого расположения жизненно важных органов (общая сонная артерия, глубокая яремная вена и нервные пучки). Компьютерная томография (КТ) обеспечивает изолированное изображение поперечного слоя тканей с пространственным анализом, однако, невозможно изображение в режиме реального времени, длительность сканирования до 30 минут и более, что является достаточно высокой дозой облучения. Магнитно-резонансная томография (МРТ) обладает высокой информативностью, отсутствием артефактов, мультипланарностью, использование контрастирования, что расширяет её возможности. К недостаткам МРТ относят некачественное изображение обызвествления, наличие специфических для МРТ артефактов. МРТ уступает КТ по пространственному изображению выбранного слоя, однако более эффективна при опухолях головы и шеи, так как позволяет определить прорастание опухоли подскладочного отдела гортани в хрящевую структуру [4], что, в свою очередь, является показателем при выборе объема хирургического вмешательства.

Результаты и их обсуждение. Согласно собственным наблюдениям рак подскладочного отдела в сравнении с другими отделами гортани встречается реже – в 3-5% от общего числа больных раком гортани. При локализации опухоли в верхних отделах гортани распространение на подскладочный отдел наблюдается в 13,7% случаев. Исследование

препаратов выявило превалирование случаев плоскоклеточного рака гортани. Данный вид опухоли наблюдался у 89% (n=355) больных мужского пола и лишь 11% (n=44) женского. Причиной такого процентного соотношения, возможно являются как эндогенные (генетическая расположенность, хронические заболевания гортани), так и экзогенные (злоупотребление алкоголем, курение, неблагоприятные профессиональные условия) факторы.

Несмотря на малый процент случаев, рак подскладочного отдела гортани в сравнении с другими локализациями протекает агрессивно и имеет более тяжелый прогноз. Пациенты поступали в специализированные клиники с III-IV стадией заболевания. Причинами запоздалого обращения в клинику являлись отсутствие специфических жалоб, скрытое течение болезни, часто маскируемое предшествующими хроническими воспалительными процессами [6,10]. В этих случаях изменения в гортани ошибочно трактуются как явление гиперпластического ларингита и проводится длительное лечение антибиотиками, противовоспалительными и гормональными препаратами. Именно у этих больных при возникновении опухоли обследование затягивается на более длительные сроки. Другой причиной запоздалого обращения в клинику является особенность строения самой гортани [3,5], сложность осмотра подскладочного отдела и у большинства больных наличие эндофитной формы опухоли, что затрудняет диагностику как в поликлинических, так и в стационарных условиях.

Необходимо отметить, что если при подскладочной локализации опухоли превалирует эндофитная форма роста рака, то при распространении на подскладочный отдел преобладает экзофитная форма (рис.1).

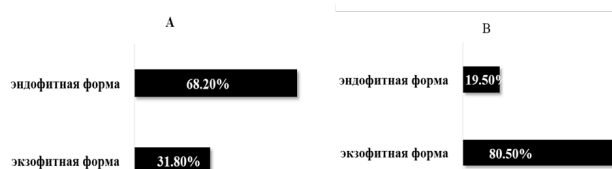


Рис. 1. Соотношение экзофитной и эндофитной форм роста опухоли подскладочного отдела (А) и распространении на подскладочный отдел гортани (В)

Что касается дифференциации опухоли, при гистоморфологическом исследовании установлено, что как при раке гортани подскладочной локализации, так и распространении опухоли на подскладочный отдел гортани преобладает среднедифференцированная (G2) форма плоскоклеточного рака (рис. 2).

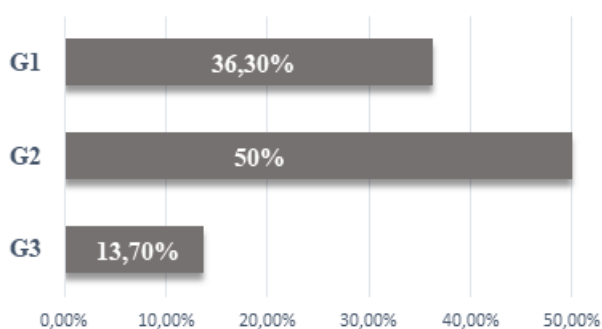


Рис. 2. Процентное соотношение дифференциации опухоли при раке подскладочного отдела гортани

Специфичность злокачественности рака подскладочного отдела гортани, основана на том факте, что в возрасте после 40 лет слизистая оболочка подскладочного отдела гортани метаплазирует из мерцательного эпителия, в структуре которого находится железистая ткань, в плоский эпителий. Это в свою очередь, делает неэффективной лучевую терапию и малоэффективной химиотерапию. На основании этого больным с подскладочной локализацией опухоли и распространением на подскладочный отдел гортани, была выбрана хирургическая методика лечения, - расширенно-комбинированная ларингэктомия, которая проводилась больным группы 2А и 2В. Под «расширенной» ларингэктомией подразумевается мобилизация гортани и ее удаление на уровнях V или VI колец трахеи (рис. 3) и проведение лимфодиссекции на VI уровне как на стороне поражения, так и профилактически с противоположной стороны (рис. 4).

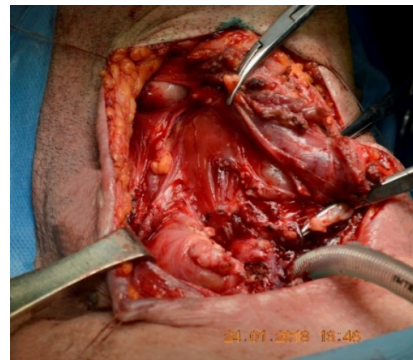


Рис. 3. Процесс лимфодиссекции по латеральной границе VI уровня, формирование культи правой доли щитовидной железы

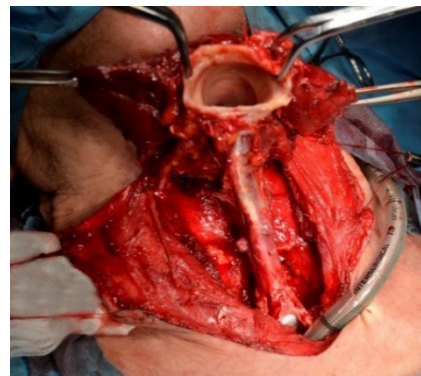


Рис. 4. Процесс мобилизации гортани на уровнях V, VI колец трахеи

Необходимость подобного хирургического вмешательства продиктована расположением сети лимфатических сосудов с прилегающими к ним многочисленными (до 30) мелкими лимфатическими узлами в слизистой оболочке подскладочного отдела гортани. Многочисленность и малый размер лимфатических узлов затрудняют диагностику метастазов до хирургического вмешательства [8,9]. Что касается лимфодиссекции на противоположной стороне поражения опухолью, она оправдана, так как даже при отсутствии клинических и ультразвуковых признаков метастатического поражения лимфатических узлов, при серийных срезах операционного материала выявлены метастазы плоскоклеточного рака на стороне поражения и на противоположной.

Под «комбинированной» операцией подразумевается удаление либо доли щитовидной железы на стороне поражения опухолью подскладочного отдела гортани, либо тотальное удаление железы при циркулярном расположении опухоли (рис. 5).

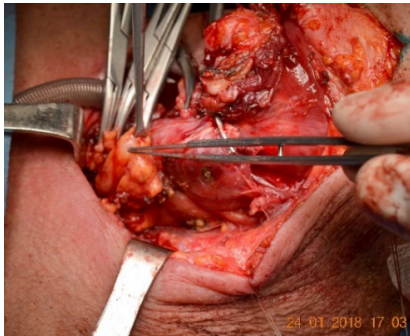


Рис. 5. Процесс выделения левой доли щитовидной железы и жировой клетчаткой с сохранением паращитовидной железы

Вышеуказанное хирургическое вмешательство на щитовидной железе продиктовано наличием у подскладочного отдела собственного лимфотического оттока, смежного с оттоком щитовидной железы (рис. 6), что, в свою очередь, является основной причиной ретроградного метастазирования рака подскладочного отдела гортани в щитовидную железу. Собственные наблюдения показали, что при данной локализации опухоли в 8% случаев субклинически выявлены метастазы в щитовидную железу.

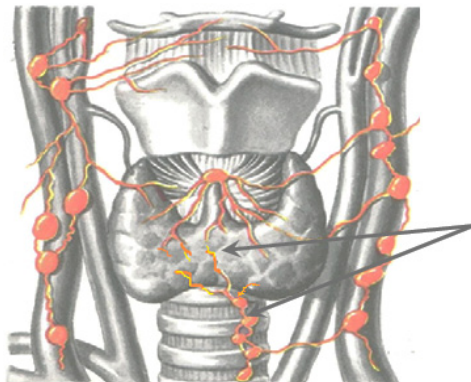


Рис. 6. Схематическое изображение лимфатического коллектора подскладочного отдела гортани и щитовидной железы

Учитывая специфичность данного заболевания, основным сравнительным критерием оценки эффективности предложенной нами методики, является определение частоты метастазирования в пре- и паратрахеальные зоны и 3-летняя выживаемость больных раком подскладочной локализации и с распространением на подскладочный отдел гортани. Результаты лечения методом расширенно-комбинированной ларингэктомии сравнивались с т.н. традиционным лечением, включающим в себя ларингэктомию с последующей лучевой терапией (группа 1А) и боковую шейную лимфодиссекцию с удалением гортани (группа 1В). Анализ данных показал, что частота рецидивов метастазирования в случае расширенно-комбинированной ларингэктомии составила 29 (28,1%) пациентов в сравнении с традиционным лечением - 84 (65,5%) пациентов. Следует отметить, что из 64 пациентов, которым проведена расширенно-комбинирован-

ной ларингэктомия, 12 поступили в стационар со стенозом II-III степени. По жизненно важным показателям им проведена срочная трахеостомия и после полного или частичного заживления раны проведена расширенно-комбинированная ларингэктомия. 10 пациентов из 12 вновь повторно обратились в клинику с наличием метастазирования в период от 6 до 12 месяцев, тогда как среди 52 больных рецидив метастазирования наблюдался лишь у 8 пациентов. Исходя из вышеизложенного следует заключить, что в плане профилактических мероприятий, расширенно-комбинированная ларингэктомия понижает показатель частоты рецидивов метастазирования в пре- и паратрахеальные зоны до 15,3% при подскладочной локализации рака и до 25,8% при распространении опухоли на подскладочный отдел гортани (рис. 7).



Рис. 7. Оценка частоты рецидивов метастазирования при традиционных методах лечения и расширенно-комбинированной ларингэктомии. А - рак подскладочного отдела, В - распространение опухоли на подскладочный отдел гортани

Что касается 3-летней выживаемости, наблюдается аналогичная тенденция. В группе больных, которым проводилось традиционное лечение она составила 37%, а в группе с расширенно-комбинированной ларингэктомией этот показатель увеличился до 69%. Не смотря на то, что в случае распространения опухоли на подскладочный отдел процент выживаемости невысокий, статистические данные указывают на высокую значимость и целесообразность применения разработанного и внедренного в практику нами метода лечения рака подскладочного отдела гортани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пачес А.И., Опухоли головы и шеи, М. Медицина. 2000.
2. Agra I.M., Carvalho A.L., Pontes E. et al. Postoperative complications after en bloc salvage surgery for head and neck cancer // Arch Otolaryngol Head Neck Surg. -2003. -Dec; 129(12): -P.1317.
3. Coca-Pelaz A, Takes RP, Hutcheson K, Saba NF, Head and Neck Cancer: A Review of the Impact of Treatment Delay on Outcome. Adv Ther, 2018 Feb; 35(2):153-160.
4. Emily Marchiano, Tapan D. Patel, Amit A. Patel, Yuhan E. Xue, Jean Anderson Eloy, Subglottic Squamous Cell Carcinoma, Otolaryngology-Head and Neck Surgery 2015; 154 (2): 315
5. Ferlito A., Partridge M., Brennan J.A., Hamakawa H. Lymph node micrometastases in head and neck cancer: a review // Acta Otorinolaringol.-2001; 121: 660
6. Henry LR, Helou LB, Solomon NR Chang A, Libutti SK, Stojadinovic A. Current practice patterns regarding the conduct of thyroidectomy and parathyroidectomy amongst surgeons - A survey study. J Cancer 2012(1)307-16
7. Subramanian S. et al Classification of neck lymph nodes: The need to follow the new classification in the practice of oncology // J. N.N. Blokhin Russian Cancer. Res. Center 2006; 17: 54-49.
8. Sweeny L, Zimmerman T, Carroll WR, Schmalbach CE, Day KE, Rosenthal EL Head and neck cutaneous squamous cell carcinoma requiring parotidectomy: prognostic indicators and treatment

selection, Otolaryngol Head Neck Surg. 2014; 150(4):610-7.
9. Sweeny L, Zimmerman T, Carroll WR, Schmalbach CE, Day KE, Rosenthal EL Head and neck cutaneous squamous cell carcinoma requiring parotidectomy: prognostic indicators and treatment selection, Otolaryngol Head Neck Surg. 2014 Apr;150(4):610.

SUMMARY

TREATMENT AND PREVENTION OF METASTASIS TO THE PRE- AND PARATRACHEAL LYMPH NODES IN CANCER OF THE LARYNX WITH SPREAD TO THE SUBGLOTTIC SECTION

Dabrundashvili Z., Bakhtadze L., Bakhturidze D., Dabrundashvili N.

Oncological Research Center of Georgia; Tbilisi Satate Medical University, Institute of Medical Biotechnology, Georgia

Based on the specificity of the subglottic cancer, the basic method of treatment is surgical, because many years of experience have shown the ineffectiveness of chemotherapy and the low effectiveness of radiation therapy. We have developed and introduced in practice the method of extended-combined laryngectomy is effective not only in terms of treating the underlying disease, but also for preventive purposes, reducing the risk of metastases in pre- and paratracheal lymphatic zones. The method of extended-combined laryngectomy includes mobilization of the larynx and its removal at level V or VI of the tracheal rings, lymph node dissection at level VI, both on the affected side and prophylactically from the opposite side, as well as removal of either the thyroid gland on the side of the lesion subglottic cancer, or at its circulatory location total removal of the gland. Despite the ongoing controversy over such a scale of operations, the effectiveness of extended-combined laryngectomy remains irrelevant, as indicated by a decrease in the frequency of metastasis recurrence from 65.5% to 15.3% with cancer of the subglottic localization and from 63.2% to 25.8% in the case of the spread of the tumor to the subglottic section.

Keywords: subglottic cancer of the larynx, pre- and paratracheal zones, frequency of metastasis.

РЕЗЮМЕ

ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ В ПРЕ- И ПАРАТРАХЕАЛЬНЫЕ ЛИМФАТИЧЕСКИЕ УЗЛЫ ПРИ РАКЕ ГОРТАНИ С РАСПРОСТРАНЕНИЕМ НА ПОДСКЛАДОЧНЫЙ ОТДЕЛ

Дабрундашвили З.Г., Бахтадзе Л.А., Бахтуридзе Д.Г., Дабрундашвили Н.Г.

Онкологический научно-исследовательский центр Грузии; Тбилисский государственный медицинский университет, Институт медицинской биотехнологии, Грузия

Исходя из специфичности течения рака подскладочного отдела гортани, основным методом лечения является хирургический, так как многолетний опыт показал неэффективность химиотерапии и низкую эффективность лучевой терапии. Примененный нами метод расширенно-комбинированной ларингэктомии является эффективным не только с точки зрения лечения основного заболевания, но и в про-

филактических целях, уменьшает риск возникновения метастазов в пре- и паратрахеальных лимфатических зонах. Метод расширенно-комбинированной ларингэктомии включает в себя мобилизацию гортани и ее удаление на уровнях V или VI колец трахеи, проведение лимфодиссекции на VI уровне как на стороне поражения, так и профилактически с противоположной стороны, а так же удаление доли щитовидной железы на стороне поражения опухолью подскладочного отдела гортани либо при её циркулярном расположении - тотальное удаление железы. Несмотря на продолжающиеся дискуссии по поводу проведения такого рода операций, эффективность расширенно-комбинированной ларингэктомии остается бесспорной, на что указывают снижение частоты рецидивов метастазирования с 65.5% до 15,3% при раке подскладочной локализации и с 63.2% до 25,8% в случае распространения опухоли на подскладочный отдел.

რეზიუმე

პრე- და პარატრაქეალურ ლიმფურ ზონებში მეტასტაზირების მკურნალობა და პროფილაქტიკა სორხის კიბოს იოგქვეშა არეზე გავრცელების შემთხვევაში

ზ.დაბრუნდაშვილი ლ.ბახტაძე, დ.ბახტურიძე, ნ.დაბრუნდაშვილი

საქართველოს ონკოლოგიის სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრი; თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი, საქართველო

სორხის იოგქვეშა არეს კიბოს სპეციფიკიდან გამომდინარე, მკურნალობის ძირითად მეთოდად რჩება ქირურგიული ჩარევა, რადგან ქიმიოთერაპიით მკურნალობა აღმოჩნდა სრულიად არაეფექტური, ხოლო სხივური თერაპიით - ნაკლებად ეფექტური, რაც დადასტურდა მრავალწლიანი გამოცდილებითა და დაკვირვებით. ჩვენს მიერ შემუშავებული და პრაქტიკაში დანერგილი გაფართოებულ-კომბინირებული ლარინგექტომიის მეთოდი არის ეფექტური არამხოლოდ ძირითადი დაავადების მკურნალობის თვალსაზრისით, არამედ პროფილაქტიკის მიზნითაც, რადგან ამცირებს პრე- და პარატრაქეალურ ლიმფურ ზონებში მეტასტაზირების რისკს. გაფართოებულ-კომბინირებული ლარინგექტომია მოიცავს სორხის მობილიზაციას და მის ამოკვეთას V და VI ტრაქეალური რგოლების დონეზე. ლიმფოდისექციას VI დონეზე, როგორც სიმსივნით დაზიანებულ, ასევე პროფილაქტიკის მიზნით მოპირდაპირე მხარეს. ჩატარებულია ფარისებრი ჯირკვლის სრული ან ნაწილობრივი ამოკვეთა, სორხის იოგქვეშა არეს სიმსივნის ცალმხრივი მდებარეობის დროს - ჰემითირეოიდექტომია და ცირკულარული ლოკალიზაციის შემთხვევაში - სრული თირეოიდექტომია. მიუხედავად იმისა რომ დღემდე არსებობს განსხვავებული შეხედულება ოპერაციების ასეთი მასშტაბით ჩატარების შესახებ, გაფართოებულ-კომბინირებული ლარინგექტომიის ეფექტურობა ცალსახაა, რაზეც მიუთითებს მეტასტაზირების სიხშირის შემცირება 65.5%-დან 15.3%-მდე, ხოლო იოგქვეშა არეზე გავრცელების დროს შემცირდა 63.2%-დან 25.8%-მდე, ხოლო იოგქვეშა არეზე გავრცელების დროს შემცირდა 63.2%-დან 25,8%-მდე.

ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФИЗИЧЕСКИХ УПРАЖНЕНИЙ В РЕАБИЛИТАЦИИ ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ ПРОЦЕДУРУ РАДИОЧАСТОТНОЙ НЕЙРОАБЛЯЦИИ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА

¹Фищенко Я.В., ¹Рой И.В., ²Владимиров А.А., ³Кравчук Л.Д.

¹ ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», Киев;

²Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика, Киев;

³Национальный университет физического воспитания и спорта Украины, Киев, Украина

Артроз тазобедренного сустава является патологией, которая по сей день лидирует среди дегенеративно-дистрофических заболеваний опорно-двигательного аппарата [1-3]. В структуре указанной патологии дегенеративно-дистрофические заболевания тазобедренного сустава (ТБС) занимают около 50%. В зависимости от возраста коксартроз рентгенологически проявляется у 28-43% популяции и в 10-17% симптоматически [3,4]. Число случаев коксартроза непрерывно увеличивается, что объясняется старением населения и наличием избыточной массы тела [5,6].

Болевой синдром является ведущим признаком остеоартроза [3-9]. Учитывая, что ни один из способов лечения не способствует восстановлению хрящевой ткани, широкое распространение получили методы тотальной замены тазобедренного сустава, которые обеспечивают снятие болевого синдрома, восстановление его функции, уменьшение случаев потребления обезболивающих препаратов и развития осложнений [4,5]. Однако, для некоторых пациентов существуют ограничения к выполнению эндопротезирования в виде тяжелой сопутствующей патологии, системных заболеваний, немаловажную роль играют и экономические факторы, связанные с вынужденным длительным ожиданием операции вследствие высокой ее стоимости [6].

Предложенные консервативные методы лечения остеоартроза имеют различные уровни доказательности и эффективности, включающие модификацию образа жизни (снижение веса и физические упражнения) [7], физиотерапию (акупунктура, бальнеотерапия и грязелечение) [8,9], фармакологические препараты (НПВП, хондропротекторы) [10], а также внутрисуставные инъекции (кортикостероиды, гиалуроновая кислота, пролотерапия, аутологичные инъекции препаратов крови) [11,12].

Радиочастотная денервация (РЧНА) чувствительных нервов тазобедренного сустава является новым, эффективным методом лечения коксалгии. Впервые этот метод использован 30 лет назад для денервации фасеточных суставов, и рекомендовал себя эффективным и долгосрочным в лечении фасет-синдрома в различных отделах позвоночника [13]. Таргетное термическое воздействие на волокна нервной ткани вызывает локальную денатурацию, что приводит к их Валлеровой дегенерации с последующей регенерацией [13].

Поскольку методика РЧНА постепенно начинает активно использоваться в практике лечения боли при дегенеративно-дистрофических поражениях крупных суставов, в частности тазобедренного сустава, то вопрос ведения таких пациентов в отдаленном периоде реабилитации является весьма значимым, поскольку сама процедура обеспечивает избавление от боли, но при этом функциональная ограниченность пациента на фоне хронического болевого синдрома, испытываемого до процедуры, может продолжаться годами, а восстановление физических и функциональных возможностей сустава требует определённого подбора адекватных нагрузок с учетом принципов реабилитации при данной патологии.

Цель исследования - разработка программы физиотерапевтических упражнений для пациентов с коксартрозом, которым проведена процедура радиочастотной денервации артикулярных веточек запирающего и бедренного нервов.

Объектом исследования стала программа физиотерапевтических упражнений, разработанная для пациентов с коксартрозом, которые перенесли процедуру РЧНА артикулярных веточек запирающего и бедренного нервов.

Материал и методы. Разработанная авторская программа апробирована на 36 пациентах (37 суставов) с коксартрозом III-IV стадии, которые проходили амбулаторное лечение в течение 2017-2018 гг. в отделении реабилитации ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины».

Все пациенты обследованы клинически и рентгенологически. Основной жалобой пациентов были боли в области тазобедренного сустава. Рентгенологическую оценку стадии заболевания проводили по классификации J. Kellgren и J. Lawtence [14]. Средний возраст пациентов составил $66,2 \pm 1,5$ года (возрастной диапазон от 40 до 81 лет). Средний показатель продолжительности болевого синдрома до обращения составил $4,25 \pm 2,56$ лет.

Всем пациентам выполнена процедура радиочастотной нейроабляции артикулярных ветвей бедренного и запирающего нервов. После прохождения процедуры всем пациентам назначался комплекс авторской программы физиотерапевтических упражнений. Оценка состояния пациентов осуществляли спустя 2 недели, 1, 3, 6 и 12 мес. после процедуры. Количественную и качественную оценку болевого синдрома проводили на основании визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) боли. Измерения функциональных ограничений сустава проводили по анкетированию Harris Hip Score (HHS).

Результаты и их обсуждение. Применение физических упражнений в программе восстановительного лечения пациентов с дегенеративным повреждением тазобедренного сустава является обязательным, так как уменьшение болевого синдрома достигается путем улучшения кровоснабжения, расслабления мышц, окружающих сустав. При составлении программы физиотерапевтических упражнений следует обратить внимание на укрепление мышц, окружающих тазобедренный сустав, поскольку укрепленные мышцы, являясь стабилизатором, перенимают часть нагрузки на себя, что позволяет снять часть нагрузки с изношенного, слабого сустава. Регулярные физические упражнения обеспечивают уменьшение боли и скованности, облегчение движений и повышение гибкости, длительный эффект процедуры РЧНА.

Основной задачей программы физиотерапевтических упражнений у больных коксартрозом, перенесших процедуру РЧНА, является:

1. Сохранение объема движений в суставе и функциональной способности всех околосуставных мышц.
2. Сохранение компенсации, которая зависит от состояния позвоночника, мышечно-связочного аппарата обоих тазобедренных суставов и нижних конечностей в целом.

3. Восстановление подвижности тазобедренного сустава и предупреждение прогрессирования заболевания.

Терапевтические упражнения, назначаемые пациентам, перенесшим процедуру РЧНА, включают различные виды упражнений. Программа составлена с учетом следующих принципов:




- Каждое движение должно быть медленным и спокойным;
- Исключаются резкие рывки и болезненные движения в суставе;
- Помимо общеразвивающих упражнений назначаются





упражнения, направленные на улучшение функциональных возможностей тазобедренного сустава.

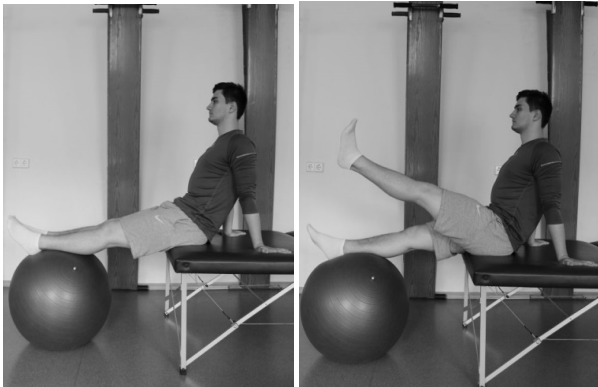



- Перед занятием суставы необходимо разминать (не реже 3 раз в сутки) и каждый раз перед ходьбой пешком.
- Упражнения, вызывающие острую боль, выполнять не следует.

В таблице приведён комплекс восстановительных упражнений, который разработан для пациентов, перенесших процедуру РЧНА артикулярных веточек запирающего и бедренного нервов.

Таблица 1. Рекомендованный комплекс физических упражнений для пациентов, которым проведена процедура РЧНА

№	Методические указания	Изображение упражнения
1	<p><i>Упражнение: растяжение ягодичных мышц</i> Следует лечь на спину на пол, вытянув ноги прямо. Согнуть одно колено и обхватить его руками за голень. Аккуратно подтянуть колено к груди настолько, насколько удобно. Выполнять растяжение в течение 30 секунд, затем расслабиться в течение 30 секунд. Повторить то же с другой ногой, затем свести обе ноги вместе. Повторить 4-6 раз.</p>	
2	<p><i>Упражнение на укрепление ягодиц</i> Лечь на живот на твёрдую плоскую поверхность, подложить подушку под бедра. Держать голову, шею и верхнюю часть туловища расслабленными. Согнуть одно колено на 90°. Поднять ногу прямо вверх, медленно опустить ногу. Выполнить 8 раз, повторить то же - другой ногой.</p>	
3	<p><i>Мостик</i> Лечь на спину, согнув колени, ладони находятся на кушетке. С прямой спиной поднять таз как можно выше. Руки использовать для баланса. Затем опустится обратно на пол. Выполнить 4-6 раз.</p>	

4	<p><i>Растяжение внутренней части бедра</i> В сидячем положении развести колени в стороны, стопы соединить. Удерживая лодыжки руками, слегка согнуть верхнюю часть тела вперед. Аккуратно развести колени в стороны. Задержаться на 10-15 сек. Повторить 10-15 раз.</p>	
5	<p><i>Растяжение задней поверхности бедра</i> В сидячем положении ноги выпрямлены. Наклонитесь вперед, следует достать кончиками пальцев до стоп, сильно не сгибая колени. Задержаться на 10-15 сек., затем вернуться в исходное положение. Повторить 6-8 раз.</p>	
6	<p><i>Укрепление отводящих мышц бедра</i> Лечь на правый бок, правая рука - под голову. Поднять левую ногу как можно выше, при этом не должно возникать болевых ощущений. Задержаться в этом положении на 3-5 сек., затем и вернуться в исходное положение. Повторить 6-8 раз, то же самое выполнить правой ногой.</p>	
7	<p><i>Укрепление квадрицепса</i> Сесть на кушетку или стул, руки в упоре. Поднять левую ногу, разогнуть колено, удерживать ногу на уровне 90 градусов, при этом носок стопы тянуть на себя. Задержаться на 3-5 сек., затем вернуться в исходное положение. Повторить 6-8 раз. то же самое выполнить правой ногой.</p>	

8	<p><i>Укрепление мышц бедра</i> Сесть на кушетку или стул, руки в упоре. Ноги поставить на фитбол. Выпрямленную левую ногу поднять вверх, носок – на себя, упор сзади на кисти. Задержаться в этом положении на 3-5 сек., затем вернуться в исходное положение. Повторить 6-8 раз. то же самое выполнить правой ногой.</p>	
9	<p><i>«Усаживание» на стул</i> Встать спиной по направлению к кушетке или стулу. Откинуться назад с выпрямленными руками и сесть на кушетку (стул). Выпрямив голову, шею и спину, вернуться в положение стоя. Повторить 6-8 раз в медленном темпе.</p>	
10	<p><i>Отведение бедра</i> Используя спинку стула для равновесия (или шведскую стенку) в положении стоя, слегка наклониться вперед и отвести правую ногу. Поднять ногу как можно выше, не сгибая колено и не изгибая спину. После короткого удержания в этом положении медленно опустить ногу. Повторить упражнение левой ногой, затем выполнить это движение 4-6 раз каждой ногой.</p>	
11	<p><i>Укрепление отводящих мышц бедра</i> Положение стоя, ноги - на ширине плеч, чуть согнуты в коленях, корпус незначительно наклонен вперед, кисти расположены на бедрах. Эластичная лента нахрдиться выше колен. Развести максимально бедра в стороны, оказывая сопротивление эластичной ленте. Повторить 6-8 раз в медленном темпе.</p>	

Перед выполнением упражнений следует учитывать ряд требований, которые необходимо соблюдать, если проведена процедура РЧНА n. femoralis и n. obturatorius тазобедренного сустава, в частности:

1. Увеличивать нагрузку следует постепенно (начинать с лёгких упражнений, которые не вызывают напряжения и боли в суставе, кол-во упражнений увеличивать постепенно).
2. Выполнять растяжку и разогреть мышцы следует перед началом занятия (не следует форсировать натяжения; движения должны быть медленными и плавными).
3. Необходимо прислушиваться к боли. Если при выполнении упражнения возникает острая боль, следует прекратить выполнение упражнения.
4. Желательно выполнять упражнения ежедневно (не обязательно много, но каждый день).
5. Следует избавиться от лишних килограммов, так как избыточный вес добавляет нагрузку на повреждённый сустав).
6. Общей рекомендацией для всех пациентов является выполнение разработанного комплекса физиотерапевтических упражнений в течение года наблюдений.

Оценка динамики неврологических изменений и функциональных нарушений у пациентов, которым была проведена РЧНА n. femoralis и n. obturatorius, осуществлялась спустя 14 дней после процедуры и 1,3, 6 и 12 месяцев.

Достоверными считали уменьшение болевого синдрома на 3 балла и более. Спустя 1 месяц после РЧНА в группе пациентов отмечено достоверное уменьшение болевого синдрома по ВАШ в пределах $4,03 \pm 0,29$ см ($p \leq 0,05$); спустя 3 мес. наблюдался устойчивый положительный результат в группе на уровне $3,65 \pm 0,28$ см; спустя 6 мес. - $3,75 \pm 0,32$ см; спустя 12 мес. - $3,77 \pm 0,31$ см ($p \leq 0,05$), (рис.).

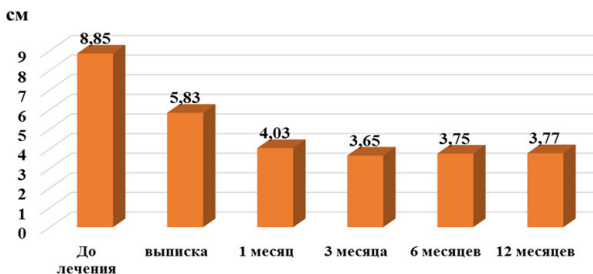


Рис. Динамика субъективных болевых ощущений по ВАШ в группе после РЧНА n. femoralis и n. obturatorius на этапах обследования (n=36)

Оценка влияния процедуры РЧНА на функциональные нарушения жизнедеятельности с помощью опросника NNS показала следующие результаты: спустя 14 дней после проведенного лечения достоверное улучшение показателя, в частности изменение более чем на 26 баллов отмечено у 64,1% пациентов, спустя 1 мес. - у 82,1% пациентов, спустя 3 мес. - у 69,3%, спустя 6 мес. - у 71,8%. На момент окончательного опроса улучшение в сравнении с исходным состоянием отметили 76,7% пациентов.

Устойчивость полученных результатов и сохранение положительной динамики в течение года позволяет рекомендовать процедуру РЧНА как метод улучшения функциональных возможностей тазобедренного сустава у пациентов с коксартрозом III и IV стадии.

Применение физических упражнений у пациентов, которым выполнена процедура РЧНА n. femoralis и n.

obturatorius, положительно влияет на функциональные возможности суставов, которые подвергались процедуре РЧНА, что подтверждено результатами опросника Harris Hip SCOR на отдалённых этапах наблюдения. Согласно данным анкетирования ВАШ, при выполнении разработанного комплекса физиотерапевтических упражнений на протяжении года усиления болевого синдрома не наблюдалось. Таким образом, применение физиотерапевтических упражнений в комплексе с процедурой РЧНА бедренного и запирающего нервов при коксартрозе обеспечивает уменьшение боли и скованности, облегчение движений и повышение гибкости, сохранение длительного эффекта процедуры РЧНА.

Выводы.

1. Поскольку методика РЧНА постепенно активно используется в практике лечения боли при дегенеративно-дистрофических поражениях крупных суставов, в частности тазобедренного сустава, вопрос ведения таких пациентов в отдалённом периоде реабилитации является весьма значимым, так как сама процедура обеспечивает избавление от боли, а функциональная активность пациента на фоне хронического болевого синдрома, испытываемого до процедуры, может продолжаться годами, а восстановление физических и функциональных возможностей пациента требует определённого подбора адекватных нагрузок и специальных упражнений.
2. Согласно результатам проведенного исследования, применение физиотерапевтических упражнений в комплексе с процедурой РЧНА бедренного и запирающего нервов при коксартрозе обеспечивает уменьшение боли и скованности, облегчение движений и повышение гибкости и поддержание эффекта процедуры РЧНА на более продолжительный срок.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гайко ГВ, Бруско АТ, Лимар ЄВ. Остеоартроз – новый підхід до його профілактики. Вісник ортопедії, травматології та протезування. 2005; 2: 5-11.
2. Murphy L, Helmick CG. The impact of osteoarthritis in the United States: a population-health perspective. Am J Nurs. 2012;112(3 suppl 1): 13- 19.
3. Suri P, Morgenroth DC, Hunter DJ. Epidemiology of osteoarthritis and associated comorbidities. PM R. 2012; 4(5 suppl): 10 - 19.
4. Гайко ГВ, Калашніков ОВ, Чалайдюк ТП. Діагностично-прогностичний алгоритм прогресування остеоартрозу кульшового суглоба. Український морфологічний альманах. 2013; 11(1): 58 – 61.
5. Grayson CW, Decker RC. Total joint arthroplasty for persons with osteoarthritis. PMR. 2012; 4(5 suppl): 97-110.
6. Desmeules F, Dionne CE, Belzile ÉL, Bourbonnais R, Frémont P. The impacts of pre-surgery wait for total knee replacement on pain, function and health-related quality of life six months after surgery. J Eval Clin Pract. 2012; 18(1):111-120.
7. Vincent HK, Heywood K, Connelly J, Hurley RW. Obesity and weight loss in the treatment and prevention of osteoarthritis. PM R. 2012; 4(5 suppl): 59-67.
8. Brakke R, Singh J, Sullivan W. Physical therapy in persons with osteoarthritis. PM R. 2012; 4(5 suppl): 53- 58.
9. Segal NA. Bracing and orthoses: a review of efficacy and mechanical effects for tibiofemoral osteoarthritis. PM R. 2012; 4(5 suppl): 89- 96.
10. Cheng DS, Visco CJ. Pharmaceutical therapy for osteoarthritis. PM R. 2012; 4(5 suppl): 82- 88.

11. Hameed F, Ihm J. Injectable medications for osteoarthritis. PM R. 2012; 4(5 Suppl): 75-
12. Vora A, Borg-Stein J, Nguyen RT. Regenerative injection therapy for osteoarthritis: fundamental concepts and evidence-based review. PM R. 2012; 4(5 suppl): 104-109.
13. Racz G, Noe C. Techniques of Neurolysis. Springer. 2016. 211.
14. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 1957 Dec; 16(4): 485-93.
15. Lewis WH. Gray's Anatomy of the Human Body 41th Edition. Elsevier: S. Standing; 2015. 1584 p.
16. Choi WJ, Hwang SJ, Song JG, et al. Radiofrequency treatment relieves chronic knee osteoarthritis pain: a double-blind randomized controlled trial. Pain. 2011; 152(3): 481-487.

SUMMARY

FEATURES OF THE USE OF PHYSICAL EXERCISES IN THE REHABILITATION OF PATIENTS UNDERGOING THE PROCEDURE OF RADIOFREQUENCY NEUROABLATION OF THE HIP JOINT

¹Fishchenko I., ¹Roy I., ²Vladimirov A., ³Kravchuk L.

¹State Institution «Institute of Traumatology and Orthopedics National Academy of Medical Science of Ukraine», Kiev; ²National Medical Academy of Postgraduate Education P.L. Shupika, Kiev; ³National University of Physical Education and Sport of Ukraine, Kiev, Ukraine

Among the various methods of treating coxalgia, the minimally invasive method of radiofrequency denervation of the sensitive nerves of the hip joint is becoming increasingly popular. Since the RFA technique is gradually beginning to be actively used in the practice of pain treatment, there is an urgent need for further rehabilitation of such patients in order to prolong the positive effect of the RFA procedure.

The aim of the study was to develop a program of physiotherapeutic exercises for patients with coxarthrosis of the 3-4 stage, who underwent the RFA procedure of articular branches of the obturator and femoral nerves.

The developed author's program was tested on 36 patients (37 joints) with coxarthrosis of 3-4 stages, who underwent outpatient treatment during 2017-2018. in the rehabilitation department of the State Institution "Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine". The dynamics of the treatment results were evaluated after 2 weeks, 1, 3, 6 and 12 months after the procedure. Quantitative and qualitative assessment of pain was carried out on the basis of VAS pain. Joint functional limitations were measured using a Harris Hip Score (HHS).

The use of physiotherapeutic exercises in patients who underwent RFA procedure n. femoralis and n. obturatorius positively affects the functional capabilities of the joints, which is confirmed by the results of studies on the Harris Hip SCOR and VAS questionnaire at all stages of observation.

The use of physiotherapeutic exercises in combination with the RFA procedure of the femoral and obturator nerves in coxarthrosis can lead to a decrease in pain and stiffness, easier movements and increased flexibility, as well as maintaining the effectiveness of the RFA procedure for a longer period.

Keywords: Radiofrequency neuroablation, coxalgia, hip joint, physiotherapeutic exercises.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФИЗИЧЕСКИХ УПРАЖНЕНИЙ В РЕАБИЛИТАЦИИ ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ ПРОЦЕДУРУ РАДИОЧАСТОТНОЙ НЕЙРОАБЛЯЦИИ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА

¹Фищенко Я.В., ¹Рой И.В., ²Владимиров А.А., ³Кравчук Л.Д.

¹ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», Киев; ²Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика, Киев; ³Национальный университет физического воспитания и спорта Украины, Киев, Украина

Среди различных методов лечения коксалгии все большую популярность приобретает миниинвазивный метод радиочастотной денервации (РЧНА) чувствительных нервов тазобедренного сустава. Поскольку методика РЧНА постепенно начинает активно использоваться в практике лечения боли, то возникает острая необходимость в дальнейшей реабилитации таких пациентов для пролонгирования положительного эффекта от процедуры РЧНА.

Цель исследования – разработать программу физиотерапевтических упражнений для пациентов с коксартрозом III-IV стадии, которым проведена процедура радиочастотной денервации артикулярных веточек запирающего и бедренного нервов.

Разработанная авторская программа апробирована на 36 пациентах (37 суставов) с коксартрозом III-IV стадии, которые проходили амбулаторное лечение в течение 2017-2018 гг. в отделении реабилитации ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины». Динамику результатов лечения оценивали спустя 2 недели, 1, 3, 6 и 12 мес. после процедуры. Количественную и качественную оценку болевого синдрома проводили на основании визуальной-аналоговой шкалы (ВАШ) боли; измерения функциональных ограничений сустава - посредством анкетирования Harris Hip Score (HHS). Применение физиотерапевтических упражнений у пациентов, которым выполнена процедура РЧНА n. femoralis и n. obturatorius положительно влияет на функциональные возможности суставов, что подтверждено результатами исследований по опроснику Harris Hip Score и ВАШ на всех этапах наблюдений. Применение физиотерапевтических упражнений в комплексе с процедурой РЧНА бедренного и запирающего нервов при коксартрозе обеспечивает уменьшение боли и скованности, облегчает движения, повышает гибкость и длительное время сохраняет эффективность процедуры РЧНА.

რეზიუმე

ფიზიკური ვარჯიშების გამოყენების თავისებურებანი მენჯ-ბარძაყის სახსრის რადიოსისშირული აბლაციის პროცედურაგადატანილი პაციენტების რეაბილიტაციაში

¹ი. ფიშჩენკო, ¹ი. როი, ²ა. ვლადიმეროვი, ³ლ. კრავჩუკი

¹უკრაინის ტრავმატოლოგიისა და ორთოპედიის ინსტიტუტი, კიევი; ²პ. შუპიკის სახ. დიპლომის შემდგომი განათლების ეროვნული სამედიცინო აკადემია, კიევი; ³უკრაინის ფიზიკური აღზრდისა და სპორტის ეროვნული უნივერსიტეტი, კიევი, უკრაინა

კოქსალგიის მკურნალობის სხვადასხვა მეთოდს შორის მზარდ პოპულარობას იძენს მენჯ-ბარძაყის

სახსრის მგრძობიარე ნერვების რადიოსისშირული დენერვაციის მინიინვაზიური მეთოდი. რადიონაც რადიოსისშირული ნეირობლაცია (რსნა) გამოყენება ტკივილის მკურნალობის პრაქტიკაში თანდათანობით ინერგება, რსნა-ის პროცედურის დადებითი ეფექტის პროლონგირებისათვის დღის წესრიგში დგება ასეთი პაციენტების შემდგომი რეაბილიტაციის მწვავე აუცილებლობა.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ფიზიოთერაპიული ვარჯიშების პროგრამის შემუშავება III-IV სტადიის კოქსართროზის მქონე პაციენტებისათვის, რომლებსაც ჩაუტარდა n. femoralis და n. obturatorius სასასრე ტოტების რადიოსისშირული ნეირობლაცია.

შემუშავებული საავტორო პროგრამა აპრობირებული იყო III-IV სტადიის კოქსართროზის მქონე 36 პაციენტზე - 37 სასსარზე, რომლებიც 2017-2018 წწ. ამბულატორიულ მკურნალობას იტარებდა უკრაინის ტრავმატოლოგიისა და ორთოპედიის ინსტიტუტში. მკურნალობის შედეგების დინამიკა შეფასებულია

პროცედურის ჩატარებიდან 2 კვირის, 1, 3, 6 და 12 თვის შემდეგ. ტკივილის სინდრომის რადიონობრივი და თვისობრივი შეფასება განხორციელდა ტკივილის ვიზიუალური ანალოგიური სკალის (ვას) გამოყენებით. სახსრის ფუნქციური შეზღუდულობა განისაზღვრა Harris Hip Score (HHS) ანკეტირებით.

ფიზიოთერაპიული ვარჯიშების გამოყენება პაციენტებში n. femoralis-ზე და n. obturatorius-ზე რსნა პროცედურის ჩატარების შემდგომ დადებითად აისახა სახსრების ფუნქციურ შესაძლებლობებზე, რაც დადასტურდა კვლევის შედეგებით Harris Hip Score (HHS)-კითხვარის მიხედვით და ვას-ით დაკვირვების ყველა ეტაპზე.

ფიზიოთერაპიული ვარჯიშების გამოყენება n. femoralis-ზე და n. obturatorius-ზე რსნა პროცედურასთან კომპლექსში კოქსართროზის დროს ამცირებს ტკივილს და შეზღუდულობას, აადვილებს მოძრაობას და ზრდის მოქნილობას, ასევე, უზრუნველყოფს რსნა პროცედურის ეფექტურობის შენარჩუნებას ხანგრძლივი ვადით.

ВОЗМОЖНОСТИ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ В ДИАГНОСТИКЕ ЭНДОМЕТРИОЗА

Бахтияров К.Р., Строгонова В.В.

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)*

Эндометриоз подразумевает наличие эндометриальных желез и стромы вне полости матки, может быть, как генитальный, так и экстрагенитальный. По данным статистики около 10-20% фертильных и 50% бесплодных женщин имеют диагноз эндометриоз. Эктопированные железы эндометрия и строма чаще всего распространяются в яичники, но могут также вовлекаться маточно-крестцовые связки, серозные оболочки, фаллопиевы трубы, ректосигмоидальный отдел кишки, влагалище, шейка матки, мочевого пузыря и мочеточники. Экстрагенитальный эндометриоз встречается гораздо реже и составляет примерно 1% всех случаев, способен поражать практически любой орган, за исключением сердца и селезенки. По распространенности выделяют три типа эндометриоза. Поверхностные очаги – обычно очень мелкие и выявляемые только при лапароскопии, располагаются на брюшине или менее чем в 5 мм от нее. При глубоком эндометриозе имплантаты эндометрия располагаются на расстоянии не менее 5 мм от поверхности брюшины и могут проникать в забрюшинное пространство или стенку прилегающих органов малого таза. И третий тип эндометриоза – эндометриомы придатков яичников, представлены в виде кистозных структур с геморрагическим содержанием. Общие клинические проявления, включают тазовую боль (циклическая тазовая боль, дисменорея и диспареуния) и бесплодие. Глубокий эндометриоз считается основной причиной хронических тазовых болей у женщин репродуктивного возраста. Менее частые симптомы, такие как: катамениальная диарея, задержка стула, ректальное кровотечение, гематурия, пневмоторакс, катамениальный эпи-

стаксис связаны с локализацией эктопического эндометрия. У ряда пациенток может наблюдаться бессимптомное течение [13]. Такая варибельность клинической картины заболевания существенно затрудняет его диагностику. До сих пор лапароскопия остается золотым стандартом постановки диагноза эндометриоза, но необходимо учитывать, что этот метод, во-первых, является инвазивным, во-вторых, обладает некоторыми недостатками: неспособность идентифицировать атипичные поражения, поражения забрюшинного пространства. Таким образом проблема быстрой и самое главное точной постановки диагноза эндометриоза является актуальной в настоящее время [20,25].

Этиология и патогенез эндометриоза до сих пор до конца не изучены. Наиболее популярной теорией является, предложенная в 1920-е годы Сэмпсоном, теория ретроградной менструации, когда клетки эндометрия мигрируют по маточным трубам в брюшину во время менструации, и там растут под влиянием гормональных и других факторов. Также учеными активно обсуждаются теория целомической метаплазии, возможность встраивания циркулирующих стволовых клеток в ткани эндометрия. Высказывается предположение о том, что рост эктопических примитивных клеток вне мюллеровых протоков, также может быть одной из причин развития эндометриоза [4,7,12,28].

В настоящее время ультразвуковое исследование (УЗИ) является предпочтительным методом для начальной оценки глубокого тазового эндометриоза и эндометриомы. Однако трансвагинальное ультразвуковое исследование (ТВУЗИ) даже при адекватной подготовке кишечника и использова-

нии высокочастотных зондов имеет существенные ограничения из-за относительно небольшого поля зрения и зависимости от оператора. Магнитно-резонансная томография (МРТ) все чаще используется для оценки эндометриоза, чувствительность и специфичность метода составляют 69–92% до 75–98% соответственно. Большинство авторов выступают за МРТ в качестве дополнительного метода в случаях неопределенных результатов УЗИ, возможного вовлечения мочеточников и дооперационного картирования [11].

В современных медицинских базах можно встретить множество статей сравнивающих диагностическую точность ТВУЗИ, трансректального ультразвукового исследования (ТРУЗИ) и МРТ в отношении эндометриоза различных локализаций. Так согласно данным Alborzi S et al. [3] чувствительность ТРУЗИ, ТВУЗИ и МРТ в диагностике глубоко инфильтрирующего эндометриоза маточно-крестцовых связок составила 82,8%, 70,9% и 63,6% соответственно, специфичность имела обратную тенденцию 89,8% для ТРУЗИ, 92,8% - ТВУЗИ и 93,9% для МРТ, что также подтвердили данные исследований Bazot et al. [8]. Для глубоко инфильтрирующего эндометриоза ректовагинальной перегородки чувствительность и специфичность были сопоставимы при ТРУЗИ, ТВУЗИ и МРТ (чувствительность-86,4%, 93,7%, 84%, специфичность-92,4%, 72,7% и 92,1% соответственно), к таким же выводам в своей работе пришли Abrao et al. и группа ученых Bazot et al. Напротив, исследование Alborzi et al. продемонстрировало, что у МРТ вышеуказанные показатели лучше, чем у ТВУЗИ (чувствительность МРТ-65,8% и ТВУЗИ-52,6%, специфичность 96,4% и 94,6% соответственно, положительное предсказательное значение (ППЗ) МРТ-71,4% и ТВУЗИ-57,1%, негативное предсказательное значение (НПЗ) 95,4% и 93,6% и точность 92,7% и 89,6% соответственно). Также было обнаружено, что МРТ превосходит ТРУЗИ и ТВУЗИ с точки зрения чувствительности, специфичности и точности для ретроцервикального глубокого эндометриоза. Относительно глубокого эндометриоза мочевого пузыря и мочеиспускательного канала ученые сходятся во мнении, что все 3 метода одинаково эффективны [9,16].

Далее перейдем к описанию МРТ признаков различных форм эндометриоза. Эндометриоидные кисты (эндометриомы) являются локализованными формами эндометриоза яичников; они могут быть единичными или множественными, односторонними или двусторонними (почти у 50% женщин с эндометриозом). МРТ обладает высокой специфичностью (>90%) при выявлении эндометриом. Как правило на T1-взвешенных изображениях эндометриомы гиперинтенсивны и однородно гипоинтенсивны на T2-взвешенных изображениях (в связи с накоплением железа и белка из-за повторного кровотечения). Затемнение на T2-взвешенных изображениях имеет высокую чувствительность - 93%, но низкую специфичность - 45% для диагностики эндометриом, так как такие признаки могут наблюдаться при других геморрагических поражениях придаточного аппарата яичников. Поэтому для специалистов важно найти участки затемнения (признак «темного пятна») на T2-взвешенных изображениях, которые состоят из небольших многочисленных гипоинтенсивных фокусов внутри кисты. Такие очаги свидетельствуют о продолжительном кровоизлиянии и имеют большое значение для дифференциации эндометриом с другими геморрагическими поражениями функционального характера. Еще одной отличительной МР-характеристикой эн-

дометриомы является гипоинтенсивный на T2-взвешенных изображениях периферический ободок, вызванный наличием гемосидериновых макрофагов в пораженной стенке. Выявляются также уровни жидкости, вызванные недавним кровотечением. Около 50% множественных двусторонних эндометриом с наличием спаек вызывают ретракцию яичников, такие яичники образно называют «целующимися». Эндометриомы дифференцируют с геморрагическими кистами (острое развитие, отсутствие признака темного пятна на T2-взвешенных изображениях, разрешение процесса спустя 4-6 недель), тератомами (характерно наличие жировой ткани). Примерно в 20% случаев эндометриом может быть обнаружен узелок с твердой стенкой, подозрительный на злокачественное новообразование яичника, которое легко дифференцировать после внутривенного введения хелата гадолиния, узелки внутри эндометриом обычно не поглощают контрастный препарат и чаще всего являются сгустками крови.

Редко крупные эндометриоидные кисты (диаметр >6 см) могут разрываться в брюшную полость, вызывая перитонит. В данном случае наиболее эффективным способом диагностики является лапароскопия.

Инфицированная эндометриома встречается довольно редко, поэтому в литературе практически нет информации о характерных МР-признаках данной патологии.

Большинство эндометриоидных кист уменьшаются в размерах во время беременности, около 12% эндометриом подвергаются децидуализации. Особенности МРТ децидуализированных эндометриом являются наличие твердых компонентов, сосочковых выростов и внутренних перегородок, что также характерно для пограничных опухолей и рака яичников. Эндометриомы демонстрируют более высокую интенсивность сигнала на T2-взвешенных изображениях, значительно более высокие значения измеряемого коэффициента диффузии (ИКД) и отсутствие повышенного сигнала на диффузионно-взвешенных изображениях со значениями b 1500 с/мм^2 в сравнении с твердыми компонентами карцином яичников. Еще одним отличием эндометриом от новообразований яичников является наличие тенденции к регрессу в ходе последующих исследований.

Наиболее распространенной (до 69,2% случаев) локализацией глубокого эндометриоза являются маточно-крестцовые связки. Данное поражение может проявляться в виде узелковой массы, примыкающей к связке или асимметричного утолщения связки. Чаще встречается в горизонтальной части связки (ближе к шейке матки) и распространяется на экстраперитонеальную ретроцервикальную область, а оттуда в прямую кишку и влагалище. Наблюдается также ретроверсия матки или ректальная ангуляция. Из клинических симптомов отмечают боль в тазовой области и диспареунию [10].

Эндометриоз часто может проявляться ректовагинальной опухолью в пространстве Дугласа - плохо различаемые, твердые, гипоинтенсивные поражения, примыкающие к задней стенке тела матки и шейки матки на T2-взвешенных изображениях. В некоторых случаях МРТ демонстрирует значительное количество железистой ткани и прерывистую фибротическую реакцию с переменным усилением на МР-изображениях, полученных после внутривенного введения хелата гадолиния. Идентификация эндометриоидных желез как маленьких фокусов высокой интенсивности сигнала на T1-и T2-взвешенных изображениях, отражающих подострое кровоизлияние и/или высокую вязкость жидкости,

помогает установить правильный диагноз. Ретроцервикальные поражения могут распространяться на переднюю стенку прямой кишки, вызывая полную или частичную облитерацию пространства Дугласа.

Аденомиоз – это прорастание эндометриальных клеток в пределах миометрия. Наиболее часто при диагностике аденомиоза встречается такой прогностически значимый признак, как наличие утолщения переходной зоны более 12 мм. Толщина менее 8 мм позволяет исключить диагноз, а толщина от 8 до 12 мм может быть расценена как аденомиоз, однако требуется наличие дополнительных признаков: отношение максимальной толщины переходной зоны к толщине миометрия более 40%, относительное локальное утолщение переходной зоны и разница между максимальной и минимальной толщиной переходной зоны как передней, так и задней части матки более чем 5 мм. Необходимо также обратить внимание на слабо выраженные границы зоны перехода, наличие очагов высокой интенсивности сигнала на T2- или T1-взвешенных изображениях и линейную исчерченность на T2-взвешенных изображениях из базальной зоны эндометрия в миометрий. Судя о дифференциальной диагностике, следует уточнить, что распространение поражения за пределы контура матки, непрерывное соединение с соседней эндометриальной бляшкой и визуализация интактной переходной зоны говорят в пользу эндометриоза [1,15,18,27].

Почти у 30% женщин с эндометриозом в процесс вовлекаются фаллопиевы трубы. Эктопическая эндометриальная ткань обычно поражает серозную поверхность трубы; трансмуральное вовлечение является менее частым явлением, однако если такое случается, слизистая оболочка, в основном, остается интактной. Рецидивирующие кровотечения в пределах эктопических желез приводят к образованию спаек, непроходимости и, наконец, к расширению труб. В таких случаях на МРТ определяется расширенная маточная труба с высоким сигналом на T1-взвешенных изображениях в сочетании с подострым кровотечением, вызванным поражением стенки (гематосальпинкс). Гематосальпинкс, по всей вероятности, является результатом ретроградной менструации в уже закупоренной спайками трубе, а не эндометриальных имплантатов в ее стенке.

Если судить об экстрагенитальном эндометриозе, то наиболее распространенной локализацией для него является желудочно-кишечный тракт. Ректосигмовидный отдел толстого кишечника поражается чаще (65,7% случаев), затем следует сигмовидная кишка (19%), наименее часто в процесс вовлекаются подвздошная, слепая кишка и аппендикс с частотой от 1% до 7%, в редких случаях илеоцекальная область может быть единственным пораженным участком. Более половины случаев ректальных поражений являются многоочаговыми. Во время проведения исследований необходимо учитывать, что примерно в 30% случаев поражения прямой и сигмовидной кишки отмечается эндометриоз правой половины ободочной кишки. Типичные результаты МРТ при глубоком ректосигмовидном эндометриозе включают сочетание гипointенсивных участков стенки кишечника на T2-взвешенных изображениях (индуцированный фиброз и мышечная гипертрофия) с гиперинтенсивными слизистой и подслизистой оболочками, выступающими в просвет кишечника, что образно называют «симптом грибной шляпки». Обычно эндометриоз подвздошной кишки поражает ее конечный отдел на расстоянии, приблизительно 10 см от илеоцекального клапана, однако могут выявляться и прок-

симальные поражения. Результаты визуализации включают наличие фиброзных узловых или ретракционных масс низкой интенсивности сигнала на T2-взвешенных изображениях с геморрагическими очагами высокого сигнала или без них на T1-взвешенных изображениях, примыкающих к стенке кишечника [22]. В последнее время появляется все больше работ о значимости МРТ в предоперационной диагностике эндометриоза илеоцекальной области. МРТ способна помочь хирургам отобрать пациентов для наименее радикальных операций: отсутствие мультифокального поражения, небольшие размеры очагов поражения (максимальный диаметр <25-30 мм), отсутствие субмукозной/слизистой инфильтрации, низкий (менее одной трети) процент пораженной болезнью окружности кишечника и достаточное расстояние (>10 см) между эндометриотическим имплантатом прямой кишки и анальным отверстием.

Глубокий тазовый эндометриоз способен также поражать параметрий (распространенность до 14,5% случаев). Дооперационная МРТ может показать нерегулярные повреждения низкой интенсивности сигнала с яркими очагами или без них в парацервикальной или паравагинальной областях на T2-взвешенных изображениях. В случае тяжелого эндометриоза поражение боковых стенок таза на МР-изображениях визуализируются в виде массы, подобной фиброзной ткани, занимающей параметрическое пространство и простирающейся до мышц таза. Дилатация мочеточника считается прямым признаком параметрического поражения. Идентификация эндометриальных имплантатов в пределах параметриальной жировой ткани имеет важное значение для планирования хирургического вмешательства [26].

Поражение мочевыводящих путей встречается почти у 4% пациенток с эндометриозом. Чаще поражается задняя стенка мочевого пузыря (90%). У 50% пациенток с эндометриозом мочевого пузыря в анамнезе имеется предшествующая операция кесарева сечения или другое хирургическое вмешательство. МРТ демонстрирует чувствительность и специфичность равную 68% и 98%, соответственно, при выявлении поражений эндометриозом мочевого пузыря и может выявлять эндометриотическую инвазию даже у пациенток с нормальными цистоскопическими данными и без соответствующей клинической симптоматики. Эндометриоз мочевого пузыря проявляется как узелковое образование низкой интенсивности на T2-взвешенных изображениях с небольшими яркими очагами на задней стенке мочевого пузыря [5].

Эндометриоз мочеточника является достаточно редким заболеванием и составляет 0,1–0,4% эндометриоза мочеполового тракта, чаще поражается адвентиция мочеточника, вовлечение самой стенки происходит реже. У МРТ в данном случае чувствительность выше в сравнении с лапароскопией (91% против 82%), но МРТ менее специфична (59% против 67%). Эндометриотические бляшки с низким сигналом на T2-взвешенных изображениях с очагами яркого сигнала или без них, наличие спаек и дилатация мочеточника, проксимальные к месту обструкции являются характерными МРТ-признаками эндометриоза мочеточника [24].

Брюшная стенка является наиболее распространенным местом внебрюшинно-тазового эндометриоза, что часто связано с предшествующим хирургическим вмешательством; по статистике, у 0,03-0,4% женщин с наличием операции кесарева сечения в анамнезе и у 1,08-2% с предшествующей гистерэктомией, примерно, спустя год после

операции развивается эндометриоз хирургического рубца. Поражения распространены в подкожной жировой клетчатке брюшной стенки, прямой мышце живота и ее оболочке, а также в области пупка. МРТ, в основном, применяется для определения степени заболевания и характеристики поражения. Для постановки диагноза часто требуется тонкоигольная аспирация [21]. Необходимо отметить, что согласно данным S.Wozniak et al. в диагностике эндометриоза брюшной стенки целесообразно также использовать такой метод визуализации как эластография с функцией альфа смешивания (сочетание В-режима и эластографического изображения). Данный метод обладает большей диагностической точностью (87,9%) в сравнении с В-режимом УЗИ (33,3%), что, несомненно, имеет большое значение при планировании хирургического лечения. Одним из преимуществ эластографии является отсутствие зависимости качества визуализации от наличия избыточного веса/ожирения у пациентки [29]. Группа авторов Meng Xie et al. описала роль компрессионной эластографии в распознавании глубины поражения эндометриозом больших рубцов брюшной стенки, что позволяет с высокой точностью планировать радикальность оперативного вмешательства [30].

Эндометриоз влагалища обычно связан с эндометриозом промежности, который является редким явлением (0,3–1% женщин), возникающим, в основном, при наличии эпизиотомического рубца. Эндометриоз свода влагалища описан у женщин с двусторонней овариэктомией и гистерэктомией из-за морцелляции влагалища и матки [11]. Утолщение и потеря низкой интенсивности сигнала задней стенки влагалища на Т2-взвешенных изображениях являются характерными признаками, могут проследиваться геморрагические узелки и/или плохо выраженные фиброзные образования с очагами высокой интенсивности и без них

Эндометриоз печени – редкое заболевание, в литературе описано менее 30 случаев. Эндометриомы печени на МРТ выглядят как комплекс различных твердых и кистозно-геморрагических компонентов. Дифференциальная диагностика эндометриом печени весьма сложна и включает первичные опухоли печени, эхинококковые кисты, метастазы или новообразования слизистой оболочки, которые могут быть гиперинтенсивны на Т1-взвешенных изображениях. Для установления диагноза необходима интраоперационная биопсия замороженного участка [10].

Грудная клетка является наиболее частым внебрюшинным участком экстрагенитального эндометриоза. Ее поражение проявляется так называемым «торакальным эндометриоидным синдромом», включающим наличие эктопической ткани в нескольких грудных структурах: плевре, паренхиме легкого, перикарде или диафрагме. Рентгенологические особенности неспецифичны, поэтому только наличие зависимости симптомов от менструального цикла указывает на правильный диагноз. МРТ является предпочтительным методом диагностики для выявления диафрагмального эндометриоза с чувствительностью 78–83% [23]. Диафрагмальные участки поражения могут быть идентифицированы как гиперинтенсивные очаги, почти всегда затрагивающие правую гемидиафрагму и особенно ее заднюю верхнюю поверхность. Может отмечаться небольшая гиперинтенсивность эндометриальных поражений висцеральной или парietальной плевры на Т1-взвешенных изображениях [2,6].

Эндометриоз центральной нервной системы встречается чрезвычайно редко. Сообщается только об одном слу-

чае поражения мозжечка и двух случаях церебрального эндометриоза, один из которых был связан с наличием вентрикулоперитонеального шунта [14,20]. Во всех трех случаях МРТ демонстрировала кистозное поражение мозга с геморрагическим содержимым. Окончательный диагноз основывался на гистопатологическом исследовании. В литературе описаны случаи эндометриоза с поражением позвоночного канала, твердой мозговой оболочки, спинного мозга и позвонков, во всех этих случаях только с помощью биопсии удалось установить правильный диагноз [4].

Достаточно редко встречаются поражения эндометриозом седалищной ямки (в основном, после эпизиотомии) и седалищного нерва. МРТ является методом выбора при визуализации поражений эндометриозом нервных путей. Седалищный нерв является наиболее склонным к эндометриозу (39%) после нервов пояснично-крестцового сплетения (57%). Прогрессирующая циклическая люмбоишиалгия и гиперинтенсивная масса на Т1-взвешенных изображениях в области пояснично-крестцового сплетения или седалищного нерва, увеличение нерва наряду с гетерогенным усилением на МР-изображениях, полученных после внутривенного введения хелата гадолиния, могут указывать на данный диагноз [14].

2,5% эндометриоидных поражений, чаще расположенных в яичниках (75%), претерпевают злокачественную трансформацию. Интересен тот факт, что согласно статистике, женщины с раком яичников, связанным с эндометриозом, моложе на 10–20 лет и имеют лучший прогноз в сравнении с женщинами с раком яичников без предшествующего эндометриоза. Чаще всего озлокачествляются эндометриоидные кисты. Типичные особенности визуализации злокачественных эндометриом включают: наличие твердых компонентов внутри эндометриоидной кисты (на изображении выглядят усиленными контрастными узлами), толстые внутренние перегородки (>3 мм), увеличение кисты при последовательном наблюдении или исчезновение затенения на Т2-взвешенных изображениях ввиду секреции опухоли, наличия вторичных признаков, таких как асцит или узелки брюшины [17,19].

Выводы. Таким образом, при эндометриозе функциональный эндометрий может быть имплантирован практически в любую ткань, что приводит к значительному разнообразию клинических проявлений, которые, в свою очередь, затрудняют постановку правильного диагноза. МРТ в данном случае не только предоставляет ключевую информацию для диагностики данной патологии, но и помогает в выборе хирургического подхода и планирования междисциплинарной работы врачей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Agostinho L, Cruz R, Osório F, Alves J, Setúbal A, Guerra A. MRI for adenomyosis: a pictorial review. *Insights Imaging*. 2017; 8(6):549–556.
2. Aissa S, Benzarti W, Alimi F, Gargouri I, Salem HB, Aissa A, Benzarti M. Catamenial pneumothorax revealing diaphragmatic endometriosis: a case report and revue of literature. *The Pan African medical journal*. 2017; 27(112).
3. Alborzi S, Rasekhi A, Shomali Z, et al. Diagnostic accuracy of magnetic resonance imaging, transvaginal, and transrectal ultrasonography in deep infiltrating endometriosis. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97(8):e9536.

4. Alimi Y, Iwanaga J, Loukas M, Tubbs RS. The Clinical Anatomy of Endometriosis: A Review. *Cureus*. 2018; 10(9), e3361.
5. Alsinan TA, AlDahleh LA, Alreefi H, Albiabi SA, Alsouss YO, Alshayeb FA, Altaweel WM. Endometriosis of the Urinary Bladder Causing a Right Hydronephrosis: A Case Report. *The American journal of case reports*. 2019; 20:1360–1363.
6. Alzayer H. Pulmonary endometriosis: a rare cause of hydro-pneumothorax. *Respirology case reports*. 2019; 7(6), e432.
7. Amalinei C, Păvăleanu I, Lozneau L, Balan R, Giușcă S, Căruntu I. Endometriosis — insights into a multifaceted entity. *Folia Histochem Cytobiol*. 2018; 56(2):61–82.
8. Bazot M, Daraï E. Diagnosis of deep endometriosis: clinical examination, ultrasonography, magnetic resonance imaging, and other techniques. *Fertility and Sterility*. 2017; 108(6):886–894.
9. Bong JW, Yu CS, Lee JL, Kim CW, Yoon YS, Park IJ, Kim JC. Intestinal endometriosis: Diagnostic ambiguities and surgical outcomes. *World journal of clinical cases*. 2019; 7(4): 441–451.
10. Bourgiotia C, Prezaa O, Panourgiasa E, Chatoupisa K, Antonioua A, Nikolaidoub ME, Mouloupoulosa LA. MR imaging of endometriosis: Spectrum of disease. *Diagnostic and Interventional Imaging* 2017; 98:751—767.
11. Burghaus S, Hildebrandt T, Fahlbusch C, Heusinger K, Antoniadis S, Lermann J, Blum S. Standards Used by a Clinical and Scientific Endometriosis Center for the Diagnosis and Therapy of Patients with Endometriosis. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*. 2019; 79(5):487–497.
12. Czyzyk A, Podfigurna A, Szeliga A, Meczekalski B. Update on endometriosis pathogenesis. *Minerva Ginecol*. 2017; 69:447–61.
13. Evans SF, Brooks TA, Esterman AJ, Hull ML, Rolan PE. / The comorbidities of dysmenorrhea: a clinical survey comparing symptom profile in women with and without endometriosis. *Journal of pain research*. 2018; 11:3181–3194.
14. Foti PV, Farina R, Palmucci S, Vizzini I, Libertini N, Coronella M, Ettorre GC. Endometriosis: clinical features, MR imaging findings and pathologic correlation. *Insights into imaging*. 2018; 9(2):149–172.
15. Graziano A, Lo Monte G, Piva I, Caserta D, Karner M, Engl B, Marci R. Diagnostic findings in adenomyosis: a pictorial review on the major concerns. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2015; 19:1146–1154.
16. Guerriero S, Saba L, Pascual MA, Ajossa S, Rodriguez I, Mais V, Alcazar JL. Transvaginal ultrasound vs magnetic resonance imaging for diagnosing deep infiltrating endometriosis: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018; 51:586–595.
17. Kobayashi H, Yamada Y, Ogawa K, Yoshimoto C. Modern approaches to noninvasive diagnosis of malignant transformation of endometriosis. *Oncology letters*. 2019; 17(1): 1196–1202.
18. Krentel H, Cezar C, Becker S, Di Spiezio Sardo A, Tanos V, Wallwiener M, De Wilde R L. From Clinical Symptoms to MR Imaging: Diagnostic Steps in Adenomyosis. *BioMed research international*. 2017; 1514029.
19. Matsubara S, Kawahara N, Horie A, Murakami R, Horikawa N, Sumida D, Kobayashi H. Magnetic resonance relaxometry improves the accuracy of conventional MRI in the diagnosis of endometriosis-associated ovarian cancer: A case report. *Molecular and clinical oncology*. 2019; 11(3):296–300.
20. Menni K, Facchetti L, Cabassa P. Extragenital endometriosis: assessment with MR imaging. A pictorial review. *Br J Radiol*. 2016; 89(1060):20150672.
21. Mihailovici A, Rottenstreich M, Kovel S, Wassermann I, Smorgick N, Vaknin Z. Endometriosis-associated malignant transformation in abdominal surgical scar: A PRISMA-compliant systematic review. *Medicine*. 2017; 96(49), e9136.
22. Moura A, Ribeiro H, Bernardo WM, Simões R, Torres US, D’Ippolito G, Ribeiro P. Correction: Accuracy of transvaginal sonography versus magnetic resonance imaging in the diagnosis of rectosigmoid endometriosis: Systematic review and meta-analysis. *PloS one*. 2019; 14(8): e0221499.
23. Nezhat C, Lindheim SR, Backhus L, Vu M, Vang N, Nezhat A, Nezhat C. Thoracic Endometriosis Syndrome: A Review of Diagnosis and Management. *Journal of the Society of Laparoscopic Surgeons*. 2019; 23(3), e2019.00029.
24. Palla VV, Karaolanis G, Katafigiotis I, Anastasiou I. Ureteral endometriosis: A systematic literature review. *Indian journal of urology : IJU : journal of the Urological Society of India*. 2017; 33(4):276–282.
25. Rolla E. Endometriosis: advances and controversies in classification, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *F1000Research*. 2019; 8(529).
26. Singh, Sukhbir S. et al. Surgery for endometriosis: beyond medical therapies. *Fertility and Sterility*. 2017; 107(3):549 – 554.
27. Vannuccini S, Petraglia F. Recent advances in understanding and managing adenomyosis. *F1000Research*. 2019; 8(283).
28. Vercellini P, Viganò P, Somigliana E, Fedele L. Endometriosis: pathogenesis and treatment. *Nat Rev Endocrinology*. 2014; 10(5):261–75.
29. Wozniak S, Czuczwar P, Szkodziak P, Wozniakowska E, Milart P, Paszkowski M, Paszkowski T. Elastography Improves the Accuracy of Ultrasound in the Preoperative Assessment of abdominal wall endometriosis. *Ultraschall in Med*. 2015; 36(06): 623–629.
30. Xie M, Zhang X, Zhan J, Ren Y, Wang W. Potential role of strain elastography for detection of the extent of large-scar endometriosis. *J Ultrasound Med* 2013; 32:1635–1642.

SUMMARY

POSSIBILITIES OF MAGNETIC RESONANCE IMAGING IN THE DIAGNOSTICS OF ENDOMETRIOSIS

Bakhtiyarov K., Strogonova V.

Sechenov First Moscow State Medical University, Russia

The purpose of the study was to conduct a systematic review of the literature on the use of MRI in the diagnosis of endometriosis of various localizations.

The review includes research data from the last 7 years. The analysis of modern literature showed that, in comparison with ultrasound, MRI has the widest diagnostic field of view and allows to identify lesions of rather rare localizations (for example: intraspinal endometriosis). It is also necessary to note the high contrast resolution of MRI, which allows the use of this method for accurate preoperative topography of lesions, which in turn determines the radicality of surgical treatment.

Keywords: endometriosis, deep endometriosis, MRI, transvaginal ultrasound, transrectal ultrasound.

РЕЗЮМЕ

ВОЗМОЖНОСТИ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ В ДИАГНОСТИКЕ ЭНДОМЕТРИОЗА

Бахтияров К.Р., Строгонова В.В.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Цель исследования – провести систематический обзор литературы о применении магнитно-резонансной томографии в диагностике эндометриоза различных локализаций. В обзор включены данные исследований за последние 7 лет. Анализ современной литературы показал, что магнитно-резонансная томография (МРТ) в сравнении с ультразвуковым исследованием обладает наиболее широким диагностическим полем зрения и позволяет выявить очаги поражения достаточно редких локализаций, например: интраспинальный эндометриоз. Необходимо отметить также высокое контрастное разрешение МРТ, позволяющее использовать данный метод для точной дооперационной топографии очагов поражения, что, в свою очередь, определяет радикальность хирургического лечения.

რეზიუმე

მაგნიტურ-რეზონანსული ტომოგრაფის შესაძლებლობა ენდომეტრიოზის დიაგნოსტიკაში

კ. ბახტიაროვი, ვ. სტროგანოვა

მოსკოვის ი.სეჩენოვის სახელობის პირველი სამედიცინო უნივერსიტეტი, მეანობის, გინეკოლოგიისა და პერინატოლოგიის კათედრა; “საოჯახო სამედიცინო ცენტრების ქსელი”, მოსკოვი, რუსეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენს სხვადასხვა ლოკალიზაციის ენდომეტრიოზის დიაგნოსტიკაში მაგნიტურ-რეზონანსული ტომოგრაფის გამოყენების შესახებ თანამედროვე სამეცნიერო წყაროების მიმოხილვა. მიმოხილვა მოიცავს ბოლო 7 წლის კვლევის მონაცემებს. თანამედროვე ლიტერატურის ანალიზმა აჩვენა, რომ ულტრაბგერით კვლევასთან შედარებით მაგნიტურ-რეზონანსულ ტომოგრაფიას (მრტ) გააჩნია ფართო სადიაგნოსტიკო დიაპაზონი და დაზიანებული კერების იშვიათი ლოკალიზაციის გამოვლენის საშუალება, მაგალითად ინტრასპინალური ენდომეტრიოზი. აუცილებელია აღინიშნოს მრტ-ს მაღალი კონტრასტული რეზოლუცია, რაც იძლევა ამ მეთოდის გამოყენების საშუალებას დაზიანებების ზუსტი წინასაოპერაციო ტოპოგრაფიისთვის, რითაც უზრუნველყოფს ქირურგიული მკურნალობის რადიკალურობას.

ANALYSIS OF LOCAL IMMUNITY INDICATORS OF THE ORAL CAVITY AND DEGREE OF GINGIVITIS DEPENDING ON MUTATION OF CFTR GENE IN CHILDREN WITH CYSTIC FIBROSIS

Nazaryan R., Tkachenko M., Kovalenko N., Babai O., Karnaukh O., Gargin V.

Kharkiv National Medical University, Ukraine

The topical problem in medicine today is the study of the course of organ pathology on the background of somatic illness and the study of their interconnection and mutual influence. Cystic fibrosis is also considered among the diseases that may contribute to the occurrence of concomitant organ-related complications [8]. Along with the manifestations of violations of the respiratory and digestive systems in cystic fibrosis, the well-known influence of this disease on the development of dental pathology. Patients find catarrhal gingivitis, changes in the biochemical and biophysical properties of the oral fluid, and the disease of the oral mucosa at an early age [21,25].

Significant variation in phenotypic manifestations observed in patients with cystic fibrosis may be due to the influence of numerous factors: the variety of genotypes of the gene of the Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) (over 2000 identified variants of the nucleotide sequence), the influence of gene modifiers and environmental factors, as well as strength treatment [7,15].

The clarification of the leading components of pathogenesis

is a determining factor in the order of adequate treatment. It is known, that the increase in the incidence is associated with disorders in the immune system. Patients with cystic fibrosis are characterized by significant changes in the indicators of humoral and cellular immunity [5,16]. The definition of immune status indicators is an important component of the evaluation of pathogenetic disorders [9,12,23].

It is important to identify the affected part of the immune system and determine the nature of the changes in the latter for the purpose of diagnosis and the choice of personalized therapeutic tactics, in view of the clinical polymorphism of symptoms in conditions of immunodeficiency [13,14]. So, the scientific interest is the research study of the effect of the type of mutation of the CFTR gene on the complex of the disease and morbidity of the course of diseases of the oral cavity organs.

The aim of the work is to assessment of the relationship between the CFTR genotype and the level of local immune reactivity and the degree of gingivitis in children suffering from cystic fibrosis.

Table 1. Indicators of activity of urease and lysozyme degree of dysbiosis in children

Index	Groups according to the type of mutation of the CFTR gene			Main group, n = 30	Control group, n = 23
	1. F508del/F508del n = 5	2. F508del/other n = 15	3. Other/other n = 10		
PMA	43.32±7.19**	52.39±4.92**	44.82±5.66	47.98±3.5†	9.17±2.29†
Lysozyme, units/L	11.40±0.42**	9.97±1.31**	10.21±1.89	10.29±0.3††	15.37±0.29††
Urease, µmole/ min/L	7.50±0.57*/**	10.14±2.06*	9.71±1.85**	9.56±0.37††	4.37±0.15††
Degree of dysbiosis	2.32	3.57	3.36	3.27	1

*, † – the accuracy of the changes ($p < 0,01$) between groups; **, †† – the accuracy of the changes ($p < 0,05$) between groups

Material and methods. There were 53 children aged 2 to 17 years examined for ending the purpose. The main group included children suffering from cystic fibrosis (n=30), whom disease of cystic fibrosis was diagnosed, and their control subjects were their one-year conscripts without concomitant general somatic pathology and had no cystic fibrosis (n=23).

The patient's examination included anamnesis, clinical overview of the oral cavity, the definition of the papillary-marginal alveolar index (PMA) [13], the collection of unstimulated saliva and the determination of urease activity via reaction with urea with the formation of ammonia and lysozyme - bacteriolytic method using as a substrate of a suspension of *Micrococcus lysodeikticus* [6].

The enzymatic method [20] determined the degree of dysbiosis in the oral cavity by the ratio of the relative activity of urease and lysozyme. Levels of secretory immunoglobulin sIgA and immunoglobulins IgA, IgM and IgG were determined for the indicators of the state of local immunity. The research studies carried out on the analyzer "Labline-90" using an HEMA reagent set and the methodology attached to the set [4,18].

The type of CFTR gene mutations patients with cystic fibrosis divided into 3 groups: group 1 – homozygote for the F508 del mutation, group 2 – heterozygotes for the F508 del mutation, group 3 – patients with other types of mutations.

Statistical processing of the results was conducted using generally accepted statistical methods [17], by calculating the arithmetic mean (M) and average errors (m). The reliability of the obtained results was evaluated according to the criterion of reliability of Student. The performance differences between compared groups were considered significant at $p < 0.05$.

Results and their discussion. The system of local immunity of mucosa of the oral cavity depends on both innate and adaptive immunity [13,24]. Sequestration of any element of protection leads to a decrease in colonization resistance and appearance benefits of conditionally pathogenic microorganisms over the normal microbial population.

Periodontics microorganisms play a major role in the development of inflammatory periodontal diseases and determining the activity of the enzyme urease, which they produce, may indicate the degree of microbial contamination of the oral cavity [11].

When comparing the activity of urease was discovered the likely growth in 2,2 times in children with cystic fibrosis compared to the control group (Table 1, Fig. 1). These indexes indicate active bacterial count in the oral cavity. The reason for such violations microbiocenosis may be a reduction in local non-specific resistance [2,3], as evidenced by a significant decrease in 1.5 times of lysozyme activity in the saliva children in the study group (Table 1, Fig. 1).

Another indicator of the sequestration of microbiocenosis of the oral cavity is the degree of dysbiosis. The degree of dysbiosis of the oral cavity of children with cystic fibrosis was 3.7 times higher than in the control group.

The index of the PMA reflects the degree of intensity of gingival inflammation. Assessment index revealed significant differences in the main and control group: 47.98±3.47 and of 9.17±2.29, respectively. In 3 (12.5%) children with cystic fibrosis identified mild degree, in 10 patients (41.7%) – moderate degree, and in 11 (45.8%) – severe chronic gingivitis. The mean value of the PMA index in the main group corresponds to the average degree of gingivitis. In the 1st and 2nd groups according to the type of CFTR gene mutations a greater percentage of severe degree was observed, and in the 3rd group – moderate degree of gingivitis. Average values of the index higher in the 2nd group (Table 1, Fig. 1).

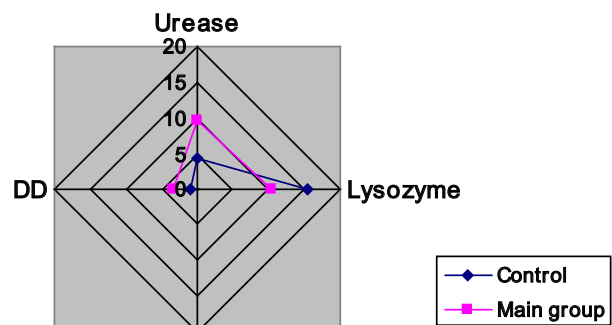


Fig. 1. Comparative characteristics of the activity of urease, lysozyme and the degree of dysbiosis in the oral cavity in patients of the main and the control groups

The analysis of the obtained results depending on the type of CFTR gene mutations showed the differences between homozygous F508 del mutation on the one hand and patients with other types of mutations. For example, despite the fact that the level of urease activity was significantly higher in all groups of patients with the identified mutations in comparison with the control group, patients of the first group it was 1.35 times lower than in the 2nd group and 1.3 times – 3 group (Fig. 2).

Lysozyme activity also differed in patients of the 1st group, namely the reduction compared to the control group was 1.3 times, whereas in the other two groups – 1.5 times. Lysozyme is one of the main factors of nonspecific resistance of the oral cavity [1,10]. In comparison with other groups less significant changes of its activity in patients of the 1st group of more restrained development of dysbiotic disorders in the studied biotope. The degree of dysbiosis in homozygotes was 1.45-1.54 times lower than in patients with other types of mutations (Table 1, Fig. 2).

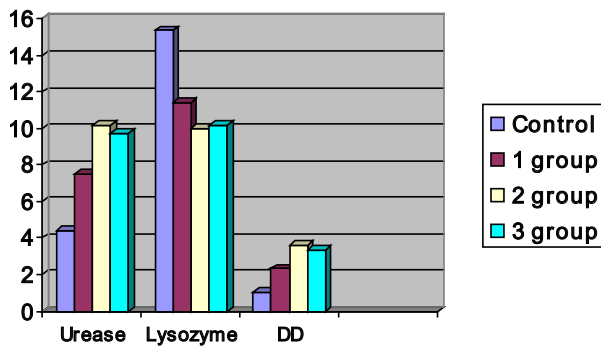


Fig. 2. Comparative characteristics of the activity of urease, lysozyme and the degree of dysbiosis in the oral cavity of patients depending on the type of CFTR gene mutations

These changes of the microbiocenosis of the oral cavity and non-specific reactivity detect a close connection with the hygienic state of the mouth, and inflammatory gum disease [13, 24], as evidenced by the results determine the index of the PMA. Differences in severity of gingivitis between the groups of patients have shown in Fig. 3. There is an increasing of the index PMA 4.7 times in the 1st group, 5.8 times in the 2nd group and 4.9 times in the 3rd group compared to the control group.

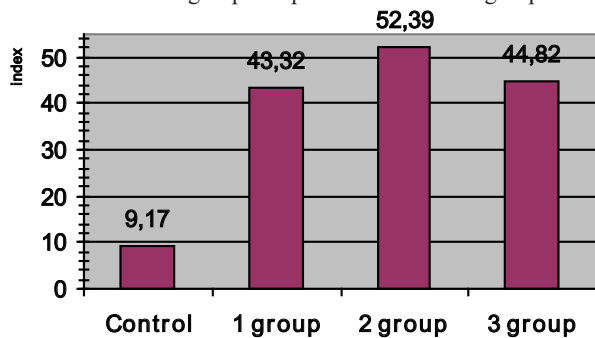


Fig. 3. The severity of gingivitis in the papillary-marginal-alveolar index (PMA) depending on the type of CFTR mutation

Antibody synthesis is an important mechanism to protect the oral cavity against the penetration of microorganisms into the tissue. A significant part of the antibodies of saliva refers to the secretory immunoglobulins, sIgA (90-98%) and IgA, IgG, IgM, IgD, and IgE. Secretory IgA has antiviral and antibacterial properties, and its deficiency reduces the activity of mucosal immunity, leading to the development of inflammatory diseases of the oral cavity [10,22].

According to the definition of level of antibodies in the sa-

liva in children, there are reliable changes in performance of the main group compared to the control group (Table 2). At the same time, in the main group, the sIgA concentration is reduced in 1.4 times, and the concentrations of other antibodies increase, namely IgA, in 2%, IgM and IgG – 1.5 times (Table 2). Reduction of secretory levels of IgA could be caused by the action of bacterial hydrolases, which destroy the dimeric form of sIgA [13,19]. At the same time, the shortage of the specified immunoglobulin is accompanied by a compensatory increase in the level of other antibodies are received through an epithelial barrier in the oral cavity [6,26] (Table 2, Fig. 4).

The determination of different classes of antibodies in the saliva of infected children showed that there is a trend of deeper disorders of mucosal humoral immunity in homozygous F508 del mutation. The content of sIgA in patients of the 1st group reduced to 1.57 times compared with the control group, whereas in the 2nd and 3rd groups of 1.36 and 1.47 times respectively (Fig. 4). Increasing the level of other classes of immunoglobulins slightly lower in patients of the 1st group compared to other groups. Thus, the level of IgG of homozygotes increases to 1.35 times in comparison with the control group, and patients 2nd and 3rd groups – 1.53 and 1.41 times, respectively (Fig. 4).

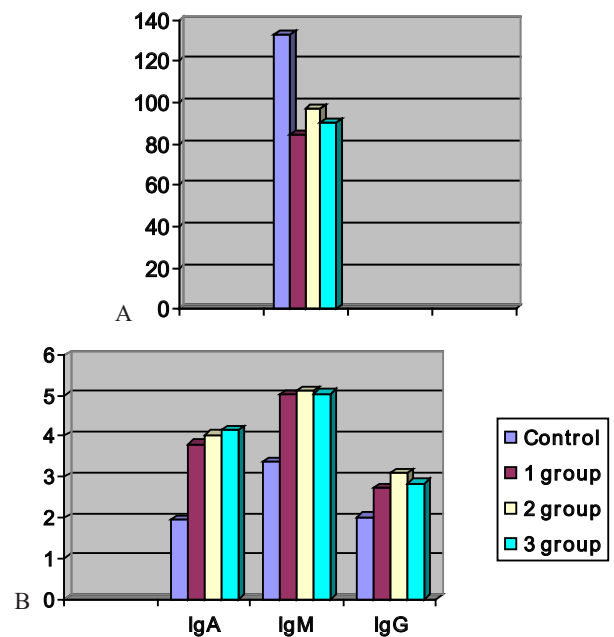


Fig. 4. Comparative characteristics of the content of immunoglobulins in the mixed saliva of children, depending on the type of mutation in the CFTR gene: A – sIgA; B – IgA, IgM, IgG

Table 2. Content of immunoglobulins in the mixed saliva of children in the investigated groups, mg/L

Index	Groups according to the type of mutation of the CFTR gene			Main group, n = 30	Control group, n = 23
	1. F508del/F508del n = 5	2. F508del/other n = 15	3. Other/other n = 10		
sIgA,mg/L	84.25±11.2*	97.08±14.1*	90.13±11.6*	92.62±2.4†	132.5±7.67†
IgA,mg/L	3.81±0.21*	4.04±0.74*	4.15±0.59*	4.04±0.11†	1.94±0.09†
IgM,mg/L	5.01±0.31**	5.12±0.51**	5.04±0.39	5.07±0.08†	3.37±0.11†
IgG,mg/L	2.73±0.21*	3.09±0.32*	2.84±0.37*	2.94±0.06†	2.02 ±0.06†

* , † – the accuracy of the changes (p<0.01) between groups; ** – the accuracy of the changes (p<0.05) between groups

Thus, the obtained results have shown the violation of local immunity of the oral mucosa in children with cystic fibrosis. The development of dysbiosis in the oral cavity of sick children was related with the high level of contamination and the growth of activity of urease and the presence of chronic gingivitis was observed. A less imbalance of the microflora in homozygous F508 del mutation was observed, although specific humoral immunity had more profound changes among these children.

Conclusions. 1. The severity of gingivitis and the degree of dysbiosis of the oral cavity in children with cystic fibrosis are characterized by a significant rise in comparison with the control group. More severe manifestations of periodontal disease were found among children of the 2nd group of heterozygotes for the F508 del mutation of the gene cystic fibrosis transmembrane regulatory protein.

2. Violation of mucosal immunity of oral cavity in children with cystic fibrosis is manifested by decrease of lysozyme activity and secretory immunoglobulin sIgA. Changes of non-specific immunity in the homozygotes of F508 del mutation are less pronounced than in patients with other types of mutations, and humoral factors, on the contrary, more depressed.

REFERENCES

1. Alekseeva V., Lupyr A., Urevich N., Nazaryan R., Gargin V. Significance of Anatomical Variations of Maxillary Sinus and Ostiomeatal Components Complex in Surgical Treatment of Sinusitis. *Novosti Khirurgii*. 2019 Mar-Apr; Vol 27 (2):168-176.
2. Avilova O, Marakushin D, Nakonechna O, Gargin V. Microscopic features of the spleen under the influence of laproxides. // *Georgian Med News*. 2018 Feb; 163-167.
3. Avilova O, Shyian D, Marakushin D, Erokhina V, Gargin V. Ultrastructural changes in the organs of the immune system under the influence of xenobiotics. // *Georgian Med News* 2018; 6(279):132-137.
4. Bau DT, Tsai MH, Lo YL, Hsu CM, Tsai Y, Lee CC, Tsai FJ. Association of p53 and p21(CDKN1A/WAF1/CIP1) polymorphisms with oral cancer in Taiwan patients. // *Anticancer Res*. 2007 May-Jun;27(3B):1559-64.
5. Bruscia EM, Bonfield TL. Cystic Fibrosis Lung Immunity: The Role of The Macrophage. // *J. Innate. Immun*. 2016;8:550-563.
6. Denga O, Pyndus T, Gargin V, Schneider S. Influence of metabolic syndrome on condition of microcirculatory bed of oral cavity. *Georgian Med News*. 2017 Dec;(273):99-104.
7. Gallati S. Disease-modifying genes and monogenic disorders: experience in cystic fibrosis. // *App.l Clin. Genet*. 2014;10(7):133-146.
8. Harrington N, Barry PJ, Barry SM. Dental treatment for people with cystic fibrosis. // *European Archives of Paediatric Dentistry*. 2016;17(3):195-203.
9. Herman K, Kowalczyk-Zajac M, Pytrus T. Oral cavity health among cystic fibrosis patients: Literature overview. // *Adv Clin Exp Med*. 2017 Oct;26(7):1147-1153.
10. Igc M, Mihailovic D, Kesic L, Milasin J, Apostolovic M, Kostadinovic L, Janjic OT. Cytomorphometric and clinical investigation of the gingiva before and after low-level laser therapy of gingivitis in children. // *Lasers Med Sci*. 2012 Jul;27(4):843-8
11. Kaskova LF, Marchenko KV, Berezhnaja EE, Amosova LI. [Dynamics of dental caries' indexes in children with dentoalveolar anomalies under the influence of preventive measures]. [Article in Ukrainian]. // *Lik Sprava*. 2015 Jan-Mar;(1-2):63-7.
12. Kovach I, Buniatian K, Makarevych A, Verbyts'ka A, Gar-

gin V. Influence of tricalcium silicate on course of traumatic pulpitis. // *Georgian Med News*. 2018; 3(276):130-134.

13. Kovach I, Kravchenko L, Khotimska Y, Nazaryan R, Gargin V. Influence of ozone therapy on oral tissue in modeling of chronic recurrent aphthous stomatitis. // *Georgian Med News* 2017; 3(264):115-119.

14. Krivenko LS, Nazaryan RS. Influence of maternal pathology and atopic diseases on development of oral cavity pathology in children. // *Inter Collegas*. 2015; 3(4): 386-391.

15. Kym PR, Wang X, Pizzonero M, Van der Plas SE. Recent Progress in the Discovery and Development of Small-Molecule Modulators of CFTR. // *Prog Med Chem*. 2018;57(1):235-276.

16. Leveque M, Le Trionnaire S, Del Porto P, Martin-Chouly C. The impact of impaired macrophage functions in cystic fibrosis disease progression. // *J Cyst Fibros*. 2017 Jul;16(4):443-453.

17. Myers J.L. Well A.D. *Research Design and Statistical Analysis* (2nd ed.). Lawrence Erlbaum. 2003. p. 508.

18. Nazaryan R, Iskorostenskaya O, Gorenskaya O, Volkova N, Gargin V. Interrelation of the gene 4DKN1A (RS 1801270) polymorphic state and level of development of caries in children with down syndrome. // *Georgian Med News*. 2018; 2(275):112-116.

19. Nazaryan R., Kryvenko L., Gargin V. The role of nitric oxide synthase in the modulation of the immune response in atopic disease. // *New Armenian Medical Journal* 2017; 11(2): 52-57.

20. Nazaryan R.S., Kryvenko L.S. Salivary oxidative analysis and periodontal status in Ukrainian children with atopy. // *Interventional Medicine & Applied Science* 2017; 9(4):199-203.

21. Peker S, Kargul B, Tanboga I, Tunali-Akbay T et al. Oral health and related factors in a group of children with cystic fibrosis in Istanbul, Turkey. // *Nigerian journal of Clinical Practice* 2015;1:56-60.

22. Renvert S, Polyzois I. Treatment of pathologic peri-implant pockets. // *Periodontol* 2000. 2018;76(1):180-190.

23. Ringholz FC, Buchanan PJ, Clarke DT, Millar RG, McDermott M, Linnane B, Harvey BJ, McNally P, Urbach V. Reduced 15-lipoxygenase 2 and lipoxin A4/leukotriene B4 ratio in children with cystic fibrosis. // *Eur Respir J*. 2014 Aug;44(2):394-404.

24. Romaniuk AN, Kuzenko EV, Politun AM, Moskalenko RA. Pathogenesis of periodontal cell DNA damage during periodontitis. // *Georgian Med News*. 2013; 4(217):57-61.

25. Sarvas EW, Huebner CE, Scott JM, Aps JK, Chi DL. Dental utilization for Medicaid-enrolled children with cystic fibrosis. // *Spec Care Dentist*. 2016; 36(6):315-320.

26. Teles RP, Gursky LC, Faveri M, Rosa EA, Teles FR, Feres M, Socransky SS, Haffajee AD. Relationships between subgingival microbiota and GCF biomarkers in generalized aggressive periodontitis. // *J Clin Periodontol*. 2010 Apr;37(4):313-23.

SUMMARY

ANALYSIS OF LOCAL IMMUNITY INDICATORS OF THE ORAL CAVITY AND DEGREE OF GINGIVITIS DEPENDING ON MUTATION OF CFTR GENE IN CHILDREN WITH CYSTIC FIBROSIS

Nazaryan R., Tkachenko M., Kovalenko N., Babai O., Karnaukh O., Gargin V.

Kharkiv National Medical University, Ukraine

The aim of the work was to establish the relationship between the genotype of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR), the level of local immune reactivity and the

degree of chronic gingivitis in children with cystic fibrosis. The study has shown significant differences in the local immunity indices of the oral mucosa and the condition of periodontal tissues in children with cystic fibrosis in comparison with the control group. The features of the course of dental pathology among sick children, depending on the type of CFTR gene mutation are determined. Disturbance of mucosal immunity of the oral cavity in children with cystic fibrosis is manifested by a decrease in lysozyme activity in mixed saliva by 1.5 times and level of secretory immunoglobulins IgA by 1.4 times. A consequence of this is an increase of the degree of dysbiosis of the oral cavity by 3.7 times. At the same time, a lesser imbalance in the microflora and lysozyme activity observed in the homozygote group of the F508del mutation, and heterozygotes of the F508del mutation have the most severe manifestations of chronic gingivitis.

Keywords: local immunity, oral cavity, mutations, CFTR gene.

РЕЗЮМЕ

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МЕСТНОГО ИММУНИТЕТА ПОЛОСТИ РТА И РАЗВИТИЯ ГИНГИВИТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МУТАЦИИ ГЕНА CFTR У ДЕТЕЙ С МУКОВИСЦИДОЗОМ

Назарян Р.С., Ткаченко М.В., Коваленко Н.И.,
Бабай О.Н., Карнаух Е.В., Гаргин В.В.

*Харьковский национальный медицинский университет,
Украина*

Целью исследования явилось определение взаимосвязи между генотипом трансмембранного регулятора проводимости муковисцидоза (CFTR), уровнем локальной иммунной реактивности и степенью хронического гингивита у детей с муковисцидозом. Выявлены существенные различия в показателях местного иммунитета слизистой оболочки полости рта и состояния тканей пародонта у детей с муковисцидозом в сравнении с контрольной группой. Определены особенности течения стоматологической патологии у больных детей в зависимости от типа мутации гена CFTR. Нарушение иммунитета слизистой оболочки полости рта у детей с муковисцидозом проявляется снижением активно-

сти лизоцима в смешанной слюне в 1,5 раза и уровня секреторных иммуноглобулинов IgA в 1,4 раза, следствием чего является увеличение степени дисбактериоза полости рта в 3,7 раза. В то же время меньший дисбаланс микрофлоры и лизоцимной активности наблюдается в гомозиготной группе мутации F508del, а гетерозиготы мутации F508del имеют наиболее тяжелые проявления хронического гингивита.

რეზიუმე

პირის ღრუს ადგილობრივი იმუნიტეტის და გინგივიტის განვითარების მაჩვენებლების ანალიზი CFTR გენის მუტაციაზე დამოკიდებულებით მუკოვისციდოზის მქონე ბავშვებში

რ.ნაზარიანი, მ.ტკაჩენკო, ნ.კოვალენკო, ო.ბაბაი,
ე.კარნაუხი, ვ.გარგინი

*ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი,
უკრაინა*

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ურთიერთკავშირის გამოვლენა მუკოვისციდოზის გამტარობის ტრანსმემბრანული რეგულატორის გენოტიპს (CFTR), ლოკალური იმუნური რეაქტიულობის დონესა და ქრონიკული გინგივიტის ხარისხს შორის ბავშვებში მუკოვისციდოზით. გამოვლენილია მნიშვნელოვანი განსხვავებანი პირის ღრუს ლორწოვანი გარსის ადგილობრივ იმუნიტეტსა და პაროდონტის ქსოვილების მდგომარეობას შორის ბავშვებში მუკოვისციდოზით საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით. განსაზღვრულია დაავადებულ ბავშვებში სტომატოლოგიური პათოლოგიის მიმდინარეობის თავისებურებანი CFTR გენის მუტაციის ტიპისაგან დამოკიდებულებით. მუკოვისციდოზის მქონე ბავშვებში პირის ღრუს ლორწოვანი გარსის იმუნიტეტის დარღვევა ვლინდება ლიზოციმის აქტივობის 1,5-ჯერ დაქვეითებით, სეკრეციული IgA იმუნოგლობულინებისა – 1,4-ჯერ. ამის შედეგად პირის ღრუს დისბაქტერიოზის ხარისხი მატულობს 3,7-ჯერ. მიკროფლორის და ლიზოციმის აქტივობის ნაკლები დისბალანსი აღინიშნება F508del მუტაციის ჰომოზიგოტურ ჯგუფში, F508del მუტაციის ჰეტეროზიგოტებს კი ქრონიკული გინგივიტის უფრო მძიმე გამოვლინება ახასიათებს.

LABORATORY DIAGNOSTICS OF LYME BORRELIOSIS IN CHILDREN WITH TICKS BITES IN TERNOPIIL REGION

Nykytuk S., Klymnyuk S., Levenets S.

I.Ya. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ukraine

Lyme disease (systematic tick Borreliosis, Lyme Borreliosis, chronic erythema migrans) is a naturally-occurring disease caused by *Borrelia burgdorferi*, that manifests by migratory ring-shaped erythema, fever, affection of central and peripheral nervous system, heart and large joints [1]. Cases are registered in a large area of the Eurasian forest and forest-steppe zones, while Western Ukraine, in particular Ternopil region, is a territory endemic for Lyme Borreliosis.

Ixodic tick is the main reservoir of *Borrelia* in nature. 57 settlements of 14 districts of Ternopil region as well as the city of Ternopil were detected as territories of ixodic tick borreliosis [1]. Spring-summer season is typical for primary tick affections that is determined by the period of ticks activity. However, the highest incidence of disease is recorded in Central Europe, Scandinavia and the Baltic countries [5].

It is known that laboratory diagnosis of Lyme Borreliosis is based on the detection of the pathogen itself (bacterioscopy and bacteriological methods of diagnosis) or its DNA in LID, and antibodies to it, first of all using ELISA (serological method) and immunoblot.

The aim of the research is to investigate the frequency of infection by *Borrellia* in children of Ternopil region using the two-stage diagnostic scheme: immune-ferment analysis ELISA in combination with immunoblot.

Material and methods. The study was conducted within the framework of scientific research "Research on epidemiology, pathogenesis, clinics and prevention of Borreliosis", which is a part joint Ukrainian-Polish project under the auspices of the European Union. The tests were performed in the Laboratory of the Center for the Study of Lyme Borreliosis and other ticks infections. The study involved 150 children, residents of Ternopil region, who referred to the Ternopil Regional Children's Hospital with tick bites during 2017-2018. The participants gave answers to the questions of a unified international questionnaire, in which they've noted the number and place of bites of ticks, described ways how ticks were removed, and marked complaints that bothered them after tick bites. Then, after initial physical examination, participants were directed to the laboratory examination.

In the first step, IgM and/or IgG antibodies to *B. burgdorferi* sensu lato were determined by the method of immunoassay analysis using the Euroimmun AG test systems (Germany), specifically antibodies IgM were detected using Anti-*Borrelia burgdorferi* ELISA (IgM), and antibodies IgG – Anti-*Borrelia* plus VlsE ELISA (IgG). The test was performed within one month after tick bite. According to the manufacturer's recommendations, the result ≥ 22 RU/ml was considered positive, from 16 to 22 RU/ml was considered intermediate, the result ≤ 16 RU/ml was negative.

Blood specimens with intermediate and positive results have been confirmed by the method of immune blot: (EUROLINE *Borrelia* RN-AT) according to the recommendations of manufacturer: specifically, IgM antibodies were detected by Anti-*Borrelia* EUROLINE *Borrelia* RN-AT (IgM), an IgG antibody using Anti-*Borrelia* EUROLINE RN-AT (IgG). According to the manufacturer's recommendations, the presence of specific IgM

antibodies was considered positive, intermediate or negative, depending on the combinations of OspC antigens of the three species of *Borrelia* (*B. afzelii*, *B. burgdorferi* s.s. and *B. garinii*), p39 and VlsE Bb. According to the manufacturer's recommendations, the presence of IgG was considered to be positive or negative, depending on the combinations of VlsE antigens of the three species of *Borrelia* (*B. afzelii*, *B. burgdorferi* s.s. and *B. garinii*) and other specific antigens: p18, p19, p20, p21, p58, OspC (p25), p39, p83, Lipid Ba, Lipid Bb.

In carrying out the work, the rules of patient safety, the rights and canons of human dignity, as well as moral and ethical standards in accordance with the main provisions of the GSP (1996), the Council of Europe of the Convention on Human Rights and Biomedicine (04.04.1997), the Helsinki Declaration of the World Medical Association on the ethical principles of carrying out scientific medical research with the participation of a person (1964-2000), the Order of the Ministry of Health of Ukraine No. 281 of the 1st of November, 2000, the Ethics Code of the Ukrainian scientist (2009) were observed." (protocol No.47). dated on the 01th of June, 2019.

Age of the examined children was 1 to 16 years; boys were 82, girls - 68. In 109 (72.6%) children a seamless form of the disease was found, in 41 (27.4%), erythema migrans was diagnosed.

Among 150 examined children, 6 (4.0%) have reported that they had more than 3 tick bites, 120 (80.0%) said about one bite, 4 (2.6%) said about two bites, and 18 (12.0%) persons did not remember about tick bites.

The most frequent places of bites were localized in the area of the head (in 50 (33.3%) cases) and the legs (in 40 (26.7%) persons). Bites in the hands, neck and trunk in the back were mentioned in less cases – accordingly in 12 (8%), 11 (7.3%) and 11 (7.3%) cases. Only 26 (17.3%) patients reported bites in the abdominal area.

Results and their discussion. In 127 (84.6%) of cases ticks were extracted by physicians in the Ternopil Regional Children's Hospital. The same number of respondents indicated disinfection of the bite spot with a disinfectant. The rest of the respondents (5 people) had ticks extracted in another way (twisted tweezers).

The specificity of immunoassay analysis in detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi* is quite high (up to 95.0 %) [9]. Antibodies of at least of one class - IgM and/or IgG to *B. burgdorferi* sensu lato with positive and intermediate indicators were detected in 63 (42 %) of examined. Among them, 24 children (38.1%) had erythema migrans, and 39 (61.9%) had the form of the disease without erythema.

According to scientific researches, *B. burgdorferi* sensu lato was spread in the USA. In Europe, other types of *Borrelia* (5): *B. burgdorferi* sensu strict, *B.garinii* – neutropical (neuroborreliosis), *B.afzelii* – associated with dermato Borreliosis, *B.spielemanni*, *B.bavariensis*, *B. valaisiana*.

As you know, *Borrelia* has 6 outer-surface proteins: OspA-OspF, as well as flagellate proteins, which mostly develop an immune response. If both IgM and IgG antibodies are investigated, using anti-*borrelia*, the search performance grows from 89% to 100% [4].

To detect IgM, a specific line of RN-AT system was formed that contained natural purified OspC antigens of three species of *Borrelia* (*B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* and *B. garinii*), p39 protein, VlsE antigen, and flagella antigen. Its specificity is 97-99% [9].

Patients with erythema migrans (Figure 1) showed an increase in IgM antibodies to P41 in 54.17% of patients and OspC *B. afzelii* in 20.83% while OspC *B. burgdorferi* and *B. garinii* was detected in 12.5% of the respondents, which confirmed the presence of IgM antibodies in 20.8% of children and indicates an acute phase of the disease and it is associated with skin form of borreliosis.

As showed in Fig. 2, an increase in IgG P41 was observed in 83.3% of cases and OspC *B. afzelii* in 62.5%, while OspC *B. burgdorferi* and *B. garinii* were detected in 12.5% of respondents, which confirmed the presence IgG *B. afzelii* in 50% of respondents.

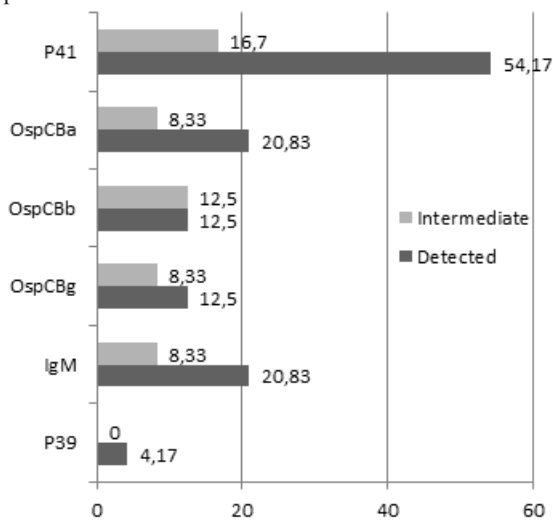


Fig. 1. Frequency of detection of antibodies IgM (%) to antigens of three species of *Borrelia* (*b. burgdorferi*, *b. garinii* and *b. afzelii*) in serum of children with erythema migrans

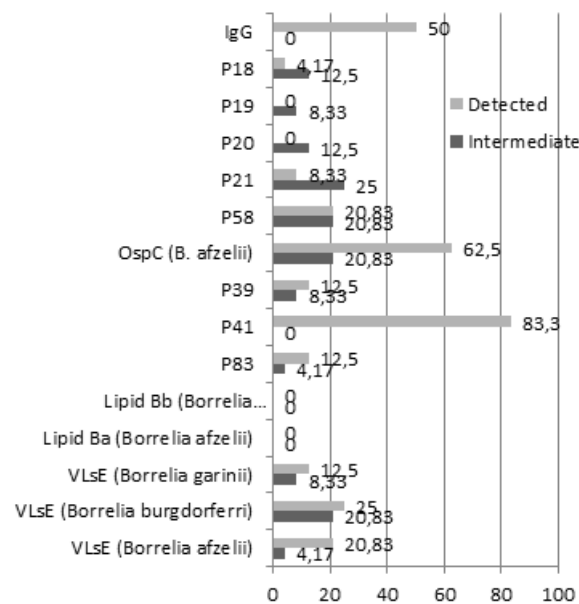


Fig. 2. Frequency of detection of antibodies IgG (%) to antigens of three species of *Borrelia* (*b. burgdorferi*, *b. garinii* and *b. afzelii*) in serum of children with erythema migrans

The highest percentage was in P41 - 10.26%, OspC *B. afzelii* in 7.69% of patients, which confirmed the presence of IgM in 7.69% of patients, while showing a reaction to native OspC *B. burgdorferi* and *B. garinii* at 7, 69 and 2.56% of respondents. P39 was found to be 4.17%, P 21 was 8.33% (Fig. 1,2).

The following investigations in immunoblot (EUROLINE *Borrelia* RN-AT) of antibodies to the complex *B. burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi sensu stricto*, *B. afzelii*, *B. garinii*) showed the availability of positive or intermediate results (according to the presence of *Borrelia*) in children with the form of disease without erythema (Fig. 3,4).

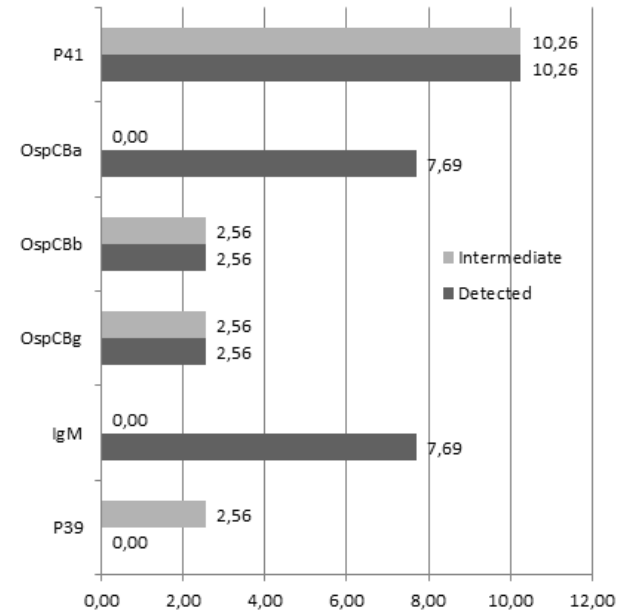


Fig. 3. Frequency of detection of antibodies IgM (%) to antigens of three species of *Borrelia* (*b. burgdorferi*, *b. garinii* and *b. afzelii*) in serum of children without erythema migrans

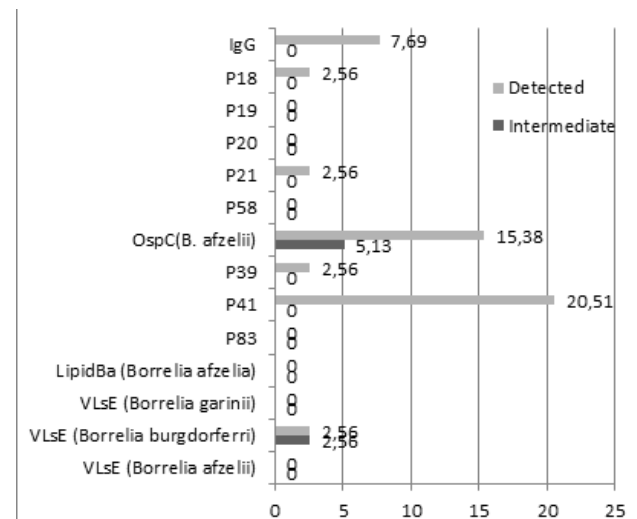


Fig. 4. Frequency of detection of antibodies IgG (%) to antigens of three species of *Borrelia* (*b. burgdorferi*, *b. garinii* and *b. afzelii*) in serum of children without erythema migrans

As can be seen from the data presented in Figure 4, the IgG detection rate to P41 was 20.51%, and against OspC *B. afzelii*

- 15.38%, which confirmed the presence of IgG in 7.69% of patients without erythema form. VlsE B.burgdorferi was found in 2.56% of children, but not B.garinii and B.afzelii.

63 (42.0%) of children were infected with Borrelia among which 24 (38.1%) - with erythema migrans and 39 (61.9%) of responders with the form of disease without erythema.

The results of modern investigations in Lyme Borreliosis are controversial, since these violations often coexist in the clinical aspect and, both independently and collectively, are considered as significant factors in the disturbance of health in people who have suffered because of an attack of ticks [6]. In clinical practice cases of masking for other diseases are described, for example, by the next scientists [2].

Of those who had been diagnosed with early Lyme disease, with 13% who did not have erythema migrans and without rash, 54% of persons had been previously misdiagnosed. Therefore, the problem of clinical verification of these painful conditions, both alone and in aggregate, requires a scientific solution, since the results of many studies can create an understanding of a condition that can go asymptomatic and does not require treatment.

Significantly widespread information about Lyme Borreliosis in public sphere (including the Internet), as well as the uncritical use of diagnostic scales without examination of the presence of symptoms, can lead to a large number of false diagnoses and erroneous prediction of the progressive course of Lyme borreliosis [8,11].

Many researchers point to the benefits of the response of the immunoblot in identifying the diagnosis of Lyme Borreliosis compared to Melenko S.R. [8], namely the effectiveness of Borrelia burgdorferi OspC types [9].

According to the manufacturer's recommendations, the presence of specific IgM is considered to be positive, intermediate or negative, depending on the combinations of OspC-antigens of the three species of Borrelia (B. burgdorferi sensu stricto, B. afzelii and B.garinii [4].

According to the manufacturer's recommendations, the presence of IgG was also considered positive or negative, depending on the combination of VlsE antigens of the three species of Borrelia (B. burgdorferi sensu stricto, B. afzelii and B. garinii) and other specific antigens: p18, p19, p20, p21, p58, OspC (p25), p39, p83, Lipid Ba, Lipid Bb.

According to our data, specific antibodies to OspC antigens of three species of Borrelia (B. burgdorferi sensu stricto, B. afzelii and B.garinii) and prevalence of OspC B.garinii among them have been identified.

According to T. Balmelli, J. C. Piffaretti [3], all three genomes of Borrelia can cause the entire spectrum of clinical manifestations of LB. However, there are reports that B. afzelii is more often associated with skin manifestations, B. garinii - with neurological symptoms and affections caused by B. burgdorferi sensu stricto. mainly associated with arthritis.

Our studies have shown that the frequency of IgG detection to the antigens p41 of the B. burgdorferi sensu lato complex in the serum of the examined children of Ternopil region was 83.3%. It should be noted that antibodies to purified OspC antigens B.afzelii were diagnosed in blood serum of children, where their content varied from 20.83% to IgM to 62.5% IgG). According to the manufacturer's instructions [4], OspC IgM antigen is the most sensitive marker of the early stage of the disease.

The frequency of detection of IgG antibodies to the antigens of the B. burgdorferi sensu lato complex in the serum of children of Ternopil region by the immunoblot method was the fol-

lowing: antibodies to the specific p41 antigen were detected in 83.3% of children with erythema migrans and 54.17% of the seerless form of the disease. It should be noted that antibodies to VlsE Ig G antigens of three species of Borrelia (Fig. 2). (B. afzelii, B. burgdorferi s. And B. garinii) was diagnosed in blood serum of children, where their content reached from 2.56% to 20.83%. It should be noted that antibodies to purified OspC-antigens to Borrelia (B.afzelii) were diagnosed in blood serum of children, where their content ranged from 20.83% in IgM to 62.5% in IgG.

The blood serum antibodies of the migratory and endemic forms of the disease are in the most rare cases were detected in the specific recombinant p19, p20 antigens and immunoreactive lipids from the cytoplasmic boreal membrane (Lipid Bb). As we know, Ig G Lipid Bb is a marker of the late stage of the disease [4]. Doctors must take into account the similar criteria of Lyme's disease when evaluating patients, especially with epidemics, a history to reduce false diagnosis or inadequate treatment of early Lyme disease. Further research is needed to indicate the late manifestations of Lyme disease and quantify the benefits of treatment in this population.

IgG to P41 of the B. burgdorferi sensu lato complex was detected by immunoblot method. Antibodies to VlsE antigens of three species of Borrelia (B. afzelii, B. burgdorferi sensu strictos and B. garinii) were also detected in blood serum of children in Ternopil region, where their content reached to 20.8% (indicating a low percentage of this highly sensitive antigen).

The blood serum of children with erythema migrans and sequestered form of the disease found antibodies to the specific recombinant [7] antigen p19, p20 and immune reactive lipid from the cytoplasmic boreal membrane (Lipid Bb) in the blood serum. Therefore, if you use tests based only on recombinant antigens, you can get false results. If both IgM and IgG antibodies were investigated, using anti-borrelia, the search performance grows from 89% to 100%.

Conclusions.

1. Among 150 examined children, IgM or IgG antibodies to the B. burgdorferi sensu lato complex (B. burgdorferi s.s., B. afzelii and B. garinii) were detected in 63 (42%) cases.

2. Positive or intermediate results Elisa were obtained from 24 (58.5%) respondents with erythema migrans and 39 (57, 2%) with an endemic form of the disease among 150 children of Ternopil region.

3. High levels of IgG was detected in antigens of B. burgdorferi sensu lato complex (up to 83.3%) in blood serum confirmed by the immunoblot of children of Ternopil region, which may indicate a tendency to chronic disease.

4. A high percentage of B. burgdorferi sensu lato infection was detected in 2/3 of 150 children in the region and it was confirmed by ELISA and immunoblot.

REFERENCES

1. Інфекційні хвороби у загальній практиці та сімейній медицині / за ред. М.А. Андрейчина. Тернопіль: ТДМУ, Укрмедкнига: 2007; 500.
2. Aucott J., Morrison C., Munoz B., Rowe P.C., Schwarzwald A., West S.K. (Eds.). Diagnostic challenges of early Lyme disease: lessons from a community case series. BMC Infect Dis 2009; 9:79. . Balmelli T., C. Piffaretti.C. Association between different clinical manifestations of Lyme disease and different species of Borrelia burgdorferi sensu lato. Research in Microbiology 1995; 146(4): 329-340.

4. <https://www.euroimmun.com/fileadmin>
5. Liv Scedermark, Vignir Sigurdsson, Wilhelmina N, Pernilla Wall, Birger Trollfors. Neuroborreliosis in Swedish Children: A Population-based Study on Incidence and Clinical Characteristics. The Pediatric Infectious Disease Journal 2017; 36(11): 1052-1056
6. Melenko S.R. Advantages of reaction of immunoblot during Lyme Borreliosis, Clinical and Experimental Pathology: Ukrainian Scientific and Practical Journal 2016; 3(57): 76-79.
7. Rizzoli A, Hauffe H, Carpi G, Vourc H G, Neteler M, Rosa R. Lyme borreliosis in Europe. Euro Surveill. 2011;16(27): 19906.
8. Shapiro E.D. Lyme disease. N Engl J Med. 2014;370:1724-31.
9. Vuong H.B., Canham C.D., Fonseca D.M. (Eds.). Occurrence and transmission efficiencies of Borrelia burgdorferi ospC types in avian and mammalian wildlife. Infect Genet Evol. 2014; 10(27):594-600.
10. Wilske B1, Fingerle V, Herzer P, Hofmann A, Lehnert G, Peters H, Pfister HW, Preac-Mursic V, Soutschek E, Weber K. Recombinant immunoblot in the serodiagnosis of Lyme borreliosis. Comparison with indirect immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assay. Med Microbiol Immunol. 1993; 182(5): 255-70.
11. Zinchuk, O.M. Nonerythematous forms of lyme-borreliosis: importance of early diagnosis. Scientific herald of Uzhgorod University, series "Medicine" 2008: 34 60–61.

SUMMARY

LABORATORY DIAGNOSTICS OF LYME BORRELIOSIS IN CHILDREN WITH TICKS BITES IN TERNOPIL REGION

Nykytuk S., Klymnyuk S., Levenets S.

I.Ya. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ukraine

Lyme disease (systematic tick Borreliosis, Lyme Borreliosis, chronic erythema migrans) is a naturally-occurring disease caused by Borrelia burgdorferi, that manifests by migratory ring-shaped erythema, fever, affection of central and peripheral nervous system, heart and large joints.

The aim of research was investigation the frequency of infection by Borrelia in children of Ternopil region .

150 children were examined, by interrogation and appropriate laboratory's examination. Age of children was 1 - 16 years old. according to the two-stage diagnostic scheme – Elisa in combination with the immunoblot assay.

Erythema migrans was diagnosed in 27.4% of children, while asymptomatic form of the disease was revealed in 72.6%. 63 (42.0%) of children were infected with Borrelia among which 24 (38.1%) - with erythema migrans and 39 (61.9%) of responders with the form of disease without erythema.

Conclusions.

1. Among 150 examined children, IgM or IgG antibodies to the B. burgdorferi sensu lato complex (B. burgdorferi s.s., B. afzelii and B. garinii) were detected in 63 (42%) cases.

2. Positive or intermediate results were obtained from 24 (58.5%) respondents with erythema migrans and 39 (57, 2%) with an endemic form of the disease among 150 children of Ternopil region.

2. High levels of IgG was detected in antigens of B. burgdor-

feri sensu lato complex (up to 83.3%) in blood serum confirmed by the immunoblot of children of Ternopil region, which may indicate a tendency to chronic disease.

3. A high percentage of B. burgdorferi sensu lato infection was detected in 2/3 of 150 children in the region and it was confirmed by ELISA and immunoblot.

Keywords: lyme disease, borreliosis, neuroborreliosis, ELIS, immunoblot.

РЕЗЮМЕ

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ЛАЙМ БОРРЕЛИОЗА У ДЕТЕЙ, КОТОРЫЕ ПОСТРАДАЛИ ОТ УКУСОВ КЛЕЩЕЙ В ТЕРНОПОЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

Никитюк С.А., Климнюк С.И., Левенец С.С.

Тернопольский национальный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского, Украина

Болезнь Лайма является заболеванием, вызываемым Borrelia burgdorferi, которое проявляется мигрирующей кольцеобразной эритемой, лихорадкой, поражением центральной и периферической нервной системы, сердца и крупных суставов.

Целью исследования явилось определение частоты заражения боррелией у детей Тернопольской области с помощью двухэтапной диагностической схемы иммуноферментного анализа в сочетании с иммуноблотом.

Проведено анкетирование и лабораторное обследование 150 детей в возрасте 1-16 лет.

У 109 (72,6%) детей диагностирована бессимптомная форма заболевания, а у 41 (27,4%) ребенка - мигрирующая эритема. Среди 150 детей 63 (42,0%) инфицированы боррелией, из них 24 (38,1%) - с мигрирующей эритемой и 39 (61,9%) - с безэритемной формой заболевания.

В 63 (42%) случаях обнаружены антитела IgM или IgG к комплексу B. burgdorferi sensu lato (B. burgdorferi s.s., B. afzelii и B. garinii).

Положительные или промежуточные результаты Elisa получены у 24 (58,5%) пациентов с мигрирующей эритемой и у 39 (57,2%) с эндемической формой заболевания.

Высокие уровни IgG выявлены в антигенах комплекса B. burgdorferi sensu lato (до 83,3%) в сыворотке крови, что подтверждено иммуноблотом и указывает на склонность к хроническим заболеваниям.

Высокий процент инфекции B. burgdorferi sensu lato обнаружен у 2/3 из 150 детей в регионе, что подтверждено методом иммуноферментного анализа и иммуноблотом.

რეზიუმე

ლიმას ბორელიოზის ლაბორატორიული დიაგნოსტიკა ტიპების გადინებისაგან დაცულ ბავშვებში ტერნოპილის ოლქში

ს.ნიკიტუკი, ს.კლიმნიუკი, ს.ლევენეცი

ი.გორბაჩევსკის სახ. ტერნოპილის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

ლაიმის (ლიმას) დაავადება, გამოწვეული Borrelia burgdorferi-ით, ვლინდება მигირებადი რგოლისებრი

ერთეული, ცხელებით, ცენტრალური და პერიფერიული ნერვული სისტემის, გულისა და მსხვილი სასხრების დაზიანებით.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ტერნოპილის ოლქში ბავშვების ბორელით დასნებოვნების სისხრის გამოვლენა ორეგაპიანი იმუნოფერმენტული სადიაგნოსტიკო სქემის გამოყენებით იმუნობლოტთან ერთად.

ანკეტებისა და ლაბორატორიული კვლევის ფორმით გამოკვლეული იყო 1-16 წლის 150 ბავშვი. მიგრირებული ერთეული დიაგნოსტიკა ბავშვების 41 (27,4%) ბავშვში, უსიმპტომო ფორმა – 109 (72,6%). 63 (42,0%) ბავშვი დაინფიცირებული იყო ბორელით, მათგან 24 (38,1%) – მიგრირებული ერთეულით, 39 (61,9%) – დაავადების არაერთეული ფორმით.

დადგენილია, რომ:

- გამოკვლეული 150 ბავშვიდან IgM ან IgG ანტი-

სხეულები B. burgdorferi sensu lato- კომპლექსის (B. burgdorferi s.s., B. afzelii და B. garinii) მიმართ გამოვლინდა 63 (42%) შემთხვევაში.

- Elisa-ს დადებითი და შუალედური შედეგები მიღებული იყო 24 (58,5%) რესპოდენტისაგან მიგრირებული ერთეულით, 39 (57,2%) რესპოდენტისაგან - დაავადების ენდემური ფორმით.

- IgG-ს მაღალი მანვენებელი სისხლის შრატში აღმოჩენილია B. burgdorferi sensu lato (83,3%-მდე) კომპლექსის ანტიგენებში, რაც დადასტურდა იმუნობლოტით და დაავადების ქრონიზაციისაკენ მიდრეკილებაზე მიუთითებს.

- რეგიონში B. burgdorferi sensu lato-თი ინფექციის მაღალი პროცენტი დაფიქსირებულია 150 ბავშვის 2/3-ში, რაც დადასტურდა იმუნოფერმენტული ანალიზის და იმუნობლოტის მეთოდების საშუალებით.

PHYSICAL TRAINING IN REHABILITATION OF 10-13 YEARS OLD CHILDREN WITH FRACTURES OF BONES OF THE LOWER THIRD OF FOREARM

¹Gumenyuk S., ¹Hrubar I., ²Hrubar Y., ¹Hrabyk N., ¹Saprun S.

¹V. Hnatyuk Ternopil National Pedagogical University; ²I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ukraine

Among the causes of deterioration of younger generations' health distinguish, first of all, continuous environmental pollution, growing level of children's injuries, imperfection of the health system, hypodynamia, economical and social crises [4,9], «Indicators of traumatic and orthopedic care to the population of Ukraine» (2010-2015).

The high level of traumatism, the 25-30% of which falls on the children's age, unsatisfactory results of treatment, including rehabilitation, lead to the fact that from 18 to 40% of children, which got injuries of the musculoskeletal system (MSS), become disabled people. At the same time disablement from injuries in the general structure ranks the third place [1,15].

The circumstances of injuries occurrence in childhood, as studies showed [7,17], differ significantly from those in which adults can be injured. They, usually, appear during a game and to a greater extent than adults, related to the level of education, age and individual psychological characteristics of children, conditions of their life. The analysis of circumstances of children's injuries shows, that traumatism on 82,5% depends on the so-called «traumatic dangerous object», that is a child, and only on 17,5% from «traumatic dangerous situations» [2,5,11].

Choosing of problems, related with treatment of the consequences of injuries of skeleton system and physical rehabilitation of injured, devoted their researches [6,8,12,16]. However, the most of these works are done on the continent of the working-age population, and just the works [3,13,14] are devoted to the general problems of children's traumatism and the ways of its prevention.

At the same time, factors of the risk of injuries in childhood are insufficiently studied, there are no programs of physical rehabilitation after injuries of MSS.

The real improvement of the situation is possible, on the one hand, due to increasing resistance of the organism to adverse environmental factors through purposeful physical training, on the other hand – through the analysis of causes and factors of risk factors of getting children's injuries and creation of comprehensive preventive measures and programs of physical rehabilitation on this basis for using them in medical and educational institutions and for individual application.

Thus, the relevance of the study is determined by the extent of children's traumatism, negative socio-physiological influence of injury on the future development and livelihoods of the person, insufficient elaborated ways of prevention of children's injuries and physical rehabilitation programs in modern conditions. The purpose of research is to identify causes of occurrence children injuries, to develop and check the efficiency of the physical rehabilitation program on the example of the fractures of bones of the lower third of forearm.

Material and methods. To solve the problems, the following research methods have been used: theoretical analysis and generalization of literary sources and retrospective analysis of statistical materials; pedagogical observations and experiment; medical and biological (clinical: clarifying of complaints, questioning the patient, palpation, determination of the amplitude of joint movements, measurement, determination of functional state of the muscles); special (method of determining the adaptive capacity of a person to the probable effect of an extreme factor, X-ray, laboratory researches and consultations of related professionals) and methods scoring system for evaluating the effectiveness of rehabilitation; statistic processing of the research results.

Children's traumatism stays complicated and ultimately unresolved problem. Despite the preventive measures, the level of

child's injuries remains high. Deficiencies and complications in the process of treatment, inadequate physical rehabilitation leads to the fact that disability due to injuries in childhood takes the third place among the other causes.

In order to establish the fact of receiving injuries at physical training lessons and to determine the attitude of respondents to the problem of injuries in the educational process and their level of knowledge and skills in providing first aid to the victim on the place of the accident the results of the questioning of physical training teachers have been analyzed.

It has been determined that 69,5% of respondents during the lessons of physical training pupils got injuries of MSS. The level of teachers' knowledge about first aid in case of fractures and dislocations should be considered insufficient. Accordingly, 16,7 and 26,4% of respondents could not predict their actions to provide first aid in such situations, and 15,3% consider it impossible to avoid injuries at physical training lessons, even under the conditions of implementation and use of preventive measures.

The analysis of statistical data about children's injuries in the Western regions of Ukraine revealed that, with the stabilization of the general level of child traumatism, changes in its structure have been observed over the last five years. Thus, in 2013 the total level of school injuries in Ukraine was 25,7 cases per 10 000 children, in 2018 it was 29,7 per 10 000 children.

To identify kinds of traumatism, causes, frequencies and localization of injuries of junior and middle school age children there have been studied medical cards of patients, which were treated stationary in the orthopedic-traumatological department of the Ternopil Regional Communal Children's Clinical Hospital and ambulatory cards of children that had MSS injuries and were treated at the children's outpatient polyclinic.

The number of school traumatism indices in Ternopil region is the lowest than in the state in general, that is explained by a lower total number of children and unfavorable demographic situation in the region. However, it also has a tendency to increase. Thus, the level of school injuries in the region in 2013 was 9,6 cases per 10 000, and in 2018 it increased to 11,7 cases per 10 000 children.

In order to detect the structure of traumatism of junior and middle school age children 484 persons with MSS injuries (348 boys and 136 girls) were examined. The highest number of injuries among boys and girls was registered at the age of 10-13 years with a peak of injuries in 12-year-old children. According to the type of injuries, street and school traumatism predominated. In this case, boys can be injured on average 2,8 times more often than girls. The study of the nature of injuries and the localization of injuries in this group of children have been found that bone fractures predominated over other injuries, and the most often were localized in the lower third of forearm.

Of the total number of examined persons 127 children were injured at school – 86 boys and 41 girls. The most often injuries appeared after school lessons and at physical training classes. Having analyzed in detail time and circumstances, in which injury appeared, we have formed three groups of reasons for emergency school injuries: organizational-methodical (45,17%), sanitary-hygienic (30,75%) and psycho physiological (24,08%). It gave us opportunity to develop and recommend appropriate preventive measures for realization at region schools.

In order to set interconnection between the state of health and the risk of injury, we compared the morphofunctional characteristics of injured and not injured boys and girls. It has been found that children with a low strength index have the highest risk

to get injury: injured boys (IB) – (30,08 – 34,56), injured girls (IG) – (32,3 – 32,96), with lower than middle Robinson index: IB (90,49 – 96,28) and IG (92 – 92,54) and middle as for boys (56,49 – 57,72), and for girls (54,39 – 50,94) life index. This indicates low strength preparedness of injured children, low level of functioning of their cardiovascular system, and, hence, their endurance. The reason of this phenomenon, as our observations have shown, is an insufficient attention to the development of these qualities in the process of physical training of schoolchildren and absence of system of independent physical exercises.

Results and their discussion. Forming experiment was conducted on the basis of the Ternopil Regional Communal Children's Clinical Hospital and Ternopil secondary schools. It was attended by 75 children of 12 years age with the fractures of bones of the lower third of forearm. The experimental group (EG) included 35 children, which got rehabilitation according to our physical rehabilitation program. The control group (CG) included 40 children, which got rehabilitation according to the traditional methods.

Classes were conducted individually and in a small group method in stationary conditions of the in-patient department and the cabinet of medical physical therapy of the Ternopil Regional Communal Children's Clinical Hospital. In the process of experiment an observation of the effectiveness of restoration of the functional state of the children's injured forearm of the experimental group compared with the control group have been done.

The rehabilitation program for children with the fractures of bones of the lower third of forearm, which were treated in conservative way, includes three periods (immobilizing, functional, training). Pathogenetically the immobilizing period we divided into preparatory, main and final stages, which formed the basis of the developed and implemented technological scheme for conducting kinesitherapeutic measures in the physical rehabilitation process for children with the fractures of bones of the lower third of forearm, and which took into account the individual characteristics of the child, the type of fracture, the condition of the injured limb, the presence of attendant diseases (Table 1). On this basis, general and specific tasks of each period and stage of physical rehabilitation were also identified.

Prolonged fixation of the upper limb with the fractures of bones of the lower third of forearm leads, at first, to functional, after that to morphological changes in tissues. Important is the fact that during the immobilization period, some muscle groups are forced to be excluded from work, therefore, after removing the plaster band, different muscles are in unequal condition. For this purpose, we offer physical exercises for the recovery of muscles that undergo significant morphofunctional changes during the immobilization period.

Exercise complexes were oriented on a gradual increase in the amplitude of movements in radio-carpal joint, increasing muscle strength and prevention of trophic disorders of the injured segment.

The effectiveness of the experimental program was evaluated by the results of the analysis of clinical and functional indexes of the injured segment of children from experimental and control groups in different terms after the closed reposition of fragments and fixation of the forearm with a plaster bandage.

An important criterion of evaluation the effectiveness of renewing processes at bone fractures is the term consolidation of bone fragments, such as the fracture knitting determines not only the transition from immobilization to functional period of rehabilitation, but also allows to expand the arsenal of rehabilitation means.

Table 1. Technological scheme for conducting kinesitherapeutic measures in the physical rehabilitation process for children with the fractures of bones of the lower third of forearm

Periods	Stages of rehabilitation	Characteristic of the kinesitherapeutic program
Immobilizing	I stage – preparatory First 1–3 days	Preparatory part: complex of exercises: GDE and BE – 1:1 Main part: SE – sending impulses to the traumatized. Duration – 1/3 of total time. Final part: GDE and BE – 1:1. Time of training: 7-10 min. Amount of trainings a day: 2–3 times. Frequency of exercises repetition: 4–6 times
	II stage – main 2–3 weeks	Preparatory part: complex of exercises: GDE and BE – 1:1 Main part: SE – 25%; GDE and BE – 75%. Duration – 1/3 of total time Final part: GDE and BE – 1:1. Time of training: 15–20 min. Amount of trainings a day: 3–4 times. Frequency of exercises repetition: 8–10 times.
	III stage – final 3-4 days before removing plaster bandage	Preparatory part: complex of exercises: GDE and BE – 1:1 Main part: SE – 25% (introduction of exercises with gradual loading along the axis of the injured segment); GDE and BE – 75%. Duration – 1/3 of a class Final part: GDE and BE – 1:1. Time of training: 20–25 min. Amount of trainings a day: 3–4 times. Frequency of exercises repetition: 8–10 times. Pedagogical conversations
Functional	2,5–4 weeks	Preparatory part: complex of exercises: GDE and BE – 2:1 Main part: SE and GDE 50%–50%. Duration – 1/2 of a class Final part: BE and GDE – 1:2. Time of training: 25–30 min. Amount of trainings a day: 3–4 times. Frequency of repetition: 8–10 times
Training	After 1,5–2 months from the time of injury	Exercises directed on the elimination of remained effects after the injury suffered in the form of a slight limitation of movements, reduced muscle strength and tone. Children trained in the main medical group with reservations on exercises with weights, in the hinges, stops, pull-ups during this period

notes: GDE – general developing exercises, SE – special exercises, BE – breathing exercises

Consolidation of bone fragments at the time of removing plaster bandage occurred in 91,4% of children from EG and in 77,5% of children from CG, slow consolidation have been detected in 8,6% of children from EG and in 22,5% of children from CG. The reasons of slow consolidation were secondary displacement of bone fragments that required the repositioning of fragments and longer fixation with plaster bandage. A month after the removing plaster bandage a consolidation of the fracture was achieved for all children of the EG, in 7,5% of children from CG the complete knitting did not happen. 2 months after the removing plaster bandage in all children from EG and CG fractures have knitted.

According to the point system of evaluation the results of consolidation of bone fragments both in the experimental and in the control groups of children positive results have been received. However, the number of children with a slowed consolidation of the fracture in the EG was 3 times smaller, than in the CG. Therefore, our proposed program of physical rehabilitation has a positive effect on the process of forming and modeling of bone callus, and differentially selected according to periods and stages of the rehabilitation physical exercises, help to prevent secondary displacement of bone fragments.

Among the clinical indicators, the pain syndrome was taken into account, such as it largely determines the functional results of rehabilitation. Pain in radio-carpal joint, which was becoming stronger because of the moving with low physical activity, at the time of removing plaster bandage, was found in all children of EG and CG, and that was assessed by us as unsatisfactory result. A month after removing plaster bandage and rehabilitation unsatisfactory results in EG were 8,6%, in CG – 17,5%, satisfactory results have been reached in 40% of children from EG and 52,5% from CG. At the same time good results have

been reached in 51,4% of EG and in 30% of CG. 2 months after the removing plaster bandage in all children of the EG good and satisfactory results have been achieved, and in CG unsatisfactory result were 7,5%. Thus, the results of the research show that in the liquidation of pain syndrome classes of physical rehabilitation program developed by us are more effective, than traditional ones.

Renewing of the whole amount of movements in joints of injured segment is not just important indicator rehabilitation effectiveness, but also determines the functional ability of the upper limb. Analyzing the dynamics of renewing the amount of movements of the radio-carpal joint (Fig. 1, 2, 3, 4), we have found that at the time of removing plaster bandage in EG and CG of children was observed a significant limitation of all types of movements. At the same time, it should be noted that the initial amount of the radio-carpal joints of children from EG was somewhat higher, than in CG. A month after removing plaster bandage good results in renewing palmar flexion have been achieved in 82,8% of children from EG, rear – in y 74,3%, radio-elbow deviation – in 65,7%, supination and pronation movements – in 68,6%. In CG these indexes were lower and made up accordingly 65,0, 57,5, 40,0 and 35,0%.

The advantage of effectiveness of experimental program can be noticed even after 2 months. For all children of EG we have achieved good and satisfactory results in the renewing of these types of movements, in CG unsatisfactory results have ranged from 7,5 to 12,5%. It should be noted that renewing of amplitude of radio-elbow deviation and supination and pronation movements during the whole period of rehabilitation have occurred slower in both groups, but for children from EG these indexes were higher.

The important indicator of renewing function of the injured limb is functional state of muscles, which we evaluated for their

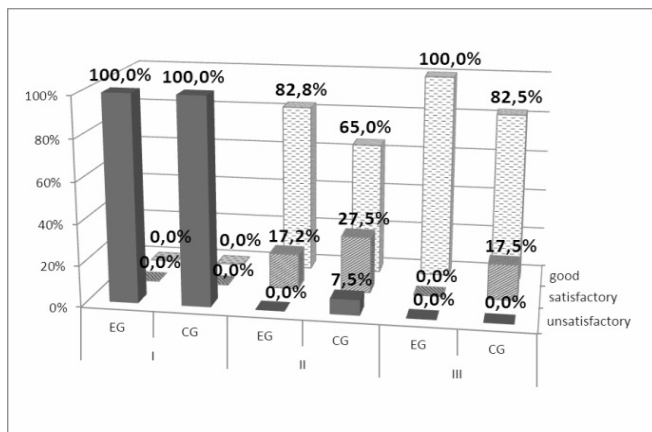


Fig. 1. Renewing palmar flexion among children from EG and CG in the process of rehabilitation

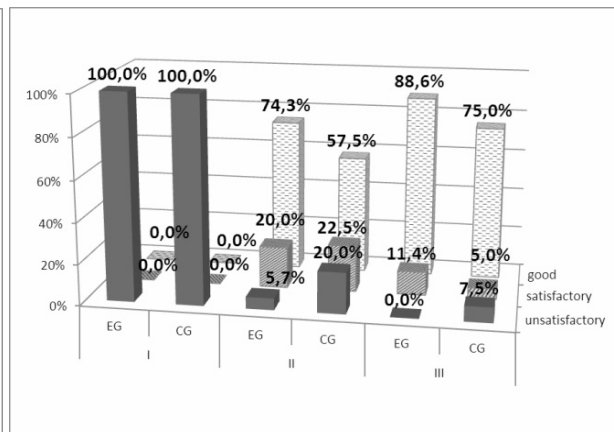


Fig. 2. Renewing rear flexion among children from EG and CG in the process of rehabilitation

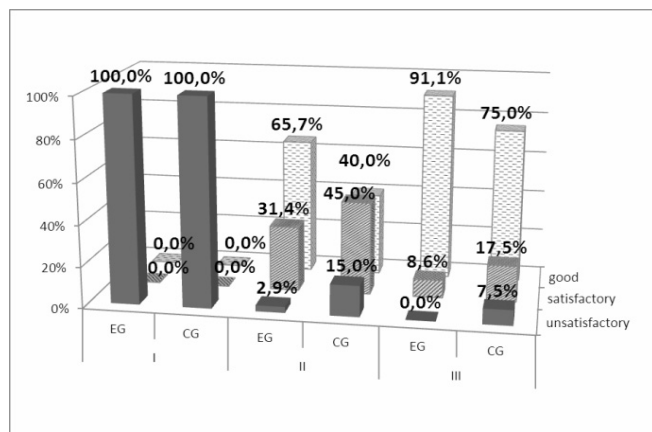


Fig. 3. Renewing amplitude of movements of radio-elbow deviation in EG and CG of children in the process of rehabilitation

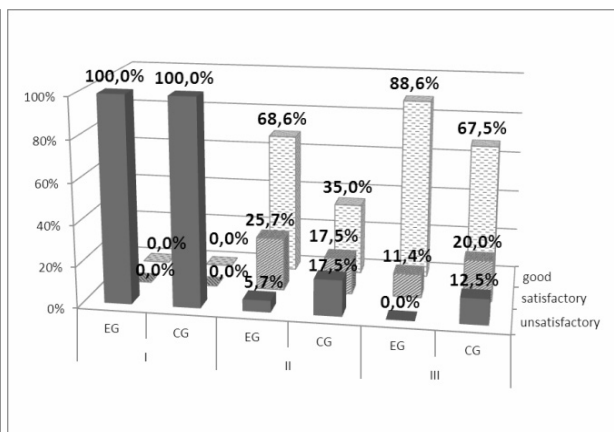


Fig. 4. Renewing amplitude of supination and pronation movements in EG and CG of children in the process of rehabilitation

notes: I – at the time of removing plaster bandage; II – 1 month after removing plaster bandage; III – 2 months after removing plaster bandage

atrophy, strength and tone. At the moment of removing plaster bandage in all children the results under studied indexes were unsatisfactory (due to the point assessment system). A month after removing plaster bandage in 65,7% of children from EG the perimeter of the upper third of the injured forearm was approaching indexes healthy one. In 25,7% satisfactory results have been established, 8,6% were unsatisfactory. During that time good results in CG have been 52,5%, satisfactory – 32,5%, and 15,0% of children have got unsatisfactory results.

Good indexes of muscle strength of the injured forearm for that time have been reached in 71,4% of children from EG and in 57,5% from CG, satisfactory – accordingly in 20,0 and 25,0% of children. Unsatisfactory results were in 8,6% of children from EG and in 17,5% of children from CG.

In the process of permanent monitoring of the renewing indexes of trophic muscles of children of both groups, it has been found that the slowest renewing has muscle tone. A month later after removing plaster bandage good results according to that index have got 62,9% of children from EG and 52,5% of CG, satisfactory – accordingly 31,4 and 25,0%. Unsatisfactory results were in 5,7% of children from EG and 22,5% of CG.

2 months later after removing plaster bandage in children of

EG there was a positive dynamics according to the renewing indicators of functional muscles state comparing with CG. The effectiveness of our program is confirmed by statistically reliable results of renewing functional state of the injured forearm of the children from EG.

At the time of removing plaster bandage according to all indexes of renewing function of the injured segment in all children of EG and CG were unsatisfactory results of rehabilitation. On the 15-th day 14,28% of children from EG have got satisfactory results, in CG – only 2,5%. A month later 91,43% of children from EG showed good results, satisfactory – 8,57%, unsatisfactory results were not. In CG these results were, accordingly, 57,50, 30,0 and 12,50%. During 2 months of rehabilitation good and satisfactory results have been achieved in EG, whereas unsatisfactory results have got 2,5% of children.

The received data testify that the physical rehabilitation program offered by us has shown its effectiveness already during the first month of training.

Thus, the achieved results of rehabilitation allowed not only to shorten the terms of treatment for children, but also to provide optimal conditions for their renewing for full participation in the process of studying at school and in everyday life.

Conclusions.

1. For the last five years, the general level of children's traumatism in the Western regions of Ukraine remains high and stable, with a slight tendency to increasing. At the same time the structure of children's traumatism changes, the number of cases of street and school types of injuries steadily increases. Among the school-age children, the nature and localization of injuries dominate the upper limb injuries, that is fractures of bones of the lower third of forearm. 12-years-old children get injured the most often.

2. The main reasons of children's school traumatism for nowadays are the following: organizational-methodical (45,17%), sanitary-hygienic (30,75%) and psychophysiological (24,08%). Their analysis allowed to produce and recommend for realization at schools prophylactic measures of organizational (during lessons and after school), methodical, sanitary-hygienic and educational character.

3. In developing the technology of conducting kinesitherapeutic measures in the process of physical rehabilitation of children with the fractures of bones of the lower third of forearm is necessary to form periods and stages of rehabilitation, their general and special tasks, taking into account type and character of fracture, pathological processes, which happen in the injured segment, individual characteristics of a child and the presence of attendant diseases. Complexes of exercises are oriented on the gradual increasing of the amplitude of movements in radio-carpal joint and prevention of disorders of the functional state of muscles of the injured segment.

4. The physical rehabilitation program, developed and implemented by us, has proved its effectiveness both according to clinical and functional indicators. Thus, after 2 months of rehabilitation for all children of EG have been achieved good and satisfactory results in the liquidation of pain, whereas in CG unsatisfactory results were 7,5%. Consolidation of bone fragments at the time of removing plaster bandage occurred in 91,4% of EG and in 77,5% of CG, slow consolidation have been detected in 8,6% of children from EG and in 22,5% of CG. In the process of renewing movements of the radio-carpal joints a month after removing plaster bandage in 82,8% of children from EG have achieved renewing of palmar flexion, 74,3% – rear, 65,7% – radio-elbow deviation, 68,6% – supination and pronation movements. In CG these indexes were accordingly 65% , 57,5%, 40% and 35%.

5. The achievement of good function indexes of injured forearm allowed to reduce the terms of renewing and ensuring to children faster return to study process at school and a full-fledged everyday life.

REFERENCES

1. Bondar S.O. Shkilnyi travmatyzm: osoblyvosti, tendentsii. // Profesiina osvita: problemy u perspektivy, 2018, 14, 49-54.
2. Bondar S.O. Vydy ta struktura lokalizatsii travm, yak peredumova formuvannia zdoroviazberezhvalnykh zasad poperedzhennia dytiachoho travmatyzmu. // Ukraina: Zdorovia natsii, 2018, 2(49), 9-16.
3. Budzyn Vira, Bohdan Kruk, Nataliia Zharska, Ihor Lapychak, Oleksandr Pazychuk. Osoblyvosti metodyky fizychnoi reabilitatsii ditei z travmamy liktovoho suhloba. // Sportyvna nauka Ukrainy 2017; 5(81): 34-40.
4. Bukhanovska T. M., Maltseva L. O., Andreichyn L. V. Stan zdorovia suchasnykh shkoliariv, shliakhy yoho zberezhenia ta polipshennia. // Ukraina. Zdorovia natsii, 2012, 1(21), 44-50.
5. Choi P. M., Wallendorf M., Keller M. S., Vogel A. M. Traumat-

- ic colorectal injuries in children: The National Trauma Database experience. // J Pediatr Surg. 2017. pii: S0022-3468(17)30204-X.
6. Demchenko K., Putrov O. Prohrama fizychnoi reabilitatsii sportyveniv ihrovykh vydiv sportu 20-25 rokiv pislia perelomu promenevoi kistky v typovomu misti u pisliialikarnianomu periodi. Naukovyi chasopys Natsionalnoho pedahohichnoho universytetu imeni M. P. Drahomanova, Kyiv, 2016, Seria 15, Vyp. 3K 1 (70) 16, 359-362.
7. Калмакова Ж.А. Детский травматизм как социальная проблема современного общества // Успехи современного естествознания 2014; 4:37-38.
8. Konokh A. P. Profilaktyka travmatyzmu u studentiv zasobamy fizychnykh vprav. // Naukovyi chasopys NPU imeni M. P. Drahomanova, 2016, 2 (71), 163-165.
9. Moskaliuk Y. V., Sakun N. N. Detskyi travmatyzm – aktualnaia problema soproemennoho obshchestva. // Visnyk NTU «KhPI». Seria.: Okhorona pratsi ta bezpeka zhyttiedialnosti, 2015, 22(1131), 112-114.
10. Mykhalchuk V. M., Bondar S. O. Udoskonalena rehionalna model profilaktyky shkilnoho travmatyzmu. // Ekonomika i pravo okhorony zdorovia, 2018, 2(8), 46-52.
11. Nazarova S.K., Tukhtaieva D. M., Tyllaboieva A. A. Dynamika dytiachoho travmatyzmu ta poperedzhennia rannoi invalidnosti. Molodyi vchenyi, 2016, 8, 417-421.
12. Panasjuk O.O., Baziuk V.D., Hrebik O.V. Profilaktyka travmatyzmu u protsesi zaniat fizychnym vykhovanniam studentskoi molodi. // Visnyk Chernihivskoho natsionalnoho pedahohichnoho universytetu 2016; 136: 160-163.
13. Shyshchuk V.D., Babych V. A., Tomyln L. V. Likuvannia difizychnykh perelomiv kistok peredplichchia u ditei. // Oryhinalni doslidzhennia 2013; 14(6): 67-69.
14. Starchenko A. Iu., Diachenko Yu. L. Profilaktyka travmatyzmu z ditmy starshoho doshkilnoho viku pid chas zastosuvannia innovatsiinykh tekhnolohii na fizkulturnykh zaniattiakh. // Molodyi vchenyi 2016; 11.1(38.1): 96-99.
15. Вечеркин Д.В., Вечеркин В.А., Чопоров О.Н., Гаврилова М. В. Анализ травматизма у детей школьного возраста и пути его профилактики в современных условиях // Системный анализ и управление в биомедицинских системах 2014; 13(3): 691-693.
16. Voichyshyn L., Zhvirblevska V. Otsinka efektyvnosti vprovadzhennia kompleksnoi prohramy fizychnoi reabilitatsii khvorykh pislia perelomiv kistok peredplichchia v typovomu misti. // Visnyk Prykarpatskoho universytetu. Seria fizychna kultura, Ivano-Frankivsk 2015; 21: 156-161.
17. Zaporozhan S. I., Marchenkova N. O., Protsailo M. D., Hoshchynskyi P. V., Krytskyi I. O. Analiz dytiachoho travmatyzmu. // Zdobutky klinichnoi ta eksperymentalnoi medytsyny, 2015; 2: 103-107.

SUMMARY

PHYSICAL TRAINING IN REHABILITATION OF 10-13 YEARS OLD CHILDREN WITH FRACTURES OF BONES OF THE LOWER THIRD OF FOREARM

¹Gumenyuk S., ¹Hrubar I., ²Hrubar Y., ¹Hrabyk N., ¹Saprun S.

¹V. Hnatyuk Ternopil National Pedagogical University; ²I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ukraine

The research is devoted to the problem of rehabilitation of 10-13 years old children with the fractures of bones of the lower

third of forearm by means of physical training. The purpose of the work is to identify factors of injuries emergence in children, creating and checking efficiency of the physical rehabilitation program on the example of the fractures of bones of the lower third of forearm.

The causes of children's school injuries have been analyzed and the following are established: organizational-methodical, sanitary-hygienic and psychophysiological. The methods of evaluating the efficiency of physical rehabilitation of children with the fractures of bones of the lower third of forearm have been developed. There are three periods of physical rehabilitation, which conditionally are divided into: immobilizational, functional and training. The physical rehabilitation program for children with the fractures of bones of the lower third of forearm, the technology of conducting kinesitherapy in the process of physical rehabilitation of children with the fractures of bones of the lower third of forearm and complexes of exercises oriented on a gradual increase of amplitude of movements of radio-carpal joint and prevention of disorders of functional state of the injured segment muscles have been developed and implemented.

The physical rehabilitation program for children with the fractures of bones of the lower third of forearm is based on pedagogical principles, provides appropriate forms (hygienic gymnastic, independent study), methods (gymnastic, gaming, sporting) and ensures adequate pedagogical conditions. It have been produced and recommended preventive measures of organizational (during lessons and after school time), methodical, sanitary-hygienic and educational character for the realization at schools.

Keywords: physical rehabilitation, fractures of bones, lower third of forearm, physical exercises, pupils.

РЕЗЮМЕ

РЕАБИЛИТАЦИЯ ДЕТЕЙ 10-13 ЛЕТ С ПЕРЕЛОМАМИ КОСТЕЙ НИЖНЕЙ ТРЕТИ ПРЕДПЛЕЧЬЯ СРЕДСТВАМИ ФИЗИЧЕСКОГО ВОСПИТАНИЯ

¹Гуменюк С.В., ¹Грубар И.Я., ²Грубар Ю.О.,
¹Грабык Н.Н., ¹Сапрун С.Т.

¹Тернопольский национальный педагогический университет им. В. Гнатюка; ²Тернопольский национальный медицинский университет им. И.Я. Горбачевського, Украина

Исследование посвящено проблеме реабилитации детей 10-13 лет с переломами костей нижней трети предплечья средствами физического воспитания.

Целью исследования явилось выявление факторов возникновения травм у детей, разработка и оценка эффективности программы физической реабилитации на примере переломов костей нижней трети предплечья.

Проанализированы причины детского школьного травматизма: организационно-методические, санитарно-гигиенические и психофизиологические. Разработана методика оценки эффективности физической реабилитации детей с переломами костей нижней трети предплечья. Определены три периода физической реабилитации, которые условно разделены на иммобилизационный, функциональный и тренировочный. Разработана и внедрена программа физической реабилитации детей с переломами костей нижней трети предплечья, технология проведения кинезитерапии

в процессе физической реабилитации детей с переломами костей нижней трети предплечья и комплексы упражнений, ориентированные на постепенное увеличение амплитуды движений в лучезапястном суставе и профилактику расстройств функционального состояния мышц травмированного сегмента.

Программа физической реабилитации детей с переломами костей нижней трети предплечья базируется на педагогических принципах, предусматривает соответствующие формы (гигиеническая гимнастика, самостоятельные занятия), методы (гимнастический, игровой, спортивный) и обеспечивает адекватные педагогические условия. Составлены и рекомендуются для реализации в школах профилактические меры организационного (на уроках и во внеурочное время), методического, санитарно-гигиенического и воспитательного характера.

რეზიუმე

წინამხრის ქვედა მესამედის ძვლების მოტეხილობით 10-13 წლის ასაკის ბავშვების რეაბილიტაცია ფიზიკური აღზრდის საშუალებებით

¹ს.გუმენიუკი, ¹ი.გრუბარი, ²ი.გრუბარი, ¹ნ.გრაბიკი, ¹ს.საპრუნი

¹ტერნოპოლის ვ. განტიუკის სახ. ეროვნული პედაგოგიური უნივერსიტეტი; ²ტერნოპოლის ი.გორბაჩევსკის სახ.ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ბავშვებში ტრავმების განვითარების მიზეზების გამოვლენა, ფიზიკური რეაბილიტაციის პროგრამის შემუშავება და ეფექტურობის შეფასება წინამხრის ქვედა მესამედის ძვლების მოტეხილობის მაგალითზე.

გაანალიზებულია სასკოლო ასაკის ბავშვების ტრავმატიზმის მიზეზები: ორგანიზაციულ-მეთოდური, სანიტარიულ-ჰიგიენური და ფსიქოფიზიოლოგიური. შემუშავებულია წინამხრის ქვედა მესამედის ძვლების მოტეხილობით ბავშვების ფიზიკური რეაბილიტაციის ეფექტურობის შეფასების მეთოდიკა. განსაზღვრულია ფიზიკური რეაბილიტაციის სამი პერიოდი: იმობილიზაციური, ფუნქციური და საწვრთელი. შემუშავებული და დანერგულია წინამხრის ქვედა მესამედის ძვლების მოტეხილობით ბავშვების ფიზიკური რეაბილიტაციის პროგრამა, კინეზოთერაპიის ჩატარების ტექნოლოგია და ვარჯიშების კომპლექსები, ორიენტირებული სხივ-მაჯის სახსარში მოძრაობის ამპლიტუდის თანდათანობით ზრდაზე და ტრავმირებული სეგმენტის კუნთების ფუნქციური მდგომარეობის დარღვევის პროფილაქტიკაზე.

წინამხრის ქვედა მესამედის ძვლების მოტეხილობით ბავშვების ფიზიკური რეაბილიტაციის პროგრამა ეფუძნება პედაგოგიურ პრინციპებს, ითვალისწინებს შესაბამის ფორმებს (ჰიგიენური ტანვარჯიში, დამოუკიდებელი ვარჯიშები), მეთოდებს (ტანვარჯიშული, თამაშის და სპორტული) და უზრუნველყოფს შესაბამის პედაგოგიურ პირობებს. ჩატარებულია და სკოლებში რეალიზებისათვის რეკომენდებულია ორგანიზაციული (გაკვეთილებზე და მათგან თავისუფალ დროს), მეთოდური, სანიტარიულ-ჰიგიენური და აღმზრდელობითი ხასიათის საპროფილაქტიკო ღონისძიებები.

АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПОДРОСТКОВ С НЕВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ МИОКАРДА С УЧЕТОМ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЕРДЦА

¹Головко Т.А., ^{1,2}Шевченко Н.С., ²Богмат Л.Ф., ¹Раковская Л.А., ¹Евдокимова Т.В.

¹Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, медицинский факультет, кафедра педиатрии №2;
²ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», Харьков, Украина

Функциональная напряженность сердечно-сосудистой системы (ССС) в детском возрасте является одной из основных адаптационных реакций организма ребенка к меняющимся условиям внешней среды, росту и половому созреванию. Высокие адаптационные возможности ССС, реализуемые в условиях систематической мышечной деятельности, следует рассматривать как эволюционно закрепленные формы адаптивных реакций. Адаптация, как известно, является составной частью приспособительных реакций человеческого организма на изменение условий среды существования, которая выражается в том, что система, реагируя на изменение отдельных параметров и факторов среды, перестраивается и изменяет свои структурные связи для сохранения функций, которые обеспечивают существование организма в целом. Это обосновывает неизбежное напряжение работы жизнеобеспечивающих систем организма - кровообращения, дыхания, терморегуляции [2,19].

Мышечная деятельность или физическая активность - это любая работа, которую производят скелетные мышцы в результате расхода энергии. При этом, в процессе физической активности в организме меняется гормональный фон. Первым звеном нейрогуморальной регуляции, отвечающим на физическую нагрузку, является активация симпато-адреналовой системы, которая способствует интенсификации деятельности сердечно-сосудистой системы. Результатом регулярных физических нагрузок является увеличение количества функционирующих капилляров, что обеспечивает дополнительную оксигенацию тканей и адекватную реакцию организма на физическую активность, т.е. его адаптацию [2,5,9].

Адаптация к новым условиям среды тесно связана с толерантностью организма к физическим нагрузкам, которую принято оценивать по минимальной физической активности в период анаэробного порога. При неблагоприятных условиях (развитие патологического процесса) отмечается снижение толерантности к физическим нагрузкам, что большинство авторов связывают с формированием субклинической хронической сердечной недостаточности [3,7,18].

Хроническая сердечная недостаточность, в том числе и в детском возрасте, является одной из наиболее актуальных проблем современной кардиологии. Основная масса исследований касается изучения морфофункционального состояния левых отделов сердца, а особенности структуры и функции правых отделов малоизучены. Еще в 1910 году Р. Вернгейм подчеркивал тесную взаимосвязь функционального состояния правого и левого желудочков, обозначив как «межжелудочковое взаимодействие». В отдельных научных работах второй половины XX столетия приведены данные о более высокой чувствительности правого желудочка (ПЖ) к изменениям как внутрисердечной гемодинамики, так и к экстракардиальным влияниям и к колебаниям уровня давления изгнания. На сегодняшний день доказано, что ПЖ обладает более высокими адаптационными возможностями, нежели левый,

за счет более интенсивного функционирования некоторых приспособительных механизмов, а именно, саморегуляторной активности лизосом клеток миокарда [6,8]

В настоящее время наиболее распространенным и доступным методом для выявления патологии ССС является эхокардиография (ЭхоКГ). Это исследование дает возможность оценить как структуру камер сердца, миокарда, так и функциональную способность. При этом остаются неуточненными сосудистые реакции, для оценки которых необходимо проведение функциональных или медикаментозных нагрузочных проб, сложных лабораторных исследований. В ежедневной практике врача-клинициста контроль реакций ССС требует применения более доступных, простых и информативных тестов для возможности определения ее состояния без сложных гисто-биохимических исследований. При этом необходимо исключить гипердиагностику сердечно-сосудистых заболеваний, выявить субклинические нарушения и обеспечить своевременное назначение адекватного лечения [2,4,8].

Проблемной группой пациентов в практике детского кардиолога остаются дети с патологией миокарда невоспалительного генеза. Эти состояния не сопровождаются выраженной клинической симптоматикой, диагностируются зачастую при наличии жалоб общевегетативного характера при обращении к смежным специалистам. При этом остаются дискуссионными вопросы назначения специфического лечения (препараты с антиаритмическим действием, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента). Нередко внимание детского кардиолога и родителей занимают вопросы допустимого уровня физической активности и переносимости нагрузок [1].

Исходя из вышесказанного, целью исследования явился определение адаптационных возможностей сердечно-сосудистой системы у детей с патологией миокарда невоспалительного характера с учетом морфофункциональных показателей правого и левого желудочков сердца.

Материал и методы. Обследовано 62 пациента с патологией миокарда (ПМ) невоспалительного характера, из них 39 (62,9%) мальчиков и 23 (37,1%) девочки, средний возраст - $14,56 \pm 0,24$ лет. Основная группа разделена на 2 подгруппы: 30 (48,39%) пациентов с малыми аномалиями развития сердца (МАРС) и 32 (51,61%) - с различными нарушениями ритма и проводимости (НРП). В подгруппу детей с МАРС вошли пациенты с пролапсом митрального клапана I степени без регургитации либо с регургитацией I степени, пролапсом митрального клапана III степени с регургитацией на нем I-II степени, пролапсом трикуспидального клапана, аномальными хордами в левом желудочке, миксоматозным утолщением створок митрального клапана, расширением выходного тракта правого желудочка и их сочетанием.

Подгруппу с НРП составили дети с синусовой непароксизмальной тахикардией (n=5), синусовой брадикардией (n=5), правожелудочковыми и левожелудочковыми экстрасистолами (n=5), суправентрикулярными экстрасистолами

(n=13), синдромом Вольфа-Паркинсона-Уайта - n=4 тип, из них тип А - один пациент, тип В - три).

Группу контроля составили практически здоровые сверстники (n=41), из них 14 (34,15%) девочек и 27 (65,85%) мальчиков, средний возраст - 14,68±0,36 лет.

Возрастно-половых различий как в основной, так и в группе контроля не выявлено. Сравнение результатов между группами проводилось без разделения по полу.

Клинические диагнозы установлены в соответствии с критериями, указанными в приказе №362 МОЗ Украины «Про затвердження Протоколів діагностики та лікування кардіоревматологічних хвороб у дітей» от 19.07.2005 года.

Морфофункциональное состояние миокарда оценивалось по результатам ультразвукового доплерографического исследования сердца (ЭХО-КГ, Допплер-ЭХО-КГ) в «М»- и «В»- режимах, а также в режиме постоянно-волнового и цветного сканирования конвексным датчиком частотой 5 МГц на аппарате цифровой системы ультразвуковой диагностики SA-8000 Live (фирма "Medison", Корея) по стандартной методике, рекомендованной Ассоциацией ультразвуковой диагностики (США, 2006 год). Структуры сердца сканировались в пяти стандартных отведениях. Линейные и объемные характеристики сердца включали: конечно-систолический размер (КСР) и объем (КСО) правого и левого желудочков, конечно-диастолический размер (КДР) и объем (КДО) обоих желудочков сердца, толщину миокарда (ТМ) как правого, так и левого желудочков, а также массу миокарда левого желудочка (ММлж) и толщину межжелудочковой перегородки (ТМЖП). Для нивелирования их возрастных колебаний рассчитывались индексные показатели (ИКСР, ИКСО, ИКДР, ИКДО).

Функциональное состояние миокарда оценивали по следующим показателям: фракция выброса левого желудочка (ФВлж), фракция выброса правого желудочка (ФВпж), ударный объем левого желудочка (УОлж), ударный объем правого желудочка (УОпж), минутный объем левого желудочка (МОлж), минутный объем правого желудочка (МОпж). Поскольку в расчет ударного объема входит показатель частоты сердечных сокращений, для нивелирования возрастных колебаний, рассчитывался индекс ударного объема левого желудочка (ИУОлж) и индекс ударного объема правого желудочка (ИУОпж) [4,8].

Для изучения толерантности к минимальной физической нагрузке и ее влияния на состояние ССС у детей использован тест шестиминутной ходьбы (ТШХ). Исследование проводилось в первую половину дня в условиях коридора стационарного отделения. В индивидуальном максимально быстром темпе, избегая появления болевых ощущений, одышки, мышечной усталости или тяжести в ногах, головокружения, слабости, пациент ходил в течение 6 минут. Пройденную дистанцию (6minute walked distance) измеряли в метрах. Отслеживали динамику клинического состояния пациента исходно и после пробы, а также регистрировали частоту сердечных сокращений (ЧСС) и артериальное давление (АД), по завершению теста рассчитывали процент прироста ЧСС при минимальной физической нагрузке (% прироста ЧСС) [10,11,14,15].

Для оценки функциональной напряженности сердечно-сосудистой системы до и после ТШХ рассчитывались следующие вегетативные индексы: индекс Аллговера (ИА),

коэффициент выносливости (КВ) по формуле А. Квааса, индекс Робинсона (ИР) или двойное произведение, коэффициент экономичности кровообращения (КЭК) [16,17,19].

Индекс Аллговера (ИА) рассчитывали по формуле:

$$ИА = ЧСС / САД,$$

где ЧСС – частота сердечных сокращений, САД – систолическое артериальное давление (мм.рт.ст.). Этот индекс является главным прогностическим показателем нарушения системы кровообращения и в норме равен 0,5-0,7. Увеличение этого значения указывает на возникновение дефицита кровоснабжения за счет снижения систолического выброса [13].

Коэффициент выносливости (КВ) рассчитывали по формуле А. Квааса:

$$КВ = ЧСС / САД - ДАД,$$

где ЧСС – частота сердечных сокращений, САД – систолическое артериальное давление (мм.рт.ст.), ДАД – диастолическое артериальное давление (мм.рт.ст.). Увеличение данного показателя свидетельствует об ослаблении деятельности сердечно-сосудистой системы, а снижение - об усилении функциональных возможностей ССС [1,13].

Индекс Робинсона (ИР) или двойное произведение определяли по формуле: $ДП = ЧСС \times САД / 100$, где ЧСС – частота сердечных сокращений, САД – систолическое артериальное давление (мм.рт.ст.). Оценка двойного произведения в покое: 75 и меньше – выше среднего; 76–89 – средние значения; 90 и выше – ниже среднего. Он характеризует систолическую работу сердца и косвенно отражает потребность миокарда в кислороде. Если этот показатель снижен в покое, это указывает на то, что сердце работает в экономном режиме, при меньшем потреблении кислорода. Чем больше этот показатель на высоте физической нагрузки, тем оптимальней уровень потребления кислорода, снижение его в ответ на нагрузку может указывать на начало развития коронарной патологии [1,5,13].

Коэффициент экономичности кровообращения (КЭК) определяли по формуле:

$$КЭК = (САД - ДАД) \times ЧСС,$$

где ЧСС – частота сердечных сокращений (количество ударов за минуту), САД – систолическое артериальное давление (мм.рт.ст.), ДАД – диастолическое артериальное давление (мм.рт.ст.). Он характеризует затраты организма на передвижение крови в сосудистом русле. В норме КЭК составляет 2500 – 3000 ед. В соответствии с уровнем КЭК в покое выделяют следующие зоны утомления ССС: I зона – зона полного восстановления КЭК менее 2500 ед; II зона – зона оптимального утомления – 2500 – 3000 ед; III зона – критичная зона – 3000 – 4000 ед; IV зона – опасная зона, когда КЭК более 4000 ед. [1,9].

Для оценки влияния вегетативной нервной системы (ВНС) на показатели деятельности ССС определяли вегетативный индекс Кердо (ВИК), основанный на сопоставлении величин диастолического артериального давления (ДАД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС). При вегетативном равновесии в регуляции сердечно-сосудистой системы ВИК стремится к 0. Значения ВИК с положительным знаком указывает на усиление процессов катаболизма, что характерно для напряженного функционирования с расходом энергетических резервов организма. ВИК с отрицательным знаком свидетельствует о более благоприятном, анаболическом варианте сдвига и более экономном режиме функционирования систем организма [16].

В состоянии покоя определялся также индекс функциональных изменений (ИФИ) системы кровообращения или адаптационный потенциал (АП). АП рассчитывается без проведения нагрузочных тестов и позволяет давать предварительную количественную оценку уровня здоровья обследуемых. АП системы кровообращения определяется по формуле:

$$АП=0,011 \times ЧСС + 0,014 \times САД + 0,008 \times ДАД + 0,009 \times МТ - 0,009 \times Р + 0,014 \times В - 0,27,$$

где ЧСС – частота сердечных сокращений в относительном покое (количество ударов за 1 минуту); САД – систолическое артериальное давление (мм рт.ст.); ДАД – диастолическое артериальное давление (мм рт.ст.); МТ – масса тела (кг); Р – рост (см); В – возраст (лет).

Результаты АП оценивались следующим образом: менее или равно 2,59 у.е. - удовлетворительная адаптация, от 2,60 до 3,09 - напряжение механизмов адаптации, 3,10-3,49 у.е. - неудовлетворительная адаптация, более 3,50 у.е. - срыв механизмов адаптации [1,13].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета прикладных программ SPSS17 (лицензия 4a180844250981ae3dae-s/nSPSS17) на IBM PC Pentium-4. Рассчитывали среднюю арифметическую величину, стандартную ошибку, оценивали расхождение между средними (в случае нормального распределения показателем), критерий t Стьюдента, углового преобразования Фишера; при отсутствии нормального распределения - непараметрический критерий (Вилкоксона-Манна-Уитни).

Результаты и их обсуждение. Измерение линейных и объемных показателей сердца выявило достоверное уве-

личение конечно-систолического размера ЛЖ сердца с достоверным повышением соответствующего объема у детей обеих групп с ПМ, что свидетельствует об общем для всех исследуемых снижении сократительной функции миокарда. Наличие структурных изменений сердца сопровождалось достоверным снижением фракции выброса ЛЖ.

Конечно-диастолический размер у детей с НРП достоверно не отличался от аналогичных параметров детей группы контроля, однако достоверно увеличивался у пациентов с МАРС, что сопровождалось увеличением массы миокарда ЛЖ (таблица 1).

Выявлено достоверное увеличение конечно-систолического размера ПЖ у детей с ПМ, преимущественно, в группе пациентов с МАРС. Анализ величины ФВпж показал отсутствие значимых различий у пациентов по группе в целом, однако отмечалась тенденция к ее снижению у детей с МАРС ($p < 0,1$) и достоверное повышение у пациентов с НРП ($p < 0,05$). Минутный объем как ЛЖ, так и ПЖ достоверно был выше у пациентов с НРП ($p < 0,05$), что можно объяснить достоверным повышением ЧСС у этих детей ($p < 0,001$) (таблица 1).

При проведении ТШХ пройденное расстояние детьми с ПМ достоверно не отличалось от аналогичного показателя здоровых детей (таблица 2). Прирост ЧСС у детей из группы контроля был чрезмерным, что, по всей вероятности, связано с физиологической активацией симпатического отдела ВНС. У пациентов аналогичного возраста с ПМ прирост ЧСС в ответ на нагрузку был достоверно меньше, наиболее низкое его значение отмечено у детей с НРП.

Анализ состояния ВНС с помощью индекса Кердо выявил отсутствие достоверных различий с группой контроля.

Таблица 1. Морфофункциональные показатели левого и правого желудочков сердца у детей с патологией миокарда невоспалительного характера в сравнении с группой контроля ($M \pm m$)

Показатели	Основная группа, n=62	I подгруппа (МАРС), n=30	II подгруппа (НРП), n=32	Группа контроля, n=41
ИКДРлж, см/м ²	2,76±0,04	2,76±0,06	2,79±0,07	2,77±0,05
ИКДОлж, мл/м ²	56,69±1,86	59,53±2,61*	53,75±2,59	55,15±1,53
ИКСРлж, см/м ²	1,79±0,04*	1,79±0,05*	1,80±0,06*	1,70±0,03
ИКСОлж, мл/м ²	20,75±1,04**	21,69±1,49**	19,77±1,46**	16,38±0,53
ИММлж, г/м ²	56,10±1,78	58,40±2,36*	53,73±2,64	53,5±1,30
ТМлж, см	0,64±0,01	0,65±0,01	0,63±0,01	0,63±0,01
ТМЖП, см	0,66±0,01	0,67±0,01	0,64±0,01	0,66±0,01
ФВлж, %	63,90±0,96**	64,59±1,29**	63,25±1,42**	69,69±0,78
ИУОлж, мл/м ²	36,13±1,31	38,49±1,80*	33,75±1,83*	38,91±1,30
МОлж, л/мин	3,97±0,19	4,31±0,29	3,63±0,22*	3,90±0,21
ИКДРпж, см/м ²	1,23±0,03	1,20±0,03	1,26±0,05	1,24±0,04
ИКДОпж, мл/м ²	8,31±0,45	7,99±0,53	8,62±0,73	7,77±0,38
ИКСРпж, см/м ²	0,91±0,03*	0,93±0,06**	0,88±0,03	0,87±0,03
ИКСОпж, мл/м ²	3,27±0,21	3,02±0,24	3,52±0,34*	3,08±0,20
ТМпж, см	0,39±0,02	0,38±0,02	0,40±0,03	0,40±0,01
ФВпж, %	60,05±1,39	56,83±1,84	63,06±1,95*	60,46±1,63
ИУОпж, мл/м ²	5,01±0,33	4,43±0,30	5,58±0,57*	4,65±0,22
МОпж, л/мин	0,73±0,13*	0,67±0,19	0,79±0,18*	0,48±0,03
ЧСС, уд/мин	83,47±2,31**	80,00±3,58*	86,72±2,89**	73,57±1,72

примечание: ** - $p < 0,001$; * - $p < 0,05$; достоверность различий в сравнении с аналогичными показателями группы контроля

Таблица 2. Показатели 6-минутной ходьбы и вегетативного статуса у детей с невоспалительными заболеваниями сердца в сравнении с группой контроля ($M \pm m$)

Показатели	Основная группа, n=62	Подгруппа с МАРС, n=30	Подгруппа с НРП, n=32	Группа контроля, n=41
6MWD, м	507,55±9,78	502,47±13,43	512,23±14,34	519,80±8,84
Прирост ЧСС, %	34,22±3,32*	37,18±5,52*	31,53±3,91**	53,01±4,85
Индекс Кердо	-82,79±2,85	-84,26±3,48	-77,12±3,27	-91,48±3,68
Адаптационный потенциал, у.е.	1,84±0,04**	1,94±0,07**	1,75±0,06**	1,81±0,05

Таблица 3. Показатели функциональной напряженности сердечно-сосудистой системы у детей с невоспалительными заболеваниями сердца в сравнении с группой контроля до и после теста 6-минутной ходьбы ($M \pm m$)

Показатели	Основная группа, n=62		Подгруппа с МАРС, n=30		Подгруппа с НРП, n=32		Группа контроля, n=41	
	До теста	После теста	До теста	После теста	До теста	После теста	До теста	После теста
Коэффициент выносливости	2,01 ±0,08*	2,31 ±0,07	1,97 ±0,15	2,27 ±0,12	2,0 ±0,08*	2,35 ±0,08	1,78 ±0,11	2,17 ±0,13
Индекс Робинсона	86,26 ±2,85	121,56 ±4,32	90,06 ±4,39*	123,18 ±6,29	82,76 ±3,63*	120,08 ±5,04	81,39 ±3,19	114,2 ±8,64
Индекс Аллговера	0,76 ±0,02*	0,97 ±0,02*	0,73 ±0,04	0,94 ±0,03	0,80 ±0,03**	0,99 ±0,03*	0,68 ±0,03	0,88 ±0,03
Коэффициент экономичности кровообращения, ед.	3430,83 ±152,58	5308,23 ±256,38	3569,83 ±240,72	5441,57 ±447,32	3302,96 ±193,00	5185,56 ±277,64	3286,81 ±217,78	5016,88 ±380,38

примечание: ** - $p < 0,001$; * - $p < 0,05$; при сравнении с аналогичными показателями группы контроля

У детей с ПМ индекс Кердо имел отрицательное значение, что свидетельствует об активации парасимпатического отдела ВНС в состоянии покоя, т.е. о более благоприятном, анаболическом варианте сдвига в расходовании энергетических резервов и экономном режиме функционирования систем организма.

Изучение уровня адаптации у детей с ПМ достоверно не отличалось от аналогичного показателя группы сравнения (таблица 3).

Исследование функциональной напряженности ССС показало достоверное повышение показателей КВ до проведения ТШХ у детей с ПМ ($p < 0,05$), преимущественно, в группе с НРП ($p < 0,05$). У детей с аритмиями установлено также достоверное увеличение индекса Робинсона до нагрузки ($p < 0,05$) (таблица 3). Индекс Аллговера достоверно повышался как до проведения ТШХ, так и после него, однако наиболее отчетливо у пациентов с НРП ($p < 0,001$).

КЭК у детей с невоспалительными заболеваниями миокарда достоверно не отличался от аналогичного показателя группы контроля, однако был выше нормативного значения, что указывает на повышение функционирования ССС у всех исследуемых подростков.

Проведенные исследования структурно-функциональных показателей сердца и адаптационных реакций сердечно-сосудистой системы показали, что у детей с патологией миокарда невоспалительного характера происходит ремоделирование сердца и изменение реагирования сердечно-сосудистой системы на нагрузку.

Для основной группы пациентов было характерно снижение сократительной способности миокарда левого желудочка со снижением его фракции выброса. При этом отчетливое снижение систолической функции миокарда ЛЖ

отмечалось как у детей с МАРС, так и с НРП. На фоне снижения силы сокращения у пациентов с МАРС происходит также ремоделирование левого желудочка с увеличением конечно-диастолического объема и массы миокарда.

Глубину процессов ремоделирования сердца и реализацию межжелудочкового взаимодействия отражало состояние правых отделов сердца [8]. У детей с ПМ выявлено достоверное снижение сократительной способности миокарда правого желудочка, а у детей с НРП - увеличение его функциональной активности с достоверным увеличением фракции выброса, минутного и ударного объемов.

Одним из ранних проявлений сердечной недостаточности на доклиническом этапе является снижение толерантности организма к минимальным физическим нагрузкам и напряженность в деятельности ССС с нарушением ее адаптационных возможностей [11].

В настоящее время для изучения толерантности организма к физическим нагрузкам широко используется тест шестиминутной ходьбы (ТШХ). Он нашел применение как у здоровых лиц, так и у пациентов с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями и хроническими заболеваниями дыхательной системы [12,14,15,20,21]. Описано применение ТШХ у детей, лечившихся от онкологических заболеваний [11]. У этих больных отмечается уменьшение пройденного расстояния на фоне выраженной тахикардии и увеличения процента прироста ЧСС в ответ на нагрузку. Это происходит вследствие снижения функциональной способности миокарда у пациентов после перенесенных онкологических заболеваний, а у пациентов с хроническими заболеваниями легких - вследствие снижения оксигенации тканей [12].

У детей с ПМ невоспалительного генеза по данным ТШХ установлено также снижение толерантности к физической

нагрузке. При этом прирост ЧСС у пациентов основной группы был значительно меньше, особенно у детей с НРП, в сравнении со здоровыми детьми.

Как известно, одной из первых в ответ на изменение функции ССС активируется вегетативная нервная система. Простым и широкодоступным методом исследования состояния ВНС является индекс Кедро, который при ее равновесии стремится к 0. При активации симпатического отдела ВНС этот показатель приобретает положительное значение и указывает на напряжение функционирования ССС с расходом энергетических резервов организма. При активации парасимпатического отдела, ИК приобретает отрицательное значение и указывает на более благоприятное функционирование системы кровообращения. В литературе имеются данные об анализе индекса Кедро у пациентов с ортопедической- и с патологией ЖКТ [16,17].

По результатам проведенного исследования установлено, что у детей с патологией миокарда преобладает активация парасимпатического отдела ВНС, что свидетельствует о более благоприятном расходе энергетических запасов организма и экономном режиме функционирования его систем без напряжения механизмов адаптации, о чем свидетельствуют показатели адаптационного потенциала.

Таким образом, у подростков всех исследуемых групп в состоянии покоя отмечается преобладание влияния парасимпатического отдела ВНС. В ответ на минимальную физическую нагрузку у здоровых детей происходит чрезмерный прирост ЧСС, что позволяет судить об активации симпатического отдела ВНС. У подростков с ПМ прирост ЧСС достоверно ниже, что, по всей вероятности, указывает на включение функционального резерва организма в ответ даже на минимальную физическую нагрузку.

С целью оценки функционального резерва организма и расхода его оперативных и стратегических запасов, которые мобилируются на этапах срочной и долговременной адаптации, используются такие показатели, как индекс Аллговера, коэффициент выносливости, индекс Робинсона, коэффициент экономичности кровообращения [1]. В настоящее время чаще данные показатели используются для исследования ССС у спортсменов и у взрослых с различными хроническими заболеваниями, такими как хронические заболевания дыхательной системы и с коронарной патологией, а также у пациентов пожилого возраста с ортопедической патологией [1,5,13]. У них отмечено повышение значений этих индексов и коэффициентов, что указывает на напряженность ССС. У детей данные показатели описаны лишь при патологии зрения и хронических заболеваниях ЖКТ [9,17].

Проведенные нами исследования показали, что у детей с ПМ невоспалительного характера повышение коэффициента выносливости в состоянии покоя свидетельствует о более выраженном снижении функциональных возможностей ССС в ответ на физическую нагрузку. Значительное повышение индекса Робинсона свидетельствует об оптимальном потреблении кислорода у этих детей. В то же время, повышение индекса Аллговера, особенно в группе с НРП, является прогностически неблагоприятным в плане возникновения дефицита кровообращения за счет понижения систолического индекса, а повышение показателей КЭЖ свидетельствует о неэкономном функционировании системы кровообращения в состоянии покоя, особенно в процессе физической нагрузки, так как его уровень находится в опасной зоне утомления.

Таким образом, у детей с патологией миокарда невоспалительного характера отмечается субклиническое снижение функционального состояния ССС, которое требует динамического наблюдения и проведения превентивных мероприятий.

Выводы.

1. У детей с невоспалительной патологией миокарда отмечается снижение систолической функции обоих желудочков, однако у пациентов с МАРС это сопровождается дилатацией полости левого желудочка и увеличением его массы, т.е. его ремоделированием.
2. Субклиническое снижение адаптационных возможностей сердечно-сосудистой системы выявляется в пробах с физической нагрузкой (тест шестиминутной ходьбы).
3. Для оценки функциональных резервов системы кровообращения в организме детей в целом, а также его адаптационных возможностей целесообразно использовать индексы Аллговера, Робинсона и коэффициенты выносливости и экономичности кровообращения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Василенко В. С., Левин М. Я., Антонова И. Н. Факторы риска и заболевания сердечно-сосудистой системы у спортсменов. СпецЛит. 2016; 206.
2. Власова С.В., Нифонтова О.Л. Соколовская Л.В. Адаптация сердечно-сосудистой системы студентов к физическим нагрузкам. Фундаментальные исследования. 2012; 11 (6); 1320-1323.
3. Глазачев О.С., Поздняков Ю.М., Уринский А. М., Забашта С. П. Повышение толерантности к физическим нагрузкам у пациентов с ишемической болезнью сердца путем адаптации к гипоксии-гипероксии. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2014; 13(1); 16-21
4. Головкин Т.А. Адаптационные возможности сердечно-сосудистой системы у детей с патологией миокарда в зависимости от уровня функционирования правого желудочка сердца. Международный журнал педиатрии, акушерства и гинекологии. 2013; 3(1); 27-32.
5. Граевская Н.Д., Долматова Т.И. Спортивная медицина: учебное пособие. Курс лекций и практические занятия. Человек. Россия. 2018; 712.
6. Казанская Т.А., Фролов В.А. Правый желудочек сердца. М.: Российский университет дружбы народов. 1995; 199.
7. Кудря О.Н., Белова Л.Е., Капилович Л.В. Адаптация сердечно-сосудистой системы спортсменов к нагрузкам разной направленности. Вестник ТГПУ. 2012; 356; 162-167.
8. Нарциссова Г.П. Роль правого желудочка в патологии сердечно-сосудистой системы Патология кровообращения и кардиохирургия. 2014; 1; 32-36.
9. Павлова Т.В. Пилькевич Н.Б., Дычко В.В. Изучение реакции сердечно-сосудистой системы на физическую нагрузку у школьников в возрасте 11-14 лет с патологией зрения. Медицинский вестник Юга России. 2017; 1; 70-74.
10. Толмачева С.Р., Богмат Л.Ф., Никонова В.В., Головкин Т.А. Параметры 6-минутного теста ходьбы у подростков с заболеваниями органов кровообращения. Здоровье ребенка. 2014; 8(59); 37 - 40.
11. Чечельницкая С.М., Баербах А.В., Сарайкин Ю.В., Касаткин В.Н., Карелин А.Ф., Жук Д.В., Никулин В.А. Применение теста 6-минутной ходьбы для оценки физической выносливости детей и подростков, лечившихся от онкологических заболеваний // Современные проблемы науки и образования 2018; 6.

12. Чикина С.Ю. Роль теста с 6-минутной ходьбой в ведении больных с бронхолегочными заболеваниями // Практическая пульмонология. 2015; 4; 34-38.
13. Шевченко Н.С., Богмат Л.Ф., Головки Т.А., Демьяненко М.В. Адаптационные возможности сердечно-сосудистой системы у детей с ревматическими заболеваниями и коморбидными состояниями. Патология 2019; 1; 99-105.
14. Casau L.A., de Santana-Filho V.J., Maynard L.G., Gomes M.N., Fernandes M., Carvalho V.O. Reference Values for the Six-Minute Walk Test in Healthy Children and Adolescents: a Systematic Review. Braz. J. Cardiovasc. Surg. 2016; 31(5); 381-388.
15. Chun-An C., Chin-Hao C., Ming-Tai L. Six-Minute Walking Test: Normal Reference Values for Taiwanese Children and Adolescents / C. Chun-An, C. Chin-Hao, L. Ming-Tai // Acta Cardiologica Sinica The official journal of Taiwan Society of Cardiology 2015; 31: 193-201.
16. Martsenyuk V., Vakulenko D., Vakulenko L. Kerdo informative index to determine the level of autonomic regulation at osteochondrosis of the cervical Spine. Electronic Resource. Medical Informatics and Engineering 2013; 1.
17. Miheeva T. N., Popelyuk N.A., Popelyuk M.V. To the question of vegetative background in children with chronic gastroduodenal pathology. Clinical and experimental pathology. 2017; 16(2); 44-48.
18. Molina G.E., Fontana K.E., Porto L.G., Junqueira L.G. Post-exercise heart-rate recovery correlates to resting heart-rate variability in healthy men [Electronic Resource]. Official Journal of the Clinical Autonomic Research Society. 2016; 26(6); 415-421
19. Tsybaliuk Yu.V., Miroshnichenko V.I. Influence of Gymnastics on Physical Fitness and Adaptive Capabilities of Cardiovascular System of 7-8 Years Old Boys. Physical training and Sport. Medical and biological aspects of training athletes. 2018; 3; 231-236.
20. Vandoni M., Correale L., Puci M.V., Galvani C., Codella R., Togni F., La Torre A., Casolo F., Passi A., Orizio C., Montomoli C. Six minute walk distance and reference values in healthy Italian children: A cross-sectional study. PLoS ONE. 2018; 13(10).
21. Watanabe F.T., Koch V.H., Juliani R.C. Six-minute walk test in children and adolescents with renal diseases: tolerance, reproducibility and comparison with healthy subjects. Clinics. 2016; 71; P. 22-27.

SUMMARY

ADAPTIVE CAPABILITIES OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM IN ADOLESCENTS WITH NON-INFLAMMATORY MYOCARDIAL PATHOLOGY, TAKING INTO ACCOUNT MORPHOFUNCTIONAL INDICATORS OF THE HEART

Holovko T., Shevchenko N., Bogmat L., Rakovska L., Yevdokymova T.

¹Kharkiv National University named after V.N. Karazin, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics N2; ²SU "Institute for the Protection of the Health of Children and Adolescents of the NAMS of Ukraine", Kharkov, Ukraine

The aim of the study: to study the adaptive capabilities of the cardiovascular system in children with non-inflammatory myocardial pathologies, taking into account morphofunctional indicators of the right and left ventricles of the heart. Materials and

methods: 62 patients with non-inflammatory myocardial pathology were examined, 30 of them with minor abnormalities of the heart, 32 with various rhythm disturbances. The average age of the subjects was 14.56 ± 0.24 years. The morphofunctional state of the myocardium was assessed by the results of ultrasound Doppler examination of the heart in the "M" and "B" modes. To study the tolerance to minimal physical activity and its effect on the state of the cardiovascular system in children, a six-minute walk test was performed. To assess the functional tension of the cardiovascular system before and after six-minute walk test, the following indices were calculated: Allgauer's index, endurance coefficient by the formula of A. Kwaas, Robinson index, coefficient of blood circulation efficiency. To assess the effect of the autonomic nervous system on the performance of the cardiovascular system, the Kerdo Vegetative Index was determined. At rest, the index of functional changes of the circulatory system, or adaptive potential was also determined. As a result of the study, it was noted that children with non-inflammatory heart diseases showed a decrease in systolic myocardial function of both ventricles. In patients with minor abnormalities of the heart, this is accompanied by the formation of dilatation of the left ventricular cavity and an increase in myocardial mass. As a result of the study, it was noted that in children with non-inflammatory heart diseases, a decrease in systolic myocardial function of both ventricles is noted. In patients with MARS, this is accompanied by myocardial remodeling with dilatation of the left ventricular cavity and an increase in myocardial mass. Subclinical decline in functionality is detected in samples with physical activity (six-minute walk test). At the same time, to assess the functional reserves of the circulatory system and the child's body as a whole, as well as its adaptive capabilities, it is advisable to use the Allgauer, Robinson indices, endurance coefficient and efficiency of blood circulation.

Keywords: adaptive abilities, cardiovascular system, children, non-inflammatory heart diseases.

РЕЗЮМЕ

АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПОДРОСТКОВ С НЕВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ МИОКАРДА С УЧЕТОМ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЕРДЦА

¹Головки Т.А., ²Шевченко Н.С., ²Богмат Л.Ф., ¹Раковская Л.А., ¹Евдокимова Т.В.

¹Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, медицинский факультет, кафедра педиатрии №2; ²ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины», Харьков, Украина

Цель исследования - изучение адаптационных возможностей сердечно-сосудистой системы у детей с патологией миокарда невоспалительного характера с учетом морфофункциональных показателей правого и левого желудочков сердца.

Обследовано 62 пациента с патологией миокарда невоспалительного генеза, 30 из них с малыми аномалиями развития сердца, 32 - с различными нарушениями ритма. Средний возраст исследуемых составил $14,56 \pm 0,24$ лет. Морфофункциональное состояние миокарда оценивалось по результатам ультразвукового доплерографического исследова-

ния сердца в «М»- и «В»- режимах. Для изучения толерантности к минимальной физической нагрузке и ее влияния на состояние сердечно-сосудистой системы у детей проводился тест шестиминутной ходьбы. Для оценки функциональной напряженности сердечно-сосудистой системы до и после теста шестиминутной ходьбы рассчитывались: индекс Аллговера, коэффициент выносливости, индекс Робинсона, коэффициент экономичности кровообращения. Для оценки влияния вегетативной нервной системы на показатели деятельности сердечно-сосудистой системы определяли вегетативный индекс Кердо. В состоянии покоя определялся индекс функциональных изменений системы кровообращения или адаптационный потенциал. В результате исследования

выявлено, что у детей с невоспалительными заболеваниями сердца отмечается снижение систолической функции миокарда обоих желудочков. У пациентов с малыми аномалиями развития сердца это сопровождается ремоделированием миокарда с дилатацией полости левого желудочка и увеличением его массы. Субклиническое снижение функциональных возможностей выявляется в пробах с физической нагрузкой (тест шестиминутной ходьбы). Для оценки функциональных резервов системы кровообращения и организма детей в целом, а также его адаптационных возможностей целесообразно использовать индексы Аллговера, Робинсона и коэффициенты выносливости и экономичности кровообращения.

რეზიუმე

მიოკარდიუმის არაანთებითი პათოლოგიით მოზარდების გულ-სისხლძარღვთა სისტემის ადაპტაციური შესაძლებლობები გულის მორფოფუნქციური მაჩვენებლების გათვალისწინებით

¹ტ.გოლოგო, ²ნ.შეფენკო, ³ლ.ბოგმატი, ¹ლ.რაკოვსკაია, ¹ტ.ველოკიმოვა

¹ხარკოვის ვკარაზინის სახ. ეროვნული უნივერსიტეტი, მედიცინის ფაკულტეტი, პედიატრიის №2 კათედრა;
²უკრაინის ბავშვთა და მოზარდთა ჯანმრთელობის დაცვის ინსტიტუტი, ხარკოვი, უკრაინა

კვლევის მიზანს შეადგენდა მიოკარდიუმის არაანთებითი პათოლოგიით მოზარდების გულ-სისხლძარღვთა სისტემის ადაპტაციური შესაძლებლობების შეფასება გულის მარჯვენა და მარცხენა პარკუჭის მორფოფუნქციური მაჩვენებლების გათვალისწინებით. გამოკვლეულია 14,56±0,24 წლის ასაკის 62 პაციენტი მიოკარდიუმის არაანთებითი გენეზის პათოლოგიით, მათგან 30 – გულის განვითარების მცირე ანომალიებით, 32 – რიტმის სხვადასხვა დარღვევით. მიოკარდიუმის მორფოფუნქციური მდგომარეობა შეფასდა ულტრაბგერითი დოპლერული კვლევით. მინიმალური ფიზიკური დატვირთვის მიმართ ტოლერანტობის და მისი გავლენის შესწავლისათვის გულ-სისხლძარღვთა სისტემაზე ჩატარდა ექვსწუთიანი სიარულის ტესტი. გულ-სისხლძარღვთა სისტემის ფუნქციური დაძაბვის შეფასებისათვის ექვსწუთიანი სიარულის ტესტამდე და მის შემდეგ გამოითვლილ იქნა: ალგოვერის ინდექსი, ამტანობის კოეფიციენტი, რობინსონის ინდექსი, სისხლის მიმოქცევის ეკონომიურობის კოეფიციენტი. გულ-სისხლძარღვთა სისტემის მაჩვენებლებზე ვგუ-

ტატური ნერვული სისტემის გავლენა შეფასებული იყო კერძო ვეგეტატური ინდექსის მეშვეობით. სისხლის მიმოქცევის სისტემის ფუნქციური ცვლილებების ინდექსის ანუ ადაპტაციური პოტენციალის გამოთვლა გამხორციელდა მოსვენების მდგომარეობაში.

კვლევის შედეგად დადგენილია, რომ ბავშვებში მიოკარდიუმის არაანთებითი პათოლოგიით აღინიშნება ორივე პარკუჭის სისტოლური ფუნქციის დაქვეითება, ხოლო პაციენტებში გულის განვითარების მცირე ანომალიებით ამას თან ერთვის მიოკარდიუმის რემოდელირება მარცხენა პარკუჭის დრუს დილატაციით და მასის გაზრდით. ფუნქციური შესაძლებლობების სუბკლინიკური დაქვეითება ვლინდება ფიზიკური დატვირთვის სინჯით. სისხლის მიმოქცევის სისტემის და, მთლიანად, ბავშვის ორგანიზმის ფუნქციური რეზერვების და მისი ადაპტაციური შესაძლებლობების შეფასებისათვის მიზანშეწონილია ალგოვერის და რობინსონის ინდექსების, ამტანობის და სისხლის მიმოქცევის ეკონომიურობის კოეფიციენტების გამოყენება.

ЛЕЧЕНИЕ СЕКРЕТОРНОГО СРЕДНЕГО ОТИТА У ДЕТЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ПРОЦЕССА И ФОНОВЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

¹Куликова Е.А., ²Головкин Н.А., ¹Чумакова А.В., ²Панченко Т.Ю.

¹Харьковская академия последипломного образования;

²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Украина

В детской отоларингологии секреторный средний отит (ССО) по сей день является одной из наиболее актуальных проблем. Несмотря на различные подходы к лечению этого заболевания и многочисленные исследования, в последние годы наметилась абсолютно четкая тенденция к увеличению числа больных серозным средним отитом [4,8,10].

Установленным фактом является полиэтиологичность заболевания и зависимость клинической картины от преобладающего фактора [6,8,9]. В настоящее время активно дискутируется вопрос о роли острой респираторной вирусной инфекции (ОРВИ), в том числе ее рецидивных форм, которые провоцируют возникновение ССО [4,6,7,11,12]. Связь заболевания с герпес-вирусными инфекциями, в том числе с вирусом Эпштейн-Барр (ВЭБ), инфицирование которым чаще происходит в детском возрасте, не вызывает сомнений [1-3,5,9].

Большинство авторов различают 4 стадии серозного среднего отита [4,8,14]:

I - катаральная стадия, при которой изменения в полости среднего уха минимальные, используется консервативное лечение: санация носа и носоглотки, продувка слуховых труб по Политцеру или катетеризация глоточного отверстия слуховых труб у детей старшего возраста, физиопроцедуры (эндауральный электрофорез или эндауральный фонофорез с лидазой, KI или тималином);

II - экссудативная, при которой полости среднего уха заполнены воспалительным или асептическим экссудатом, что обуславливает все проявления ССО. Наряду с консервативным лечением используются хирургические методы: тимпанопункция и аденотомия по показаниям [1,2,3,11,12];

III - мукозная стадия, экссудат становится очень плотным, консервативное лечение малоэффективно. В этой стадии используются хирургические методы: тимпанопункция или мириготомия с шунтированием тимпанальной полости [4,8,9,11,15];

IV - фиброзная (запоздавшая стадия процесса), при которой эффективно только специфическое хирургическое лечение. Фактически – это адгезивный процесс в среднем ухе.

Схема лечения не всегда зависит от стадии процесса. Обычно, установление IV стадии ССО - это прямое показание к специфическому хирургическому лечению, описанному в литературе. Все остальные стадии следует лечить консервативно, однако, часто лечение приводит к рецидиву ССО в следствие пренебрежения факторами, предрасполагающими к его возникновению. Одним из них является инфицирование ребенка герпесвирусами, прежде всего вирусом ВЭБ, который иногда проходит не в виде классического заболевания инфекционным мононуклеозом, не выявить который невозможно, и поэтому дети получают своевременно специфическое лечение. Первичное инфицирование детей ВЭБ проходит в виде банальной ОРВИ, верификация которой не удается, и диагноз устанавливается значительно позже лабораторными методами. Доказана тропность ВЭБ к лимфоцитам, в частности лимфоидной ткани небных миндалин и носоглоточной миндалины, гипертрофия и инфицирование

которых являются причиной нарушения функции слуховой трубы. ВЭБ играет особую роль в формировании ССО, вирус является лимфотропным и многолетнее его персистирование в организме, с доказательной точки зрения, приводит к формированию иммуносупрессии, что диктует необходимость детей, инфицированных ВЭБ, следует направлять к иммунологу. В статье Савенко И.В. и Комарова Е.А. [10] и Тарасевича Т.Н. [12] доказано, что дети, больные ССО, особенно инфицированные вирусами герпеса, имеют отклонения от нормы в иммунном статусе, что необходимо своевременно корректировать. В случаях, если детям не проводится классическое бактериологическое исследование носоглотки, может развиваться воспалительный процесс и рецидив ССО.

Вышеприведенные данные свидетельствуют об актуальности и сложности проблемы ССО, при котором в патологический процесс вовлекаются ЛОР-органы и общие системы организма.

Цель исследования - разработка индивидуальной схемы лечения детей, больных секреторным средним отитом, с учетом инфицированности вирусом Эпштейн-Барр, наличия патогенной микрофлоры в носоглотке и результатов иммунограммы первого уровня.

Материал и методы. Проведено лабораторное обследование на наличие серологических маркеров ВЭБ у 68 детей в возрасте от 3 до 9 лет, (средний возраст детей - 5,4±1,6 г.), поступивших в детское отделение 30-й больницы г. Харькова в течение 2017-2019 гг. с диагнозом - секреторный средний отит. Распределение по полу было одинаковым. Диагноз устанавливался на основании общепринятого клинического, бактериологического, инструментального обследований, данных общеклинического лабораторного обследования, аудиограммы и импедансометрии. Всем детям для серологической диагностики острой фазы инфицированности ВЭБ определяли IgM к капсидному комплексу (VCA), IgG к раннему антигену (ЕА) и ядерному антигену EBNA в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА). Использованы диагностические тест-системы «Вектор-Бест» (Новосибирск, РФ). Тестирование осуществляли с помощью ферментного анализатора Fax 303+ (Anvarmess Technology inc., USA): определяли количественные показатели оптической плотности (ОП) на волне 492 нм с учетом показателей контрольных образцов (положительный и отрицательный). К положительным относили пробы крови больных с показателями, превышающими показатель контроля в 1,5 и более раз (ОП 0,2 плотности).

У всех детей проводилось определение показателей иммунограммы I уровня в крови. Фенотип основных субпопуляций лимфоцитов определяли в тесте поверхностной иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител (производство «МедБиоСпектр», РФ), относящихся к кластерам: CD3 +, CD4 +, CD8 +, CD16 +, NK-клетки-(природные киллеры) CD19 +. Определяли также показатели фагоцитоза: % активных клеток и микробное

число. Состояние гуморального звена иммунитета оценивали по уровню содержания иммуноглобулинов класса А, М, G в сыворотке крови методом ИФА, а также содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), содержание комплемента и лимфоцитотоксичных антител.

Бактериологическое обследование носоглотки проводили утром натощак по классической методике, с выделением чистых культур микроорганизмов и их идентификации.

Контрольную группу составили 20 практически здоровых детей в возрасте от 3 до 6 лет, прошедших обследование в районных поликлиниках для определения возможности посещения детских коллективов - детского сада или школы.

Для обработки количественных параметров использовали традиционные методы параметрической статистики. С помощью параметрических методов определяли основные статистические характеристики, в частности: среднее значение (M) и ошибку среднего значения (m), достигнутый уровень значимости (p), объем анализируемой группы (n). Критическое значение уровня значимости принимали равным 0,05 (5%). Анализ и обработка статистических данных клинических исследований проводили на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ STATUSTICA 6.0 и MS Excel XP.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследований представлены в таблицах 1-5.

Среди 68 детей, больных секреторным средним отитом, выявлен высокий процент 11 (16.2%) инфицированных ВЭБ в острой фазе (возникновение заболевания около месяца до обследования) и 20 детей, инфицированных ранее. Всего из 68 детей 31 (45.6%) - инфицированы ВЭБ.

Выявление данных маркеров ВЭБ-инфекции является по-

казателем острой фазы заболевания, протекающего без манифестных признаков и подтвержденного только данными иммуноферментного исследования крови детей. У 20 детей обнаружены маркеры поздних антител, что свидетельствует о более ранней инфицированности ВЭБ (стадия ремиссии). Ни у одного из детей контрольной группы (здоровые дети) гуморальных маркеров ранней инфицированности ВЭБ не выявлено, обнаружение у 10 детей IgG EBNA в сыворотке крови является признаком неактивной стадии (иммунная память).

С диагностированной острой фазой инфицированности ВЭБ 11 детей получили антигерпетическое лечение препаратом ацикловириного ряда вальтрексом. Вальтрексон назначался в дозе 500 мг 2 раза в сутки в течение 10 суток. Детей, инфицированных ВЭБ, направляли к иммунологу, который назначал им иммунограмму крови 1-го уровня. Ни у одного из детей обследованной группы (больные ССО) нормальной иммунограммы не выявлено. В таблице 2 приведены данные иммунограммы крови 1-го уровня детей, больных ССО и инфицированных ВЭБ.

У большинства детей с ССО, инфицированных ВЭБ, выявлено снижение клеточного звена иммунитета: снижение субпопуляций Т-лимфоцитов CD4-клеток-хелперов и CD16 - клеток-НК-киллеров. Снижение CD4-клеток-хелперов ведет к снижению значимого показателя - иммуно-регуляторного индекса, который способствует заболеваемости бактериальными и вирусными инфекциями. Снижение НК-киллеров (CD16) также свидетельствует об ослабленном противовирусном иммунитете. У детей, неинфицированных ВЭБ, эти показатели тоже снижены, однако в меньшей степени. Показатели фагоцитоза существенно не изменены.

Таблица 1. Результаты серологических исследований сыворотки крови по детекции антител к ВЭБ-инфекции

Обследованные дети	Количество обследованных	Количество детей с выявленными в крови IgM и IgG к ВЭБ-антигенам					
		VCA IgM	EA IgG	VCA IgM +EA IgG	EBNA IgG	Всего позит. результатов (ранние антитела)	Всего позит. результатов (общие инфицированные)
Дети ССО	68	3	7	1	20	11 (16.2%)*	31 (45.6%)*
Здоровые дети	20	0	0	0	10	0	10 (50%)*

примечания: * - вероятность различий $p \leq 0,05$

Таблица 2. Основные показатели клеточного иммунитета в крови детей, больных ССО

Обследованные дети	Количество лимфоцитов (данные в%)						Показатели фагоцитоза	
	Т-общие CD3	Т-хелп. CD4	Т- супр. CD8	В-лимфоциты CD19	НК-киллеры CD16	Иммуно-регуляторный индекс	Фагоцитарный индекс, %	Фагоцитарное число
Дети, с ССО, инфицированные ВЭБ (n=31)	51,8±2.4*	31.0±2.8*	19,6±2,9	16,4 ±1,1*	17,1 ±0,52*	1,58±0.11*	78±6,2	4.0±0,04
Дети, с ССО, не инфицированные ВЭБ (n=37)	60.0±3,5**	35,6±3.0*, **	22.7±2.5**	17,8 ±1,05*	21,4 ±0,45**	1,56±0,11*	71±5,9	4.0±0,03
Здоровые дети (n =20)	58,9±2,2	44,5±2,2	22.4±1.0	12,2±1,3	20,0±0,41	1,98±0,06	83±6,3	5.0±0,04

* - вероятность различий в сравнении с нормой $p \leq 0,05$.

** - вероятность различий между двумя группами наблюдения больных ССО детей $p \leq 0,05$

Таблица 3. Основные показатели гуморального иммунитета в сыворотке крови детей, больных ССО

Обследованные дети	IgA, г/л	IgG, г/л	IgM, г/л	ЦИК, условные единицы	Уровень комплемента, мг/мл	Лимфоцитотокси- ческие аутоантитела, %
Дети с ССО, инфицированные ВЭБ (n=31)	3.22±0.1*	13.2*±0.14	2.26±0.002*	80±0.006	61±5	13±0.15*
Дети с ССО, неинфицированные ВЭБ (n=37)	2.93±0.06*	12.5±0.9*	1.68±0.09	70±0.01	58±6	14±0.1*
Здоровые дети (n=20)	1.8±0.02	18.7±0.16	1.2±0.01	40±0.005	56±4	10±0.08

* - вероятность различий в сравнении с нормой $p \leq 0,05$

Таблица 4. Состав микрофлоры слизистой оболочки носоглотки 68 детей с ССО

Разновидности микроорганизмов	Количество штаммов (n=169)		Степень инфицированности
	абс. число	%	КОЕ/мл
<i>Staph. Aureus</i>	12	7	$2 \times 10^5 + 3 \times 10^7 + 7 \times 10^8$
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	5.4	$3 \times 10^5 + 2 \times 10^7$
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	1.6	$1 \times 10^6 + 1 \times 10^7$
<i>Streptococcus sanguis</i>	2	1.6	$1 \times 10^6 + 1 \times 10^7$
<i>Streptococcus viridians</i>	5	3.9	$2 \times 10^6 + 3 \times 10^9$
<i>Streptococcus pneumonia</i>	11	12.4	$2 \times 10^6 + 14 \times 10^8 + 5 \times 10^9$
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2	1.6	$1 \times 10^8 + 1 \times 10^9$
<i>Streptococcus pyogenes</i>	13	19.5	$2 \times 10^6 + 11 \times 10^7$
<i>Enterococcus</i>	1	8.5	1×10^6
<i>Neisseria mucosa</i>	2	1.6	$1 \times 10^6 + 1 \times 10^7$
<i>Micrococcus varians</i>	2	1.6	$1 \times 10^8 + 1 \times 10^9$
<i>Moraxella bovis</i>	3	2.3	$1 \times 10^5 + 1 \times 10^6 + 1 \times 10^8$
<i>Corinebacterium</i>	3	2.3	$1 \times 10^6 + 2 \times 10^7$
<i>Escherichiacoli</i>	5	3.9	$2 \times 10^6 + 3 \times 10^8$
<i>Klebsiella pneumonia</i>	5	3.9	$2 \times 10^7 + 3 \times 10^8$
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0.8	1×10^8
<i>Candida albicans</i>	5	3.6	5×10^8
<i>H. influenza</i>	13	19.1	$2 \times 10^5 + 9 \times 10^7 + 2 \times 10^9$
Ассоциации: <i>Candida</i> с др. бактериями	23	13.6	$16 \times 10^8 + 7 \times 10^9$
Итого	169	100	$12 \times 10^5 + 21 \times 10^6 + 44 \times 10^7 + 37 \times 10^8 + 48 \times 10^9$

В гуморальном звене иммунитета у больных ССО выявлен дисбаланс уровня IgA, IgG и IgM. У детей, инфицированных ВЭБ, повышенные уровни IgA и IgM на фоне пониженного уровня IgG являются показателями острого воспаления с вовлечением в процесс слизистой оболочки, в частности носоглотки. Обращает внимание повышенный уровень лимфоцитотоксичных аутоантител, что так же не способствует нормализации иммунного статуса. Таким образом, все дети, больные секреторным серозным отитом, инфицированные ВЭБ, имели отклонения 1-го уровня в иммунном статусе.

Бактериологическое исследование носоглотки у больных ССО. Изучаемый материал высевали на твердые и жидкие питательные среды с последующим выделением изолятов и их микроскопической, биохимической и серологической идентификацией. Идентификация микроорганизмов осуществлялась по классификационным схемам Бергу.

Проанализированы результаты микробиологических ис-

следований слизистой носоглотки 68 детей с ССО, у которых со слизистой выселили 119 штаммов микроорганизмов. Результаты представлены в таблице 4.

У детей, больных ССО, преобладали *Streptococcus pyogenes* - 13 (19.1%) случаев, *H.influenza* - 13 (19.1%), *Streptococcus pneumonia* - 11 (16.2%) штаммов, и *Staphylococcus aureus* - 12 (17.6%) штаммов.

В структуре микробного пейзажа носоглотки выявлены различные виды стафилококков - 19 штаммов, *Enterococcus* - 1, грамотрицательные палочки - 1, ассоциация грибов рода *Candida albicans* с другими бактериями - 23 (19.3%) штамма. Обращает на себя внимание высокая степень микробной обсемененности (10^7 - 10^9 КОЕ) у 76% больных.

В соответствии с выделенными ведущими фоновыми процессами (инфицированность ВЭБ, бактерионосительство в носоглотке патогенных штаммов стрептококков, дети неинфицированные ВЭБ с выраженными отклонениями в иммунограмме крови), которые, по всей вероятности, и

являются причиной возникновения или рецидива ССО, мы разделили на 3 группы:

I группа (n=31) - больные ССО, инфицированные ВЭБ: 10 детей с I стадией ССО, 20 детей – со II стадией ССО, 1 ребенок - с III стадией ССО;

II группа (n=24) - носители патогенных стрептококков: 8 детей с I стадией ССО, 14 детей – со II стадией ССО, 2 детей - с III стадией ССО;

III группа – 13 детей с невыявленными причинами снижения иммунитета, часто болеющие ОРВИ и ССО.

По типу снижения слуха в каждой группе установлено примерно одинаковые соотношения степени тугоухости и стадий ССО.

В I группе дети получали общепринятое при ССО лечение и специфическое антигерпетическое (обусловленное инфицированностью ВЭБ (схема применения его описана выше)). По показаниям проводили аденотомию под контролем эндоскопии. Одновременно проводилась тимпанопункция барабанных перепонок с дифференциацией серозной и мукозной стадий ССО. Детям с III стадией ССО сразу же ставили шунт в барабанную перепонку (1 - I клинической группы, 2 детям - II группы и 8 - III клинической группы, у которых отмечались рецидивы, несмотря на полный курс консервативного лечения ССО). Применялись тefлоновые шунты фирмы «Migasel». Осуществлялись, saniрующие носоглотку мероприятия (ингаляция с различными медикаментозными препаратами, сосудосуживающие, комбинированные препараты в каплях, спреях, промывание носоглотки морской водой («Хьюмер») или промывание носоглотки методом перемещения по Протц).

После санации носоглотки всем детям проводились мероприятия по улучшению проходимости слуховой трубы - продувание ушей по Политцеру, по Тойнби. В случаях неэффективности вышеуказанных мер, проводилась катетеризация глоточного отверстия слуховой трубы с ее продуванием и введением суспензии гидрокортизона в смеси с 1% диоксицином, реже физиотерапевтическое лечение.

Детям II группы, у которых в носоглотке высевались различные патогенные микроорганизмы, назначался анти-

биотик цефадокс в возрастной дозировке: 100 мг 2 раза в день, 10 дней. С целью предупреждения возникновения дисбактериоза кишечника, параллельно назначали противогрибковый препарат нистатин (250 тыс ЕД 4 раза в день) и пробиотик биогай 10 дней. Местно производилась санация носоглотки по обычной схеме и эндаурально – фонофорез с иммуномодулятором тималином №10. Со второй недели дети получали иммунный препарат бронхо-ваксом, представляющий бактериальный лизат микроорганизмов, наиболее часто высеваемых из носоглотки. Данный препарат применялся 1 раз в день, в течение 10 дней, затем после перерыва 20 дней назначался второй 10-дневный курс и аналогично - третий 10-дневный курс.

III группа - дети с ССО, неинфицированные ВЭБ, у которых в носоглотке не выявлена патогенная микрофлора, однако имеющие отклонения в иммунном статусе неустановленного генеза. Помимо местного лечения носоглотки, аналогичного первым двум группам, всем детям этой группы произведена тимпанопункция барабанных перепонок (с заинтересованной стороны) с промыванием суспензией гидрокортизона в смеси с диоксицином. В общее лечение включали внутримышечные инъекции тималина (препарат, получаемый из вилочковой железы крупного рогатого скота, хорошо апробированный у детей) №10. Эти дети со второй недели лечения также получали иммунный препарат Бронхо-Ваксом по вышеописанной схеме. Местное лечение - эндаурально фонофорез также с тималином №8-10.

Для сравнения эффективности лечения разных групп больных избраны «корневые» показатели: СОЭ, ИРИ, НК-киллеры, (CD16 (%), IgA, наличие рецидивов ССО в течение наблюдаемого периода.

Таким образом, дети, больные ССО, имеют различные ведущие факторы патогенов, которые способствуют возникновению или развитию рецидива ССО. Поэтому детей с ССО необходимо более углубленно обследовать на инфицированность ВЭБ, бактериологическое исследование носоглотки, так как патогенная флора поддерживает явления эпифарингита и провоцирует возникновение ССО. Большое значение имеют отклонения в иммунном статусе детей, от-

Таблица 5. Динамика показателей воспалительного процесса у детей с ССО спустя 6 месяцев после начала лечения

Показатели	I группа - дети с ССО, инфицированные ВЭБ (n=31)		II группа - дети с ССО, неинфицированные ВЭБ (носители стрептококков) (n=24)		III группа – дети с ССО, с не выявленной причиной снижения иммунитета (n=13)		Здоровые дети n=20
	до лечения	после лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	
Рецидивы	10.2±0.1	1.0 (3.3%)**	10.0±0.1	2 (8.3)**	10±0.2	1 (7.7%)**	-
СОЭ	24±2*	10±0.3**	21±0.8*	15±0.1**	18±0.12*	8±0.2* **	10±0.04
ИРИ	1,58±0.11*	1.9±0.12**	1,56±0,11*	1.76±0.22**	1.35±0.2*	1.55±0.21* **	1,86±0,06
IgA	3.22±0.1*	1.93±0.06*,**	1.9±0.001	1.7±0.02	3.02±0.1*	1.7±0.1**	1.8±0.02
НК-киллеры CD16 (%)	17,1±0,52**	20.4±0.3**	21,4±0,45	22.1±0.6	15,1±0,52*	19.2±1.07**	20.0,0±0,41

* - вероятность различий в сравнении с нормой $p \leq 0,05$;

** - вероятность различий показателей до и после лечения, $p \leq 0,05$

клонения имеют различное происхождение. В таких случаях необходима консультация иммунолога и назначение иммунной терапии. Наиболее эффективно использование общей иммунотерапии (тималин, бронхо-ваксом) в сочетании с местным использованием того же тималина в виде эндаурального фонофореза, который сочетает лечебный эффект ультразвука с действием лекарственного вещества [13].

Комбинированное использование иммуномодулятора, который стимулирует клеточное звено иммунитета (тималин) и мукозальных вакцин через двухнедельный промежуток обеспечивает положительный эффект и отсутствие рецидивов ССО, что подтверждается лабораторными показателями. В общей группе эффективность лечения составила 94% (64 детей из 68, которые были под наблюдением, не имели рецидивов ССО в течение 3 месяцев).

Нормализация нарушений в иммунном статусе наблюдалась спустя 6 месяцев после окончания курса иммунопрофилактики, что свидетельствует в пользу комбинированного применения иммуномодулирующих препаратов у детей, больных ССО.

ЛИТЕРАТУРА

1. Казмирчук В.Е., Мальцев Д.В. Диагностика и лечение инфекции, вызванной Эпштейна-Барр вирусом (вирусом герпеса человека 4 типа) // Методические рекомендации. 2011; 32.
2. Катанахова Л.Л. Клиническая характеристика и принципы терапии Эпштейна-Барр вирусной инфекции у детей / Катанахова Л.Л., Мещеряков В.В., Климан И.А. // Вопросы практической иммунологии. - 2017 - №4. - С.141-146.
3. Кудин А.П. Эта «безобидная» вирус Эпштейна-Барра инфекция. Часть 3. Хроническая ВЭБ-инфекция и хронические ВЭБ-ассоциированные заболевания // Медицинские новости. -2006. -№9 /www/mednovosti.by/jornal.ashx. article=672.
4. Лайко А.А. Секреторный средний отит /Лайко А.А., Заболотный Д.И., Горішний І.І. // К.: Логос, 2005. -120 с.
5. Литвиненко Н. Г. Эпштейн-Барр вирусная инфекция // Инфекционные болезни у детей / Под ред.С. А. Крамарева. - М.: МОРИОН, 2003. - С. 56-68.
6. Молочок Ю.А. Актуальные вопросы клинического течения Эпштейна-Барр вирусной инфекции в практике детских отоларингологов /Молочок Ю.А., Яковлева Н.Ю., Мостовенко Р.В. // Мат. Х з'їзду отоларингологів України. Судак, 2005: - К.: Преса України, 2005. - С.45-46.
7. Назар П. С. Прикладна імунологія [Текст] : навч. посіб. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації / проф. Назар П. С., проф. Шевченко О. О. - К. : Сталь, 2013. - 625 с.
8. Підвищення ефективності лікування дітей з хронічним секреторним середнім отитом /Тімен Г.Е., Писанко В.М., Миронюк Б.М., Кузик І.В. та ін. // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. -2016.- №5-с.- С.144.
9. Попович В.І. Перебіг епіфарингіту у осіб з хронічною ЕВІ-інфекцією /Попович В.І., Дикий О.Б., Матейко Г.Б. // Мат. Х з'їзду отоларингологів України. Судак, 2005: - К.: Преса України, 2005. - С.473-474.
10. Савенко І.В. Роль Епштейн-Барра вирусной инфекции в формировании патологии ЛОР-органов в детском возрасте / Савенко І.В., Комарова Е.А. //Рос. оториноларингология. - 2007. - № 6. - С. 138-144.
11. Сучасні підходи до діагностики і лікування хронічного секреторного середнього отиту /Сушко Ю.О., Борисенко О.М., Сребняк І.А., Моргун М.М. // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. -2014.- №5-с.- С.142-143.
12. Тарасевич Т.Н. Иммунологические основы формирования патологии лимфоидных структур глотки у современных детей / Тарасевич ТН, Салий ОВ, Власова ЕВ. // Российский иммунологический журнал. - 2014 – Том 17. -№3. – С. 604-606.
13. Ультразвук в оториноларингологии / Под ред. В.И. Цыганова. Киев: Наукова думка, 1989. – 190 с.
14. Butler C.C. The Etiology, Pathophysiology, and Management of Otitis Media with Effusion / C.C. Butler, R.G. William // Curr. Infect. Dis. Rep. 2003. -Vol. 5, N3. - P. 205-212.
15. Pereira M. B. Tympanostomy tube sequelae in children with otitis media with effusion: a three-year follow-up study / M.B. Pereira, D.R. Pereira, S.S. Costa // Rev. Bras. Otorinolaringol. (Engl. Ed). 2005. Vol. 71, № 4. -P.415-420.

SUMMARY

TREATMENT OF SECRETORY OTITIS MEDIA IN CHILDREN, DEPENDING ON THE STAGE OF THE PROCESS AND ON THE BACKGROUND OF THE PATHOLOGICAL CONDITIONS

Kulikova E., Golovko N., Chumakova A., Panchenko T.

Kharkiv National Medical Academy of Postgraduate Education; Kharkiv National University named after V.N. Karazin, Ukraine

The purpose of the work is to develop individual treatment regimens for children with secretory otitis media (SOM) depending on the results of an in-depth examination of them, in particular, the identification of Epstein-Barr virus (EBV), the presence of pathogenic microflora in the nasopharynx and the results of a level 1 immunogram.

Laboratory examination for the presence of serological markers: IgM to the capsid complex (VCA), IgG to the early antigen (EA) and the nuclear antigen EBNA in the blood serum by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). 68 children were exposed, children's department of the 30th hospital. Kharkiv during 2017-2019 with a diagnosis of secretory otitis media. The same children underwent a classic bacteriological study of the nasopharynx and level 1 immunogram.

Among 68 children with secretory otitis media, a high percentage (16.2%) of infected patients with acute EBV in the acute phase and 20 children previously infected were detected. In total, out of 68 children, 31 (45.6%). In most SOM infected children with EBV, a decrease in the cellular component of immunity was revealed: a decrease in the subpopulations of T-lymphocytes from CD4 helper cells and CD16 from NK killer cells. Streptococcus pyogenes-13 (19.1%) cases prevailed in the nasopharynx in children with SOM, 2nd in frequency. H.influenza was detected in 13 cases (19.1%), Streptococcus pneumoniae, the third strain, 11 strain (16.2%), and the fourth, Staphylococcus aureus, 12 strains (17.6%) were seeded 3rd in frequency.

The lowest levels of immunograms were found in children infected with EBV. Immunocorrection, require and carriers of streptococci (other drugs). Therefore, the examined children, divided into 3 groups, received various immunomodulating agents: thymalin and Broncho-Vaxom (bacterial lysate), and in some cases we combined topical administration of thymalin with endaural phonophoresis followed by treatment with Broncho-Vaxom. It was these children who had the least number of relapses SOM of against the background of the best indicators of immunity

Keywords: secretory otitis media with effusion in children, Epstein-Barr virus (EBV), level 1 immunogram, treatment.

РЕЗЮМЕ

ЛЕЧЕНИЕ СЕКРЕТОРНОГО СРЕДНЕГО ОТИТА У ДЕТЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТАДИИ ПРОЦЕССА И ФОНОВЫХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

¹Куликова Е.А., ²Головкин Н.А., ¹Чумакова А.В.,
²Панченко Т.Ю.

¹Харьковская академия последипломного образования;
²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Украина

Цель исследования - разработка индивидуальной схемы лечения детей, больных секреторным средним отитом, с учетом инфицированности вирусом Эпштейн-Барр, наличия патогенной микрофлоры в носоглотке и результатов иммунограммы первого уровня.

Проведено лабораторное обследование на наличие серологических маркеров ВЭБ у 68 детей в возрасте от 3 до 9 лет, (средний возраст - 5,4±1,6 г.), поступивших в детское отделение 30-й больницы г. Харькова в течение 2017-2019 гг. с диагнозом секреторный средний отит (ССО). Всем детям для серологической диагностики острой фазы инфицированности ВЭБ определяли IgM к капсидному комплексу (VCA), IgG к раннему антигену (EA) и ядерному антигену EBNA в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Среди 68 детей, больных ССО, выявлен высокий процент (16,2%) инфицированных ВЭБ в острой фазе и 20 (29,4%) детей, инфицированных ранее, всего 31 (45,6%). У большинства детей с ССО, инфицированных ВЭБ, выявлено снижение клеточного звена иммунитета: снижение субпопуляций Т-лимфоцитов CD4-клеток-хелперов и CD16 - клеток-NK-киллеров. В носоглотке у детей, больных ССО, преобладали *Streptococcus pyogenes* - 13 (19,1%) случаев и *H.influenza* - 13 (19,1%) случаев, *Streptococcus pneumonia* - 11 (16,2%) штамм, *Staphylococcus aureus*- 12 (17,6%) штаммов.

В иммунокоррекции нуждались как дети, инфицированные ВЭБ, так и носители стрептококков. Использовались иммуномодулирующие средства - тималин и бронхо-ваксом (бактериальный лизат), а в некоторых случаях - местное введение тималина эндуральным фонофорезом сочеталось с последующим лечением бронхо-ваксомом. На фоне проведенного лечения выявлено наименьшее количество рецидивов ССО на фоне улучшенных показателей иммунитета.

რეზიუმე

სეკრეტორული შუა ოტიტის მკურნალობა ბავშვებში პროცესის სტადიის და მისი ფონური პათოლოგიის გათვალისწინებით

ეკულიკოვა, ნ.გოლოვკო, ა.ჩუმაკოვა, ტ.პანჩენკო

ხარკოვის დიპლომის შემდგომი განათლების სამედიცინო აკადემია; ვ.კარაზინის სახ. ხარკოვის ეროვნული უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სეკრეტორული შუა ოტიტით დაავადებული ბავშვების მკურნალობის ინდივიდუალური სქემების შემუშავება ეპსტეინ-ბარის ვირუსით, ცხვირ-ხახის პათოგენური მიკროფლორის არსებობისა და I დონის იმუნოგრამის შედეგების გათვალისწინებით

2017-2019 წწ. 68 ბავშვს სეკრეტორული შუა ოტიტის დიაგნოზით ჩაუტარდა სისხლის შრატში ეპსტეინ-ბარის ვირუსის მიმართ სეროლოგიური მარკერების ლაბორატორიული გამოკვლევა იმუნოფერმენტული ანალიზის მეთოდის გამოყენებით, ასევე ცხვირ-ხახის კლასიკური ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა.

აღმოჩნდა, რომ 68 ბავშვიდან 31 (45,6%) ინფიცირებული იყო ეპსტეინ-ბარის ვირუსით, მათგან 16,2% მწვავე ფაზაში და 20 ადრე ინფიცირებული.

ეპსტეინ-ბარის ვირუსით ინფიცირებულ ბავშვებში გამოვლინდა CD4-უჯრედების-ჰელპერების და CD16-უჯრედების-NK-კილერების, T-ლიმფოციტების სუბპოპულაციების მჩვენებლების დაქვეითება.

სეკრეტორული შუა ოტიტით დაავადებული ბავშვების ცხვირ-ხახის ბაქტერიოლოგიური გამოკვლევა გამოავლინა *Streptococcus pyogenes* - 13 (19,1%) შტამი, *H.influenza* - 13 (19,1%) შტამი, *Staphylococcus aureus*- 12 (17,6%) და *Streptococcus pneumonia* - 11 (16,2%) შტამი.

იმუნოკორექცია საჭირო აღმოჩნდა როგორც ეპსტეინ-ბარის ვირუსით ინფიცირებულ ბავშვებში, ასევე სტრეპტოკოკის მატარებლებშიც. სამკურნალოდ გამოყენებული იყო იმუნომოდულირებადი საშუალებები თიმალინი და ბრონქო-ვაქსომი (ბაქტერიული ლიზატი), ზოგიერთ შემთხვევაში თიმალინის ადგილობრივი შეყვანა ხდებოდა ენდურალური ფონოფორეზით და შემდეგ მკურნალობა გრძელდებოდა ბრონქო-ვაქსომით. მკურნალობის ეფექტურობა შეადგინა 94% (64 ბავშვი 68).

ПРИМЕНЕНИЕ КЛИЕНТ-ЦЕНТРИРОВАННОЙ ПСИХОТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПОДРОСТКОВ С ПСИХОСОМАТИЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ

Масик О.И., Подолян В.Н., Масик Н.П.

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

Ранняя диагностика и адекватная терапия психосоматических расстройств является одной из первостепенных проблем современной медицины. Наибольшее значение для больных молодого возраста имеет поиск новых эффективных патогенетических методов психофармакотерапевтической коррекции и реабилитации, благодаря возможности более существенно и положительно влиять на качество жизни, работоспособность пациентов и облегчение дальнейшего течения психосоматических расстройств [5,15].

Фармакотерапия таких больных направлена на основные группы симптомов-мишеней: аффективные и сомато-вегетативные. В клинической структуре психосоматических расстройств преобладают тревожные, астенические и депрессивные синдромы [4]. В лечении психосоматических расстройств все чаще используют «атипичные» анксиолитики, которые не вызывают миорелаксации, мнестических расстройств и синдрома зависимости, проявляя анксиолитическое действие [1]. Сертралин может быть рекомендован в качестве терапии психосоматических расстройств в подростковом возрасте [9]. Применение ламотриджина целесообразно при наличии в клинической картине выраженного резидуально-органического радикала [11,14].

Поскольку к современным психотропным фармакологическим препаратам сегодня выдвигается ряд серьезных требований (минимальная выраженность неблагоприятных эффектов, низкая вероятность взаимодействия с другими медикаментозными препаратами и безопасность для пациентов с сопутствующими заболеваниями, простота использования, минимальная угроза осложнений) [12], все большее значение для лечения психосоматических расстройств в клинике внутренних болезней приобретают немедикаментозные методы.

Вместе с психофармакотерапией целесообразно использовать и психотерапию с элементами психокоррекции. Психотерапия при этом помогает снизить тревожность, отвлечь внимание от ипохондрических опасений, придать личностный смысл лечебному процессу [10]; ориентирована на установление вытесненных в бессознательное влечений и желаний и выявление скрытых связей между психическими (эмоциональными, личными) конфликтами и соматическими симптомами и их коррекцию [8,13]. Соотношение психотерапии и фармакотерапии при психосоматических расстройствах определяется ролью биологических, психологических и социальных факторов в их этиопатогенезе [10].

Исходя из вышеизложенного, целью исследования явилось определение наиболее эффективного метода лечения, который в кратчайшие сроки обеспечит положительные сдвиги в динамике клинических синдромов.

Материалы и методы. Обследованы 90 подростков в возрасте 10-18 лет, (34 мальчиков и 56 девочек) с диагностированными психосоматическими расстройствами, которые находились на лечении в областной детской клинической больнице и в областной психо-неврологи-

ческой клинической больнице имени акад. А.И. Юшенка г. Винницы. Критериями включения в исследование явились информированность подростка с протоколом исследования и письменное согласие его и родителей на участие в исследовании. Исследования проводились по единой схеме: во время периодического медицинского осмотра детей применяли клинко-психопатологический метод исследования (клиническое интервью) с целью выявления основных, характерных для психосоматических расстройств, синдромов и изучения особенностей их течения. Диагноз психосоматического расстройства устанавливался согласно рубрики F54 МКБ-10, предназначенной для регистрации психологических или поведенческих факторов как основной этиологической причины соматических расстройств, классифицируемых в других разделах МКБ-10.

Для диагностики психосоматических расстройств и определения эффективности различных методов лечения использовали патопсихологические методики: опросник Ч.Д. Спилбергера в модификации А.Д. Андреевой (STPI - State Trait Personal Inventory), школьной тревожности Б.Филипса и опросник детской депрессии Maria Kovacs (CDI, Children's Depression Inventory M. Kovacs).

Подростки с диагностированными психосоматическими расстройствами, которые характеризовались наличием различных соматических симптомов – боль в области желудка, грудной клетке и суставах; моторного напряжения, проявлялась эпигастральным дискомфортом, диареей, метеоризмом, дизурией, одышкой без нагрузки; перебои в работе сердца; парестезии при отсутствии соматической патологии; демонстративным поведением, раздражительностью, снижением физической и умственной активности, чувством тревоги, беспокойством, трудностями в сосредоточенности, головной болью и нарушением сна, и находились на амбулаторном или стационарном лечении, были распределены на 2 группы. Исследуемые получали различную терапию согласно протоколам, при этом учитывали основной диагноз, сопутствующую патологию и индивидуальные особенности каждого пациента. При наличии субдепрессивной симптоматики или дистимических расстройств с целью улучшения настроения (нормотимическим действием) назначался ламотриджин.

Первую группу составили подростки (n=57) в возрасте 14,08±2,23 лет, получающие нормотимик ламотриджин в средне-терапевтической дозе 25 мг/сут и антидепрессант сертралин – 25 мг/сут подросткам 12-16 лет и 50 мг/сутки – старше 16 лет. Продолжительность стационарного лечения составила 18 дней, амбулаторного – 60 дней.

Подросткам второй группы (n=33) в возрасте 14,91±2,03 лет назначалась комбинированная терапия ламотриджином и сертралином в сочетании с психотерапией. Из психотерапевтических методов использовали клиент-центрированную терапию (person-centered therapy – человек-центрированная терапия) – одну из видов современной психотерапии, основанную на эмпатии, конгруэнтности, безусловного

принятия [7]. Этот психотерапевтический подход ставит пациента в центр взаимодействия с психотерапевтом, что позволяет подростку легче разобраться со своими трудностями. Цель коррекции, которая проводится в рамках клиент-центрированной психотерапии состоит вовсе не в том, чтобы изменить подростка, а в том, чтобы помочь утвердить свое Я, чувство собственного ценности. В работе с детьми основной формой терапии является игра, своеобразная сфера, в которой происходит налаживание отношений детей с окружающим миром и людьми.

Врач демонстрирует неизменное и безусловное принятие пациента, его установок, ценностей, выражает постоянную и искреннюю веру в него и его способности. Оценку результатов различной лечебной тактики проводили на 18 и 60 дни терапии. Лечение не вызывало никаких побочных эффектов, привыкания и синдрома отмены. Подростки проходили стационарное лечение без отрыва от обучения: базовые предметы по программе излагались в учебных комнатах отделения больницы.

Статистическую обработку полученных результатов исследования осуществляли с помощью компьютерной программы «Statistica 6.1.» (Stat Soft Inc., США).

Результаты и их обсуждение. В клинической картине подростков I группы выявлены следующие синдромы: конверсивно-диссоциативный у 23 (40,35%) больных, депрессивный – у 24 (42,11%) и у 10 (17,54%) больных – тревожно-фобический.

В клинической картине II группы диагностирован: конверсивно-диссоциативный синдром у 11 (32,33%) больных, депрессивный синдром – у 9 (27,27%) пациентов и тревожно-фобический – у 13 (39,39%). Достоверных различий в клинической картине обеих групп не выявлено ($p > 0,05$).

К конверсивно-диссоциативному синдрому относили следующие симптомы: ощущение «комка» при глотании, «истерический комок», «невротический шлем» с элементами «условного желая», различные болевые ощущения – «как нож воткнули», жгучая боль, «как раскаленный металл».

Депрессивный синдром характеризуется тяжестью в сердце, в теле, загрудинной болью, вегетативными нарушениями с ощущением внутренней дрожи, вегетативной активацией (сердцебиение, перебои в работе сердца, затрудненное дыхание), чувством давления, жжения, колебаниями аффекта в виде циркульного ритма.

Тревожно-фобический синдром диагностировали при наличии жалоб на нарушение дыхания, сердечной деятельности, различные неприятные проявления, в частности в брюшной полости, которые сопровождалась тревогой, страхом. Их отличала «кондициональность» – возникновение в специфической ситуации.

Согласно опроснику тревожности Ч.Д. Спилбергера (в модификации А.Д. Андреевой) до лечения уровень тревожности находился в пределах высокого значения в обеих группах наблюдения. Самая высокая личностная тревожность проявлялась в группе с тревожно-фобическим (21,6 балл), конверсивным (21 балл) и депрессивным (20,7 балл) синдромами. При этом, выраженная тревожность, отрицательные эмоциональные переживания сочетались с высокой познавательной активностью определялись у подростков при конверсивном, тревожно-фобическом и депрессивном синдромах и маскировали клинические проявления заболевания.

Спустя 18 дней после лечения показатели теста переместились на средний уровень тревожности у всех подростков. Высокий уровень реактивной тревожности оставался у 36,84% подростков I и 31,5% – II группы ($p > 0,05$). Личностная тревожность на высоком уровне определялась у 50,88% детей I, и 37,50% – II группы, 50,00% при конверсивно-диссоциативном синдроме, 25,00% при депрессивном синдроме, 45,45% при тревожно-фобическом синдроме (различия достоверны в сравнении с данными до лечения, $p < 0,05$). Реактивная познавательная активность спустя 18 дней после лечения оставалась самой низкой у 31,58% пациентов I группы и 18,75% – II, по 50,00% – при депрессивном и тревожно-фобическом синдромах ($p < 0,05$).

Низкие значения личностной познавательной активности оставались такими во всех группах исследования. Высокий уровень реактивных негативных эмоциональных переживаний определялись в 31,58% I, 25,00% – II групп. Количество подростков с высоким уровнем личностных негативных эмоциональных переживаний на фоне лечения в I группе не изменилось, а во II группе – уменьшилось (различия достоверны в сравнении с данными до лечения, $p > 0,05$). Высокие значения ситуативных негативных эмоциональных переживаний отмечены у 50,88% подростков I и 43,75% II группы.

Спустя 60 дней после комплексной терапии наблюдалась достоверная ($p < 0,05$) динамика показателей тревожности. Высокий уровень реактивной и личностной тревожности снизился и отмечался только у 38,59% детей I, 12,50% лиц II группы, у 42,86% при конверсивно-диссоциативном синдроме, у 33,33% – при депрессивном синдроме, у 18,18% пациентов – при тревожно-фобическом синдроме. Реактивная и личностная познавательная активность повысилась и оставалась на низком уровне только у 31,58% пациентов I, у 6,25% – II групп, в 14,29% при конверсивно-диссоциативном, в 41,67% – при депрессивном, в 40,91% – при тревожно-фобическом синдромах. Реактивные негативные эмоциональные переживания оставались на высоком уровне у 19,29% I, 12,50% пациентов II групп, в 64,29% - при конверсивно-диссоциативном синдроме.

Личностные негативные эмоциональные переживания уменьшились до 18,75% только у подростков II группы. Показатель ситуативных негативных эмоциональных переживаний на высоком уровне оставался у 47,37% школьников I группы и только у 12,50% пациентов II группы ($p < 0,05$).

Как следует из приведенных данных, у пациентов, получавших лечение психотерапией в комбинации с психофармакологической коррекцией, отмечалась положительная динамика практически всех определяемых параметров тревожности по шкале Ч.Д. Спилбергера в модификации А.Д. Андреевой. При этом самая высокая эффективность наблюдалась при тревожно-фобическом синдроме, наименьшая – при депрессивном синдроме (таблица 1).

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод, что применение комбинированной терапии в лечении психосоматических расстройств у всех подростков способствует уменьшению отрицательных эмоциональных переживаний: наиболее существенные изменения наблюдались при конверсивно-диссоциативном синдроме, повышая познавательную активность школьников; немногим менее выраженную динамику наблюдали при депрессивном и тревожно-фобическом синдромах.

Анализ школьной тревожности по тесту Б. Филипса установил повышенный уровень общей тревожности у 29,82% подростков I группы и 25,0% - II группы, у 34,62% подростков с конверсивно-диссоциативным, у 18,19% – с депрессивным и у 44,44% лиц с тревожно-фобическим синдромами. Благодаря тому, что методика Б. Филипса позволяет оценивать 8 факторов школьной тревожности,

в ходе исследования установлена достоверная ($p < 0,05$) связь между высоким уровнем страха и переживанием социального стресса ($r = 0,63$), страхом не соответствовать ожиданиям окружающих ($r = 0,54$) и проблемами и страхами во взаимоотношениях с учителями ($r = 0,41$) в группе с конверсивно-диссоциативным и тревожно-фобическим синдромами.

Таблица 1. Изменения показателей значений шкалы тревожности Ч.Д. Спилбергера в модификации А.Д. Андреевой при различных схемах лечения подростков в процессе наблюдения (Δ , %)

Группы лечения	Тревожность	Познавательная активность	Негативные эмоциональные переживания	Тревожность	Познавательная активность	Негативные эмоциональные переживания
	Личностная			Ситуативная		
Тревножно-фобический синдром						
медикаментозное	0,00	10,10	11,21	-4,72	9,64	16,49
комбинированное	-7,24*	21,2*	7,69	-1,42*	10,76	-4,83*
Конверсивно-диссоциативный синдром						
медикаментозное	-1,20	4,52	7,76	-8,08	10,00	10,44
комбинированное	-4,23*	-3,44*	-3,53*	-1,73*	-4,89*	-6,31*
Депрессивный синдром						
медикаментозное	-8,32	5,17	2,84	1,42	-1,19	4,03
комбинированное	1,08*	-0,90*	1,68	-1,11	0,00	0,64*

примечание: * – достоверная разница ($p < 0,05$) при сравнении между группами лечения

Таблица 2. Изменения показателей шкалы школьной тревожности по тесту Б.Филипса при разных схемах лечения подростков в процессе наблюдения (Δ , %)

Группы лечения	Общая тревожность в школе	Переживание социального стресса	Фрустрация потребностей при достижении успеха	Страх самовыражения	Страх ситуации проверки знаний	Страх несоответствия ожиданиям окружающих	Низкое физиологическое сопротивление стрессу	Проблемы страха в отношениях с учителем
	Тревножно-фобический синдром							
медикаментозное	-28,84	-28,57	-27,27	-15,78	0,00	12,50	-25,00	-27,77
комбинированное	-9,75*	-14,28	-7,14*	10,00*	-13,33*	0,00*	25,00*	-27,27
Конверсивно-диссоциативный синдром								
медикаментозное	-12,65	-15,87	-10,81	-32,50	-8,00	39,13	-22,22	0,00
комбинированное	-10,71	-15,78	46,66*	-30,00	-22,22*	0,00*	0,00*	20,00*
Депрессивный синдром								
медикаментозное	-21,10	-24,24	-9,52	0,00	-31,11	9,67	-68,96	6,25
комбинированное	2,50*	15,15*	11,90*	38,88*	12,00*	22,72*	112,50*	3,84

примечание: * – достоверная разница при сравнении между группами лечения ($p < 0,05$)

Спустя 18 дней после лечения установлена тенденция к улучшению показателей теста Б. Филиппа в обеих группах ($p > 0,05$). Спустя 60 дней после терапии высокие значения показателей теста оставались у 15,38% подростков с конверсивно-диссоциативным и у 9,09% – с депрессивным синдромами. Страх несоответствия ожиданиям окружающих увеличился с 42,31% до 61,54% у пациентов с конверсивно-диссоциативным синдромом, с 22,73% до 50,00% – у подростков с депрессивным синдромом. Различия достоверны в сравнении с данными до лечения, $p < 0,05$.

В результате определения влияния различных методов терапии на динамику психопатологических синдромов по шкале школьной тревожности Б. Филиппа установлен наибольший эффект комплексного лечения при депрессивном и тревожно-фобическом синдроме, в меньшей степени – при конверсивно-диссоциативном синдроме (таблица 2).

Сравнительный анализ результатов различных методов лечения с использованием теста школьной тревожности Б.Филиппа, выявил, что назначение комплексного лечения достоверно повышает адаптационные возможности организма к ситуациям стрессогенного характера.

Полученные результаты опросника детской депрессии М. Kovacs свидетельствуют о наличии наиболее выраженной депрессивности у подростков до лечения ($16,6 \pm 0,54$ баллов общего балла – уровень субдепрессии; 2,8 с 4 баллов по выраженности депрессивных признаков) в обеих исследуемых группах. У подростков уровень депрессии выше среднего значения определялся по шкалам «общее снижение настроения», высокий уровень - «истощения и чувство одиночества», отмечались агрессивное поведение, высокий негативизм и повышенный уровень тревожности. При этом у обследованных подростков выявленные нарушения сопровождались незначительно выраженным угнетением настроения с аффектом тоски (скука, уныние, печаль), астеническим проявлением (усталость, вялость, раздражительность, гиперестезия) и тревожностью (внутренняя обеспокоенность, страхи, нередко навязчивости).

Спустя 18 дней после терапии наблюдалась тенденция к улучшению показателей по шкалам CDI М. Kovacs: под-

ростки отмечали легкое снижение настроения с умеренно высокими показателями по шкалам В, D, E. Высокий процент неблагополучия у пациентов I группы отмечен по шкале В «межличностные проблемы» (75,44%), шкале D «ангедония» (66,67%), шкале CDI общий (60,0%). Тогда как во II группе процент неблагополучия достоверно ($p < 0,05$) снизился и составил: одинаковое количество подростков по шкалам В и D (по 37,5%), меньшее количество – по шкалам CDI общий, а «негативное настроение» и «неэффективность» (по 31,25%), наименьшее количество по шкале E «собственная неэффективность и суицидальные мысли» (18,75%).

Спустя 60 дней после терапии наблюдали достоверно выраженные изменения показателей по шкалам CDI М. Kovacs. Установлено достоверно меньшая депрессивность ($11,2 \pm 0,4$ баллов общего балла – уровень легкого снижения настроения; 1,71 из 4 баллов по выраженности депрессивных признаков). Положительная динамика отмечена у 77,8% пациентов, у 32,2% пациентов, которые получали комбинированное лечение отмечено выраженное улучшение с полной редукцией психопатологической симптоматики.

Сравнительный анализ полученных результатов различных методов лечения указывает на то, что использование психотерапии в сочетании с психофармакологической коррекцией оказывает достоверно выраженное положительное влияние на параметры шкалы депрессии, которые изучались. Наиболее значимое влияние комбинированного лечения отмечено на динамику симптомов тревожно-фобического и депрессивного синдромов психосоматических расстройств (таблица 3).

Применение комплексного подхода с использованием психодиагностических методик для определения индивидуально-типологической принадлежности лиц с психосоматическими расстройствами позволяет определить уровень личностных качеств с учетом мотивационных отклонений, оценки степени адаптации и уровня дезинтеграции [10]. Определение ведущего синдрома в клинической картине психосоматических расстройств предусматривает дифференцированный выбор терапевтической тактики, а также индивидуальный реабилитационный подход. В клинической картине обследованных подростков диагностированы

Таблица 3. Изменения показателей значений уровня депрессии по шкале CDI М. Kovacs при разных схемах лечения подростков в процессе наблюдения (Δ , %)

Группы лечения	Депрессивность	CDI общий	Шкала А	Шкала В	Шкала С	Шкала D	Шкала E
Тревожно-фобический синдром							
медикаментозное	-10,53	-6,67	-7,60	-7,77	-1,29	-2,44	-12,13
комбинированное	-44,43*	-19,05*	-11,79*	-8,33	-15,43*	-17,51*	-20,0*
Конверсивно-диссоциативный синдром							
медикаментозное	-43,01	-21,12	-19,64	-22,57	-16,12	-12,85	-17,27
комбинированное	-46,42	-18,60	-23,50	-21,62	14,95 *	-10,51	-25,25*
Депрессивный синдром							
медикаментозное	-14,84	-6,44	-3,61	-13,32	0,43	-6,64	0,00
комбинированное	-30,43*	-8,84	-6,85*	-14,09	-4,95*	-0,66*	-12,29*

примечание: * – достоверная разница при сравнении между группами лечения ($p < 0,05$)

конверсивно-диссоциативный, депрессивный и тревожно-фобический синдромы, которые распределены равномерно. Однако исследования Я.Б. Бикшаевой [2] выявили неоднородные гетерогенные клинические признаки психических нарушений, что образует континуум от относительно простых по своей клинической структуре соматоформных дисфункций до полиморфных психопатологических образований с различной дополнительной симптоматикой. Автором установлено соотношение между собственно дисморфными нарушениями и коморбидными тревожно-фобическими, депрессивными, диссоциативными, ипохондрическими симптомокомплексами в подростковом возрасте.

При этом частота тревожно-фобической, депрессивной и диссоциативной симптоматики колебалась в пределах от 12,1% до 37,3%. Индивидуально-типологические особенности формируют индивидуально-личностный паттерн, который прежде всего обусловлен темпераментом, типом поведенческой активности и личностными особенностями [2,10].

Изучая личностные особенности подростков с психосоматическими расстройствами, необходимо учитывать динамические изменения при их лечении. Так, 2-месячный курс лечения (комбинированная психокоррекционная и психофармакологическая терапия) вызывает достоверное ($p < 0,05$) снижение показателей тревожности, а именно реактивной и личностной тревожности, реактивных и личностных негативных эмоциональных переживаний, общей тревожности. Вместе с тем повысился уровень реактивной и личностной познавательной активности, что подтверждает увеличение любознательности, непосредственной заинтересованности учеников на фоне лечения.

Согласно с данными Д.М. Харченко [10], под влиянием комплексной терапии могут проявляться другие аспекты личностных свойств, которые не были видны до этого, однако играют значимую роль в процессе наблюдения и лечения. Именно таким эффектом можно объяснить достоверное повышение уровня страха несоответствия ожиданиям окружающих у подростков с конверсивно-диссоциативным и депрессивным синдромами в сравнении с данными до лечения в нашем исследовании.

Полученные нами результаты согласуются с данными Г.П. Мозговой и Г.В. Бекетовой [6], которые в результате лечения детей с использованием базисной терапии (согласно протоколам МОЗ Украины) и дополнительной терапии стимулом, на фоне психокоррекции получили достоверное снижение реактивной и личностной тревожности с высоким уровнем до среднего, в отличие от группы контроля, где сохранился исходный уровень обоих видов тревожности.

Подобную динамику исследуемых параметров констатировал в своей работе В.И. Коростий [3], проводя психотерапевтическую коррекцию эмоциональных нарушений у лиц молодого возраста с психосоматическими расстройствами. Автором установлена эффективность применения психофармакотерапии симптомов депрессии спустя 4 недели лечения, тогда как спустя 12 недель лечения наиболее значительная регрессия симптомов депрессии с выходом в ремиссию состоялась независимо от типа терапии. Автор установил, что при кратковременном лечении более эффективна психофармакотерапия, а при длительном – психотерапия. Эта закономерность оказалась наиболее устойчивой у пациентов с более выраженными симптомами тревоги в сравнении с симптомами депрессии.

Д.М. Харченко [10] считает, что при «ситуативном» ва-

рианте участия психопатологического компонента в связи со сложностью стратегии реагирования на первых этапах терапии целесообразно снижать действие эмоционального стресса с помощью психофармакологических средств, повышающих адаптивные возможности.

Исходя из вышеизложенного, следует заключить, что клинический эффект лечения зависит от выбранной тактики. При этом необходимо учитывать комплексную оценку самочувствия, особенности образа жизни, психическое здоровье, наследственность и наличие поведенческих факторов риска, в частности физическую активность, нерациональное питание, вредные привычки с целью нивелирования имеющихся факторов риска возникновения и прогрессирования патологии у подростка.

Выводы:

1. На основании проведенного анализа различных терапевтических подходов к лечению пациентов с психосоматическими расстройствами установлено, что исследуемые методы психофармакологической коррекции (сертралин + ламотриджин) и комбинированной психотерапевтической (клиент-центрированная психотерапия) и психофармакологической (сертралин + ламотриджин) терапии эффективны в обеих исследуемых группах.

2. Подростки с психосоматическими расстройствами оказались наиболее чувствительными к комплексному лечению, в результате которого регресс клинических проявлений наступал в 2,85 раз быстрее.

3. Комбинированная терапия (антидепрессант + нормотимик + психотерапия) назначается в случае преобладания в клинике тревожно-фобического, депрессивного синдромов, в меньшей степени – конверсивно-диссоциативного синдрома, а также в случаях недостаточного или отсутствующего эффекта психофармакологических лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акарачкова Е.С. К вопросу диагностики и лечения психовегетативных расстройств в общесоматической практике. Лечащий врач 2010; 10: <http://www.lvrach.ru/2010/10/15435059/>
2. Бикшаева Я.Б. Семейная терапия подростков с соматоформными расстройствами: интеграция когнитивных, биохемикальных и психодинамических концептуально-методических подходов. Архив психіатрії 2013; 2(73): 83-90.
3. Коростій В.І. Прогнозування та психотерапевтична корекція емоційних розладів при психосоматичних захворюваннях. Медична психологія 2013; 3(31): 56-63.
4. Кудинова Е.И. Клиника, диагностика и терапия соматоформных расстройств. Укр. журн. «Мужское здоровье, гендерная и психосоматическая медицина» 2015; 1-2(02): 45-52.
5. Марута Н.О. Стан психічного здоров'я населення та психіатричної допомоги в Україні. Нейро News: психоневрологія і нейропсихіатрія 2010; 5(24): 83-90.
6. Мозгова Г.П., Бекетова Г.В. Медико-психологическая коррекция психосоматической патологии у детей и подростков. «Педиатрия. Восточная Европа» междунар. науч.-практ. жур. 2013; 1: 65–76.
7. Слободянюк І.А. Основи клієнтцентрованої терапії. Навчально-методичний центр «Консорціум із удосконалення менеджмент-освіти в Україні», Київ: 2012; 136.
8. Плахута В.А. Основи психосоматики в умовах сучасної медицини 2012. <https://essuir.sumdu.edu.ua/bitstream/123456789/26146/1/Plahuta.pdf>

9. Табачников С.И., Марценковский И.А., Бикшаева Я.Б. Дифференцированная терапия соматоформных расстройств в подростковом возрасте: терапевтические подходы и их эффективность. Журн. психиатрии и медицинской психологии 2004; 4(14): 8-16.
10. Харченко Д.М. Комплексний підхід у дослідженні психосоматичних розладів. Актуальні проблеми психології 2012; 1(35): 154-157.
11. Чернышев О.В. Психофармакотерапия болевого синдрома подростков при непсихотических психических расстройствах. Вестник ЮКГФА 2015; 1(70): 10-14.
12. Шитиков Т.О. До питання реабілітації осіб з психосоматичними розладами, що перенесли легку черепно-мозкову травму. J Health Sci. 2013; 3(4): 15-23.

11. Flammer E., Alladin A. The efficacy of hypnotherapy in the treatment of psychosomatic disorders: meta-analytical evidence. Int. J. Clin. Exp. Hypn. 2007; 55(3): 251-274.
12. Moller H.J. Do recent efficacy data on the drug treatment of acute bipolar depression support the position that drugs other than antidepressants are the treatment of choice? Eur Arch Psy Clin Neurosci. 2006; 256: 1-16.
13. Terasaki D.J., Gelaye B.S., Berhane Y., Williams M.A. Anger expression, violent behavior, and symptoms of depression among male college students. BMC Public Health 2009; 9(13): 1-25.

SUMMARY

APPLICATION OF CLIENT-CENTERED PSYCHOTHERAPY IN THE COMPLEX TREATMENT OF ADOLESCENTS WITH PSYCHOSOMATIC DISORDERS

Masik O., Podolian V., Masik N.

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsa, Ukraine

Treatment of psychosomatic disorders does not allow to do without medication intervention, although psychotherapy is important, aimed at correcting psychopathological symptoms. That's why, the definition of a method of therapy, which is better and more likely to cause positive results.

The aim - determining which the better method of treatment and more effective of the causes a positive shift in the dynamics of clinical syndromes.

The group of 90 adolescents (34 boys and 56 girls) with psychosomatic disorders divided into 2 groups, were inspected using received comprehensive clinical psychopathological examination. The average age of adolescents was 14.4 ± 0.06 years old.

The 1-st group (57 persons) consisted of adolescents, who received treatment with Lamotrigine and Sertraline 25 mg / day for persons from 12 to 16 years old and 50 mg / day - over 16 years old. The duration of treatment was 1.5-2 months. Adolescents of the 2-nd group (33 persons) were prescribed Lamotrigine and Sertraline therapy in combination with psychotherapy.

Control of therapeutic effectiveness was evaluated by clinical and Spielberger anxiety questionnaire (STPI — State Trait Personal Inventory), Phillips' school anxiety test and CDI scale (Children Depression's Inventory) by M. Kovacs. Statistical processing was carried out on the basis of the computer program "Statistica 6.1." (Stat Soft Inc., USA).

The anxiety level moved to an average level after medication, except situational negative experiences, which remained at a high level. In adolescents of the 1-st and 2-nd groups the fear

of self-expression decreased significantly by comparison with it before treatment. The anxiety test scores decreased to an average level after complex treatment. At the same time the level of personal cognitive activity remained high, which confirmed the positive effect of combined treatment of psychosomatic disorders due to increased interest, curiosity, interest, which activates cognitive activity of adolescents.

The level of depression in the 1-st group of adolescents after the treatment was 2.16 ± 0.16 , which corresponded to the level of subdepression or masked depression with high scores on scale B. On the background of combined treatment in adolescents the level of depression decreased to 1.71 ± 0.12 , which corresponded to slight decrease of mood with high scores on scale B.

Adolescents with psychosomatic disorders who responded positively to psychotherapy were characterized by low level of somatization, but higher specific weight of psychological problems and difficulties in interpersonal relationships in the internal picture of the illness with peaks at subclasses of interpersonal sensitivity and hostility.

The obtained results of treatment of psychosomatic disorders in adolescents show positive influence of both methods of therapy. However, adolescents with psychosomatic disorders were most susceptible to complex treatment, which accelerates the regression of clinical manifestations and increases the effectiveness of treatment 2.85 times.

Keywords: psychosomatic disorders, adolescents, psychotherapy, client-centered therapy.

РЕЗЮМЕ

ПРИМЕНЕНИЕ КЛИЕНТ-ЦЕНТРИРОВАННОЙ ПСИХОТЕРАПИИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ПОДРОСТКОВ С ПСИХОСОМАТИЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ

Масик О.И., Подолян В.Н., Масик Н.П.

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

Цель исследования - определение эффективности метода лечения, который лучше и быстрее вызывает положительную динамику клинических синдромов.

Проведено комплексное клинико-психопатологическое обследование 90 подростков (34 мальчиков и 56 девочек) с психосоматическими расстройствами в возрасте $14,4 \pm 0,06$

лет, которые были разделены на 2 группы. Первую группу составили подростки (n=57), которые получали терапию ламотриджином (25 мг/сут) и сертралином (25 мг/сут подросткам 12-16 лет и 50 мг/сут – старше 16 лет). Продолжительность стационарного лечения составила 18 дней, амбулаторного – 60 дней. Подросткам второй группы (n=33) назначена терапия ламотриджином и сертралином в сочетании с психотерапией (клиент-центрированная терапия).

Контроль эффективности лечения оценивали клинически и по результатам опросников: тест тревожности Ч.Д. Спилбергера (в модификации А.Д. Андреевой), школьной тревожности Б.Филипса, детской депрессии Maria Kovacs. Статистическую обработку осуществляли с использованием компьютерной программы «Statistica 6.1».

რეზიუმე

კლიენტ-ცენტრირებული ფსიქოთერაპიის გამოყენება ფსიქოსომატური დარღვევების მქონე მოზარდების კომპლექსურ თერაპიაში

ო.მასიკი, ე.პოდოლიანი, ნ.მასიკი

ვინიცას ნ.პიროგოვის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ფსიქოსომატური აშლილობების მკურნალობის ისეთი ფსიქოთერაპიული მეთოდის ეფექტურობის შეფასება, რომელიც ვეულაზე სწრაფად და უკეთესად განსაზღვრავს კლინიკური სინდრომების დადებით დინამიკას.

ჩატარებულია ფსიქოსომატური დარღვევების მქონე 14,4±0,06 წლის ასაკის 90 მოზარდის (34 ვაჟი, 56 გოგონა) კომპლექსური კლინიკურ-ფსიქოლოგიური გამოკვლევა. პაციენტები დაიყო ორ ჯგუფად. პირველი ჯგუფი შეადგინა 57 მოზარდმა, რომელთაც მკურნალობდნენ ლამოტრიდჟინით, დოზით 25 მგ/დღეში და სერტრალინით, დოზით 25 მგ/დღეში 12-16 წლის ასაკში, 16 წელზე მეტი ასაკის პაციენტებს კი – დოზით 50 მგ/დღეში. სტაციონარული მკურნალობის ხანგრძლივობამ შეადგინა 18 დღე, ამბულატორიულისა – 60 დღე. მოზარდების მეორე ჯგუფს (33 პირი) დაენიშნა თერაპია ლამოტრიდჟინით და სერტრალინით, ფსიქოთერაპიასთან კომპლექსში (კლიენტ-ცენტრირებული თერაპია).

მკურნალობის ეფექტურობის კონტროლი ფასდებოდა კლინიკურად და კითხვარების შედეგების მიხედ-

პовышенный уровень общей тревожности по тесту школьной тревожности Б. Филиппа до лечения у большинства детей свидетельствует о неудовлетворительном общем психоэмоциональном состоянии. Положительный эффект лечения на психопатологическую симптоматику установлен у подавляющего большинства пациентов (66,67% у пациентов I группы и у 73,33% - II группы).

Положительный эффект лечения психосоматических расстройств проявила психофармакологическая коррекция как самостоятельная терапия, так и в комплексе с клиент-центрированной психотерапией. Однако, более быстрый и выраженный эффект оказывает комплексное лечение, которое ускоряет регрессирование симптомов в 2,85 раза.

ვით: ჩ.სპილბერგერის შფოთვის ტესტი (ა.ანდრეევას მოდიფიკაციით), ბ.ფილიპის სასკოლო შფოთვის ტესტი, Maria Kovacs-ის ბავშვთა დეპრესიის ტესტი. შედეგები სტატისტიკურად დამუშავდა კომპიუტერული პროგრამით «Statistica 6.1».

ბავშვების უმეტესობაში მკურნალობამდე ზოგადი შფოთვის მომატებული დონე ბ.ფილიპის სასკოლო შფოთვის ტესტის მიხედვით მიუთითებს არადაამაკმაყოფილებელი საერთო ფსიქოემოციური მდგომარეობის შესახებ. მკურნალობის დადებითი ეფექტი ფსიქოპათოლოგიურ სიმპტომატიკაზე დადგენილია პაციენტების უმრავლესობაში (პირველი ჯგუფიდან – 66,67%, მეორე ჯგუფიდან – 73,33%).

ფსიქოსომატური დარღვევების მკურნალობის დადებითი შედეგი მოჰყვება ფსიქოფარმაკოლოგიურ კორექციას, როგორც დამოუკიდებელ თერაპიას, ასევე, კლიენტ-ცენტრირებულ ფსიქოთერაპიასთან კომპლექსში. თუმცა, უფრო სწრაფ და გამოხატულ ეფექტს ახდენს კომპლექსური მკურნალობა, რომელიც 2,85-ჯერ აჩქარებს სიმპტომების რეგრესს.

ANTIOXIDATIVE EFFICACY OF NEUROPROTECTIVE THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC CEREBRAL ISCHEMIA

Demchenko A., Horbachova S., Revenko A.

Zaporizhzhia State Medical University; Educational and Scientific Medical Centre «Teaching Hospital», Ukraine

Social and economic changes, alterations in the living conditions and tempo, as well as population graying observed in the modern world, have led to a considerable increase of cerebrovascular diseases (CVD), and the consequences of their destructive influence on the quality of life, work capacity, and disability of the population have become a remarkable burden for the society [3,6]. The rise of CVD expansion is determined by the increase of the part of chronic cerebral ischemia (more than 90%) (ChCI) [5,13,11].

It is proved that clinical manifestations of CDV, as well as the morphological changes in the brain, are due to inhibition of biological combustion processes, development of glutamate excitotoxicity, hyperproduction of reactive oxygen intermediates (ROI), decreased activity of antioxidative systems, activation of apoptosis in the cerebral tissue [1,13]. In this case clinical neurology has the need in studying endogenous antioxidant system. The main role in its functioning is played by thiol-disulfide system, and glutathione is the key cellular antioxidant [7,10,15].

Nowadays, one of the most prospective methods of ChCI is neuroprotective therapy which influences the universal endpoint mechanisms of neuron damage, and is aimed at their metabolic protection [1,6,11,14,16]. Thus, the use of neuroprotective drugs, that combine antioxidative, metabolic and nootropic properties, is especially actual [1].

Numerous experimental researches and clinical trials have proved the advisability of using a complex drug based on a stable combination of Tiotriazolin and Piracetam (commercially known as "Tiocetam") for treatment of ChCI [1,4,5,9]. Pharmacological efficacy of Tiocetam is determined by the mutual potentiation of Pirocetam and Tiotriazolin. Its structure shows the presence of thiol-containing units that compete with SH-units of cysteine-dependent area of protein of internal mitochondrial membrane by ROI and ONOO, forming stable complexes with them. This prevents opening of mitochondrial pore under the conditions of oxidative and nitrosative stress, thus providing neuroprotective efficacy of Tiocetam.

Tiocetam is capable of accelerating glucose combustion in the reactions of aerobic and anaerobic combustion, of normalizing biological combustion processes, and of stabilizing metabolism in brain tissues. Tiocetam prevents the formation of ROI, activated antioxidative system of enzymes, regulates consumption of glucose and oxygen by brain tissue, improves blood supply of brain, as well as the process of interneuronal impulse transmission, stimulates regeneration of damaged neurons. This drug combines nootropic and antihypoxic action of piracetam with antioxidative, anti-ischemic and adaptogene effect of triazololin [1]. For this reason, in the treatment of patients with ChCI it is necessary to opt for the drugs that have several mechanisms of action. This allows cutting the cost of treatment, as well as decreasing the frequency of side effect occurrence, and, what is especially important today – avoiding polypragmasy [1,11].

The aim of the research is to estimate the molecular and biochemical efficacy of Tiocetam administration to patients with ChCI, with regard of the state of glutathione system in plasma and of erythrocytes hemolysate.

Material and methods. The study group comprises 60 patients with ChCI, aged from 37 to 73 years (average age is $54,70 \pm 7,71$ years), who were admitted for treatment in the Teaching hospital of Zaporizhzhia State Medical University. Etiological factors of ChCI in the examined patients were atherosclerosis of cerebral vessels, arterial hypertension or their combination. The diagnosis was stated according to the classification of vascular cerebral diseases of ICD-10 and was confirmed with the data obtained during instrumental and laboratory diagnostics (brain CT/MRT, duplex scanning of brachiocephalic vessels, examination of eye-ground, lipid profile, coagulation profile).

Concentration of renewed glutathione (RG) in blood plasma and erythrocytes hemolysate in control group and experimental group of patients was defined according to the reaction with ortho-phthalic anhydride; such aspects as the contents of SH-group thioles in blood plasma, the activity of glutathione-dependent enzymes (glutathione transferase (GT), glutathione reductase (GR) and glutathione peroxidase (GPx)) were defined spectrophotometrically [12]. The strength of all the studied enzymes in plasma was converted into gram of protein of blood plasma, and in erythrocytes hemolysate it was converted into gram of hemoglobin (Hb). The concentration of hemoglobin was estimated with the automatic blood analyzer Mythic 18 (Orphee, France).

In order to estimate molecular and biochemical efficacy of the neuroprotective drug administration, the patients with ChCI were divided into two groups of 30 people, depending on the therapeutic regimen. The patients from the control group were intravenously administered infusions of Tiocetam (manufactured by JSC "Galychpharm" with contributions from Scientific-Production Association "Pharmatron", Ukraine) with the dosage of 20 ml (1 ml of solution contains 100 mg of Piracetam and 25 mg of Tiotriazoline) for 10 days, then changed for Tiocetam forte (400 mg of Piracetam and 100 mg of Tiotriazoline) with the dosage of 1 pill thrice a day during 30 days. The patients of the experimental group were taking basic treatment, without administration of neuroprotective drugs. During the case follow up all the patients were examined thrice – at the start of therapy, in 10 ± 1 days, and in 30 ± 2 after the second visit.

The results of the research are processed with the use of the licensed software of program pack «STATISTICA® for Windows 6.0» (Stat Soft Inc., USA, № AXXR712D833214FAN5), and «Microsoft Excel 2010». The normality of index distribution was defined with Shapiro-Wilk test. Descriptive statistics data are represented as arithmetic average and standard deviation $M \pm SD$, or as median and interquartile range $Me (Q1-Q3)$, depending on the index distribution. Comparison of the data of three linked samples was performed with Friedman test with further pair-wise comparison of the groups with non-parametric Wilcoxon test.

Results and their discussion. After parenteral administration of Tiocetam during ten days, a confirmed decreased activity of GT by 18% ($p=0,041$), and an increase of GR by 45% ($p=0,021$) and GPx by 12% ($p=0,003$) in comparison to the same indicia at the start of therapy, was observed. The indicia of S-groups and RG have hardly changed (Table 1). At the end of treatment with Tiocetam, at the close of per oral administration (3rd vis-

it), a probable decreased activity of GT by 21% ($p=0,009$), as well as an increase of GR by 49% ($p=0,001$) and GPx by 13% ($p=0,002$) compared to the same indicia at the start of treatment. The contents of SH-groups and RG have remained unaltered.

By comparison of indicia of glutathione system in blood plasma of the patients with ChCI during Tiocetam therapy, a probable decreased activity of GT ($p=0,003$), and increased activity of GR

($p=0,002$) and GPx ($p=0,002$) was defined with Friedman test.

Remarkable changes in the activity of glutathione-dependent enzymes and in the contents of RG are found in erythrocytes hemolysate of the patients with ChCI after Tiocetam therapy (Table 2).

Thus, after ten days of Tiocetam administration, a confirmed decreased activity of GT by 20% ($p=0,001$), and increased ac-

Table 1. Time history of indicia of glutathione system in blood plasma of patients with ChCI under Tiocetam treatment

Indicia	1st visit	2nd visit	3rd visit	p	p1-2	p1-3	p2-3
Control group (n=30)							
GT mcM/(min*protein gr)	1,94 (1,52-2,31)	1,59 (1,18-2,25)	1,53 (1,34-1,83)	0,003	0,041	0,009	>0,05
GR mcM/(min* protein gr)	0,51 (0,46-0,74)	0,74 (0,56-0,80)	0,76 (0,62-0,93)	0,002	0,021	0,001	>0,05
GPx mcM/(min* protein gr)	1,99 (1,89-2,08)	2,27 (2,07-2,42)	2,29 (2,12-2,39)	0,002	0,003	0,002	>0,05
SH-groups mcM/protein gr	19,05 (15,59-21,52)	19,55 (17,12-21,19)	19,51 (17,53-21,59)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
RG mcM/l	26,25 (21,80-30,60)	27,35 (22,80-30,20)	26,60 (24,20-29,80)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Experimental group (n=30)							
GT mcM/(min* protein gr)	1,94 (1,68-2,19)	1,79 (1,45-2,11)	1,74 (1,61-2,02)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
GR mcM/(min* protein gr)	0,48 (0,40-0,65)	0,65 (0,41-0,77)	0,56 (0,44-0,66)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
GPx mcM/(min* protein gr)	2,03 (1,76-2,28)	2,19 (1,88-2,39)	2,10 (1,93-2,31)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
SH-groups mcM/protein gr	19,05 (14,77-22,61)	20,69 (18,73-23,27)	20,17 (17,36-23,20)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
RG mcM /l	26,05 (21,50-29,40)	24,60 (21,70-26,70)	23,45 (21,50-27,40)	>0,05	0,023	>0,05	>0,05

p – Friedman test; p1-2, p1-3, p2-3 – Wilcoxon test.

Table 2. Time history of indicia of glutathione system in erythrocytes hemolysate of patients with ChCI under Tiocetam treatment

Indicia	1st visit	2nd visit	3rd visit	p	p1-2	p1-3	p2-3
Control group (n=30)							
GT mcM/(min* Hb gr)	3,54 (2,62-5,13)	2,85 (2,16-3,32)	2,43 (2,06-3,65)	0,004	0,001	0,004	>0,05
GR mcM/(min* Hb gr)	1,81 (1,52-2,07)	2,12 (1,89-2,32)	2,18 (1,84-2,59)	0,007	0,004	0,001	>0,05
GPx mcM/(min* Hb gr)	16,81 (12,82-19,57)	21,66 (18,00-25,46)	24,45 (19,37-28,39)	<0,001	<0,001	<0,001	>0,05
RG mcM/l	2,00 (1,70-2,30)	2,30 (2,10-2,50)	2,40 (2,20-2,50)	<0,001	<0,001	<0,001	0,022
Experimental group (n=30)							
GT mcM/(min* Hb gr)	3,38 (2,49-5,34)	3,18 (2,29-4,25)	3,22 (2,26-4,37)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
GR mcM/(min* Hb gr)	1,77 (1,68-1,96)	1,97 (1,55-2,28)	1,87 (1,61-2,53)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
GPx mcM/(min* Hb gr)	17,11 (14,94-20,13)	18,61 (14,35-22,06)	18,35 (15,82-22,09)	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
RG mcM/l	1,90 (1,70-2,10)	2,00 (1,90-2,20)	2,00 (1,80-2,20)	0,020	>0,05	>0,05	>0,05

p – Friedman test; p1-2, p1-3, p2-3 – Wilcoxon test

tivity of GR by 17% ($p=0,004$) and GPx by 29% ($p<0,001$), in comparison to the same indicia at the start of treatment, was observed. Besides, positive changes were notable at the end of per oral administration of Tiocetam (3rd visit). Namely, confirmed decreased activity of GT by 31% ($p=0,004$), and increased activity of GR by 20% ($p=0,001$) and GPx by 45% ($p<0,001$), as well as an increase of RG by 20% ($p<0,001$), comparing with the same indicia at the start of treatment (the 1st visit), are observed.

The analysis of biochemical indicia (at three visits) during tiocetam treatment has revealed probable (by Friedman test) decreased activity of GT ($p=0,004$), increased activity of GR ($p=0,007$) and GPx ($p<0,001$), as well as an increase of RG ($p<0,001$) in erythrocytes hemolysate of the patients with ChCI (Table 2).

The patients tolerated Tiocetam treatment well.

Thus, the use of neuroprotective drug Tiocetam for treatment of patients with ChCI leads to considerable changes in the antioxidant protection system of the organism. Consequently, the activity of glutathione-dependent enzymes, both in blood plasma and in erythrocytes hemolysate of the patients with ChCI, has positively changed. The level of RG has increased in erythrocytes hemolysate. The indicia under study have been more considerably changed after parenteral administration of the drug. After a course of Tiocetam treatment 86,6% of the patients have registered considerable or moderate improvement in their condition.

Previous clinical trials have proved the positive influence of Tiocetam on the state of cognitive functions and values of bioelectric activity of the brain in patients with ChCI [3,11]. However, no evidence of the studied drug influence on glutathione link of SS-SH system in patients with ChCI for the improvement of antioxidant protection of organism has been found, which determines the topicality of the performed study.

Belenichev I. F. et al. [2] performed experiments on white rats with modelled ChCI and found out that the use of Tiocetam had resulted in increased activity of antioxidant enzymes GT, GR and GPx, increased SH-groups levels and RG in the brain cortex of the experimental animals.

Medical literature gives various regimens for treating patients with ChCI with Tiocetam [4,5]: an infusion of 20-30 ml of Tiocetam dissolved in 100 ml of physiological salt solution administered 1 time a day during 21 days [5]; administration of 2 pills of Tiocetam (200 mg of Piracetam and 50 mg of Tiotriazoline) three times a day during three or four weeks [4].

Our research has proved positive dynamics in the change of indicia of glutathione system in patients with ChCI, while using the drug stepwise – first, parenteral infusion with the dose of 20 ml during 10 days, then per oral administration of 1 forte pill (400 mg of piracetam and 100 mg of tiotriazoline) three times a day during thirty days, which has been proved with the data of molecular-biochemical research.

After Tiocetam treatment, an increase of RG in erythrocytes hemolysate is registered. This proves the limit of oxidative stress reactions and regulation of cellular membrane entirety, with the prevention of releasing RG in blood plasma, which has been proved by the results of the undertaken study (the decrease of RG contents in blood plasma after the treatment).

Changes in concentration of RG and in the activity of glutathione-dependent enzymes in plasma and erythrocytes hemolysate had diverse character which confirms the existence of two different glutathione systems in blood – in erythrocytes and in plasma [10].

It is known that glutathione is not only a donor of thiole-containing compounds and co-factor of some antioxidative

enzyme systems, but also the key factor in restoration of cells after oxidative stress [10]. The results of the study of treating patients with ChCI with Tiocetam have proved increased activity of glutathione system functioning and glutathione-dependent antioxidative enzymes (GPx and GR) that are associated with its metabolism and have the key role in limitation of oxidative stress reactions and improvement of redox-regulation, resulting in the protection of the brain from the impact of active oxygen forms and peroxydation products associated with ischemia, which is validated by the results of other researches [1, 8].

Conclusion. It is found out that patients with ChCI have thiol-disulfide balance disorder which is compensated by means of the activation of glutathione-dependent enzymes like GR, in particular. The use of Tiocetam as a donor of renewed thiol groups restores normal functioning of thiol-disulfide system and restricts negative impact of other free radicals of oxygen and nitrogen on neurons under oxidative stress. Obtained results prove pathogenetically substantiated administration of Tiocetam for patients with ChCI, due to its positive impact on the condition of glutathione antioxidative system in blood plasma and erythrocytes hemolysate, by means of suppression of main mechanisms of oxidative stress, which make preconditions for clinical manifestations of ChCI.

REFERENCES

1. Беленичев И.Ф., Черный В.И., Нагорная Е.А. Нейропротекция и нейропластичность. К.: 2015; 512.
2. Беленічев І.Ф. Порівняльна оцінка ефективності дії сучасних нейропротекторів в умовах експериментальної хронічної ішемії мозку / І.Ф. Беленічев, А.В. Демченко // Запорозький медичний журнал. – 2015. - №2. – С. 37 – 41.
3. Боголепова А. Н. Лечение когнитивных нарушений сосудистого генеза. Эффективная фармакотерапия 2015; 23: 14–18.
4. Васильєва Н. В., Білоус І. І, Яремчук О. Б. Оцінка ефективності тіоцетаму у хворих на дисциркуляторну енцефалопатію. // Вісник наукових досліджень 2011; 4: 138–139.
5. Дзяк Л. А. Дозозависимая эффективность Тиоцетама в лечении дисциркуляторной энцефалопатии II стадии вследствие атеросклероза сосудов головного мозга. // Международный неврологический журнал 2007; 5 (15): 104–110.
6. Захаров В. В. Сосудистые когнитивные нарушения и инсульт. Эффективная фармакотерапия. // Неврология и психиатрия 2016; 4: 30–36.
7. Калинина Е. В. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов. Успехи биологической химии 2014; 54: 299–348.
8. Колесниченко Л. С., Кулинский В. И., Шпрах В. В. Система эритроцитов и плазмы крови при инсультах и дисциркуляторной энцефалопатии. // Биомедицинская химия 2007; 53 (4): 454–460.
9. Кузнецова С. М. Тиоцетам в системе реабилитации больных, перенесших инсульт. // Запорозький медичний журнал 2010; 5: 142–146.
10. Кулинский В. И. Глутатион ядра клетки и его функции. // Биомедицинская химия 2010; 56: 657–662.
11. Мищенко Т. С. Новые возможности в лечении больных с дисциркуляторной энцефалопатией. // Международный неврологический журнал 2015; 5 (75): 55–64.
12. Чекман И. С., Губский Ю. И., Беленичев И. Ф. Доклини-

ческое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов. К.: 2010; 81.

13. Черный В.И., Колесников А.Н., Горюнов Г.А. Ишемия головного мозга в медицине критических состояний. Нейропротекция (патофизиология, терминология, характеристика препаратов). К.: 2007; 72.

14. Шавловская О. А. Нейропротективная терапия при хронической ишемии мозга. // Лечащий врач 2013; 9: 32–36.

15. Liu H., Wang H., Shenvi S. Glutathione metabolism during aging and in Alzheimer disease. // Ann. N.Y. Acad. Sci 2004; 1019: 346–349.

16. Rothwell P. M., Coull A. J., Silver L. E. Population-based study of event-rate, incidence, case fatality, and mortality for all acute vascular events in all arterial territories (Oxford Vascular Study). // Lancet 2005; 366 (9499): 1773–1783.

SUMMARY

ANTIOXIDATIVE EFFICACY OF NEUROPROTECTIVE THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC CEREBRAL ISCHEMIA

Demchenko A., Horbachova S., Revenko A.

Zaporizhzhia State Medical University; Educational and Scientific Medical Centre «Teaching Hospital», Ukraine

The aim of the research is to estimate the molecular and biochemical efficacy of Tiocetam administration to patients with ChCI, with regard of the state of glutathione system in plasma and of erythrocytes hemolysate.

60 patients with ChCI, averagely aged 54,70±7,71 years, were examined and divided into two groups of 30 people each, depending on the treatment regimen. The patients from the control group were intravenously administered infusions of Tiocetam with the dosage of 20 ml (for 10 days, then changed for Tiocetam forte (400 mg of Piracetam and 100 mg of Tiotriazoline) with the dosage of 1 pill thrice a day during 30 days. The patients of the experimental group were taking basic treatment, without administration of neuroprotective drugs. Concentration of renewed glutathione (RG) in blood plasma and erythrocytes hemolysate of patients was defined according to the reaction with ortho-phthalic anhydride; the contents of SH-group thioles in blood plasma, the activity of glutathione-dependent enzymes were defined spectrophotometrically.

Treating patients with ChCI with Tiocetam has revealed probable (by Friedman test) decreased activity of glutathione transferase (GT) ($p=0,003$), and increased activity of glutathione reductase (GR) ($p=0,002$) and glutathione peroxidase (GPx) ($p=0,002$) in blood plasma, as well as decreased activity of GT ($p=0,004$), increased activity of GR ($p=0,007$) and GPx ($p<0,001$), as well as an increase of RG ($p<0,001$) in erythrocytes hemolysate of the patients with ChCI.

Obtained results prove pathogenetically substantiated administration of Tiocetam for patients with ChCI, due to its positive impact on the condition of glutathione antioxidative system in blood plasma and erythrocytes hemolysate, by means of suppression of main mechanisms of oxidative stress, which make preconditions for clinical manifestations of ChCI.

Keywords: chronic cerebral ischemia (discirculatory encephalopathy), glutathione antioxidative system, Tiocetam.

РЕЗЮМЕ

АНТИОКСИДАНТНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НЕЙРОПРОТЕКТИВНОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ МОЗГА

Демченко А.В., Горбачева С.В., Ревенько А.В.

Запорожский государственный медицинский университет; Учебно-научный медицинский центр «Университетская клиника», Украина

Цель исследования – оценить молекулярно-биохимическую эффективность курсового приема тиоцетама у пациентов с хронической ишемией мозга относительно влияния на состояние системы глутатиона в плазме и эритроцитах крови.

Обследовано 60 пациентов с хронической ишемией мозга (средний возраст 54,70±7,71 лет), которые в зависимости от схемы лечения разделены на 2 группы по 30 больных в каждой. Пациенты основной группы принимали тиоцетам в дозе 20,0 мл внутривенно капельно первые 10 дней, в дальнейшем тиоцетам-форте по 1 таблетке три раза в день в течение 30 дней. Пациенты группы сравнения получали базовое лечение без нейропротективных препаратов. Концентрацию восстановленной формы глутатиона в плазме крови и гемолизате эритроцитов определяли по реакции с орто-фталевым ангидридом, содержание общих тиоловых групп, активность глутатион-зависимых ферментов в плазме крови и гемолизате эритроцитов - спектрофотометрически.

При лечении тиоцетамом пациентов с хронической ишемией мозга установлено достоверное по критерию Фридмана снижение активности глутатионтрансферазы (ГТ) ($p=0,003$), повышение активности глутатионредуктазы (ГР) ($p=0,002$) и глутатионпероксидазы (ГПО) ($p=0,002$) в плазме крови, а также снижение активности ГТ ($p=0,004$), повышение активности ГР ($p=0,007$) и ГПО ($p<0,001$), увеличение содержания восстановленной формы глутатиона ($p<0,001$) в гемолизате эритроцитов.

Полученные результаты свидетельствуют о патогенетически обоснованном назначении тиоцетама пациентам с хронической ишемией мозга на основании его положительного влияния на функционирование антиоксидантной системы глутатиона в плазме и эритроцитах крови путем торможения основных механизмов окислительного стресса, которые являются основой клинических проявлений хронической ишемии мозга.

რეზიუმე

ნეიროპროტექტორული თერაპიის ანტიოქსიდაციური ეფექტურობა პაციენტებში ტვინის ქრონიკული იშემიით

ა.დემჩენკო, ს.გორბაჩოვა, ა.რევენკო

ზაპოროჟიის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; სასწავლო-სამეცნიერო სამედიცინო ცენტრი «საუნივერსიტეტო კლინიკა», უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა თიოცეტამის კურსობრივი მიღების მოლეკულურ-ბიოქიმიური ეფექტი

ტურობის შეფასება პაციენტებში ტვინის ქრონიკული იშემიით გლუტათიონის სისტემის მოქმედებასთან მიმართებით სისხლის პლაზმასა და ერითროციტებში.

გამოკვლეულია საშუალო ასაკის ($54,70 \pm 7,71$ წ.) 60 პაციენტი ტვინის ქრონიკული იშემიით, რომლებიც მკურნალობის სქემის გათვალისწინებით გაიყო ორ ჯგუფად, თითოეულში – 30 პირი. ძირითადი ჯგუფის პაციენტები იღებდნენ თიოცეტამს, დოზით 20,0 მგ წვეთოვანად, ინტრავენურად პირველი ათი დღის განმავლობაში, შემდეგ – თიოცეტამ-ფორტეს 1 აბს სამჯერ დღეში 30 დღის განმავლობაში. შედარების ჯგუფის პაციენტები იღებდნენ ბაზისურ მკურნალობას ნეიროპროტექტორული პრეპარატების გარეშე. გლუტათიონის აღდგენილი ფორმის კონცენტრაცია სისხლის პლაზმაში და ერითროციტების ჰემოლიზატში განისაზღვრებოდა ორთო-ფთალური ანჰიდრიდის რეაქციით; თიოლური ჯგუფების შემცველობა, გლუტათიონ-დამოკიდებული ფერმენტების აქტივობა სისხლის პლაზმასა და ერითროციტების ჰემოლიზატში განისაზღვრებოდა სპექტროფოტომეტრიულად.

პაციენტების მკურნალობისას თიოცეტამით ფრიდმანის კრიტერიუმის მიხედვით სარწმუნოდ დადგენილია სისხლის პლაზმაში გლუტათიონტრანსფერაზას აქტივობის შემცირება ($p=0,003$), გლუტათიონრედუქტაზას და გლუტათიონპეროქსიდაზას აქტივობის მომატება ($p=0,002$), ასევე, ერითროციტების ჰემოლიზატში გლუტათიონტრანსფერაზას აქტივობის შემცირება ($p=0,004$), გლუტათიონრედუქტაზას ($p=0,007$), გლუტათიონპეროქსიდაზას ($p<0,001$) და გლუტათიონის აღდგენილი ფორმის აქტივობის ($p<0,001$) მომატება.

მიღებული შედეგები მიუთითებს ტვინის ქრონიკული იშემიით პაციენტებისათვის თიოცეტამის დანიშვნის პათოგენეზურად დასაბუთებული ეფექტურობის შესახებ სისხლის პლაზმასა და ერითროციტებში გლუტათიონის ანტიოქსიდაციური სისტემაზე მისი დადებითი მოქმედების საფუძველზე, ასევე, ჟანგვითი სტრესის ძირითადი მექანიზმების დათრგუნვის გათვალისწინებით, რაც ტვინის ქრონიკული იშემიის ძირითად კლინიკურ გამოვლინებას წარმოადგენს.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ УСТОЙЧИВОСТИ К МАЛЯРИИ (ОБЗОР)

Ларина С.Н., Сахарова Т.В., Горожанина Е.С., Бурдаев Н.И., Чебышев Н.В.

Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Россия

Малярия является одним из наиболее распространенных паразитарных заболеваний в мире. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), во всем мире насчитывается 225 миллионов случаев заболевания малярией, более 781 000 смертельных случаев в год в результате инвазии, вызванной, в основном *P. falciparum* [23]. Малярия является сильным селекционным фактором, оказывающим влияние на генотип человека. Наибольшее воздействие возбудители малярии оказывают на жителей тропического пояса. В результате появились генетические заболевания, такие как серповидно-клеточная анемия, талассемия, дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

Цель обзора - обобщение и анализ современной научной, текущей и ретроспективной литературы по генетической устойчивости к малярии. В обзоре рассматриваются результаты исследований полиморфизмов эритроцитов, защищающих человека от малярийной инвазии и делается попытка объяснить механизмы устойчивости к данному заболеванию [2,6,13]. Понимание генетических изменений, связанных с нарушениями в эритроцитах и особенностями патогенеза позволит разработать новую тактику лечения и профилактики малярии [14,17,22].

Серповидно-клеточные анемии - группа генетических заболеваний, возникающих у гомо- и гетерозигот в результате точковой мутации, замены основания в шестом кодоне в гене, кодирующем HbV, ответственном за продукцию β-цепи гемоглобина человека. В результате глутаминовая кислота меняется на валин, что приводит к повышению полимеризации гемоглобина и является при-

чиной изменения формы эритроцитов на серповидную. Такие эритроциты становятся ригидными, теряют эластичность, закупоривают мелкие сосуды и гемолизуются. Развитие малярийного плазмодия зависит от гемоглобинового окружения, так как изменения в гемоглобине нарушают биологический и клеточный механизмы развития паразитов. У гетерозигот гемоглобин S в 90% случаев защищает от летального исхода при тропической малярии. Полимеризация гемоглобина у гетерозиготных особей предотвращается из-за присутствия нормальной β-цепи в тетрамере. Гомозиготность по гену HbS является летальной, гетерозиготность - нет. Поскольку гомозиготность летальна, предполагается, что должен проходить эволюционный отбор против мутантного аллеля. Вместо этого мутация весьма широко распространена в Африке. Действительно, исследования показали, что частота аллеля HbS была выше у пациентов с малярией средней тяжести, чем у пациентов с тяжелой и летальной малярией. Причины чего неясны. Со временем выдвинута гипотеза, что мутантная β-цепь менее эффективна в предотвращении генерации кислородных радикалов внутри самих эритроцитов или паразитами [3]. Исследования показали защитный эффект HbS от *Plasmodium falciparum* (*P.falciparum*) [12]. В Западной Африке самую значимую роль играет вклад обеспечивает HbS, который, по всей вероятности, оберегает организм от смерти и тяжелого течения талассемии [9]. Механизм защиты также может быть обусловлен затруднением проникновения и задержкой роста паразитов в пораженных эритроцитах. Предполагается, что

эта мутация появилась 2000-3000 лет назад. Аллель HbS является примером сбалансированного полиморфизма в человеческой популяции [8].

Гемоглобин С связан с мутацией в гене HbВ, при которой глутаминовая кислота меняется на валин в позиции 6 [1]. Аллель HbС в гомозиготном состоянии обеспечивает защиту от малярии на 90 %, в гетерозиготном - на 30%. Эта мутация у носителей не сопровождается тяжелыми клиническими проявлениями в сравнении с мутацией HbS.

Гемоглобин Е – мутация в гене HbВ, при котором глутаминовая кислота заменяется на лизин в позиции 26. Это гемоглобинопатия может защищать от трехдневной малярии. Гомозиготы по HbЕ имеют бессимптомную анемию, однако не известно, как эта мутация влияет на клиническое течение малярии. Наблюдается устойчивость гетерозигот к *P.falciparum*. Носительство гемоглобина Е обычно встречается в странах Юго-Восточной Азии. Предполагают, что эта мутация возникла относительно недавно и быстро распространилась в популяции.

Талассемии - класс анемий, вызванных аномалиями в генах, кодирующих продукцию гемоглобина, при которых происходит утрата, уменьшение или замена α - или β -цепей в молекуле гемоглобина на γ - или δ - в результате делеции или других перестроек копий глобиновых генов на хромосомах 11 или 16. В зависимости от нарушения синтеза α - или β -цепей выделяют α - и β -талассемию. Делеция, захватывающая четыре копии α -глобиновых генов, приводит к полному отсутствию α -цепей и образованию несовместимого с жизнью гемоглобина, состоящего из γ -цепей. При нонсенсе и сплайсинговых мутациях, а также мутациях в промоторной области гена β -глобиновых цепей происходит уменьшение или прекращение синтеза β -глобиновых цепей. На сегодняшний день описано более 300 таких мутаций, приводящих к широкому спектру клинических проявлений. Наличие талассемии в гомозиготном состоянии является причиной тяжелого течения заболевания, а часто и гибели. В гетерозиготном состоянии инвазированный малярийным плазмодием человек является практически здоровым. Показано, что как α -, так и β -талассемия защищает от малярии. Имеются данные о повышенной чувствительности к инвазии *P.vivax* и *P.falciparum* у детей младшего возраста (до двух лет) с α -талассемией [11]. Выявлено, что в эритроцитах при α -талассемии наблюдается снижение роста паразита и повышение связывания с антителами иммунной сыворотки. Однако окончательно защитный механизм при талассемии по сей день неизвестен. В Европе высокая частота талассемий обнаружена у населения побережья Средиземного моря. Эти гемоглобинопатии также встречаются практически по всех странах Африки, Ближнего Востока, Средней и Юго-Восточной Азии, Аравийского полуострова, в Индии, Южном Китае и других регионах, где малярия являлась распространённым паразитарным заболеванием в последнее тысячелетие.

Примерно у 400 миллионов человек, живущих в тропических и субтропических районах, обнаруживается недостаточность глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (Г-6 ФДГ, G6PD). Недостаточность Г-6 ФДГ в эритроцитах может снизить рост внутриклеточного паразита [20]. Исследования показали, что пораженные плазмодием эритроциты, дефицитные по Г-6 ФДГ, более подвержены фагоцитированию моноцитами, что приводит к уменьшению паразитарной нагрузки при заболевании. Дефицит фермента глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы в эритроците - патология, связанная

с мутациями в гене G6PD на X хромосоме и снижающая способность эритроцитов препятствовать окислению. Ген G6PD локализован в области хромосомы Xq28 и содержит 13 экзонов. Существуют различные варианты генотипов. Описано более 300 различных мутаций в гене, которые ведут к полиморфизму заболевания. У больных малярией паразит разрушает в эритроцитах гемоглобин, обеспечивая себе место для роста и использует гемоглобин для питания. В результате высвобождаются протеиды и железо, которые являются токсичными инициаторами окислительного процесса. Значимой защитой от окислительного процесса внутри эритроцита является образование донора электронов никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфата с помощью фермента глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы. Дефицит Г-6 ФДГ обеспечивает снижение частоты тяжелой клинической формы тропической малярии у гетерозиготных женщин и гомозиготных мужчин на Востоке и в Западной Африке, примерно на 50%. Выявленная аллельная гетерогенность по дефициту Г-6 ФДГ осложняет поиск взаимосвязи недостаточности этого фермента с устойчивостью к тяжелым формам малярии [21], что может возникнуть в результате затрудненного роста паразита в эритроцитах и/или благодаря более эффективному фагоцитозу зараженных плазмодиями эритроцитов на ранней стадии развития клеток крови. Географическое распространение мутаций по соответствующему гену согласуется с эволюционным отбором по малярии. Наибольшее распространение заболевание получило в странах Средиземноморья, Ближнего и Среднего Востока, Северных регионов Африки и Юго-Восточной Азии.

Пируваткиназа (ПК) является весьма значимым фактором восприимчивости к малярии, ее дефицит связан со снижением выживаемости и увеличением фагоцитоза инфицированных паразитами эритроцитов. Недостаток ПК является второй по распространенности причиной наследственной несфероцитарной гемолитической анемии. ПК катализирует скорость гликолиза, а источником энергии для эритроцитов является именно гликолиз, поскольку у эритроцитов нет митохондрий. Ген ПК полиморфен и включает 59 генетических вариаций, которые могут быть связаны со сниженной резистентностью к малярии [4]. Значимую роль в патогенезе малярии играет этап проникновения малярийного плазмодия в эритроцит. Изменение структуры поверхностных антигенов способствует или снижает эффективность инвазии. Duffy антиген/хемокиновый рецептор (DARC), Fu гликопротеин или CD234 представляет собой антигены эритроцитов, кодируемые геном *DARC*, который считается неспецифическим рецептором для нескольких хемокинов. Мерозоиты *P. vivax* используют антиген Fu для вторжения в эритроциты. Fu антиген представлен двумя различными аллелями, известными как *Fya* и *Fyb*, которые возникают в результате одной точечной мутации в кодоне 42 (*rs2814778*), что приводит к замещению глицина на аспарагин в белке. Другой полиморфизм (*-33T > C*) в промоторной области *DARC* гена нарушает его экспрессию на поверхности эритроцитов. Эритроциты, экспрессирующие *Fya*, связываются с *P. vivax* на 41-50% меньше в сравнении с *Fyb*, а индивиды с генотипом *FyaFyb* продемонстрировали на 30-80% более низкий риск развития клинических симптомов малярии *vivax* [10]. Эритроциты индивидов с генотипом Fu-33 невосприимчивы к вторжению мерозоитов *P.vivax* и к эритроцитарной стадии заболевания. Однако, у них наблюдается развитие малярии в печени, что делает их резервуарами для паразита.

Генетическая недостаточность мембранных эритроцитарных белков - гликофоринов А, В, С, выполняющих роль рецепторов связывания с паразитом, способствует относительной устойчивости эритроцитов к инвазии *P.falciparum* [8]. В противоположность *P.vivax*, *P.falciparum*, по всей вероятности, имеет разнообразные пути инвазии в эритроциты. За инвазию мерозонта отвечают несколько рецепторов на поверхности эритроцитов, которые включают гликофорин А, В и С (*GPA*, *GPB* и *GPC*), белковую полосу 3 и Y-рецепторы, E, Z и X, молекулярная идентичность которых еще не определена. Большое внимание уделяется генам *GYPА*, *GYPВ*, *GYPС*, кодирующим гликофорины А, В, С. Полиморфизмы, идентифицированные в генах рецепторов - *GYPА* и *GYPВ*, обеспечивают лишь частичную защиту от инвазии плазмодия в эритроциты [8]. В Бразильском регионе Амазонки однонуклеотидный полиморфизм SNP в гене рецептора *GYPВ* (rs7683365) ассоциируется с восприимчивостью хозяина к инвазии *P.falciparum*. Гликофорин С является минорным компонентом мембран эритроцита, который служит рецептором для эритроцит-связывающего компонента 140 *P.falciparum*. Gerbich (делеция в экзоне 3 гена *GYPС*) приводит к уменьшению инвазии *P.falciparum*. Эта мутация часто встречается в Папуа-Новая Гвинея [20].

Изменения в структуре мембранных белков или белков цитоскелета эритроцитов также связаны с устойчивостью к малярии, в частности овалоцитоз связан с нарушением цитоскелета эритроцита. Особый тип овалоцитоза Юго-Восточной Азии, известный как меланезийский или стоматотектонический эллиптоцитоз, связан с гетерозиготностью по делеции 27 пар нуклеотидов (*SLC4A1A27*) в генах, кодирующих белковую полосу 3 в мембране эритроцитов. Гомозиготность приводит к смерти эмбрионов. Гетерозиготность связана с отсутствием гемолиза и клинических симптомов. Овалоциты характеризуются как жесткие и более устойчивые к изменению формы, с низкой экспрессией нескольких антигенов эритроцитов [12]. Характерным для овалоцитоза Юго-Восточной Азии является резистентность к малярийной инвазии, особенно против вторжения мерозитов *P.falciparum*. У пациентов с овалоцитозом степень паразитемии не зависит от тяжести заболевания [20].

Наследственный сфероцитоз является нарушением, характеризующимся изменениями поверхности липидной мембраны эритроцита. Эта распространенная гемолитическая анемия отражает неэффективные взаимодействия интегральных белков мембраны и связана с более низкой паразитемией.

Генетические варианты, связанные с патогенезом и особенностями клинических проявлений малярии, также имеют большое значение в формировании устойчивости. Генетика устойчивости к инвазии *P.falciparum* изучена несколькими группами исследователей для оценки различных генов, контролирующей анемию, в том числе церебральную [5]. Клеточная адгезия - основной фактор в патогенезе малярии. Одной из характерных особенностей малярии, вызванной *P.falciparum*, является адгезия инфицированных эритроцитов к капиллярному эндотелию, является одним из возможных механизмов, лежащих в основе патогенеза тяжелых форм малярии, таких как церебральная и плацентарная. Молекулы адгезии включают молекулу межклеточной адгезии 1 (ICAM-1, CD54), молекулу адгезии тромбоцитов/эндотелиальных клеток 1 (PECAM-1, CD31), молекулу адгезии сосудистых клеток 1 (VCAM-1), тромбоспон-

дин, E-селектин, P-селектин, CD36 и хондроитинсульфат А [15,19]. Процесс опосредуется лигандным связыванием *P.falciparum* с белком мембраны эритроцитов 1 (PFEMP1), который экспрессируется на мембране инфицированного RBC среди множества его неинфицированных рецепторов, таких как сывороточные компоненты, антигены группы А и В, глюкозаминогликаны и рецептор комплемента 1 (CR1) [18]. Исследования аутопсии пациентов с церебральной малярией или тяжелой малярийной анемией показали высокую адгезию эритроцитов, инвазированных плазмодием на эндотелиальных клетках сосудов головного мозга. При этом обнаруживается повышенная экспрессия молекул адгезии, особенно ICAM-1. Большинство антигенов *P.falciparum* связываются с молекулой CD36 и поэтому CD36 считается наиболее значимым эндотелиальным рецептором для секвестрации инфицированных эритроцитов из кровотока [15]. CD36 представляет собой 88-кДа-гликопротеин, экспрессируемый в эндотелиальных клетках, макрофагах и дендритных клетках. Активированные дендритные клетки начинают презентацию антигенов паразитов. Однако, в отличие от ICAM-1, эта молекула не экспрессируется на эндотелиальных клетках капилляров мозга. CD36 служит в качестве рецептора для нескольких лигандов, включая холестерин, липопротеины низкой плотности (LDL-C), коллаген, тромбоспондин и анионные фосфолипиды и участвует в слиянии макрофагов, индуцированных через IL-4. Мутации в рецепторе CD36 гена связаны с защитой или восприимчивостью к тяжелым формам малярии [8]. В некоторых районах Африки до 70% случаев малярии сопровождаются комой, которая заканчивается летально в 15-30% случаев в зависимости от сроков начала лечения. На поверхности паразита располагается мембранный белок-1 (PFEMP-1) закодированный в геномном семействе «var». Каждый паразит содержит много копий этого гена и путем переключения экспрессии между копиями вызывает значительную антигенную изменчивость. Со стороны хозяина набор различных молекул адгезии экспрессируется на мембране клеток эндотелия, тромбоцитов, макрофагов, эритроцитов, которые служат связующими рецепторами для различных форм мембранных белков PFEMP-1 плазмодия.

Локализация инфицированных эритроцитов ведет к скоплению паразитов и высвобождению продуктов их метаболизма, включая гликозилфосфатидил инозитил-связанные поверхностные молекулы, которые стимулируют моноциты к образованию цитокинов TNF- α , IL-1, IL-6. Установлена корреляция между высоким уровнем TNF- α в сыворотке и формами клинически выраженной малярии. Мутация в промоторе гена TNF- α в положении -308 приводит к повышенной экспрессии TNF- α , что ассоциируется с церебральной малярией. В последние годы появились многочисленные сообщения о генетических ассоциациях с устойчивостью к малярии, многие из которых включают иммунную систему и гены, ответственные за процессы воспалительных реакций. TNF- α усиливает экспрессию молекул адгезии на эндотелии, увеличивая прилипание инвазированных эритроцитов. Поскольку непораженные эритроциты слипаются с инвазированными, значительная агрегация эритроцитов в капиллярах мозга вызывает у больных локальный тромбоз и увеличивает местное воспаление с выделением большого количества цитокинов, в том числе TNF- α . Этот цитокин увеличивает и транскрипцию гена *iNOS*, который кодирует NO-синтазу - фермент, катализирующий трансформацию аргинина в оксид азота и цитруллин. В большой concentra-

ции оксид азота токсичен для рядом расположенных клеток, включая эндотелиальные. Продукты воспалительного инфильтрата разрушают эндотелий, приводя к имбибиции плазмы и эритроцитов в ткани мозга, что подтверждается наличием точечных геморрагий в тканях мозга у погибших от церебральной малярии. На основании представленного выше гипотетического механизма патогенеза выбраны несколько кандидатных генов, в том числе гены, кодирующие TNF- α ; iNOS и ICAM-1. По этим генам был описан полиморфизм, связанный с повышенной или сниженной чувствительностью к малярии. Самые убедительные данные имеются для TNF- α и ICAM-1. Мутация, расположенная в 308 нуклеотидах выше старта транскрипции гена TNF- α , усиливала его транскрипцию [11]. Связь этой мутации с тяжелой малярией проверена исследованиями Kajeguka D. et al. [8]. Мутантный аллель (частота гена 0,16) связан с увеличенным риском церебральной малярии, тяжелыми осложнениями и летальностью. Этот эффект наблюдался только у гомозиготных пациентов. Описаны также две другие мутации в положении 238 и 376, обе связаны с увеличенным риском развития клинически тяжелой формы малярии и варьировали в разных популяциях. Так, полиморфизм в промоторе iNOS (G954C) связан с тяжестью инвазией *P.falciparum* в Габоне и Гамбии [11].

Заключение. Генетические изменения, которые обеспечивают защиту от малярии, связаны с адаптивными процессами в популяциях, которые подвергаются воздействию инвазии, вызываемой малярийным плазмодием, на протяжении длительного времени. Непрерывное изучение молекулярных основ этих вариантов и их защитных эффектов является значимым источником информации для взаимодействия хозяина и паразита на различных внутриэритроцитарных стадиях. Исходя из вышесказанного, изучение полиморфных вариантов эритроцитов вносит значительный вклад в понимание механизмов защиты от малярии. В обзоре представлены результаты исследований о биохимических, иммунологических и молекулярных механизмах защиты от малярии, в том числе, при серповидно-клеточной анемии, талассемии, недостаточности Г-6 ФДГ, дефиците пируваткиназы, наличии Duffy антигена, генетической недостаточности мембранных эритроцитарных белков-гликофооринов А, В, С, наследственном сфероцитозе и овалоцитозе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Agarwal A., Guindo A., Cissoko Y. et al. Hemoglobin C Associated With Protection From Severe Malaria In The Dogon Of Mali, A West African Population With A Low Prevalence Of Hemoglobin S. *Blood* 2000; 96: 2358 – 2363.
2. Amoako N., Asante K.P., Adjei G., Awandare G.A., Bimi L., Owusu-Agyei S. Associations between Red Cell Polymorphisms and *Plasmodium falciparum* Infection in the Middle Belt of Ghana. *PLoS One*, 2014; 9: 1-15.
3. Archer B., Petersen N., Clark M.A., Buckee C.O, Childs L.M. Duraisingh M.T. Resistance *Plasmodium falciparum* in sickle cell trait erythrocytes is driven by oxygen-dependent growth inhibition. *Proc Natl Acad Sci*. 2018.
4. Berghout J., Higgins S., Loucoubar C., Sakuntabhai A., Kain K. C., and Gros P. Genetic diversity in human erythrocyte pyruvate kinase. *Genes and Immunity* 2012; 13(1): 98–102.
5. Cockburn I., Mackinnon M.J., O'Donnell I. A human complement receptor 1 polymorphism that reduces *Plasmodium falciparum* rosetting confers protection against severe malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004; 101: 272 – 277.
6. Contreras N., Alviéz A. Human red blood cell polymorphisms prevalent in Colombian population and its protective role against malaria Polymorphismes de cellules sanguines rouges humains prévalents dans la population colombienne et rôle protecteur contre le paludisme. *Transfusion Clinique et Biologique* 2019; 26(1): 60-68.
7. Domínguez Y., Zurita C., Calvopiña D., Villacís J., M. Mora. Prevalence of common hemoglobin variants in an afro-descendent Ecuadorian population. *BMC Res Notes*, 2013; 6: 132.
8. Kajeguka D., Mwanziva C., Daou M. et al. CD36 c.1264 T>G null mutation impairs acquisition of IgG antibodies to *Plasmodium falciparum* MSP1₁₉ antigen and is associated with higher malaria incidences in Tanzanian children. *Scandinavian Journal of Immunology* 2012; 75(3): 355–360.
9. Kilian N., Srismith S., Dittmer M., Ouermi D., Bisseye C., Simporé J., et al. Hemoglobin S and C affect protein export in *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *Biol Open* 2015; 4: 400-410.
10. King C. L., Adams J. H., Xianli J. et al., Fy(a)/Fy(b) antigen polymorphism in human erythrocyte Duffy antigen affects susceptibility to *Plasmodium vivax* malaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2001; 108(50): 20113–20118.
11. Kwiatkowski D. Clinical and hematologic features of beta-thalassemia (frameshift 41/42 mutation) in Thai patients. *Am. J. Hum. Genet.* 2005; 77: 171 – 190.
12. Maier A., Duraisingh M., Reeder J. et al. *Plasmodium falciparum* erythrocyte invasion through glycophorin C and selection for Gerbich negativity in human populations. *Nat. Med.* 2003; 9: 87 – 92.
13. de Mendonça V.R.R., Goncalves M.S., Barral-Netto M. The host genetic diversity in malaria infection. *J Trop Med.* 2012; 2012: 1-17.
14. López C., Saravia C., Gomez A., Hoebeke J., Patarroyo M. Mechanisms of genetically based resistance to malaria. *Gene*, 2010; 467: 1-12.
15. Omi K., Ohashi J., Patarapotikul J. et al CD36 polymorphism is associated with protection from cerebral malaria. *Am. J. Hum. Genet.* 2003; 72: 364 – 374.
16. Preuss J., Jortzik E., Becker K. Glucose-6-phosphate metabolism in *Plasmodium falciparum*. *IUBMB Life*, 2012; 64: 603-611.
17. Romero-Sánchez C., Gutiérrez A.G., Duarte Y., Amazo C., Manosalva C., Chila L., et al. Variantes de hemoglobina en una población con impresión diagnóstica positiva para hemoglobinopatías en Colombia. *Rev Med Chil.* 2015; 143: 1260-1268.
18. Rout R., Dhangadamajhi G., Mohapatra B. N., Kar S. K and Ranjit M. High CR1 level and related polymorphic variants are associated with cerebral malaria in eastern-India. *Infection, Genetics and Evolution.* 2011; 11(1): 139–144.
19. Sherman I. W., Eda S., and Winograd E. Cytoadherence and sequestration in *Plasmodium falciparum*: defining the ties that bind. *Microbes and Infection* 2003; 5(10): 897–909.
20. Review Article. The Host Genetic Diversity in Malaria Infection. *Journal of Tropical Medicine.* Volume 2012, Article ID 940616, 17 pages.
21. Tang J., Jiang C., Xiao X., Fang Z., Li, L. Han L, et al. Changes in red blood cell membrane structure in G6PD deficiency: an atomic force microscopy study *Clin Chim Acta.* 2015; 444: 264-270.
22. Taylor S.M., Cerami C., Fairhurst R.M. Hemoglobinopa-

thies: slicing the Gordian Knot of *Plasmodium falciparum* Malaria Pathogenesis. PLoS Pathog. 2013; 9: 1003327
23. WHO World Malaria Report 2017. World Heal Organ. 2017, 186.

SUMMARY

GENETIC ASPECTS OF RESISTANCE TO MALARIA (REVIEW)

Larina S., Sakharova T., Gorozhanina E., Burdaev N., Chebyshev N.

Sechenov First Moscow State Medical University, Russia

Malaria is one of the most important and common infectious diseases in the world. The world health organization estimates 225 million malaria cases worldwide. Malaria is one of the strongest selective factors affecting the human genotype. The greatest pressure of malaria pathogens had on the inhabitants of the tropical belt, in which invasion was the main factor of genetic selection. As a result, there were genetic diseases such as sickle cell anemia, thalassemia, glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and others. An important role in the pathogenesis of malaria is the stage of penetration of the parasite of malarial *Plasmodium* into the erythrocyte. Changes in the structure of surface antigens of red blood cells may contribute to or reduce the effectiveness of invasion. Genetic polymorphism associated with the pathogenesis and characteristics of the malaria clinic is also important in the development of malaria resistance. Understanding the genetic changes associated with red blood cell disorders and pathogenesis can provide insights into the development of new strategies for malaria treatment and prevention.

Keywords: malaria, genetic resistance to malaria, sickle cell anemia, thalassemia, surface antigens of erythrocyte.

РЕЗЮМЕ

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ УСТОЙЧИВОСТИ К МАЛЯРИИ (ОБЗОР)

Ларина С.Н., Сахарова Т.В., Горожанина Е.С., Бурдаев Н.И., Чебышев Н.В.

Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Россия

Малярия является одним из наиболее значимых и распространенных паразитарных заболеваний в мире. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, в мире насчитывается 225 миллионов случаев заболевания малярией. Малярия является одним из наиболее сильных селекци-

онных факторов, оказавших влияние на генотип человека. Наибольший прессинг возбудители малярии оказали на жителей тропического пояса, у которых инвазия выступала в качестве основного фактора генетического отбора, в результате чего появились генетические заболевания, такие как серповидно-клеточная анемия, талассемия, дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Значимую роль в патогенезе малярии играет этап проникновения паразита малярийного плазмодия в эритроцит. Изменение структуры поверхностных антигенов эритроцитов может способствовать инвазии или снижать ее. Генетический полиморфизм, связанный с патогенезом и особенностями клиники малярии, имеет большое значение в формировании устойчивости к малярии. Понимание генетических изменений, связанных с нарушениями в эритроцитах и особенностями патогенеза, диктует необходимость разработки новых стратегий лечения и профилактики малярии.

რეზიუმე

მალარიისადმი მდგრადობის გენეტიკური ასპექტები (მიმოხილვა)

ს.ლარინა, ტ.სახაროვა, ე.გოროჯანიანა, ნ.ბურდაევი, ნ.ჩებიშევი

მოსკოვის ი.სეჩენოვის სახ. პირველი სახელმეიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, რუსეთი

მალარია ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი და გავრცელებული პარაზიტული დაავადებაა. ჯანმრთელობის მსოფლიო ორგანიზაცია აღნიშნავს დაავადების 225 მილიონ შემთხვევას მსოფლიოში. მალარია ადამიანის გენოტიპზე მოქმედი ერთ-ერთი ძლიერი სელექციური ფაქტორია. ყველაზე გამოხატულ ზეწოლას მალარიის გამომწვევები ახდენენ ტროპიკული სარტყელის მაცხოვრებლებში, რომელთა შორის მისი ინვაზია გენეტიკური გადარჩევის ძირითად ფაქტორად იქცა. ამის შედეგად განჩნდა ისეთი გენეტიკური დაავადებები, როგორცაა ნამგლისებურუჯრედოვანი ანემია, თალასემია, გლუკოზო-6-ფოსფატდეჰიდროგენაზას დეფიციტი. მალარიის პათოგენეზში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს პარაზიტის მალარიული პლაზმოდუმიის შეღწევა ერთროციტში. ერთროციტების ზედაპირული ანტიგენების სტრუქტურის შეცვლამ შესაძლოა შეამციროს ინვაზიის ეფექტურობა. პათოგენეზთან და მალარიის კლინიკასთან დაკავშირებულ გენურ პოლიმორფიზმს, ასევე, დიდი მნიშვნელობა აქვს მალარიისადმი მდგრადობის ფორმირებაში. ერთროციტებში განვითარებულ დარღვევებთან დაკავშირებული გენეტიკური ცვლილებების და პათოგენეზის თავისებურებების გაგება შესაძლოა განსაზღვროს მალარიის მკურნალობისა და პროფილაქტიკის ახალი სტრატეგიების შემუშავება.

SOME CLINICAL, NEUROLOGICAL AND NEUROPSYCHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE

¹Kononets O., ¹Lichman L., ²Karaiev T.

¹Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education; ²Fetal Tissue Center Ltd EMCELL, Kiev, Ukraine

According to the present-day knowledge, chronic kidney disease (CKD) is quite a common medical and social problem because about 10 % of world population suffer from this pathology. CKD also results in steeper quality-of-life declines for such patients [9].

The nervous system impairment is frequently caused by renal failure. Upon that, the neurological symptoms, which arise from acute renal insufficiency, are the most clinically remarkable ones. Uremia, which occurs at both acute and chronic renal insufficiency, affects the nervous system central, peripheral and autonomic parts. Besides, there are genetically determined diseases where simultaneous kidney and brain damage takes place: Von Hippel-Lindau disease, polycystic kidney disease, Wilson's disease and Fabry's disease [5,7].

Dialysis patients with end-stage CKD have hemodialysis-induced neurological syndromes [1,2].

One of the most frequent manifestations of uremia, accompanied by the central nervous system disorder, is uremic encephalopathy. Uremic encephalopathy clinical presentations are various; they are described in terms of dynamic change of symptoms not only within several days, but even within several hours (the latter is mostly related to acute renal insufficiency). Neurological disorders can be subclinical for a long time: insignificant fatigue, irritability, apathy, difficulty concentrating. Encephalopathy progression can cause emotional lability, memory and attention impairment, sleep disturbances, frontal lobe damage symptoms (difficulty in abstract thinking, mental disorders, and paratonia). At the advanced stage, uremic encephalopathy can manifest itself in the various forms of impaired consciousness, in particular, delirium with visual hallucinations; psychomotor agitation; and also the various levels of depression of consciousness, including coma. Besides, symptomatic epilepsy as generalized tonic-clonic and focal, mostly motor, seizures; meningism (it occurs in approximately one third of the patients); multifocal myoclonus; asterixis; dysarthria are frequently detected in the patients [6,8].

The following mechanisms are principal in forming uremic encephalopathy: hormonal disorders, metabolite storage disease, imbalance between activating and inhibitory cerebral neurotransmitters, as well as dysmetabolic disorders. At the incipient uremic encephalopathy there observed the increased level of glycine in cerebrospinal fluid, the decreased levels of glutamine and γ -Aminobutyric acid (GABA). As uremia grows progressively worse, the storage of guanidine succinic acid cumulates, that leads to NMDA receptors activation and GABA receptors suppression conducive to developing myocloni and epileptic seizures. The increased level of guanidine leads to the suppression of transketolase, the thiamine-dependant enzyme of pentose phosphate cycle, which is an important link in the process of myelin fusion [4]. Transketolase inhibition at uremia results in myelination disorders in the structures of both the central and peripheral parts of the nervous system [7,10].

Renal failure is accompanied by the main respiratory chain enzymes dysfunction which leads to the increased levels of ade-

nosine monophosphate, adenosine triphosphate and lactate, that is associated with the increased requirement of oxygenation, on one hand, and the increased energy consumption of brain tissue, on the other hand. The oxidative stress results in mitochondrial membranes dysfunction rise, their damage, and the deprivation of oxidation-reduction process in neurons [9].

The peripheral nervous system disturbances in CKD can be manifested by polyneuropathy, mono-neuropathy and carpal tunnel syndromes. Polyneuropathy occurs in about 60–98 % of patients with CKD. More often, it is the motor autonomic one, which mainly affects the lower extremities. Uremic neuropathy is specified by muscle weakness, reflex and sensory disorders (changes in superficial and deep reflexes, burning pain, dysesthesia), autonomic disorders (orthostatic hypotension, sudomotor disorders, erectile dysfunction, gastrointestinal disorders) [5,9].

In dialysis patients with CKD the following neurological complications are quite common: dialysis disequilibrium syndrome (DDS); Wernicke's encephalopathy, dialysis dementia, subdural hematoma, posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES), osmotic demyelinating syndrome, secondary inflammatory cerebral diseases, sinus thromboses, symptomatic epilepsy [1,2].

Dialysis disequilibrium syndrome manifests itself by headache, nausea, dizziness, muscle cramps that as a rule regress within several hours after dialysis is finished. Less frequently, DDS is marked by the development of myocloni, delirium, generalized epileptic seizures, optic disc edema, ocular hypertension and arrhythmia that can cause death (is manifested by the wide range of focal and whole cerebral symptoms, including PRES, the main pathogenetic mechanism of which is vasogenic edema of brain tissue), cephalgia syndrome, cognitive and cerebrovascular impairments, symptomatic epilepsy [2,4].

PRES is a clinical-radiological syndrome which manifests itself as symptomatic epilepsy, vision disturbances, cephalgia, corresponding focal symptoms, and also the formation of hyperintense foci which can be seen on T2-weighted MR image in white matter of the brain in its subcortical parts that are caused by vasogenic edema connected with the rapid decrease of uric acid in blood plasma and sharp change of osmotic pressure [2].

According to various data, the incidence of subdural hematomas in dialysis patients ranges between 1% and 3.3% and is connected with coagulopathy which is associated with uremia and use of anticoagulants to make dialysis possible [4].

Wernicke's encephalopathy is quite rarely detected in the patients with CKD who undergo chronic dialysis and is connected with excretion of excessive thiamine during hemodialysis. It is more frequently manifested through cognitive impairments and ocular motor apraxia [2].

Dialysis dementia (dialysis encephalopathy, progressive myoclonic dialysis encephalopathy, hemodialysis encephalopathy) develops in approximately 0.6-1.0% of dialysis patients, it is manifested through progressive cognitive impairments with rapid development of dementia, myocloni, speech disturbances, agraphia, acalculia, mental disorders, hallucinations [2,8].

Secondary hyperparathyroidism often goes along with renal failure due to the impaired reabsorption of calcium ions. As a consequence, it fails to differentiate clearly the share, which is contributed by uremia and hypercalcemia, respectively, into the development of so-called uremic proximal myopathy; however, it is reliably known that CKD can be associated with such neuromuscular disorder [3,10].

Kidneys are among the most important structural and functional elements in the homeostasis system, which maintains the sustainability of the self-regulating internal environment. This feature of the kidneys is due to the diversity of their functions, followed by the complex processes of blood ultrafiltration and urine transport, metabolic processes in tissues, the synthesis of hormones and biologically active substances, renal blood flow autoregulation, renal function nervous control mechanisms. Studying and assessing CKD progression causes, regardless of the etiological nosological form, made it possible to estimate the value of such factors as: the immune, infectious, metabolic, hemodynamic, hemocoagulation, urodynamical, hyperfiltration ones, whose hierarchy is subject to variation during the course of the disease [2,5].

The different periods of CKD progression are, obviously, indicative of regulatory mechanisms formed in the body to maintain the physiological constants of homeostasis. In this aspect, analyzing the typological features of renal function, depended on the vegetative support in various CKD etiological nosological forms, is of great importance [4,7].

The complex interrelations between the integrating nervous system and internal organs and systems, in particular, kidneys, under normal and pathological conditions, have been studied not enough.

Therefore, the insufficient study of the nervous system impairment mechanisms under kidney pathology as well as the mutual influence of the nervous system and kidneys under pathological conditions, and the increasing medico-social significance of renal pathology, in particular CKD, required studying clinical, neurological, neuropsychological, paraclinical characteristics in the patients [5,6].

In addition, determining the systemic mechanisms for organizing the interaction of renal function, autonomic homeostasis, homeostasis leading systems (blood formation, urine formation, immunity) regulation as well as appraising the nature of typological reactions of the renal function systemic organization, depended on the type of autonomic regulation, may have a predictive value for the course of CKD.

The goal is to specify clinical and neurological and neuropsychological characteristics of the nervous system impairment in chronic kidney disease.

Material and methods. A fragment of 61 chronic kidney patients, aged 52 ± 2.43 , complete examination is presented, among them 35 (57%) have stage 1 CKD, 26 (43%) have stage 2 CKD and 7 (10%) suffer from stage 3 CKD. The patients complete examination included: a detailed clinical and neurological examination, neuropsychological (evaluating the trait and state anxiety levels with Spielberger anxiety scale), laboratory (identifying the parameters of electrolytic balance, nitrogen metabolism, auto-immune markers of brain and kidney tissue injury) and instrumental examinations (nephrosonography, brain MRI, electroneuromyography).

Results and discussion. Having examined the patients with CKD in detail, we detected the impairments in the structures of both central and peripheral parts of the nervous system, as well

as the autonomic nervous system and certain neuropsychological makers.

Among the chief complaints, presented by the patients with renal failure, were the following ones: in 79% – fatigue, in 63% – intermittent headache, in 32% – motiveless anxiety, in 26% – sleep disorders, in 25% – rotatory and non-rotatory vertigo, in 24% – hyperhidrosis, in 14% – unstable arterial blood pressure.

At the detailed examination of the patients with CKD there were identified the impairments of the nervous system central part. Thus, we detected the signs of pyramidal insufficiency (pathological foot reflexes) in 71% of patients, oral automatism phenomena – in 35% of patients, vestibulocerebellar syndrome – in 39% of patients, extrapyramidal disorders – in 48% of patients. In addition, 23% of patients had mild cognitive impairments.

On top of everything else while doing our investigation, we determined the vegetative tone and the level of vegetative reactivity in patients with CKD.

Vegetative tone is the degree of tension (the random level of activity) in the functioning of organs or physiological system at relative rest. In our patients, we determined the vegetative tone by calculating the Kerdo's autonomic index (BI) ($BI = 1 - (\text{diastolic blood pressure} / \text{pulse rate})$). When the effects of the sympathetic and parasympathetic parts of the autonomic nervous system (amphotonia, or normotension) are balanced, the index approaches zero, the positive value of the index indicates sympathicotonia, and the negative one denotes parasympathicotonia. Thus, among all the examined patients with CKD, the output constitutional autonomic tone was amphotonic in 23%, it was sympathicotonic in 56 per cent, and it was parasympathicotonic in 21% of cases (Fig. 1).

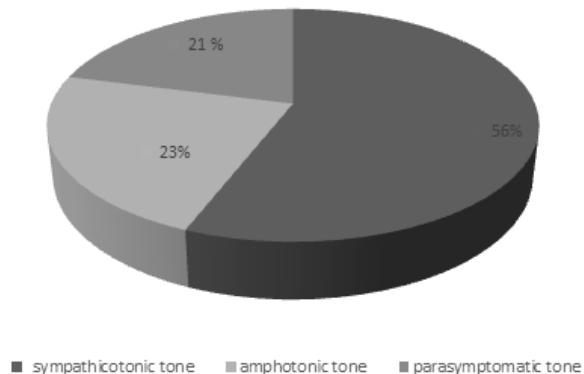


Fig. 1. The constitutional autonomic tone in patients with CKD

The type of autonomic reactivity in the examined patients with CKD was analyzed in such a manner. We determined the vegetative reactivity (the speed and duration of the change in vegetative parameters in response to environmental or internal irritation) using Aschner-Dagnini reflex (normal response – there was observed a heart-rate fall to 4 – 12 beats per minute; sympathetic response – the reflex was absent or inverted; parasympathetic response – there was observed a heart-rate fall to more than 12 beats per minute). So, among all the examined patients with CKD, the sympathicotonic type of autonomic reactivity prevailed, it was detected in 62 % of cases; the parasympathetic type of autonomic reactivity was observed in 27 % of patients, and only in 11% of the examined people there was detected a normotonic type of autonomic reactivity.

We studied the vegetative support by means of graduated exercise, namely, standardized knee-bending exercise, assessing the change in the pulse rate, respiration and arterial pressure. Thus, among all the patients with CKD, examined by us, only 8% of patients had a eukinetic type of vegetative support (according to cardiac hemodynamics), 16 per cent of them had a hyperkinetic type, and most patients, i.e. 76%, had a hypokinetic type (that is, the vegetative support was insufficient) (Fig. 2).

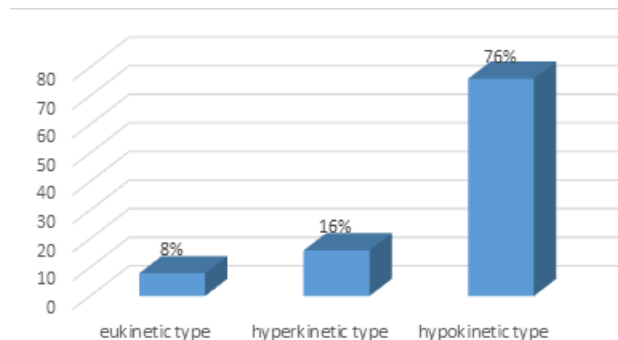


Fig. 2. The vegetative support in patients with CKD

At the same time, a certain tendency was shown: in those patients, who had adequate vegetative support, we observed the lowest CKD progression rate, the patients, who had the hypokinetic type of vegetative support, as well as those with parasympathetic type of vegetative reactivity, were observed to have a rapid CKD terminal stage and, consequently, required dialysis.

The autonomic nervous system tone disorder was identified in 42% of patients, including orthostatic hypotension – in 13%, erectile dysfunction – in 13%, nocturnal sudomotor disorders as the hyperhidrosis of the trunk and lower extremities.

The results, obtained after studying the peripheral nervous system condition in patients with CKD, were of primary concern. Thus, 74% of patients were detected to have polyneuropathy. At that 65% of patients had no polyneuropathy symptoms (even during the detailed targeted survey), they had the signs of exteroceptive sensitivity as hyperesthesia (26% of patients) and hypoesthesia (74% of patients); the impaired kinesthesia in digital joints was observed in 35% of cases, the reduced vibratory sensitivity and the corresponding reflex disorders were identified in 39% of patients. It should be noted that all the symptoms were more evident in lower extremities. In 39% of patients the polyneuropathy syndrome manifested itself through subjective sensations, in addition to the objective changes in the neurological status, which were the patients' chief complaints, namely: burning feet, numbness and paresthesia in hands and feet. No motor impairments were detected in all the examinees. However, in 22% of patients with polyneuropathy we observed autonomic nerve fiber lesion, manifested by sweaty feet.

Having measured the state and trait anxiety levels (using the State-Trait Anxiety Inventory), we found the increased state anxiety level in 61% of cases and the increased trait anxiety level in 26% of cases.

It can also be assumed that maintaining the sustainability of renal homeostasis is realized by various mechanisms of vegetative regulatory intrasystem and intersystem mutual actions. The structure and ways of interrelationships among the mechanisms for organizing the kidneys function depend primarily on the type of vegetative regulation. The typological features of organizing

the urinary system function and its vegetative regulation are similar for the various nosological forms of CKD: in normotension, they are characterized by the maximal consolidation of kidney functional parameters among themselves and with the parameters of vegetative balance; in sympathicotonia and vagotonia, they are characterized by the decreased level of interaction. The mechanisms of homeostatic systems interaction were optimal for patients with CKD, who had normotension; for those patients, who had sympathicotonia, the mechanisms were observed to be in tension state and disintegration; for those patients with vagotonia the mechanisms were in tension state or insufficient.

Conclusions. Thus, all the examined patients with CKD were detected to have the signs of a nervous system disorder, among them 74% had polyneuropathy, 42% had the signs of inadequate vegetative support, as well as changed neuropsychological status, in particular the increased state anxiety level.

The detected neurological and several neuropsychological features in chronic kidney patients are largely backed by the earlier studies. However, in our opinion, the relationship between clinical and neurological, paraclinical (in particular, immunological) and neuropsychological characteristics in patients with chronic renal insufficiency requires further research. Taking into account the fact that a CKD is polyetiologic, and the neurological symptoms manifest themselves early in the course of the disease, as well as the disability, caused by the pathology, is high, to study clinical, neurological and neuropsychological characteristics in patients with CKD can optimize the algorithm for early detection of this pathology.

REFERENCES

1. Lakshman SG, Ravikumar P, Kar G, Das D, Bhattacharjee K, Bhattacharjee P. A Comparative Study of Neurological Complications in CKD with Special Reference to its Stages and Haemodialysis Status // *J Clin Diagn Res.* 2016; 10(12): OC01-OC04.
2. Chillon J.M., Massy Z.A., Stenge, B. Neurological complications in chronic kidney disease patients // *Nephrology Dialysis Transplantation* 2015; 31(10): 1606-1614.
3. Faille LD, Fieuws S, Van Paesschen W. Clinical predictors and differential diagnosis of posterior reversible encephalopathy syndrome. // *Acta Neurol Belg.* 2017; 117(2):469-475.
4. Sengupta P, Biswas S. Dialysis disequilibrium leading to posterior reversible encephalopathy syndrome in chronic renal failure. // *CEN Case Rep.* 2016; 5(2):154-157.
5. Jabbari, B., Vaziri, N. D. The nature, consequences, and management of neurological disorders in chronic kidney disease. // *Hemodialysis International.* 2018; 22(2): 150-160.
6. Moreira J.M., Matta S.M.D., Kummer A.M., Barbosa I.G., Teixeira A.L., Silva A.C.S. Neuropsychiatric disorders and renal diseases: an update. // *Brazilian Journal of Nephrology* 2014; 36(3): 396-400.
7. Krishnan Arun V., Kiernan Matthew C. Neurological Complications of CKD // *CME Released.* 9.1.2009.
8. Lai S., Mecarelli O., Pulitano P., et al. Neurological, psychological, and cognitive disorders in patients with CKD on conservative and replacement therapy. // *Medicine (Baltimore)* 2016; 95(48): e5191.
9. Rao N.N., Juneja R. Neurological manifestations of renal disease. // *Neurology India* 2018; 66(1): 53.
10. Ravindra KG. Renal failure: neurologic complications. // *Neurol.* 2016; 3(9):150-7.

SUMMARY

SOME CLINICAL, NEUROLOGICAL AND NEUROPSYCHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE

¹Kononets O., ¹Lichman L., ²Karaiev T.

¹Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education;
²Fetal Tissue Center Ltd EMCELL, Kiev, Ukraine

The goal of the research is to specify the nervous system impairment clinical, neurological and neuropsychological characteristics in patients with chronic kidney disease (CKD).

A fragment of 61 chronic kidney patients, aged 52±2.43, complete examination is presented. The examination included a detailed clinical and neurological check-up, neuropsychological (evaluating the trait and state anxiety levels by applying the Spielberger State-Trait Anxiety Inventory), laboratory (identifying the parameters of electrolytic balance, nitrogen metabolism, autoimmune markers of brain and kidney tissue injury) and instrumental examinations (nephrosonography, brain MRI, electroneuromyography).

Thus, having examined the patients with CKD in detail, we detected the signs of a nervous system disorder in all the patients, polyneuropathy – in 74% of patients, autonomic nervous system tone disorder, neuropsychological status change, in particular, the increased state anxiety level – in 42% of patients.

At the detailed examination of the patients with CKD there were identified the impairments in the structures of both the central and peripheral parts of the nervous system, as well as the autonomic nervous system and certain neuropsychological makers. Taking into account the fact that CKD is polyetiologic, and the neurological symptoms manifest themselves early in the course of the disease, as well as the disability, caused by the pathology, is high, we consider studying clinical, neurological and neuropsychological characteristics in patients with CKD to optimize the algorithm for early detection of this pathology.

Keywords: chronic kidney disease, clinical and neurological characteristics, neuropsychological characteristics.

РЕЗЮМЕ

НЕКОТОРЫЕ КЛИНИКО-НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ И НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК

¹Кононец О.Н., ¹Личман Л.Ю., ²Караев Т.В.

¹Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика, кафедра неврологии №2, Киев;
²Центр эмбриональных тканей «ЭМСЕЛЛ», Киев, Украина

Цель исследования - определить клинико-неврологические и нейropsихологические характеристики поражения нервной системы при хронической болезни почек.

Приведены результаты одного из фрагментов комплексного обследования 61 пациента с хронической болезнью почек, среди которых 35 (57%) находились на первой стадии хронической болезни почек (ХБП), 26 (43%) – на второй стадии ХБП. Средний возраст пациентов составил 52±2.43 года. Комплексное обследование пациентов включало: детальное кли-

нико-неврологическое обследование, нейropsихологическое (определение уровней конституциональной и реактивной тревоги с помощью шкалы Спилбергера – Ханина), лабораторное (определение параметров электролитного баланса, азотистого обмена, аутоиммунных маркеров повреждения мозговой и почечной тканей) и инструментальное обследование (ультразвуковая диагностика почек, магнитно-резонансная томография головного мозга, электронеиromиография).

У всех пациентов с хроническим заболеванием почек при детальном исследовании выявлены признаки поражения центральной нервной системы, у 45 (74%) пациентов выявлены признаки полинейропатии, у 25 (42%) – признаки неадекватного вегетативного обеспечения, а также изменения со стороны нейropsихологического статуса, в частности повышенный уровень реактивной тревоги.

При детальном обследовании пациентов с хронической болезнью почек установлены признаки поражения структур как центрального, так и периферического отделов нервной системы и вегетативной нервной системы, определены нейropsихологические особенности. Учитывая полиэтиологичность хронической болезни почек, появление неврологических симптомов на ранней, иногда доклинической стадии ее развития и высокий уровень инвалидизации при этой патологии, авторы считают, что изучение особенностей клинико-неврологических и нейropsихологических характеристик у пациентов с хроническим заболеванием почек позволит оптимизировать алгоритм ранней диагностики этой патологии.

რეზიუმე

თირკმლის ქრონიკული დაავადებით პაციენტების ზოგერთი კლინიკურ-ნევროლოგიური და ნეიროფსიქოლოგიური მახასიათებლები

¹ო.კონონეცი, ¹ლ.ლიჩმანი, ²ტ.კარაიევი

¹პ.შუპიკის სახ. დიპლომის შემდგომი განათლების ეროვნული სამედიცინო აკადემია, ნევროლოგიის №2 კათედრა, კიევი; ²ემბრიონული ქსოვილების ცენტრი, კიევი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა კლინიკურ-ნევროლოგიური და ნეიროფსიქოლოგიური მახასიათებლების განსაზღვრა თირკმლის ქრონიკული დაავადების დროს. პუბლიკაციაში წარმოდგენილია 61 პაციენტის კომპლექსური კვლევის შედეგების ერთ-ერთი ფრაგმენტი, მათგან 35 (57%) პაციენტს ჰქონდა თირკმლის ქრონიკული დაავადების პირველი სტადია, 26 (43%) – მეორე სტადია. პაციენტების საშუალო ასაკი - 52±2.43 წ. პაციენტების კომპლექსური გამოკვლევა მოიცავდა: დეტალურ კლინიკურ-ნევროლოგიურ კვლევას, ნეიროფსიქოლოგიურ (კონსტიტუციური და რეაქტიული შფოთვის დონის შეფასება სპილბერგერის და ხანიის სკალით), ლაბორატორიულ (ელექტროლიტური ბალანსის და აზოტის ცვლის პარამეტრები, ტეინის და თირკმლის ქსოვილების დაზიანების აუტომიუნური მარკერები) და ინსტრუმენტულ (თირკმლების ულტრაბგერითი დიაგნოსტიკა, თავის ტეინის მაგნიტურ-რეზონანსული ტომოგრაფია, ელექტრონეირომიოგრაფია) კვლევას. დადგენილია, რომ თირკმლების ქრონიკული დაავადებით ყველა პაციენტს დეტალური გამოკვლევით გამოუვლინდა ცენტრალური

ნერვული სისტემის დაზიანების ნიშნები, პაციენტების 45 (74%) – პოლინეიროპათიის ნიშნები, 25 (42%) – არა-ადეკვატური ვეგეტატიური უზრუნველყოფის ნიშნები, ასევე, ნეიროფსიქოლოგიური სტატუსის ცვლილებები, კერძოდ – რეაქტიული შფოთვის დონის მატება.

პაციენტების დეტალური კვლევის შედეგად გამოვლინდა ნერვული სისტემის ცენტრალური და პერიფერიული განყოფილებების, ასევე, ვეგეტატიური ნერვული სისტემის დაზიანების ნიშნები და ნეიროფსიქოლოგიური თავისებურებები. გამოვლინდა თირკმლების

ქრონიკული დაავადების პოლიეტიოლოგიურობიდან და მისი განვითარების ადრეულ, ზოგჯერ კლინიკამდელ სტადიაზეც კი ნევროლოგიური სიმპტომების გაჩენიდან, ასევე, ამ პათოლოგიით ინვალიდიზაციის მაღალი მაჩვენებლის გათვალისწინებით, ავტორები მიიხევენ, რომ თირკმლების ქრონიკული დაავადებით პაციენტების კლინიკურ-ნევროლოგიური და ნეიროფსიქოლოგიური მახასიათებლების შესწავლა უზრუნველყოფს ამ პათოლოგიის ადრეული დიაგნოსტიკის ალგორითმის ოპტიმიზებას.

НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА СИНДРОМ ЖИЛЬБЕРА (ОБЗОР)

Горбунова О.Е., Чернышева Е.Н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский Государственный Медицинский Университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Астрахань, Россия

Синдром Жильбера (GS) – это аутосомно-рецессивное наследственное заболевание, характеризующееся нарушением глюкуронизации билирубина, вследствие генетической мутации гена билирубина UDP-глюкуроносилтрансферазы (UGT1A1), проявляющееся неконтролируемой гипербилирубинемией при отсутствии повреждения гепатоцеллюлярных клеток или гемолиза [1,22].

Синдром Жильбера впервые описан французским терапевтом Августом Жильбером и педиатром Пьером Леребуле в 1900-1907 гг. [24]. Изучаемое заболевание называлось «la cholemie simple familiale» — простая семейная холемия. По мнению Powell L.W. [44], решающее значение в диагностике синдрома Жильбера играет увеличение концентрации общего билирубина в 2 раза уровня трансаминаз, гамма-глутамил-транспептидазы и щелочной фосфатазы в течение 6 месяцев.

Основным биохимическим признаком заболевания является неконъюгированная гипербилирубинемия со значительным преобладанием непрямой фракции. Содержание прямого билирубина составляет менее 20%. Содержание билирубина в сыворотке крови у пациентов с синдромом Жильбера находится в пределах 2-5 мг/дл (34,2-85,5 мкмоль/л), иногда достигает 6 мг/дл (102,6 мкмоль/л). Такое повышение наблюдается при присоединении интеркуррентных инфекций, употреблении алкоголя, после травм. В большинстве случаев содержание билирубина в сыворотке крови не превышает 3 мг/дл (51,3 мкмоль/л). У 30% пациентов показатели билирубина остаются в пределах нормальных значений. Другие биохимические параметры (общий белок и белковые фракции, аминотрансферазы - АСТ, АЛТ, холестерин, показатели тимоловой пробы), отражающие функцию печени, не изменены. У пациентов с семейными формами синдрома Жильбера иногда повышена активность щелочной фосфатазы [10].

Синдром Жильбера встречается почти во всех странах. Показатели распространенности варьируют в зависимости от гендерной принадлежности и этнического происхождения. В целом, по оценкам некоторых исследований, синдром Жильбера встречается примерно в 3-10% общей популяции, чаще у мужчин, чем у женщин в соотношении 7:1 [34]. Что касается этнических особенностей, то нарушение аллеля UGT1A1*28, состоящего из вставки TA - а (TA)⁷, является наиболее частой причиной наличия синдрома Жиль-

бера в Кавказской популяции (мутация аллеля UGT1A1*28 присутствует у 35-40% кавказцев) [17].

Основным клиническим проявлением синдрома Жильбера является желтуха – за счет увеличения в крови непрямого билирубина. Желтуха иногда отмечается во время стресса, вирусных и бактериальных инфекций, в период голодания [3]. Типично, что явления желтухи у лиц с синдроме Жильбера начинаются с концентрации общего билирубина 40-45 мкмоль/л, хотя у некоторых индивидуумов увеличение концентрации билирубина в сыворотке крови может достигать до 85 мкмоль/л. В сомнительных случаях, при наличии желтухи, для диагностики синдрома Жильбера доступно генотипирование для одного из многих полиморфизмов в гене UGT1A (например, вариант UGT1A1*28) [20].

У пациентов с синдромом Жильбера имеется дефект в гене, кодирующем конъюгирующий фермент уридиндифосфат глюкуроносилтрансфераза 1A1 (UGT1A1), что приводит к 60-70% снижению способности печени конъюгировать билирубин. В гене UGT1A1 выявлено более 100 различных мутаций, частота которых различается у разных этнических групп [39].

Однако в последнее десятилетие доминирует точка зрения, что желтуха при синдроме Жильбера – только вершина айсберга, за которым могут скрываться серьезные метаболические нарушения. В метаболизме ряда эндо- и экзогенных соединений, что связано, в частности с присутствием других мутаций гена UGT1A. Замечено, что у трети больных с синдромом Жильбера часто наблюдается разнообразная гастроэнтерологическая симптоматика: боли и спазмы в животе, изжога, металлический или горький привкус во рту, потеря аппетита вплоть до анорексии, тошнота и рвота, чувство переполнения желудка, вздутие живота, запоры или поносы. И хотя, в определении болезни входит отсутствие морфологических изменений со стороны гепатоцитов, ряд авторов описывают увеличение размеров печени, а иногда, и селезенки, что трудно объяснить мутацией гена UGT1A1.

В большинстве случаев, диагностика синдрома Жильбера основана на случайном обнаружении повышения уровня непрямого билирубина в сыворотке крови у пациентов в период полового созревания [13]. В подростковом возрасте происходит гормональная перестройка организма, сопровождающаяся нарастанием концентрации стероидов, которая влияет на мета-

болизм билирубина, приводя к повышению уровня последнего. Исходя из этого, синдром Жильбера чаще диагностируется у пациентов в период полового созревания.

Эпизоды желтухи могут быть спровоцированы рядом причин – нарушением питания, обезвоживанием, перенапряжением, стрессом, гемолизом или менструальным циклом. Резкое ограничение калорийности питания у данных пациентов, в частности снижения общего потребления калорий до 400 ккал в день, приводит к повышению уровня билирубина в 3 раза выше нормальных значений в течение 48 часов.

Лица с синдромом Жильбера имеют мутации генов UGT1A1 и повышенный уровень билирубина, что приводит к увеличению риска образования камней в желчных протоках. Rao P.N. et al. [45] установили, что при ранней диагностике GS с использованием генетического анализа, возможно, снижение нежелательных операционных вмешательств на желчевыводящей системе.

Wallner M. установил, что у пациентов с более высоким уровнем неконъюгированного билирубина и отсутствием каких-либо других симптомов заболевания практически не встречаются пациенты с ожирением, т.е. индекс массы тела имеет значительно более низкие показатели индекса массы тела (ИМТ) в сравнении с общей популяцией [57] и значительно реже отмечаются нарушения углеводного и липидного обменов [58]. В результате, у пациентов с синдромом Жильбера распространенность сахарного диабета (СД) 2 типа и других хронических метаболических и воспалительных заболеваний достоверно ниже в сравнении с общей популяцией [18,54].

Результаты исследований Stec D.E [48], Hinds TD [25] совпадают с данными Gazzin S. [22], в котором показано что неконъюгированный билирубин может снижать риск возникновения и улучшать прогноз у пациентов с синдромом Жильбера и метаболическим синдромом, СД 2 типа, в результате уменьшения высвобождения цитокинов (IL2, IFN γ и TNF α), ответа Т-клеток и активации комплемента [14] – противовоспалительное действие непрямого билирубина, связано с ингибированием НАДФН-оксидазы, и ингибированием VCAM-1 и iNOS, уменьшающим трансэндотелиальную миграцию лейкоцитов.

Zucker S.D. et al. [60] показали аналогичную корреляцию между нормальным содержанием билирубина и более низким риском развития колоректального рака, причем, риск значительно снижен если пациент является носителем генотипа TA (7/7) среди мужчин, чем у женщин. UGT1A1 находится под контролем эстрогена, и в тоже время, контролирует биодоступность эстрогенов путем их биотрансформации. Таким образом, более низкая активность UGT1A1 приводит к более высокому уровню билирубина. Ряд исследователей предложили использовать уровень эстрогенов, как один из предикторов развития сердечно-сосудистых заболеваний [29], неалкогольного стеатогепатита [32] и рака молочной железы у женщин [46]. Поскольку уровень общего билирубина имеет гендерные отличия, у мужчин концентрация билирубина выше, чем у женщин, необходимо дальнейшие исследования в этом направлении для выяснения взаимосвязи между уровнем общего билирубина и эстрогенов, активностью UGT1A1 и патогенезом заболеваний, связанных с окислительным стрессом.

Stec D.E. et al. [48] показали, что билирубин может являться фактором, активирующим транскрипцию ядерного рецептора PPAR α , который приводит к сжиганию жира, за счет увеличения активности генов β -окисления. PPAR α отвечает за гомеостаз жирной кислоты в организме. Физиологический уровень данной кислоты является своеобразным барьером, тормозя-

щим появление и прогрессирование печеночного стеатоза (неалкогольной жировой болезни печени - NAFLD) [41].

Популяционное когортное исследование показало, что смертность, наблюдаемая у людей с синдромом Жильбера в Великобритании, составляет почти половину от смертности лиц без признаков синдрома Жильбера [27]. Одна из теорий, которая была постулирована, чтобы объяснить это, заключается в том, что антиоксидантные свойства билирубина оказывают антитромботический эффект через снижение активации тромбоцитов.

Horsfall L.J. et al. [28] в своих исследованиях выявили наличие значимой связи между пациентами с вариантом гена UGT1A1, умеренной гипербилирубинемией и более высокой физиологической способностью лёгких. Доказано также, что распространенность респираторных заболеваний и более высокие компенсаторные возможности дыхательной системы достоверно чаще встречаются у пациентов с умеренной хронической гипербилирубинемией при синдроме Жильбера, даже с учётом таких значимых факторов, как курение [21,26].

Гипербилирубинемия является защитной реакцией при остром вирусном гепатите, направленной на стабилизацию гепатоцитов и снижение содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [4], а проявление токсического или антиоксидантного действия билирубина зависит от концентрации последнего: токсическое действие проявляется при крайне тяжелой желтухе – концентрации свыше 30 мг/дл.

Проводя свои исследования, D. Wang [59] в 2017 году обнаружил, что неконъюгированный билирубин оказывает дозозависимое влияние на захват макрофагами липидов крови, что приводит к снижению экспрессии трансмембранного холестеринавого транспортера (ATP-binding cassette transporter A1) и уменьшению концентрации циркулирующих липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) при синдроме Жильбера.

Согласно исследованиям Kundur A.R. [34], умеренная неконтролируемая гипербилирубинемия приводит к снижению гиперреактивности тромбоцитов, которая, в свою очередь, является весьма значимым фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) – повышение сывороточного билирубина связано со снижением уровня холестерина ЛПНП, ApoB/ApoA1 и ЛПОНП, а также с повышением соотношения ЛПВП/ЛПНП и защитой этих липидов от окисления. Кроме того, имеются данные об отрицательной корреляционной связи неконъюгированного билирубина с холестерином липопротеинов низкой плотности, и уровнем С-реактивного белка [50].

Ряд исследователей доказали наличие обратной корреляционной связи между уровнем билирубина крови и заболеваемостью ИБС – чем ниже уровень билирубина, тем выше вероятность развития ИБС, данные данного исследования позволили высказать предположение о том, что низкий уровень билирубина является предиктором развития ИБС. У больных с синдромом Жильбера, имеющих повышенный уровень билирубина, ИБС встречается в 6 раз реже, чем в основной популяции [33]. Vulmer A.C. [19] доказал, что умеренное, хроническое повышение уровня неконъюгированного билирубина сыворотки крови при болезни Жильбера, приводит к снижению концентрации общего холестерина и холестерина липопротеидов низкой плотности, что, в конечном результате, приводит к нивелированию риска развития кардиоваскулярной патологии у данных пациентов. Следует отметить тот факт, что у пациентов с синдромом Жильбера часто липидный спектр сыворотки крови не характеризуется патологическими изменениями. По мнению исследова-

телей, в данном случае билирубин положительно влияет на биосинтез холестерина через арильные рецепторы (AhR).

Эти данные подтвердил Vitek L. et al. [53] в своих исследованиях – среди больных синдромом Жильбера, как правило, атерогенных изменений липидного состава сыворотки крови не наблюдается, а частота встречаемости ИБС в 5-6 раз реже, чем в популяции в целом, что, по мнению авторов, это связано именно с антиоксидантными свойствами билирубина.

Группа ученых во главе с Wagner K.H. [56], доказали что повышение сывороточного билирубина, при синдроме Жильбера, коррелирует с низким риском развития ССЗ и колоректального рака. Вероятно, это связано с высокой антипролиферативной активностью неконъюгированного билирубина при воздействии на митоген-активированные протеинкиназы (МАРК). Неконъюгированный билирубин участвует также в работе других сигнальных путей, таких как фосфоинозитид-3-киназа (PI3K), киназы АКТ и mTOR [43].

В исследовании бельгийских ученых [52] за 10-летний период наблюдения выявлено, что уровень билирубина ниже референтных величин в сыворотке крови связан со значительным увеличением показателей летальности и смертности от сердечно-сосудистой и онкологической патологии у 5460 мужчин.

Ряд зарубежных исследователей получили аналогичные результаты – Kundur A.R. с коллегами [34] установили, что при синдроме Жильбера повышенный уровень билирубина коррелирует со снижением риска ССЗ. Гиперактивность тромбоцитов вследствие окислительного стресса повышает риск тромбоза, и, следовательно, инфаркта миокарда. Билирубин может ингибировать активность тромбоцитов, взаимодействуя с коллагеном и АДФ-рецепторами или повышая устойчивость к окислительному стрессу. По мнению авторов, ингибирование активности тромбоцитов является одним из механизмов, объясняющих более низкую смертность о сердечно-сосудистой патологии у пациентов с синдромом Жильбера.

В 2008 г. Schwertner H. A. и Vitek L. [49] показали, что повторный полиморфизм ТА промотора гена UGT1A1 (ugt1a1*28, или TA7) приводит к снижению транскрипции UGT1A и дефициту печеночной конъюгации билирубина, умеренной гипербилирубинемии и редкой клинической манифестации ИБС.

В исследовании Framingham Heart Study [37] у носителей гомозигот по аллелю UGT1A1*28 выявили наличие сильной корреляционной связи между умеренно повышенной концентрацией билирубина в сыворотке крови и низким риском развития ССЗ. Эти наблюдения подтверждены исследованиями общегеномных ассоциаций – UGT1A является основным геном, связанным с ССЗ, а полиморфизм повтора ТА сильно коррелирует с низким риском развития ССЗ [38].

В исследовании Seyed Khoei N., которое посвящено изучению связи между умеренной гипербилирубинемией и положительной динамикой антропометрических показателей липидного профиля у пациентов с синдромом Жильбера установлено, что метаболизм билирубина достоверно влияет на частоту развития ожирения и избыточной массы тела; среди пациентов с синдромом Жильбера достоверно реже встречаются пациенты с ожирением, избыточной массой тела и дислипидемией в сравнении с общей популяцией, что особенно четко прослеживалось в ходе физиологического старения. Полученные результаты демонстрируют, что у пациентов с «легкой» гипербилирубинемией риск развития ожирения и дислипидемии минимален даже при старении. В этом же исследовании установлено, что умеренное хроническое повышение неконъюгированного билирубина при синдроме Жильбера коррелирует с низким риском развития ССЗ [47].

Bi X. с соавторами [15] получил аналогичные результаты – у мужчин старшего возраста с синдромом Жильбера окружность бедер (приблизительно на 6 см) достоверно меньше, чем у мужчин данной возрастной группы в общей популяции. Что касается липидного профиля, то у пациентов с СЖ установлен более низкий уровень триглицеридов. У женщин старшего возраста с синдромом Жильбера ожирение встречается на 32% реже, чем среди женщин аналогичной возрастной группы в общей популяции, а у женщин старшей возрастной группы показатель ЛПНП достоверно ниже в сравнении с контролем. Регрессионный анализ показал, что увеличение жировой массы на 1% коррелирует со снижением неконъюгированного билирубина примерно на 0,8 мкмоль/л. Полученные данные совпадают с результатами исследований Andersson C. [12].

Общепризнанным является тот факт, что у женщин выявлено более высокое содержание жировой клетчатки, при этом более низкие уровни неконъюгированного билирубина, чем у мужчин аналогичного возраста. Что касается липидного профиля, нарушение которого трактуется как фактор развития ССЗ, установлено наличие более низкого уровня липидного профиля у больных с синдромом Жильбера в сравнении с общей популяцией. За исключением показателей ЛПВП, которые положительно коррелировали с уровнем неконъюгированного билирубина [30], аналогичные результаты получены в исследовании Molzer S. et al. [40]. На основании многофакторного анализа, который использовал в своей работе Molzer S., доказано, что только неконъюгированный билирубин коррелирует с уровнем триглицеридов – увеличение неконъюгированного билирубина на 1 мкмоль/л, приводило к снижению уровня триглицеридов на 0,011 ммоль/л в исследуемой группе.

Аналогичные результаты получены в исследовании Kunutsor S.K. et al. [35], в которое были включены пациенты старшей возрастной группы, у которых уровень сыворотки крови неконъюгированного билирубина обратно коррелировал с массой жировой клетчатки, уровнем общего холестерина и ЛПНП, ЛПОНП. Таким образом, у пациентов старшей возрастной группы риск развития ССЗ и сосудистых атеросклеротических изменений у больных с синдромом Жильбера достоверно ниже, чем в общей популяции.

В исследовании Abbasi A. с коллегами [11] представлены данные о том, что умеренно высокий уровень неконъюгированного билирубина приводит к снижению риска развития СД 2 типа и его осложнений, чем в группе индивидуумов с нормальным уровнем данного показателя. Кроме этого, дебют СД 2 типа у пациентов с хронической умеренной гипербилирубинемией встречался позже [36].

Множеством ученых высказано также предположение о протекторной роли билирубина в развитии метаболического синдрома, сосудистых осложнений и сахарного диабета [31, 42]. Таким образом, у пациентов с синдромом Жильбера отмечается более положительный метаболический статус, антропометрические показатели, липидный профиль, чем у пациентов сопоставимых по полу и возрасту в общей популяции.

В литературе имеются данные о наличии у пациентов с синдромом Жильбера более низкого уровня окислительного стресса, обусловленного гипербилирубинемией и усилением эндотелийзависимой вазодилатации, что, несомненно, положительно влияет на состояние сосудистой стенки и способствует снижению распространенности сосудистых заболеваний и осложнений у пациентов с синдромом Жильбера [31].

Группа исследователей во главе с Gazzin S. [23] установили, что незначительное повышение уровня билирубина в

сыворотке крови у пациентов с синдромом Жильбера, главным образом, играет протекторную роль – билирубин обладает антиоксидантной способностью, тем самым защищая трансмембранные белки и липиды от воздействия АФК. По их мнению, умеренно высокие уровни неконъюгированного билирубина в крови пациентов с синдромом Жильбера говорят о защитной роли билирубина в сыворотке крови, снижая риск развития сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и метаболического синдрома.

Vitek L. et al. [55] показали, что распространенность ИБС у лиц с синдромом Жильбера в возрасте $49,7 \pm 9,0$ лет составила 2% в сравнении с 12,1% в общей популяции. Установлено, что билирубин, общая антиоксидантная способность и холестерин липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) достоверно выше у лиц с синдромом Жильбера в сравнении с контрольной группой. Согласно линейному дискриминантному анализу, гипербилирубинемия, а не повышение уровня холестерина ЛПВП, оказалась более значимым фактором в протекции против ишемической болезни сердца – хроническая гипербилирубинемия препятствует развитию ИБС за счет повышения антиоксидантной способности сыворотки крови.

По данным российских исследователей, выявление обратной корреляционной связи между уровнем билирубина крови и заболеваемостью ИБС позволили высказать предположение, что низкий билирубин является предиктором развития ИБС, а исследования в этом направлении показали, что у больных с синдромом Жильбера, имеющих повышенный уровень билирубина, ИБС встречается в 6 раз реже, чем в основной популяции. Это можно объяснить следующим образом: билирубин способен ингибировать множественные процессы, которые индуцируют гиперреактивность тромбоцитов и тромбоз. Активные формы кислорода, возникающие в организме в результате метаболических процессов, имеют весьма активный потенциал к окислению протеинов и липидов, что, в свою очередь, является триггерным механизмом тромбообразования. Таким образом, окислительный стресс индуцирует высокую активность тромбоцитов, значительно увеличивая риск тромбоза, который может привести к развитию инфаркта. В данном исследовании авторы рассматривают механизмы, с помощью которых повышенный антиоксидантный статус положительно влияет на функцию тромбоцитов при синдроме Жильбера. Таким образом, авторы статьи обсуждают возможную роль билирубина, как антитромботического агента, ингибирующего активацию тромбоцитов и, возможно, способствующего снижению смертности от ИБС у пациентов с умеренной гипербилирубинемией [5- 9].

Целью одного из исследований [18] явилось определение связи между билирубином и встречаемости ССЗ у пациентов с синдромом Жильбера, путем изучения маркеров окислительного стресса и чувствительности сыворотки к окислению. Установлено, что лица с синдромом Жильбера имеют повышенный антиоксидантный статус и высокую резистентность к окислению сыворотки крови, что, по всей вероятности, и является объяснением наличия более низких показателей сердечно-сосудистой патологии у данных пациентов.

Tarap, S. [50] в 2016 году подтвердил, что низкий уровень сывороточного билирубина тесно связан с высоким риском развития ССЗ, а умеренно повышенный уровень способствует защите от окислительного стресса и развитию атеросклеротического процесса, особенно у мужчин. Умеренная гипербилирубинемия способствует протекции сосудистой стенки, снижая частоту атеросклеротических поражений при синдроме Жильбера, путем многофакторных

воздействий, которые по сей день до конца не изучены – у пациентов с синдромом Жильбера имел место более низкий уровень асимметричного диметиларгинина, пентраксин-3 и более высокие значения С-реактивного белка по сравнению со здоровыми пациентами контрольной группы, выявили наличие достоверной связи между уровнем неконъюгированного билирубина с этими молекулами, как прогностическими маркерами развития субклинического и клинического атеросклероза.

Мы полагаем, что более глубокое и всестороннее изучение синдрома Жильбера, с позиций доказательной медицины, позволит утвердить роль билирубина, как активного антиоксиданта, снижающего риск развития ишемической болезни сердца. Низкий уровень билирубина может свидетельствовать о снижении активности оксигеназы гема – мощного антиоксиданта или о высоком окислительном стрессе у пациентов, приводящем к потреблению естественных антиоксидантов, включая билирубин. Следовательно, более низкие уровни билирубина, возможно, не являются причинным фактором для ИБС, но могут указывать на повышенный риск развития ИБС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Губергриц, Н.Б. Функциональные гипербилирубинемии / Н.Б. Губергриц, Г.М. Лукашевич. – М.: Дрофа, 2013 г. – 20 с.
2. Дас, Д.К. Превращение сигнала гибели в сигнал выживания при редокс-сигнализации / Д. К. Дас, Н. Молик // Биохимия. – 2004. – Т. 69 (1). – С. 16 – 24.
3. Дубровина, Г.М. Сочетание синдрома Жильбера с заболеваниями желудочно-кишечного тракта / Г.М. Дубровина, О.К. Ботвиньев, А.И. Колотилина // РЖГГК – 2014. – № XXIV(3) – С. 13-21.
4. Дудник, Л.Б. Исследование ингибирующей активности билирубина в реакциях свободно-радикального окисления / Л.Б. Дудник, Н.Г. Храпова // Биол. мембраны. – 1998. – Т. 15, №2. – С. 184 – 190.
5. Ильченко, Л.Ю. Синдром Жильбера: клиничко-генетическое исследование / Л.Ю. Ильченко, В.Н. Дроздов, И.С. Шулятьев и др. // Терапевт. Архив. – 2006 – № 78, (2) – С. 48 – 52.
6. Кручинина, М.В. Диэлектрофорез эритроцитов: новые возможности в диагностике не прямых гипербилирубинемий / М.В. Кручинина, С.А. Курилович, И.О. Светлова, А.А. Громов и др. // Бюлл. СО РАМН – 2009. – № 3. – С. 29 – 35.
7. Курилович, С.А. Вязкоэластические и электрические параметры эритроцитов при синдроме Жильбера / С.А. Курилович, Е.Г. Немцова, М.В. Кручинина, В.Н. Максимов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология – 2015 – № 123, (11). – С. 29 – 34.
8. 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.
9. Рамазанов, В.О. Синдром Жильбера / В.О. Рамазанов, Д.М. Габитова // Успехи современного естествознания. – 2011. – № 11. – С. 99 – 99.
10. Рейзис, А.Р. Синдром Жильбера: современные воззрения, исходы и терапия / А.Р. Рейзис, О.Н. Хохлова, Т.С. Никитина // Доктор.ру. – 2012. – Т. 3 (71). – С. 42 – 45.
11. Abbasi, A. Mendelian randomization studies of biomarkers and type 2 diabetes / A. Abbasi // Endocr. Connections – 2015. – Vol. 4. – P. 249 – 260.

12. Andersson, C. Acute effect of weight loss on levels of total bilirubin in obese, cardiovascular high-risk patients: an analysis from the lead-in period of the Sibutramine Cardiovascular Outcome trial / C. Andersson, P. Weeke, E.L. Fosbol, B. Brendorp, et al // *Clin. Exp.* – 2009. – Vol. 58 (8). – P. 1109 – 1115.
13. Aiso, M., Yagi M., Tanaka A., Miura K., Miura R., Arizumi T., Takamori Y., Nakahara S., Maruo Y., Takikawa H. // 2017. – Vol. 56. – P. 661 – 664.
14. Basiglio, C.L. Complement activation and disease: protective effects of hyperbilirubinaemia / C.L. Basiglio, S.M. Arriaga, F. Pelusa, A.M. Almara, J. Kapitulnik, A.D. Mottino // *Clin. Sci.* – 2010. – Vol. 118. – P. 99 – 113.
15. Bi, X. Correlation of adiposity indices with cardiovascular disease risk factors in healthy adults of Singapore: a cross-sectional study / X. Bi, S.L. Tey, C. Leong, R. Quek, Y.T. Loo, et al // *BMC Obes.* – 2016. – Vol. 3. – P. 33 – 40.
16. Boon, A.C. Bilirubin scavenges chloramines and inhibits myeloperoxidase-induced protein/lipid oxidation in physiologically relevant hyperbilirubinemic serum / A.C. Boon, C.L. Hawkins, et al // *Free Radic. Biol. Med.* – 2015. – Vol. 86. 259–268.
17. Bosma, P.J. Inherited disorders of bilirubin metabolism / P.J. Bosma. // *J. Hepatol.* – 2003. – Vol. 38. – P. 107 – 117.
18. Bulmer, A.C. Improved resistance to serum oxidation in Gilbert's syndrome: a mechanism for cardiovascular protection / A.C. Bulmer, J.T. Blanchfield, I. Toth, R.G. Fasset, et al // – 2008. – Vol. 199. – P. 390 – 396.
19. Bulmer, A.C. Progress in lipid research bilirubin and beyond: a review of lipid status in Gilbert's syndrome and its relevance to cardiovascular disease protection / A.C. Bulmer, H.J. Verkade, K.H. Wagner // *Prog. Lipid Res.* – 2013. – Vol. 52. – P. 193 – 205.
20. Chiddarwar, A.S. Genetic variations in bilirubin metabolism genes and their association with unconjugated hyperbilirubinemia in adults / A.S. Chiddarwar, S.Z. D'Silva, R.B. Colah, et al // *Ann. Hum. Genet.* – 2017. – Vol. 81. – P. 11 – 19.
21. Curjurić, I. Serum bilirubin is associated with lung function in a Swiss general population sample / I. Curjurić, M. Imboden, M. Adam, R.W. Bettchart, et al // *Eur. Respir. J.* – 2014. – Vol. 43 (5). – P. 1278 – 1288.
22. Gazzin, S. A novel perspective on the biology of bilirubin in health and disease / S. Gazzin, L. Vitek, J. Watchko, S.M. Shapiro, et al // *Trends. Mol. Med.* – 2016. – Vol. 22 – P. 758 – 768.
23. Gazzin, S. The molecular basis of jaundice: an old symptom revisited / S. Gazzin, F. Masutti, L. Vitek, C. Tiribelli // *Liver Int.* – 2017. – Vol. 37 (8) – P. 1094 – 1102.
24. Gilbert, A. La cholemie simple familiale / A. Gilbert, P. Lereboullet // *Semaine Medicale.* – 1906. – Vol. 21. – P. 241 - 245.
25. Hinds, T.D. Does bilirubin prevent hepatic steatosis through activation of the PPAR α nuclear receptor? / T.D. Hinds, A.A. Alamodi, D.E. Stec // *Med. Hypotheses.* – 2016. – Vol. 95 – 54-57.
26. Horsfall, L.J. Serum bilirubin and risk of respiratory disease and death / L.J. Horsfall, G. Rait, K. Walters, D.M. Swallow, et al // *JAMA* – 2011. – Vol. 305 – P. 691 – 697.
27. Horsfall, L.J. Gilbert's syndrome and the risk of death: a population-based cohort study / L.J. Horsfall, Pereira et al // *J. Gastroenterol Hepatol.* – 2013. – Vol. 28 (10). – 1643 – 1647.
28. Horsfall, L.J. Genetic variation underlying common hereditary hyperbilirubinaemia (Gilbert's syndrome) and respiratory health in the 1946 British birth cohort / L.J. Horsfall, R. Hardy, A. Wong et al // *J. Hepatol.* – 2014. – Vol. 61(6). – 1344 – 1351.
29. Hsu, M. Tissue-specific effects of statins on the expression of heme oxygenase-1 in vivo / M. Hsu, L. Muchova, I. Morioka, R.J. Wong, H. Schröder, et al // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2006. – Vol. 343(3). – P. 738–744.
30. Hwang, H.J. Inverse relationship between fasting direct bilirubin and metabolic syndrome in Korean adults *Chim. Acta / H.J. Hwang, S.H. Kim // Int. Fed. Clin. Chem.* – 2010. – Vol. 411. – P. 1496 – 1501.
31. Inoguchi, T. Relationship between Gilbert syndrome and prevalence of vascular complications in patients with diabetes / T. Inoguchi, S. Sasaki, K. Kobayashi, R. Takayanagi, et al // *JAMA.* – 2007. – Vol. 298. – P. 1398 – 1400.
32. Kamada, Y. Estrogen deficiency worsens steatohepatitis in mice fed high-fat and high-cholesterol diet / Y. Kamada, S. Kiso, Y. Yoshida, et al // *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.* – 2010. – Vol. 301. – P. 1031 – 1043.
33. Kadlckova, L. Prevalence of Gilbert syndrome and UGT1A1*28 status in the Czech population, and their relationship to ischemic heart disease / L. Kadlckova, V. Danzig, R. Cifkova, et al // *Atherosclerosis.* – 2014. – Vol. 235 – P. 285 – 286.
34. Kundur, A.R. Bilirubin platelet activation and heart disease: a missing link to cardiovascular protection in Gilbert's syndrome? / A.R. Kundur, I. Singh, A.C. Bulmer // *Atherosclerosis.* – 2015. – Vol. 239. – P. 73 – 84.
35. Kunutsor, S.K. Is high serum LDL/HDL cholesterol ratio an emerging risk factor for sudden cardiac death findings from the KIID study / S.K. Kunutsor, F. Zaccardi, J. Karppi, S. Kurl, et al // *J. Atherosclerosis Thromb.* – 2017. – Vol. 24. – P. 600 – 608.
36. Kwon, Y.J. Total serum bilirubin and 8-year incident type 2 diabetes mellitus: the Korean genome and epidemiology study / Y.J. Kwon, B.J. Park, K.W. Hong, D.H. Jung // *Diabetes Metabol.* – 2017. – Vol. 44 (4). – P. 346 – 353.
37. Lin, J.P. Association between the UGT1A1.28 allele, bilirubin levels, and coronary heart disease in the Framingham Heart Study / J.P. Lin, C.J. O'Donnell, J.P. Schwaiger, J.P. Cupples, et al // *Circulation.* – 2006. – Vol. 114. – P. 1476 – 1481.
38. Lin, J. P. Conditional linkage and genome-wide association studies identify UGT1A1 as a major gene for anti-atherogenic serum bilirubin levels-the Framingham Heart Study / J.P. Lin, J.P. Schwaiger, L.A. Cupples, C.J., O'Donnell et al // *Atherosclerosis.* – 2009. – Vol. 206. – P. 228 – 233.
39. Memon, N. Inherited disorders of bilirubin clearance. / N. Memon, B.I. Weinberger, T. Hegyi et al // *Pediatr. Res.* – 2016. – 79 (3) – P. 378 – 386.
40. Molzer, C. Features of an altered AMPK metabolic pathway in Gilbert's syndrome, and its role in metabolic health / C. Molzer, M. Wallner, C. Kern, A. Tosevska, U. Schwarz, et al // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P. 30051
41. Montagner, A. Liver PPAR α is crucial for whole-body fatty acid homeostasis and is protective against NAFLD / A. Montagner, A. Polizzi, E. Fouché, S. Ducheix et al // *BMJ Publishing Group.* – 2016. – Vol. 65 (7). – P. 1202 – 1214.
42. Nano, J. Association of circulating total bilirubin with the metabolic syndrome and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of observational evidence / J. Nano, M. Cepeda, T. Voortman et al // *Diabetes Metabol.* – 2016. – Vol. 42. – P. 389 – 397.
43. Ollinger, R. Bilirubin inhibits tumor cell growth via activation of ERK / R. Ollinger, P. Kogler, J. Troppmair et al // *Cell Cycle.* – 2007. – Vol. 6 – P. 3078 – 3085.
44. Powell, L.W. Gilbert's disease: has it ever existed / L.W. Powell, W.G. Cooksley, G.C. Farrell // *Lancet.* – 1977. – Vol. 11, (8024). – P. 1256.
45. Rao, P.N. Incidence and Risk of Gallstone Disease in Gilbert's Syndrome Patients in Indian Population / P.N. Rao, G. Bale, U.S. Avanthi, M. Sharma, N.R. Duvvur, et al // *J. Clin. Exp. Hepatol.* – 2018. – Vol. 8 (4). – P. 362 – 366.
46. Samavat, H. Estrogen metabolism and breast cancer / H. Samavat,

- M.S. Kurzer // *Cancer Lett.* – 2015. – Vol. 356 (2). – P. 231 – 243.
47. Seyed K.N. Mild hyperbilirubinaemia as an endogenous mitigator of overweight and obesity: Implications for improved metabolic health / K.N. Seyed, A. Grindel, M. Wallner, C. Mölzer, D. Doberer et al // *Atherosclerosis.* – 2018. – Vol. 269. – P. 306 – 311.
48. Stec, D.E. Bilirubin binding to PPAR α Inhibits Lipid Accumulation / D.E. Stec, K. John, C.J. Trabbic, A. Luniwal et al // *PLoS One.* – 2016. – Vol. 11 (4). – P. 451 – 460.
49. Schwertner, H.A. Gilbert syndrome, UGT1A1*28 allele, and cardiovascular disease risk: possible protective effects and therapeutic applications of bilirubin / H.A. Schwertner, L. Vitek // *Atherosclerosis.* – 2008. – Vol. 198 – P. 1 – 11.
50. Tapan, S. Decreased small dense LDL levels in Gilbert's syndrome / S. Tapan, N. Karadurmus, T. Dogru, C.N. Ercin, I. Tasci, et al // *Clin. Biochem.* – 2011. – Vol. 44 – P. 300 – 303.
51. Tapan, S. Gilbert's syndrome: protective effect on endothelial dysfunction / Tapan, N. Karadurmus, T. Dogru, C.N. Ercin, I. Tasci, et al // *Türk Biyokimya Dergisi.* – 2016. – Vol. 41 (6). – P. 451 – 458.
52. Temme, E.H.M. Serum bilirubin and 10- year mortality risk in a Belgian population / E.H.M. Temme, J. Zhang, E.G. Schouten, H. Kesteloot // *Cancer Causes Control.* – 2001. – Vol. 12. – P. 887 – 894.
53. Vitek, L. Gilbert syndrome and ischemic heart disease: a protective effect of elevated bilirubin levels / L.Vitek, M. Jirsa, M. Brodanova, M. Kalab, Z. Marecek et al // *Atherosclerosis.* – 2002. – Vol. 160 (2). – P. 449 – 456.
54. Vitek, L. The role of bilirubin in diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular disease / L.Vitek. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 2012. – Vol. 192. – P. 176 – 183.
55. Vitek, L. The role of bile acids in metabolic regulation / L. Vitek, M. Haluzik // *J. Endocrinol.* – 2016. – Vol. 228. – P. 85 – 96.
56. Wagner, K.H. Looking to the horizon: the role of bilirubin in the development and prevention of age- related chronic diseases / K.H. Wagner, M. Wallner, C. Molzer et al // *Clin. Sci. (Lond).* – 2015. – Vol. 129. – P. 1 – 25.
57. Wallner, M. Haem catabolism: a novel modulator of inflammation in Gilbert's syndrome / M. Wallner // *Eur. J. Clin. Invest.* – 2013. – Vol. 43. – P. 912 – 919.
58. Wallner, M. Protection from age-related increase in lipid biomarkers and inflammation contributes to cardiovascular protection in Gilbert's syndrome / M. Wallner // *Clin. Sci.* – 2013. – Vol. 125. – P. 257 – 264.
59. Wang, D. Bilirubin Decreases Macrophage Cholesterol Efflux and ATP-Binding Cassette Transporter A1 Protein Expression / D. Wang, A. Tosevska, E.H. Heib et al // *J. Am. Heart. Assoc.* – 2017. – Vol. 6. – P. 1 – 15.
60. Zucker, S.D. Serum bilirubin levels in the U.S. population: gender effect and inverse correlation with colorectal cancer / S.D. Zucker, P.S. Horn, K.E. Sherman // *Hepatology.* – 2004. – V. 40 (4). – P. 827 – 835.

SUMMARY

A NEW LOOK AT GILBERT SYNDROME (LITERATURE REVIEW)

Gorbunova O., Chernysheva E.

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

To illuminate modern ideas about Gilbert's syndrome (GS). GS is a common familial hyperbilirubinemia that can reduce

the risk of various age-related diseases due to the antioxidant properties of bilirubin. In this case, slightly elevated unconjugated bilirubin in GS is strongly associated with a "reduced" prevalence of chronic diseases, in particular cardiovascular disease (CVD), as well as CVD-related and all-cause mortality. These reports challenge the dogma that bilirubin is simply a potentially neurotoxic byproduct of heme catabolism, and emphasize the importance of understanding its potential beneficial physiological and harmful pathophysiological effects. With this information, we hope to improve understanding of bilirubin metabolic disorders, highlight the diagnostic importance of these conditions, and map out the potential impact of GS on disease resistance.

Keywords: Gilbert syndrome, uridyl diphosphate glucuronyltransferase, bilirubin, hyperbilirubinemia, antioxidant, cardiovascular diseases.

РЕЗЮМЕ

НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА СИНДРОМ ЖИЛЬБЕРА (ОБЗОР)

Горбунова О.Е., Чернышева Е.Н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский Государственный Медицинский Университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Астрахань, Россия

Цель обзора - осветить современные представления о синдроме Жильбера (СЖ). СЖ это распространенная семейная гипербилирубинемия, которая может снижать риск развития различных возрастных заболеваний из-за антиоксидантных свойств билирубина. В этом случае слабо повышенный неконъюгированный билирубин при СЖ сильно ассоциирован со "сниженной" распространенностью хронических заболеваний, в частности сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), а также смертности, связанной с ССЗ и всех причин. Эти сообщения бросают вызов догме о том, что билирубин является просто потенциально нейротоксическим побочным продуктом катаболизма гема, и подчеркивают важность понимания его потенциальных полезных физиологических и вредных патофизиологических эффектов. С помощью этой информации мы надеемся улучшить понимание нарушений обмена билирубина, подчеркнуть диагностическую важность этих состояний и наметить потенциальное влияние СЖ на устойчивость к заболеваниям.

რეზიუმე

ახალი ხედვა ჟილბერის სინდრომთან დაკავშირებით (ლიტერატურის მიმოხილვა)

ო.გორბუნოვა, ე.ჩერნიშევა

ასტრახანის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, რუსეთის ფედერაცია

ჟილბერის სინდრომი გავრცელებული ოჯახური ჰიპერბილირუბინემიაა, რომელმაც, ბილირუბინის ანტიოქსიდაციური თვისებების გამო, შესაძლოა შეამციროს სხვადასხვა ასაკობრივი დაავადების განვითარების რისკი. ამ შემთხვევაში მცირედ მომატებული

არაკონიუგირებული ბილირუბინი ჟილბერის სინდრომის დროს მჭიდროდ ასოცირდება ქრონიკული დაავადებების “შემცირებულ” გავრცელებასთან, კერძოდ, გულ-სისხლძარღვთა სისტემის დაავადებების, ასევე, ამ სისტემასთან დაკავშირებული სიკვდილობის. ეს ცნობები ერთგვარი გამოწვევაა დოკმინსათვის იმის შესახებ, რომ ბილირუბინი ჰემის კატაბოლიზმის პოტენციურად ნეიროტოქსიკური გვერდითი პროდუქტი

ტია და ხაზს უსვამს მისი პოტენციურად სასარგებლო ფიზიოლოგიური და მკვლე პათოფიზიოლოგიური ეფექტების გაგების მნიშვნელობას. ამ ინფორმაციის საშუალებით შესაძლებელია ბილირუბინის ცვლის დარღვევის, ამ მდგომარეობის დიაგნოსტიკის მნიშვნელობის უკეთ გაგება და ჟილბერის სინდრომის პოტენციური გავლენის გააზრება რიგი დაავადებებისადმი მდგრადობის განვითარებაში.

ИНФОРМАТИВНОСТЬ КОМПЬЮТЕРНОЙ ДЕНСИТОМЕТРИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ АКТИВНОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА ПРИ ТУБЕРКУЛОМАХ ЛЕГКИХ

¹Линник Н.И., ¹Гуменюк Н.И., ¹Калабуха И.А., ¹Лискина И.В., ²Гуменюк Г.Л., ¹Магный Е.Н.

¹ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины»;
²Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, Киев, Украина

Туберкулез по сей день остается одной из ведущих причин смерти от инфекционных заболеваний в современном мире. Ежегодно от него умирает около двух миллионов человек [8]. Бессимптомное или малосимптомное течение этого заболевания на ранних стадиях позволяет патологическому процессу незаметно развиваться до тяжелых форм [10], сопровождающихся выделением бактерий и является наиболее угрожающими в эпидемиологическом контексте [11]. Несвоевременно выявленный туберкулез приводит к формированию запущенного процесса, который является весомой причиной неудач лечения и увеличения частоты смертных случаев в период до одного года [10]. Выявление заболевания на поздних стадиях требует длительного лечения с применением как терапевтических, так и хирургических методов, что, в свою очередь, увеличивает расходы связанные с лечебным процессом и реабилитацией больного, вызывает рост количества случаев с большими остаточными изменениями после перенесенного туберкулеза и случаев рецидива заболевания в будущем [6].

Нередким последствием лечения распространенных форм туберкулеза является образование в легочной ткани туберкуломы [1] - формы специфического процесса с торпидным течением, плохо поддающегося инволюции под влиянием антимикобактериальной терапии [12]. Данная форма туберкулеза даже при стабильной клинко-рентгенологической картине имеет высокую вероятность реактивации в течение первых 1-4 лет с момента образования [4]. Туберкулома легких встречается более чем в 10,0% случаев заболевания туберкулезом. Обычно она формируется при очаговой или инфильтративной формах туберкулезного процесса [13]. В первом варианте образуется слоистая или гомогенная туберкулома-казеома солитарного или конгломератного типа с малосимптомным началом заболевания, в другом - гомогенная туберкулома-казеома солитарного или конгломеративного типа либо пневмониеподобная туберкулома с клинически выраженным началом заболевания [1].

Выбор консервативной или оперативной тактики лечения больных с туберкуломами зависит от их размеров, наличия распада, очагов отсева и бактериовыделения [9]. Хирурги-

ческий этап лечения рекомендован при прогрессирующем течении туберкуломы, отсутствии эффекта от применения консервативной терапии. Однако, по данным некоторых авторов, даже при положительной рентгенологической динамике процесса, отсутствии клинических симптомов заболевания и бактериовыделения, при морфологическом исследовании резектатов полученных во время операций по поводу удаления туберкулом, у 80,0% больных выявляются гистологические признаки активности специфического процесса, что в дальнейшем, по всей вероятности, ведет к его прогрессированию и рецидиву заболевания [4,5,12]. Согласно литературным данным [3], умеренная степень активности специфического процесса соответствует фазе стабилизации заболевания, высокий - его прогрессированию, а низкий - фазе регрессии туберкуломы. На сегодняшний день морфологическая оценка активности специфического процесса в туберкуломе является наиболее точной в диагностике течения заболевания [12], однако применяется только ретроспективно, т.е. уже после проведения хирургического этапа лечения. Для лечащего врача же значительно важнее наличие возможности оценить степень активности туберкулезного процесса в легких и спрогнозировать его дальнейшее течение, еще до проведения оперативного вмешательства.

Одним из наиболее современных и дорогостоящих методов лучевой диагностики, который позволяет установить активность процесса, является позитронно - эмиссионная томография (ПЭТ). В доступных научных источниках есть лишь единичные работы по исследованию активности специфического туберкулезного воспаления [7,17].

Определение активности туберкулезного процесса в легких необходимо для выбора оптимальной тактики лечения, поэтому методы визуализации могут быть полезны при раннем выявлении заболевания. Большинство исследований указывают на то, что визуализация ПЭТ, особенно ПЭТ с фтордезоксиглюкозой (ФДГ) в качестве диагностического инструмента, может быть неинвазивным методом, который дает дополнительную информацию о статусе заболевания, позволяя улучшить терапевтическое лечение микобактериальной инфекции легких. Кроме того, ПЭТ-визуализация

может быть полезна при оценке антимикобактериальной терапии [14,15]. ПЭТ/КТ наиболее информативна при нейроэндокринных и других опухолях [16,18,19].

Для оценки активности туберкулезного процесса использовали классификацию Б. Ариэль [2]. По нашему мнению, указанная классификация является недостаточно информативной, так как не отражает все степени активности воспалительного процесса. Предпочтительнее использовать классификацию, предложенную патогистологами И.В. Лискиной и соавт. [4,5].

Одним из гистологических критериев активности туберкулемы является состояние его внутреннего некротического содержания: при высокой активности туберкулезного процесса он рыхлый или с чертами расплавления; при умеренной активности - в состоянии уплотнения и фрагментации, при низкой активности - те же изменения, что и при умеренной степени, однако более часто можно наблюдать явления очагового прорастания молодой соединительной ткани [4,5]. Согласно литературным источникам [3], умеренная степень активности специфического процесса соответствует фазе стабилизации заболевания, высокий - его прогрессированию, а низкий - фазе регрессии туберкулемы.

Материал и методы. С целью установления уровней денситометрических показателей компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ ОГК) при различных степенях активности специфического воспалительного процесса проведен анализ патогистологических заключений резецированного материала 65 больных в возрасте от 24 до 60 лет, из них мужчин - 39, женщин - 25, оперированных по поводу легочных туберкулом с измерением их денситометрических показателей на КТ ОГК. Больные находились на лечении в ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф.Г. Яновского НАМН Украины». Исследования проводились на КТ-сканере Aquilion TSX-101A производства фирмы Toshiba (Япония) с записью результатов исследования на цифровые носители. Для обработки данных применялась рабочая станция K-Pacs и программа DICOM VIEVER PHILIPS.

Аксиальный срез КТ ОГК больного А. с таблицей денситометрических показателей туберкулемы, сделанной с помощью программы DICOM VIEVER PHILIPS, представлены на рис. 1.

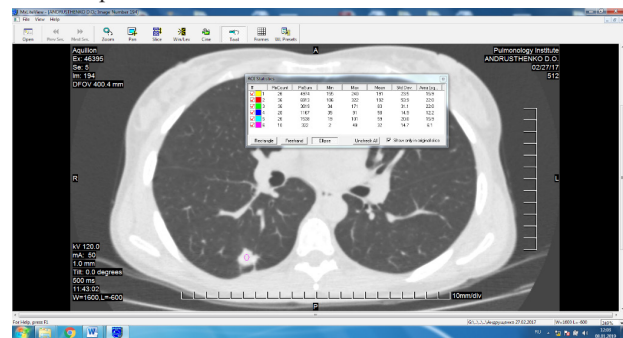


Рис. 1. Аксиальный срез КТ больного А. с таблицей денситометрических показателей шести срезов туберкулемы, сделанной с помощью программы DICOM VIEVER PHILIPS (стрелкой указана туберкулома нижней доли правого легкого)

Программа формирует таблицу со средним, минимальным и максимальным значением показателя плотности в единицах Хаунсфилда (HU), стандартным отклонением и площадью участка.

Учитывая, что наиболее активный воспалительный процесс или полость деструкции могут находиться в любом месте туберкулемы, для дальнейшего анализа выбирали срезы с наиболее низкими показателями плотности.

Результаты и их обсуждение. Средние значения показателей плотности туберкулом в зависимости от степени активности воспалительного процесса представлены на рис. 2.

Данные рис. 2 указывают, что плотность туберкулом зависит от степени активности воспалительного процесса, т.е. чем выше активность воспалительного процесса, тем ниже значение показателя плотности. Показатели плотности туберкулом представлены в таблице.

Из данных таблицы явствует, что при низкой активности



Рис. 2. Значения показателя плотности туберкулом при различных степенях активности воспалительного процесса

Таблица. Показатели плотности туберкулом по морфологическим признакам (n=65)

Активность процесса по морфологическим признакам	n/%	Средние значения плотности (HU)	Минимальные значения плотности (HU)	Максимальные значения плотности (HU)
Низкая активность	29/44,6	54,4±37,8	2,9±31,6	140,8±128,85
Умеренная активность	14/21,5	27,6±7,5	-15,4±14,3	64,7±16,5
Высокая активность	22/33,9	15,0±12,5	-35,7±28,1	52,6±11,0

воспалительного процесса наблюдаются высокие средние значения показателей плотности - $54,4 \pm 37,8$ HU, при умеренной активности - $27,6 \pm 7,5$ HU, высокой активности - $15,0 \pm 12,5$ HU, т.е. чем ниже показатель плотности очага, тем выше активность воспалительного процесса.

Таким образом, в 55,4%, т.е. более чем у половины оперированных больных сохраняется активный воспалительный процесс, что ведет к прогрессированию туберкулезного процесса или рецидиву заболевания.

На рис. 3 представлен аксиальный срез КТ больного М. с денситометрическими показателями низкой активности туберкулезного процесса.

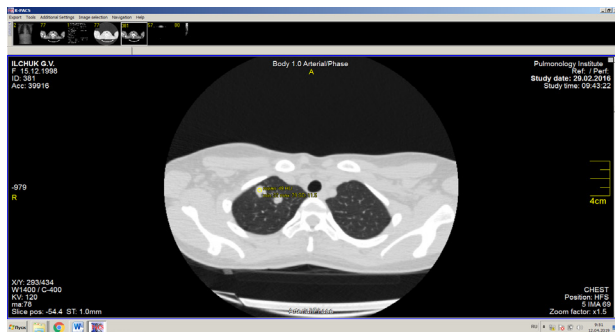


Рис. 3. Аксиальный срез КТ больного М. с денситометрическими показателями туберкулемы

Как видно на рис. 3 среднее значение плотности туберкулемы составляет 49 HU, минимальное - 22 HU, максимальное - 79 HU. Такие показатели плотности указывают на низкую активность туберкулезного процесса, что соответствует фазе регресса заболевания. Морфологическая картина туберкулемы представлена на рис. 4.

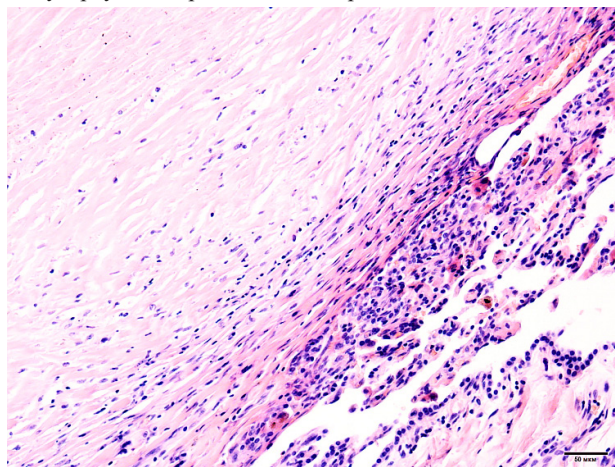


Рис. 4. Фрагмент туберкулемы без активного специфического воспаления. В левом верхнем углу - начальный фиброз некротических масс туберкулёза (преобладают толстые коллагеновые волокна с небольшим количеством мононуклеаров), который ограничен тонкой фиброзной капсулой. Вне туберкулемы наблюдаются небольшие изменения альвеол. Окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 100$

На рис. 5 представлен аксиальный срез КТ больного Р. с денситометрическими показателями умеренной активности туберкулезного процесса.

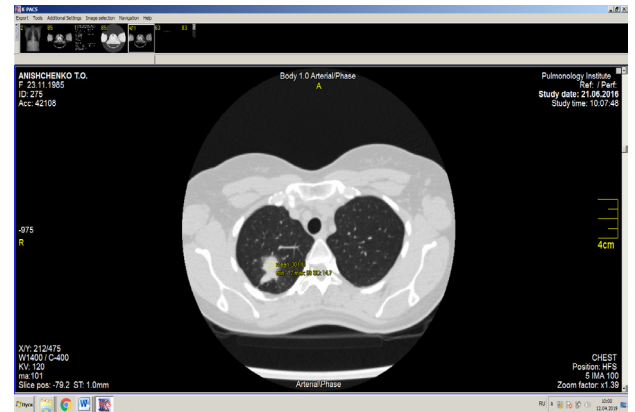


Рис. 5. Аксиальный срез КТ больного Р. с денситометрическими показателями

На рис. 5 показано, что среднее значение плотности туберкулемы составляет 30 HU, минимальное - 12 HU, максимальное - 68 HU. Такие показатели плотности указывают на умеренную активность туберкулезного процесса, что соответствует фазе стабилизации заболевания. Морфологическая картина туберкулемы представлена на рис. 6.

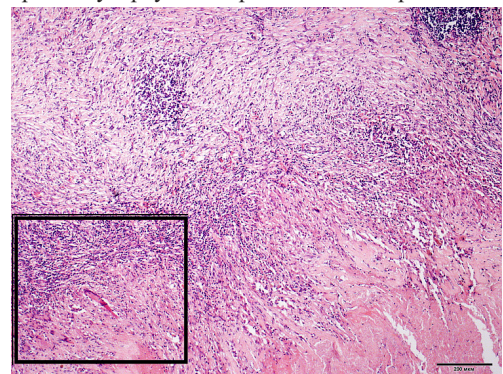


Рис. 6. Туберкулома с умеренным уровнем специфической воспалительной активности. Некротические массы, слой специфических туберкулезных грануляций и массивная фиброзная пролиферативная ткань с несколькими лимфоидными агрегатами. Окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 40$

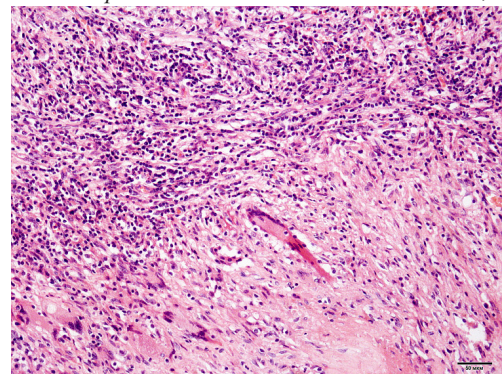


Рис. 7. Фрагмент рис. 5 - представлен в основном специфическим грануляционным слоем туберкулемы, состоит из многочисленных эпителиоидных гистиоцитов, смешанных с Ланганса и многоядерными гигантскими клетками. Верхний слой клеточных инфильтратов состоит из коллагена, новых сосудов и рассеянных хронических воспалительных клеток, в основном, лимфоцитов. Окрашивание гематоксилином и эозином $\times 100$

На рис.8 представлен аксиальный срез КТ больного С. с денситометрическими показателями высокой активности туберкулезного процесса.

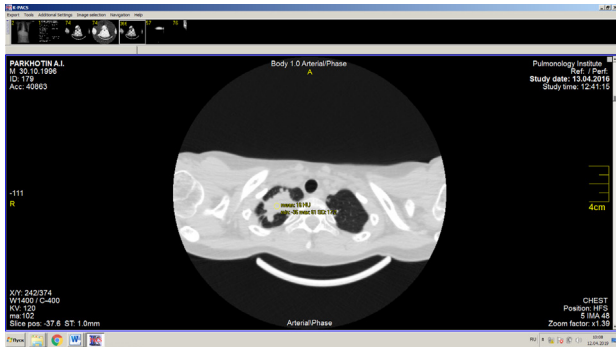


Рис. 8. Аксиальный срез КТ больного С. с денситометрическими показателями туберкулемы

На рис. 8 показано среднее значение плотности туберкулемы - 16 HU, минимальное – -36 HU, максимальное - 61 HU. Такие показатели плотности указывают на высокую активность туберкулезного процесса, что соответствует фазе прогрессирования заболевания. Морфологическая картина туберкулемы представлена на рис. 9.

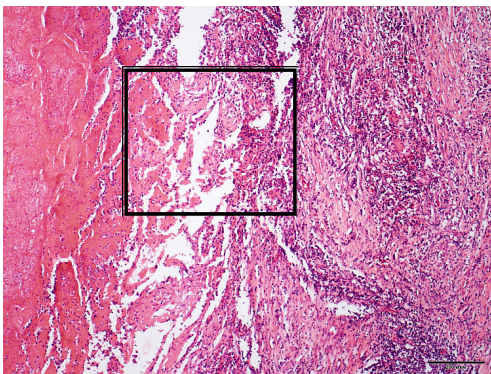


Рис. 9. Фрагмент туберкулемы с морфологически высокой степенью воспалительной активности, небольшим увеличением. С левой стороны - разжиженные некротические массы с несколькими полиморфноядерными лейкоцитами, с правой стороны - капсула туберкулемы, состоящая из специфических грануляционных тканей и мелких фиброзных фокусов. Окрашивание гематоксилином и эозином $\times 40$

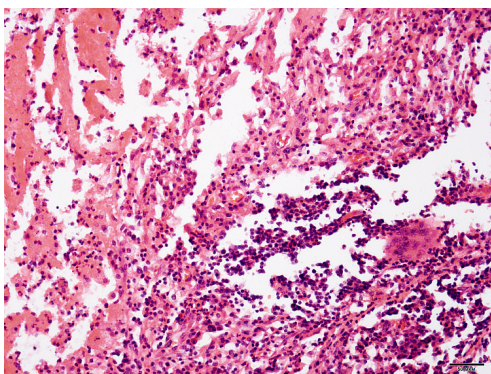


Рис. 10. Тот же фрагмент туберкулемы, умеренное увеличение. Граница внутренних некротических масс (левая сторона) и капсулы туберкулемы не ясна, на правой сто-

роне наблюдаются: агрегаты лимфоцитов, рассеянные мононуклеарные лейкоциты, одиночные многоядерные гигантские клетки. В правом верхнем углу - агрегация эпителиоидных макрофагов. Окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 100$

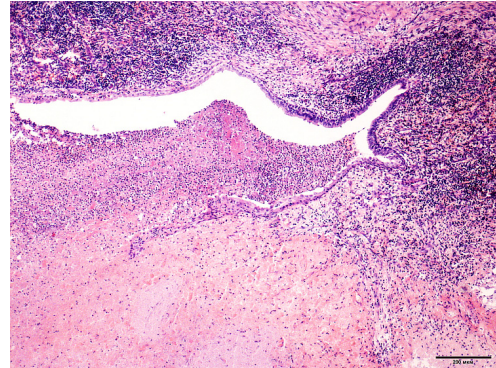


Рис. 11. Фрагмент туберкулемы с кавернизацией (прорыв некротических масс туберкулемы в просвет бронха), что характерно для высокой активности туберкулезного воспаления. Окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 40$

Таким образом, компьютерная денситометрия является объективным неинвазивным методом исследования, который позволяет с высокой достоверностью устанавливать степень активности специфического воспалительного процесса до оперативного вмешательства. Исследование среднего, минимального и максимального показателей плотности на фиксированной площади аксиального среза на КТ фактически отражает гистологическую структуру очага и позволяет выявить в нем участки с высокой активностью специфического воспалительного процесса.

Выводы.

1. Сравнение денситометрических показателей компьютерной томографии с результатам патогистологического исследования резецированных препаратов выявило, что при среднем значении плотности - $33,4 \pm 10,5$ HU и выше определяется низкая активность туберкулезного процесса, что соответствует фазе регресса заболевания, при значении в пределах $27,6 \pm 7,5$ HU - умеренная активность туберкулезного процесса, что соответствует фазе стабилизации процесса, а при среднем значении плотности ($15,0 \pm 12,5$) HU и ниже - высокую активность процесса, что соответствует фазе прогрессирования заболевания.

2. Для детального изучения структуры очага необходимо исследование среднего, минимального и максимального значений показателя плотности на фиксированной площади аксиального среза КТ больного, что фактически отражает гистологическую структуру очага и позволяет выявлять участки с высокой активностью специфического воспалительного процесса.

3. У 54,7%, т.е. более чем у половины оперированных больных сохраняется активный воспалительный процесс, что может привести к прогрессированию туберкулезного процесса или рецидиву заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авербах М.М. Туберкулемы легкого. // М.:Гос. изд-во мед.лит. 1962: 343.
- 2.Ариель Б.М., Беллиндер Э.Н. Патологическая анатомия и

патогенез туберкулеза. // В кн.: Руководство по легочному и внелегочному туберкулезу. Науч. ред. Левашев Ю.Н., Репин Ю.М. СПб: ЭЛБИ-СПб; 2006; 67–94.

3. Загаба Л.М., Ліска І.В., Кузовкова С.Д., Мельник О.О. Сучасні клініко-анатомічні особливості туберкульоз легень // Вісник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» 2016; том 16, №3 (55): 61–66.

4. Ліска І.В. та ін. Гістологічна діагностика ступеня активності туберкульозного запального процесу при туберкульозах легень: інформаційний лист. Нац. ін-т фізіатрії і пульмонології. К.: ДУ НІФП НАМНУ, 2010; 4.

5. Ліска І.В., Кузовкова С.Д., Загаба Л.М., Лук'ячук В.Г. Сучасні гістологічні особливості туберкульоз легень при різному ступені активності специфічного запального процесу. // Сучасні інфекції. 2010; 1: 65–72. 6. Риекстіня В., Торп Л., Леймане В. Фактори ризику ранніх рецидивів туберкульоза в Латвії. // Пробл. туберкульоза і болезней легких 2005; 1: 43–47.

7. Тлостанова М.С., Попова Е.А., Аветисян А.О., Блюм Н.М., Козак А.Р., Петрунькин А.М. Возможности позитронно-эмиссионной томографии с ¹⁸F- фтордезоксиглюкозой и ¹¹C-метионином в определении Активности туберкулеза легких: метаболические и морфологические параллели. // Клиническая медицина 2014; 6(4): 78–84.

8. Туберкулез: выявление, лечение и мониторинг по К. Томе-ну. Вопросы и ответы. // Под редакцией Т. Фридена. Женева: Всемирная организация здравоохранения, 2004. 388.

9. Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги дорослим. Туберкульоз. /Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 04.09.2014 р. № 620.– К. Міністерство охорони здоров'я, 2014. 128 с. ISBN 966-612-536-9.

10. Фещенко Ю.І., Петренко В.М., Черенько С.О. та ін. Нові випадки туберкульозу легень: результати лікування, причини недостатньої ефективності. // Журн. АМН України 2007; 13(3): 567–578.

11. Фещенко Ю.І. Сучасна стратегія боротьби з туберкульозом в Україні. //К.: Здоров'я: 2007; 664.

12. Холодок О.А., Григоренко А.А., Черемкин М.И. Клиническое наблюдение течения туберкулом легкого с морфологической интерпретацией их активности. // Бюллетень физиологии и патологии дыхания 2014; 51: 137–140.

13. Холодок О.А., Григоренко А.А., Черемкин М.И. Туберкулома легкого как форма туберкулезного процесса. // Бюллетень физиологии и патологии дыхания 2014; 53: 126–131.

14. Ankrah AO, van der Werf TS, de Vries EFJ, Dierckx RAJO, Sathekge MM, Glaudemans AWJM PET/CT imaging of Mycobacterium tuberculosis infection. Clin Transl Imaging 2016; 4(2):131–144.

15. Kosterink JGW. Positron emission tomography in the diagnosis and treatment management of tuberculosis. Curr Pharm Des 2011; 17(27):2875–2880.

16. Naranje P, Bhalla A.S., Sherwani P. Chest Tuberculosis in Children. The Indian Journal of Pediatrics 2019.

17. Nordin A.J., Rossetti C. Disseminated tuberculosis infection: a 'super' ¹⁸F-FDG PET/CT appearance Eur J Nucl Med Mol Imaging 2009; 36:882.

18. Rozenblum L., Mokrane F-Z., Yeh R., Sinigaglia M., Besson F., Seban R-D. et al. The role of multimodal imaging in guiding resectability and cytoreduction in pancreatic neuroendocrine tumors: focus on PET and MRI. Abdominal Radiology

19. Sing V., Kabra S.K. Advances in Tuberculosis: Diagnostics. The Indian Journal of Pediatrics 2019.

SUMMARY

INFORMATIVITY OF COMPUTER DENSITOMETRY FOR ASSESSING THE DEGREE OF ACTIVITY OF THE INFLAMMATORY PROCESS IN PULMONARY TUBERCULOMAS

¹Lynnyk M., ¹Gumeniuk M., ¹Kalabukha I., ¹Liskina I., ²Gumeniuk G., ¹Maletnyi E.

¹GU "National Institute of Phthisiology and Pulmonology named after F.G. Yanovsky NAMS of Ukraine"; ²National Medical Academy of Postgraduate Education named after P.L. Shupika, Kiev, Ukraine

In order to establish the levels of densitometric indicators of CT of the chest for various degrees of activity of a specific inflammatory process, the histopathological findings of the resected material were analyzed in 65 patients aged 24 to 60 years, 39 of them men, 25 women operated on pulmonary tuberculosis with a measurement of their densitometric indicators on CT of the chest.

It is proved that computer densitometry is an objective non-invasive research method that allows you to establish with high confidence the degree of activity of a specific inflammatory process. The study of the average, minimum and maximum values of the density indicator on a fixed area of the axial section of the CT scan actually reflects the histological structure of the focus and allows you to identify areas with high activity of a specific inflammatory process.

Keywords: pulmonary tuberculosis, tuberculoma, computer densitometry, pathohistology, specific inflammatory process activity.

РЕЗЮМЕ

ИНФОРМАТИВНОСТЬ КОМПЬЮТЕРНОЙ ДЕНСИТОМЕТРИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СТЕПЕНИ АКТИВНОСТИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА ПРИ ТУБЕРКУЛОМАХ ЛЕГКИХ

¹Линник Н.И., ¹Гуменюк Н.И., ¹Калабуха И.А., ¹Лискаина И.В., ²Гуменюк Г.Л., ¹Маєтний Е.Н.

¹ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф.Г. Яновского НАМН Украины»; ²Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, Киев, Украина

С целью установления уровней денситометрических показателей компьютерной томографии органов грудной клетки (КТ ОГК) при различных степенях активности специфического воспалительного процесса, проведен анализ патогистологических заключений резецированного материала 65 больных в возрасте от 24 до 60 лет, из них мужчин - 39, женщин - 25, оперированных по поводу легочных туберкулом с измерением их денситометрических показателей на КТ ОГК.

Доказано, что компьютерная денситометрия является объективным неинвазивным методом исследования, кото-

рый позволяет с высокой достоверностью устанавливать степень активности специфического воспалительного процесса. Исследование среднего, минимального и максимального значения показателя плотности на фиксированной

площади аксиального среза КТ фактически отражает гистологическое строение очага и позволяет выявлять в нем участки с высокой активностью специфического воспалительного процесса.

რეზიუმე

კომპიუტერული დენსიტომეტრიის ინფორმაციულობა ანთებითი პროცესის აქტივობის შეფასებისათვის ფილტვების ტუბერკულოზის დროს

¹ნ.ლინიკი, ¹ნ.გუმენიუკი, ¹ი.კალაბუხა, ¹ი.ლისკინა, ²გ.გუმენიუკი, ¹ე.მაეტნი

¹ფიანოვსკის სახელობის ფთიზიატრიისა და პულმონოლოგიის ეროვნული ინსტიტუტი;
²პ.შუპიკის სახ. დიპლომის შემდგომი განათლების ეროვნული სამედიცინო აკადემია, კიევი, უკრაინა

გულმკერდის დრუს კომპიუტერული ტომოგრაფიის დენსიტომეტრიული მანვენებლების დონის დადგენის მიზნით სპეციფიკური ანთებითი პროცესის აქტივობის სხვადასხვა ხარისხის დროს ჩატარებულია 24-60 წლის ასაკის 65 პაციენტის რეზექციული მასალის პათოჰისტოლოგიური დასკვნების ანალიზი, მათგან მამაკაცი – 39, ქალი – 25; ისინი ოპერირებულნი იყვნენ ფილტვის ტუბერკულოზის გამო, გულმკერდის დრუს კომპიუტერული ტომოგრაფიის დენსიტომეტრიული მანვენებლების განსაზღვრით.

დადგენილია, რომ კომპიუტერული დენსიტომეტრია წარმოადგენს კვლევის ობიექტურ არაინვაზიურ მეთოდს, რომელიც მაღალი სარწმუნოებით იძლევა სპეციფიკური ანთებითი პროცესის ხარისხის დადგენის საშუალებას. სიმჭიდროვის საშუალო, მინიმალური და მაქსიმალური მნიშვნელობების კვლევა კომპიუტერული ტომოგრაფიის აქსილური განიკვეთის ფიქსირებულ ფართობზე ასახავს კერის პათოლოგიურ სტრუქტურას და იძლევა მაღალაქტიური სპეციფიკური ანთებითი პროცესის უბნების გამოვლენის საშუალებას.

CLINICAL CHARACTERISTICS OF BLOOD TRANSFUSION IN GERIATRIC PATIENTS

¹Karacaer C., ²Sunu C., ²Kalpakçı Y., ¹Varim C., ¹Yaylaci S.

Sakarya University, Medicine Faculty, ¹Department of Internal Medicine; Sakarya University, Medicine Faculty, Department of Internal Medicine ²Division of Hematology, Sakarya, Turkey

Anemia in geriatric populations is considered as identical to general population by the World Health Organization (WHO) and defined as under 12 g/dl and 13 g/dl for female and male subjects, respectively. The process of aging is associated with an increased incidence of anemia [1]. The two leading causes of anemia in elderly include iron deficiency and chronic disease anemia (CDA). Other factors such as vitamin B12 or folic acid deficiency, gastrointestinal bleeding, or myelodysplastic syndromes also play an etiological role [2,3].

Obviously, transfusions are indicated in individuals with symptomatic anemia or Hb level below 6 g/dl [4]. Patients with moderate anemia or aHb level >10 g/dl rarely develop symptoms and require transfusion. In such situations, it may be more appropriate to base the decision of transfusion on general health status and tolerance of anemia rather than international guidelines for transfusion [5].

In this study, the etiology was defined in geriatric patients who underwent erythrocyte suspensions transfusion (ERT) due to anemia and the amount of transfusion was investigated and

it was aimed to develop more practical systems and methods to prevent overuse transfusion.

Material and methods. A retrospective patient file analysis was performed for a total of 328 patients aged ≥65 who received transfusions for any reason between July 2015 and 2018 at Sakarya Research and Training Hospital. Laboratory data at initial presentation, number of erythrocyte transfusions (NES), and total number of erythrocyte suspension transfusions (TNES) performed during all admissions over the study period were recorded. Also recorded were the demographic data, concurrent conditions, and laboratory values such as CBC at admission and discharge, iron, iron binding capacity, vitamin B12, and folate.

Patients were stratified into two groups based on their age and hemoglobin levels. Age group A1 consisted of patients between 65 and 75 years of age (inclusive), while age group A2 consisted of patients over 75 years of age (exclusive). Also, patients were stratified on the basis of hemoglobin as those with a hemoglobin <8 g/dl severe anemia (group H1), hemoglobin between 8 and 9,5 g/dl moderate anemia (H2), and hemoglobin >9,5 g/dl mild

anemia (H3). The amount of blood transfusion and etiological factors responsible for anemia were examined. According to WHO criteria, a hemoglobin level of <12 g/dl and <13 g/dl was considered to show the presence of anemia in women and men, respectively. Anemia was classified as severe, moderate, or mild at Hb concentrations of < 8 g/dl, 8-9.5 g/dl, and \geq 9.5 g/dl, respectively.

Presence of a serum iron level of <70 μ g/dl, iron binding capacity of >300 μ g/l, and ferritin level of <10 ng/ml were defined as iron deficiency anemia, while a vitamin B12 of <150 pg/ml was defined as vitamin B12 deficiency and a folic acid level <3 ng/ml was defined as folic acid deficiency. TSH of >10 μ IU/ml was considered to show the presence of hypothyroidism. Patients with a GFR <30 ml/min were considered to have chronic renal failure (CRF). Those with a CRP >1 mg/dl, sedimentation rate >20 mm/h were considered to have anemia due to inflammation, while those with a ferritin >100 ng/ml, serum iron <70 μ g/dl, iron binding capacity <155 μ g/dl, and ferritin 20 ng/dl to have chronic disease anemia (CDA). Presence of occult blood test positivity in stool, hematemesis, and hematochezia indicated gastrointestinal (GIS) bleeding. Also the etiological role of hematological and other malignancies was taken into consideration on the basis of patient history, clinical characteristics, and laboratory findings.

Data analysis was performed with Student's t-test or Mann-Whitney U test for data with or without normal distribution, respectively. Numerical data were expressed using descriptive statistics such as arithmetic mean, standard deviation, minimum, and maximum. T test (priority test) and Chi-squared test (Pearson) were implemented categorically. All statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics 20 SPSS software pack. A P value of <0.05 was considered significant and 95% CIs were provided.

Results and their discussion. Of the overall participants over 65 years of age, 296 were female and 32 were male. There were 145 patients between 65-75 years of age (group A1) with 136 female and 9 male subjects, while those over 75 years of age (group A2) consisted of 183 patients, with 160 female and 23 male subjects. Gender distribution did not differ significantly between groups A1 and A2. The most common etiological factors included iron deficiency anemia (60.7%), followed by mixed type anemia (18%), vitamin B12 deficiency (15.3%), folate deficiency (12%), anemia associated with hematological malignancy (5.5%), and anemia associated with non-hematological malignancy (18.5%) (Table 1).

The mean age in groups A1 and A2 was 70.46 \pm 3.4 years (p=0.0001) and 82.52 \pm 4.66 years (p:0.0001) respectively. There was a significant difference between groups A1 and A2 with re-

Table 1. Demographic and laboratory data of patients according to age groups

Charecteristics of Patients	A1 (n:145)	A2 (n:183)	P
SEX F/M(n)	136/9	160/23	0,054
AGE (yeras)(mean \pm standard deviation)	70,46 \pm 3,4	82,52 \pm 4,66	0,0001*
Count of hospitalization	1,37 \pm 1,2	1 \pm 0,6	0,107
erythrocyte suspension(unite)	2,55 \pm 1,44	2,7 \pm 1,56	0,388
Total Eritroid Suspansion Count(unite)	3,38 \pm 3	3,51 \pm 3	0,727
Hemoglobin1 (HGB, g/dL)	7,8 \pm 1,5	7,6 \pm 1,6	0,279
Hematocrit1 (HCT, %)	23,46 \pm 4,5	23,31 \pm 5,11	0,786
Mean corpuscular volumel (MCV, fL)	80,35 \pm 13,8	80,56 \pm 15,09	0,921
Mean platelet volumel (MPV, fL)	7,90 \pm 2	7,75 \pm 1,23	0,415
Hemoglobin2 (HGB, g/dL)	10 \pm 1,22	10 \pm 1,56	0,726
Hematocrit2 (HCT, %)	30 \pm 3,84	30 \pm 5,2	0,836
Mean corpuscular volume2 (MCV, fL)	82,7 \pm 10	82 \pm 9,6	0,615
Mean platelet volume2 (MPV, fL)	8,13 \pm 1,85	8,03 \pm 1,37	0,608
Cardiac Disorders (n)(%)	27(18,8)	54(29,5)	0,025*
Hypertansion(n)(%)	53(36,6)	88(48,4)	0,032*
Diabetes Mellitus(n)(%)	32(22,1)	33(18)	0,362
Chronic Renal Failure(n)(%)	8(5,6)	13(7,1)	0,571
B12 Deficiency(n)(%)	16(11)	28(15,3)	0,260
FOLAT Deficiency (n)(%)	25(17,2)	22(12)	0,180
Iron Deficiency(n)(%)	88(60,7)	119(65)	0,419
MIXED Anemia(n)(%)	26(18)	33(18,3)	0,925
Gasintestinal bleeding(n)(%)	46(31,7)	53(29)	0,588
Hematological Malignancy(n)(%)	8(5,5)	12(6,6)	0,495
Other Malignancys(n)(%)	33(22,8)	28(15,4)	0,089
Comorbid disease(n)(%)	100()	136()	0.284

A₁: 65-75 age groups A₂: 75 > age groups, Hb1: hemoglobin of hospitalization, Hb2: hemoglobin of discharge

*:Significant at the 0.05 level (two-tailed)

gard to occurrence of cardiac diseases and hypertension (p:0.025 and p:0.032, respectively). No significant differences in other parameters were found (Table 1).

Mean NES and TES in groups A1 and A2 were 2.55±1.44 and 3.38±3.75, and 2.7±1.56 and 3.51±3, respectively. Of the 145 patients group A1 126, 11, 3, 4, and 1 subjects had 1, 2, 3, 4, and 14 admissions, respectively. Among 183 patients in group A2, 171 were admitted on a single occasion, while 6, 3, 1, and 2 patients were admitted on 2, 3, 4, and 5 occasions, respectively, with no significant differences (p>0.05) (Table 1).

An assessment of the patients on the basis of hemoglobin values showed that iron deficiency anemia was the most common cause in all three groups. A total of 328 patients were recorded in H1 (n:98; 87 female, 11 male), H2 (n:154; 142 female, 12 male), and H3 (n:76; 67 female, and 9 male) groups. Comorbid conditions including HT, Type 2 DM, CHF, CAD, and CRF occurred more frequently among patients in group H2. Mean TNES in groups H1, H2, and H3 was 5 (min.-max.: 1-36), 3.21 (1-13), and 2 (1-7). Compared with the H1-H2 groups, the iron deficiency, ESS and ESTS were significantly higher in the H1 group (sirasyla p:0.012, p:0.001)(Table 2).

Also, a comparison between H2 and H3 groups, there were significant differences in vitamin B12 deficiency, NES, and TNES (p:0.0001, p:0.001, and p:0.001, respectively). H1 and H3 groups also differed significantly with regard to NES, and TNES (p:0.001). There were no significant differences in other parameters (Table 2). A comparison between Hb groups (H1-H2, H2-H3, H1-H3) showed no significant differences in terms of comorbid conditions (p > 0.05) (Table 2).

Although there was an increase in TNES in those with comorbid conditions, this was not significant (p:0.054). No associations were found between chronic diseases excluding malignancy and comorbid conditions (p:0.773). A comparison between subjects with no comorbid conditions and those with malignancy showed significant differences in TNES (p:0.019). Also, a significant difference was noted between those with or without malignancy (p:0.050).

When subjects with malignancy, with no malignancy, and with no comorbidity were compared with regard to age, NES, and admission, no significant associations were found (p:0.069, p:0.891, p:0.734, respectively). TNES was significantly associated with these groups (p:0.018).

In 232 patients with comorbid conditions, the Hb at presentation was 7.7 ± 1.49 g/dl, age was 77.3 ± 7.1 years, NES was 2.4 ± 1.2, and TNES was 3.92 ± 3.90.

In 76 patients among 328 patients, a transfusion was performed at aHb level of >9 g/dl, and of these 24 patients (31%) had no comorbidity, 18 (75%) had malignancy, and 34 (44%) had no malignancy.

According to data from WHO, more than 10% the world population over 65 years of age currently have anemia (6). The prevalence of anemia among elderly varies between 2.9 and 61% in men, and between 3.3 and 41% in women (7). In the US, anemia prevalence among men and women aged 65 or over was 11% and 10.2% based on NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) III data, while the corresponding figures increased to 26.1% and 20.1% in those over 85 years of age (8).

In line with previously published data, iron deficiency was the most frequent cause of anemia in elderly as shown in **Table 2**. Iron deficiency was significantly more common in H2 patients than in H1 patients. Transfusions due to vitamin B12 deficiency were more commonly performed in H2 patients, who had a Hb level between 7 and 9 g/dl. A comparison between groups H2 and H3 showed significantly higher incidence of B12 deficiency among H2 patients. The higher occurrence of both vitamin B12 and iron deficiency anemia in H2 group was probably associated with higher number of patients in this group. Comorbid conditions in the elderly usually necessitate transfusions at the appropriate threshold for anemia in order to achieve hemodynamic stabilization. However, comparisons between different Hb groups in our study (i.e. H1 vs H2, H1 vs H3, and H2 vs H3) with regard to presence of comorbid conditions showed no significant differences.

Table 2. Comparison of patients according to hemoglobin values

	H 1 (n= 98)	H 2 (n=154)	H 3 (n=76)	Comparisons of H1 and H2 group (p)	Comparisons of H2 and H3 group (p)	Comparisons of H1 and H3 group (p)
B12 deficiency(n)	16	19	9	0,69	0,0001*	0,36
Folat deficiency(n)	11	21	13	0,9	0,52	0,45
Iron deficiency(n)	69	89	49	0,012*	0,9	0,39
Mixt anemia(n)	21	22	16	0,14	0,20	0,97
Gastrointestinal bleeding(n)	26	45	28	0,88	0,20	0,17
Cardiac disorders(n)	26	39	16	0,8	0,70	0,51
Diabetes mellitus type 2(n)	16	34	15	0,57	0,94	0,52
Hypertension(n)	43	72	26	0,95	0,14	0,25
Chronic Renal Failure(n)	3	11	7	0,13	0,69	0,15
Comorbid disease(n)	67	118	51	0.14	0.86	0.12
Erythrocyte suspension (mean unite,min-max)	3.44(1-12)	2.55(1-10)	1.76(0-5)	0,001*	0,001*	0,001*
Total erythrocyte suspension (mean unite,min-max)	5.2(1-36)	3.45(1-13)	2.2(1-7)	0,001*	0,001*	0,001*

H1: Hemoglobin: < 8 H2: Hemoglobin:8-9,5 H3: Hemoglobin: >9,5

*:Significant at the 0.05 level (two-tailed)

In patients with no comorbidities, a Hb level of 7 g/dl can be readily tolerated in order to maintain normovolemia. In recent international guidelines, a recommendation to lower the transfusion Hb threshold level from 10 g/dl to 7 g/dl in patients with gastrointestinal bleeding (9,10). Strong evidence from multiple randomized clinical studies also support the more restrictive use of transfusions in asymptomatic patients with anemia (11). In our study, there were a total of 30 patients (26 females, 4 males) who received transfusions with a Hb level \geq 10 g/dl. Of these patients, 13 were between 65 and 75 years of age and 17 were $>$ 75 years of age. Cardiac disease, HT, type 2 DM, CRF, vitamin B12 deficiency, folate deficiency, iron deficiency anemia, mixed anemia, gastrointestinal bleeding, and non-hematological malignancy were present in 4 (13.3%), 8 (22%), 5 (16.7%), 5 (16.7%), 2 (6.7%), 7 (23.3%), 20 (66.7%), 6 (20%), 11 (36.7%), and 6 (20%) of these cases, respectively. These transfusions at Hb levels exceeding 10 g/dl were supposedly performed due to a number of reasons including stabilization of hemodynamics or persistent gastrointestinal bleeding, which could lead to intolerance of anemia. Although the reasons for transfusions performed at Hb levels $>$ 10 g/dl have been provided, we believe that transfusions are not required above this level and certain measures should be taken in order to prevent unnecessary transfusions. In a study by Steven Z. Kassakian et al. implementation of a strategy termed as "Clinical Decision Support Intervention" in health facilities for anemic patients with an hematocrit (Hct) level $>$ 21% has been found to result in significant reductions in RBC transfusions from 10.6% to 8%(12).

A comparison of groups with a Hb level between 7 and 9 g/dl and Hb $>$ 9 g/dl showed significant differences in NES and TNES with regard to transfusions performed with an indication of vitamin B12 deficiency. Also, groups with aHb $<$ 7 g/dl and Hb between 7 and 9 g/dl showed significant NES and TNES differences with respect to transfusions performed due to iron deficiency (Table 2).

There are no well-established blood transfusion strategies for management of anemia in the elderly and in subjects with cardiovascular conditions (13). A Hb threshold level of 10 g/dl is commonly adopted for individuals with coronary artery disease or cerebrovascular insufficiency. Acute upper gastrointestinal system bleeding is a common medical emergency that is associated with morbidity and mortality (14). Acute blood loss is generally an indication for blood transfusion since it decreases tissue perfusion and oxygenation, and blood transfusion may be life saving in patients with massive bleeding. However, in most cases the bleeding is not very severe and the safest and most effective transfusion strategy remains a matter of controversy (15,16)(Table 1).

In our study, transfusion indications in patients between 65 and 75 years of age and patients aged over 75 years differed significantly in terms of cardiac conditions and hypertension. This may be due to the fact that more advanced age is associated with an increased prevalence of cardiovascular disorders and hypertension. The age groups were not significantly different in terms of transfusions performed for gastrointestinal bleeding. Also, the gender distribution across these two age groups was well balanced. Also no significant differences were noted both according to age group and comorbid conditions in two groups.

The higher average NES and TNES values in Group A2 ($>$ 75 years) compared to Group A1 (65-75 y) were attributed to the need for achieving cardiovascular hemodynamic stability, and to the reduced tolerance of anemia due to accompanying comorbid conditions.

Despite a wide array of etiological factors in anemic geriatric patients requiring transfusions, it is of utmost importance to develop a management plan for the underlying cause of anemia in order to reduce the indications for repeated transfusions. The anemia threshold for identifying the need for transfusion should be individualized based on the physiological status of each case [17].

Conclusion. In this study, the elderly population was more likely to have ERT than indications, and a need for a scientific assessment of transfusion in the hospital or in all patients has emerged.

REFERENCES

1. Beutler E, Waalen J. The definition of anemia: what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration. // *Blood* 2006;107: 1747-1750.
2. Woodman R, Ferrucci L, Guralnik J. Anemia in older adults. // *Curr Opin Hematol.* 2005;12(2):123-128.
3. Lichtman MA, Williams JW. Hematology in the aged.in: Beutler E. Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U. Williams Hematology 8th ed. New York: McGraw-Hill Companies, 2001;8: 93-102
4. Smith DL. Anemia in the elderly. // *Am Fam Physician* 2000; 62: 1565-72
5. Klein HG, Spahn DR, Carson JL. Red blood cell transfusion in clinical practice. // *Lancet* 2007; 370: 415-426
6. Patel KV. Epidemiology of anemia in older adults. // *Semin Hematol.* 2008; 45:210-217.
7. Caruso LB, Clough-Gorr KM, Silliman RA. Improving quality of care for urban older people with diabetes mellitus and cardiovascular disease. // *J Am Geriatr Soc.* 2007
8. Moftah F. Blood transfusion and alternatives in elderly, malignancy and chronic disease. // *Hematology* 2005; 10(Suppl 1): 82-85.
9. Franchis R. Updating consensus in portal hypertension: report of the Baveno III consensus workshop on definitions, methodology and therapeutic strategies in portal hypertension. // *J Hepatol* 2000;33: 846-852.
10. Franchis R. Revising consensus in portal hypertension: report of the Baveno V consensus workshop on methodology of diagnosis and therapy in portal hypertension. // *J Hepatol* 2010;53:762-768.
11. Paul C. Hébert, M.D., George Wells, Ph.D., Morris A. Blajchman A Multicenter, Randomized, Controlled Clinical Trial of Transfusion Requirements in Critical Care. // *N Engl J Med* 1999; 340:409-417)
12. Steven Z. Kassakian, MD, Thomas R. Yackel, MD, Thomas Deloughery, MD, et al. Clinical decision support reduces overuse of red blood cell transfusions: Interrupted time series analysis. // *AmJ of Med* 2016; 129:636.e13-636.e20
13. Goodnough LT, Levy JH, Murphy MF. Concepts of blood transfusion in adults.// *Lancet.* 2013; 381:1845-1854.
14. Gralnek IM, Barkun AN, Bardou M. Management of acute bleeding from a peptic ulcer. // *N Engl J Med* 2008;359:928-937.
15. Barkun A, Bardou M, Marshall JK. Consensus recommendations for managing patients with nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. // *Ann Intern Med* 2003;139:843-857.
16. Barkun AN, Bardou M, Kuipers EJ, et al. International consensus recommendations on the management of patients with nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. // *Ann Intern Med* 2010;152:101-113.
17. Hardy JF. Current status of transfusion triggers for red blood

cell concentrates. // Transfusion and Apheresis Science. 2004; 31: 55-66

SUMMARY

CLINICAL CHARACTERISTICS OF BLOOD TRANSFUSION IN GERIATRIC PATIENTS

¹Karacaer C., ²Sunu C., ³Kalpakçı Y., ¹Varim C., ¹Yaylaci S.

Sakarya University, Medicine Faculty, ¹Department of Internal Medicine; Sakarya University, Medicine Faculty, Department of Internal Medicine ²Division of Hematology, Sakarya, Turkey

In the presented study, the etiology was defined in geriatric patients who received transfusions with erythrocyte suspension due to anemia; the amount of transfusion was investigated and practical systems and methods to prevent the overuse of transfusions were developed. A retrospective patient records analysis was performed for a total of 328 patients aged ≥ 65 who received transfusions for any reason between July 2015 and 2018 at Sakarya Research and Training Hospital. Laboratory data at initial presentation, number of erythrocyte transfusions (NES), and total volume of erythrocyte suspension transfusions (TNES) performed during all admissions over the study period were recorded. Also recorded were the demographic data, concurrent conditions, and laboratory values. Patients were divided into two groups based on their age and hemoglobin levels. Age group A1 consisted of patients between 65 and 75 years of age (inclusive), while age group A2 consisted of patients over 75 years of age (exclusive). Based on the hemoglobin levels, the patients were identified as those with a hemoglobin < 8 g/dl severe anemia (group H1), hemoglobin level ranging 8-9,5 g/dl moderate anemia (H2), and hemoglobin $> 9,5$ g/dl – mild anemia (H3). The amount of transfusion and etiological factors responsible for anemia were examined. With respect to the incidence of iron deficiency, volume of transfused erythrocyte suspensions (ES), and total number of erythrocyte suspensions (TNES) were significantly higher in the H1 group, compared to the H2 group ($p: 0.012$ and $p: 0.001$, respectively). Comparing H2 and H3 groups, in terms of B12 deficiency, ES, and TNES were significantly higher in the H3 group than in the H2 group ($p: .0001$, $p: .001$, $p: .001$, respectively). In our study, transfusion indications in patients between 65 and 75 years of age and patients aged over 75 years differed significantly in terms of cardiac conditions and hypertension. The age groups were not significantly different in terms of transfusions performed for gastrointestinal bleeding. Also, the gender distribution across these two age groups was well balanced. No significant differences were noted related either to the age or to comorbid conditions between two groups. The higher average NES and TNES values in Group A2 (> 75 years) compared to Group A1 (65-75 y) were attributed to the need for achieving cardiovascular hemodynamic stability, and to the reduced tolerance of anemia due to accompanying comorbid conditions. Despite a wide array of etiological factors in anemic geriatric patients requiring transfusions, it is of utmost importance to develop a management plan for the underlying cause of anemia in order to reduce the indications for repeated transfusions. The anemia threshold for identifying the need for transfusion should be individualized based on the physiological status of each case.

Keywords: Geriatric patients, transfusion, erythrocyte suspension, overuse.

РЕЗЮМЕ

КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕЛИВАНИЯ КРОВИ СРЕДИ ГЕРИАТРИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ

¹Караджаэр Дж., ²Суну Дж., ³Калпакчы Я., ¹Варим Дж., ¹Яйладжи С.

Университет Сакарья, лечебный факультет, ¹кафедра терапии; Университет Сакарья, лечебный факультет, кафедра терапии, ²отделение гематологии Сакарья, Турция

В исследование включены гериатрические пациенты, которым в связи с анемией проведено переливание суспензии, насыщенной эритроцитами; исследован объём трансфузии и разработаны практические системы и методы предотвращения чрезмерного применения. Проведён ретроспективный анализ историй болезни 328 пациентов в возрасте ≥ 65 лет, которые по той или иной причине получили трансфузию в период с июля 2015 года по 2018 год в Научно-учебной больнице Сакарья. Зарегистрированы лабораторные данные при первоначальном обследовании, количество переливаний эритроцитов (NES) и общее количество перелитой эритроцитарной суспензии (TNES) за время всех поступлений пациента в период исследования. Зарегистрированы также демографические данные, сопутствующие состояния и заболевания, лабораторные показатели. В зависимости от возраста и уровня гемоглобина пациенты разделены на две группы: группа A1 - пациенты в возрасте от 65 до 75 лет (включительно); группа A2 - пациенты старше 75 лет. На основе показателей гемоглобина пациенты разделены на следующие подгруппы: с тяжелой анемией гемоглобина < 8 г/дл (группа H1), с гемоглобином 8-9,5 г/дл умеренной анемии (H2) и с гемоглобином $> 9,5$ г/дл легкой анемии (H3). Проанализированы количество перелитой крови и этиологические факторы, ответственные за анемию. Принимая во внимание частоту дефицита железа, полный объём перелитой суспензии эритроцитов (ES) и общее количество переливаний суспензии эритроцитов (TNES) были значительно выше в подгруппе H1 в сравнении с подгруппой H2 ($p: 0,012$ и $p: 0,001$, соответственно). С точки зрения дефицита B12, ES и TNES были значительно выше в подгруппе H3, чем в подгруппе H2 ($p: .0001$, $p: .001$, $p: .001$, соответственно). Показания к переливанию крови у пациентов в возрасте от 65 до 75 лет значительно отличались от таковых у пациентов в возрасте старше 75 лет с точки зрения сердечно-сосудистых заболеваний и гипертонии. В случаях переливаний в связи с желудочно-кишечным кровотечением значительного различия среди возрастных групп не наблюдалось. Существенных различий, связанных с возрастом и сопутствующими заболеваниями, в группах не отмечено. Более высокие средние значения NES и TNES в группе A2 (> 75 лет) в сравнении с группой A1 (65-75 лет) обусловлены необходимостью достижения стабилизации сердечно-сосудистой гемодинамики и пониженной переносимостью анемии из-за сопутствующих заболеваний. Несмотря на широкий спектр этиологических факторов среди гериатрических пациентов с анемией, нуждающихся в переливании крови, крайне важно разработать план лечения основной причины анемии, чтобы избежать необходимости в повторных переливаниях. Порог анемии для выявления потребности в переливании крови необходимо индивидуализировать на основе физиологического состояния каждого пациента.

რეზიუმე

სისხლის გადასხმის კლინიკური თავისებურებები გერიატრიულ პაციენტებში

¹ჯ.კარაჯაერი, ²ჯ.სუნუ, ³ი.კალპაქი, ⁴ჯ.ვარიში, ⁵ს.იაილაჩი

საკარიას უნივერსიტეტი, სამკურნალო ფაკულტეტი, ¹თერაპიის კათედრა, ²ჰემატოლოგიის განყოფილება, საკარია, თურქეთი

კვლევაში ჩართული იყო გერიატრიული პაციენტები, რომელთაც ანემიის გამო ჩაუტარდათ ერთობლივად გაჯერებული სუსპენზიის გადასხმა. გამოკვლეულია ტრანსფუზიის მოცულობა და შემუშავებულია პრაქტიკული სისტემები და მეთოდები ტრანსფუზიის ჭარბი გამოყენების თავიდან ასაცილებლად. ჩატარდა 65 წლის და მეტი ასაკის 328 პაციენტის ავადმყოფობის ისტორიის რეტროსპექტიული ანალიზი, რომელთაც 2015 წლის ივლისიდან 2018 წლის ჩათვლით პერიოდში საკარიას სამეცნიერო-სამკურნალო საავადმყოფოში ჩაუტარდა ტრანსფუზია. კვლევის პერიოდში რეგისტრირდებოდა პირველადი გამოკვლევის ლაბორატორიული მონაცემები, ერთობლივად გადასხმის ჯერადობა (NES) და ერთობლივად გადასხმის (TNES) საერთო გადასხმული მოცულობა; ასევე, რეგისტრირდებოდა დემოგრაფიული მონაცემები, თანმხლები მდგომარეობები და დაავადებები და ლაბორატორიული მანკვებები. პაციენტები ასაკის და ჰემოგლობინის მანკვებლის გათვალისწინებით დაიყო ორ ჯგუფად: პირველი ჯგუფი (A1) შედგებოდა 65-75 წლის ასაკის პაციენტებისაგან, მეორე ჯგუფი (A2) - 75 წელზე მეტი ასაკის პაციენტებისაგან. ჰემოგლობინის მანკვებლის

მიხედვით ჯგუფები დაიყო შემდეგ ქვეჯგუფებად: მძიმე ანემიით, ჰემოგლობინი - < 8 გ/დლ (ჯგუფი H1), ზომიერი ანემიით, ჰემოგლობინი - 8-9,5 გ/დლ (ჯგუფი H2), მსუბუქი ანემიით, ჰემოგლობინი - >9,5 გ/დლ (ჯგუფი H3). გაანალიზდა გადასხმული სისხლის მოცულობა და ანემიის გამომწვევი ეტიოლოგიური ფაქტორები. რკინის დეფიციტის სისწორიდან გამომდინარე, NES და TNES მნიშვნელოვნად მაღალი იყო H1 ჯგუფში, ჯგუფი H2-თან შედარებით, შესაბამისად (p: 0,012 და p: 0,001). B12-ის დეფიციტი (ს თვალსაზრისით, NES და TNES მნიშვნელოვნად მაღალი იყო H3 ჯგუფში, ჯგუფი H2-თან შედარებით, შესაბამისად (p: 0, 0001, p: 0, 001 და p: 0,001). ჩატარებულ კვლევაში 65-75 წლის ასაკის პაციენტებისათვის სისხლის გადასხმის ჩვენებები, გულ-სისხლძარღვთა სისტემის დაავადებების და ჰიპერტონიის თვალსაზრისით, მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა 75 წელზე მეტი ასაკის პაციენტების მონაცემებისაგან. ასაკობრივ ჯგუფებს შორის გამოხატული განსხვავება არ აღინიშნებოდა კუჭ-ნაწლავის ტრაქტიდან სისხლდენის მიზეზით ჩატარებული გადასხმების დროს. ორივე ჯგუფში არ აღინიშნა არსებითი განსხვავებანი ასაკთან და თანმხლებ დაავადებებთან დაკავშირებით. NES- და TNES-ის უფრო მაღალი საშუალო მაჩვენებლები A2 ჯგუფში (75 წელზე მეტი), ჯგუფი A1-თან (65-75 წელი) შედარებით, გამოწვეულია გულ-სისხლძარღვთა ჰემოდინამიკის სტაბილიზების მიღწევის აუცილებლობით და თანმხლებ დაავადებების გამო ანემიის რთულად გადატანით. ანემიის და სისხლის გადასხმის საჭიროების მქონე გერიატრიულ პაციენტებს შორის, ეტიოლოგიური ფაქტორების ფართო სპექტრის მიუხედავად, განმეორებითი გადასხმის აუცილებლობის თავიდან აცილების მიზნით, აუცილებელია, რომ ანემიის ზღურბლი, თითოეული პაციენტის ფიზიოლოგიური მდგომარეობიდან გამომდინარე, იყოს ინდივიდუალური.

THE STATE OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN PROSTATE GLAND OF RATS WITH CRYOTRAUMA AND ITS CORRECTION WITH DRUGS OF NATURAL ORIGIN

¹Brechka N., ¹Bondarenko V., ²Morozenko D., ³Grushanska N., ⁴Sharandak P., ¹Selukova N., ⁵Danylchenko S.

¹State Institution "Institute for Endocrine Pathology Problems named after V.Ya. Danilevsky of the National Academy of Medical Science of Ukraine"; ²National University of Pharmacy, Kharkiv; ³National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv; ⁴Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine, Kyiv; ⁵Mohyla Black Sea National University, Mykolaiv, Ukraine

The change in Ukrainian demographic indicators points at the necessity to pay attention to factors affecting fertility, among which the leading place is sterile marriage [1]. Although there has been considerable success in the diagnosis and treatment of reproductive dysfunction, the problem of infertility remains one of the most important in modern medicine [2]. The leading pathology in 43.3% of sterile men is inflammatory genital diseases. The most common inflammatory diseases of the male genital organs that lead to deterioration of the functional state of sperm are prostatitis urethritis, vesiculitis, etc. According to statistics, the sterility in patients with

prostatitis ranges from 9% to 72.2%. An important and socially significant problem is the problem of chronic prostatitis, which is constantly increasing, together with the number of cases of secondary sterility in men [1]. One of the pathogenic factors in all forms of men sterility, including a consequence of chronic prostatitis, which leads to impaired spermatogenesis, is the overproduction of reactive oxygen species in semen, which is defined as oxidative stress [3,4]. The accumulation of reactive oxygen species in sperm leads to damage of sperm membranes, fragmentation of their DNA and decrease in their mobility [4,5]. In addition to oxidative stress, there

occurs an imbalance of the hormonal profile, which contributes to the development of sterility in men [5].

Currently, studies of the processes of lipid peroxidation (LPO) and antioxidant protection in patients with various pathological conditions play an important role. This is due to the fact that they form the basis for adaptation-compensatory mechanisms and their understanding allows us to develop different approaches to antioxidant therapy. It is well-known that balanced functioning of the LPO system and antioxidant protection is a normal physiological process, which is vital for the body. In physiological conditions, activation of regulated endogenous LPO processes is a necessary mechanism for the renewal of membrane structures. The ratio of activity of oxidative processes and antioxidant protection not only reflects, but also largely determines the intensity of metabolism, adaptive capacity of the organism and the risk of various pathological conditions [6]. Therefore, the questions related to the study of the effect of Chondroitin sulfate and its combination with Tribestan and the placenta drug on the state of prooxidant-antioxidant balance on the mechanisms of development of male sterility, namely on the background of the prostate cryotrauma and methods of its correction, are relevant.

Purpose – to determine the state of prooxidant-antioxidant balance in the prostate gland of rats after cryotrauma and its correction with drugs of natural origin.

Material and methods. The studies were carried out in compliance with the rules of the European Convention on the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Scientific Purposes (Strasbourg, 1986) [7]. During the experiment, the animals were in the vivarium at t° 18–24 $^{\circ}$ C, humidity 50–60 %, natural day-night light mode, on a balanced diet according to the current norms. The experimental studies were carried on white mature male Wistar rats with basal weight of 270–370 g. Non-bacterial cryotraumatic prostatitis was caused by local irrigation of the previously surgically exposed anterior surface of the central part of the prostate (isthmus and ventral parts) for 5 seconds with an applicator for the wart removal Wartner®, the wounded surface was sewed in afterwards. All manipulations with animals were performed under ether anesthesia [8]. Wartner® (Pharmaspray, Netherlands) is an aerosol with a mixture of dimethyl ether and propane, which after applying to the surface of the skin, mucous membranes and other tissues causes them to cool and develop cryotraumatic inflammation. The cryotraumatic effect on the prostate gland was manifested by direct cryopreservation of its tissue, a probable disturbance of hemodynamics and inflammation of the glandular tissue, which corresponds to some pathogenetic aspects of prostatitis development in men [8]. To assess the prostate protective effect we chose Chondroitin sulphate, Chondroitin sulphate in combination with Tribestan, Tribestan (manufactured by Sopharma, Bulgaria), and Bioglobin-U (a proteinised water-salt extract from a human placenta including polypeptides 3.5–7%, amino acids 50–60%, amino sugars 4–5%, hexuronic acids 8–9%, produced by CJSC Biolik, Kharkiv. The comparison drug was Prostapant forte produced by Schwabe company, Germany.

Animals were divided into the following groups: group 1 – intact control; group 2 – control pathology (local irrigation of the anterior surface of the central part of the prostate (isthmus and ventral parts) within 5 seconds with an applicator for wart removal Wartner®, which was carried out through the incision of the abdominal cavity in the location of the ventral part of the prostate); group 3 – control pathology + administration of Chondroitin sulfate substance at a dose of 60 mg/kg; group 4 – control pathology + administration of Tribestan at a dose of 60 mg/kg;

group 5 – control pathology + administration of Chondroitin sulfate in combination with Tribestan in the above doses; group 6 – control pathology + administration of Prostapant forte at a dose of 35 mg/kg, and group 7 – control pathology + administration of Bioglobin-U at a dose of 200 μ l/kg. The drugs were administered three days before the simulation of cryotraumatic prostatitis and within 11 days after cryotrauma. Taking into account the pathogenesis and clinical manifestations of the disease and laboratory parameters in humans, which are diagnostically significant in chronic prostatitis, we selected the parameters for the evaluation of general condition of the animals with lesions of prostate, and developed criteria for evaluating the effectiveness of the studied drugs. In each group, the number of animals was 6 male rats. After the end of the study, the rats were rapidly decapitated under ether anesthesia on the 12th day of the experiment [8]. The morphofunctional state of spermatozoa derived from rats' epididymis was studied according to the main indicators: sperm count, percentage of pathological forms, motility and duration of preservation of their motility [9]. Indicators characterizing the state of the prooxidant-antioxidant balance (LPO/AOP) were determined in the prostate homogenate: the content of diene conjugates and lipid hydroperoxides, products reacting with thiobarbituric acid (TBA-products) and restored glutathione [10]. The data was processed using the software package «Statistica v. 10.0». If the data were not consistent with the normal distribution, the comparison of indicators was performed according to the non-parametric Wilcoxon criterion with calculation of the median (Me) and percentiles (25% and 75%). Critical level of significance was assumed to be equal to or less than 0.05 ($p < 0.05$).

Results and their discussion. In the pathogenesis of the prostate cryotrauma, the main place is occupied by the processes that occur when the cell membranes are damaged, which is caused by the LPO activation in tissues [3–5]. During the evaluation of the effect of drugs of natural origin on the state of the oxidant-prooxidant system in rats with experimental prostatitis caused by the drug Wartner®, the content of reduced glutathione was reduced by 46.2%, diene conjugates increased 5-fold, lipid hydroperoxide increased 5.8 times and TBA products – 5.3 times compared to the intact control group. These changes indicated a violation of antioxidant protection in rat prostate cells with experimental Wartner-induced prostatitis. For the purpose of pharmacological correction of the functional state of the prostate in rats, various drugs were used. The effectiveness was directly reflected in the results of laboratory studies of prostate tissue in terms of lipid peroxidation.

After Chondroitin sulfate administration, the content of reduced glutathione increased by 69.2% compared with the positive control, a similar pattern was observed after Tribestan administration. After using the combination of Chondroitin sulfate with Tribestan, the content of reduced glutathione was increased by 77.3%; when administering Prostapant forte the content of reduced glutathione increased by 60.5%; in case of Bioglobin-U (placenta) it increased by 47.6% compared with the positive control. It should be noted that the level of reduced glutathione after using drugs reached intact control only with the use of Tribestane, as well as combinations of Tribestane with Chondroitin sulfate (Table 1).

The content of diene conjugates in rats using Chondroitin sulfate decreased 2.5-fold, Tribestan – by 28.0%, Chondroitin sulfate in combination with Tribestan – by 45.1%, Prostapant forte – by 55.5%, Bioglobin-U (placenta drug) – by 41.7% compared to the indicator in the positive control. The content of lipid hydroperoxides after using Chondroitin sulfate decreased by 4 times, Tribestan – by 35.8%, the combined use of Chondroitin sulfate and Tribestan – by 2.3 times, Prostapant forte – by 2.1 times, Bioglobin-U

(placenta drug) – by 48.3% compared with the positive control group index. The content of TBA products in the prostate tissues of rats after administration of Chondroitin sulfate was reduced by 45.8%, Tribestan – by 66.7%, Chondroitin sulfate in combination with Tribestan – 2-fold, Prostaplan forte – by 41.7%, Bioglobulin-U (placenta drug) – by 2.2 times compared with the intact control group. Thus, the results of studying the influence of drugs of natural origin on the basis of indicators of the prooxidant-oxidant system, showed that the most positive effect had Chondroitin sulfate both in monotherapy and in combination with Tribestan. This was reflected in the highest values of reduced glutathione as a marker of antioxidant protection, as well as in the lowest rates of diene conjugates, lipid hydrocarbons and TBA in the rats administered Chondroitin sulfate (Table 1).

Therefore, the violation of balance between prooxidant and antioxidant processes led to the violation of the functional condition of the testis of rats. Thus, the number of sperm in rats with cryotrauma decreased by 40%, the percentage of motile sperm decreased by 35% and the duration of their motility – almost twice. All the studied drugs helped to restore the functional status of the testis, that is, improve the sperm count in male rats in the conditions of prostate cryotrauma. (Table 2).

It is known that oxidative stress and disturbance of the processes of the antioxidant system play an important role in the pathogenesis of many diseases. Acceleration of free radicals formation, reactive oxygen species, prooxidants can lead to increased damage of cell membranes and their permeability, inhibition of cell division and recovery, impaired metabolism in cells [10]. The versatility of lipo-

Table 1. LPO/AOP indices in prostate homogenates of rats with induced prostate cryotrauma with its subsequent correction with drugs of natural origin (Me, 25-75%)

Groups of animals	Indices			
	Restored glutathione, $\mu\text{mol/g}$	Diene conjugates, $\mu\text{mol/g}$	Lipid hydroperoxides, $\mu\text{mol/g}$	TBA-products, $\mu\text{mol/g}$
Intact control, n=6	3,44 3,22 – 3,66	3,98 3,30 – 4,49	31,06 25,74–35,06	11,60 10,54 – 12,56
Control pathology (model of cryotrauma), n=6	1,85* 1,79 – 1,94	19,89* 16,25 – 21,31	179,73* 151,33–241,34	61,54* 54,81 – 65,38
Model of cryotrauma+Chondroitin sulfate, n=6	3,13* \diamond 3,05 – 3,20	7,95* \diamond 5,45 – 8,86	44,87* \diamond 39,64 – 57,69	33,33* \diamond 33,33–34,61
Model of cryotrauma+Tribestan, n=6	3,13 \diamond 2,66 – 3,28	14,32* \diamond 14,09 – 15,23	115,38* \diamond 79,48–120,71	41,02* \diamond 29,49–42,31
Model of cryotrauma+Chondroitin sulfate+Tribestan, n=6	3,28 \diamond 2,66–3,44	10,91* \diamond 8,41 – 12,50	78,20* \diamond 53,25 – 78,20	30,77* \diamond 24,36–39,74
Model of cryotrauma+« Prostaplan forte», n=6	2,97* \diamond 2,89 – 3,13	8,86* \diamond 8,64 – 10,23	84,61* \diamond 70,81 – 86,98	35,90* \diamond 32,05–41,02
Model of cryotrauma+«Bioglobulin-U», n=6	2,73* \diamond 2,66 – 3,13	11,59* \diamond 7,73 – 12,27	92,90* \diamond 84,61–106,31	28,20* \diamond 28,20–39,74

notes: * – probably Wilcoxon versus intact control ($p < 0.05$); \diamond – significantly higher than Wilcoxon versus positive control ($p < 0.05$)

Table 2. The functional state of sperm in rats with induced prostate cryotrauma with its subsequent correction with drugs of natural origin (Me, 25-75%)

Groups of animals	Indices			
	Sperm, million per ml	Pathological forms of sperm, %	Sperm mobility, %	Saving sperm motility, minutes
Intact control, n=6	61,50 48,75–71,75	20,00 15,00–25,00	77,50 63,75–85,00	285,00 250,00–300,00
Control pathology (model of cryotrauma), n=6	37,50* 35,00–41,25	30,00* 28,75–42,50	50,00* 40,00–57,50	175,00* 137,00–212,50
Model of cryotrauma + Chondroitin sulfate, n=6	66,50 \diamond 64,75–73,50	22,50 \diamond 17,25–26,25	75,00 \diamond 62,50–76,25	300,00 \diamond 235,00–350,00
Model of cryotrauma + Tribestan, n=6	52,50 \diamond 48,75–61,25	22,50 \diamond 18,75–26,25	62,50 53,75–75,00	250,00 \diamond 197,50–312,50
Model of cryotrauma + Chondroitin sulfate + Tribestan, n=6	62,50 \diamond 38,75–66,25	20,00 \diamond 20,00–26,50	72,50 \diamond 63,75–75,00	275,00 200,00–300,00
Model of cryotrauma + « Prostaplan forte», n=6	65,00 \diamond 53,75–67,50	25,00 18,75–30,00	70,00 \diamond 65,00–71,25	195,00 176,25–225,00
Model of cryotrauma + «Bioglobulin-U», n=6	57,50 \diamond 45,00–65,00	17,50 \diamond 15,00–25,00	65,00 \diamond 62,50–71,25	267,50 180,00–350,00

notes: * - Probably Wilcoxon versus intact control ($p < 0.05$);

\diamond - significantly higher than Wilcoxon versus positive control ($p < 0.05$)

peroxidation processes suggests the importance of the development of oxidative stress as a pathogenetic factor of various inflammatory processes in the prostate gland. Many clinical and experimental studies have shown a strong correlation between oxidative stress and inflammation. Activation of lipid peroxidation processes during the prostate inflammation (namely in case of cryodestruction of the prostate) leads to a depletion of the power of the antioxidant system, which reduces its regulatory capacity for lipoperoxidation and increases tissue alteration [11,12]. The introduction of the studied drugs helped to reduce the intensity of lipid peroxidation and restore the functional state of the testes. When using the studied drugs in the prostate tissue, the content of the primary and secondary products of LPO was reduced. Assessment of the expressiveness of the obtained changes showed that among all the studied drugs using Chondroitin sulfate most strongly inhibited the accumulation of lipid peroxidation products. By the expressiveness of the action, the studied drugs were not inferior to the comparison drug Prostapant forte and even prevailed. It should be noted that it is with the use of Chondroitin sulfate during cryotrauma the average content of recovered glutathione did not differ from that of intact animals, and predominated the comparison drug Prostapant forte despite almost identical expressive ability to reduce in the prostate homogenate the content of both primary and secondary peroxidation products. The decrease in the intensity of lipid peroxidation in the prostate homogenates contributed to the reduction of inflammation and had a positive effect on the morphofunctional parameters of sperm, that is, with the help of studied drugs the number of sperm and the percentage of motile sperm increased, together with the duration of sperm motility. The results of our experiment indicated a decrease in the free radical oxidation of the lipids in the biological membranes of the prostate cells with the introduction of Chondroitin sulfate during cryotrauma. Chondroitin sulfate is a high molecular mucopolysaccharide-glycosaminoglycan, which is involved in the synthesis of proteoglycans in the connective tissue, which also helps to increase the resistance of the prostate biomembranes to peroxidation. In addition, the important role of glycosaminoglycans in regulating the functioning of the testes was proved [13].

Having analyzed the obtained data, we can assume that when using Chondroitin sulfate during cryotrauma, the content of the studied parameters is restored to a physiological level. As a result of the reduction of inflammation and the lipoperoxidation processes, the condition of the sperm in animals improved. Thus, we observed the prostatoprotective properties of Chondroitin sulfate on the model of Wartner-induced prostatitis. The obtained effect on the functional state of sperm is realized due to its normalizing effect on the lipoperoxidation processes.

Conclusions. 1. The prostate cryotrauma caused by the drug Wartner® is characterized by intensification of lipid peroxidation processes and a decrease in antioxidant defense processes, which negatively affect the functional state of sperm.

2. All the studied drugs had normalizing effect on the processes of lipoperoxidation and the functional state of sperm during experimental prostatitis in rats in conditions of prostate cryotrauma.

3. Studies of the products of the LPO / AOP system in prostate homogenates and rat sperm indices showed the most pronounced positive effect of Chondroitin sulfate application on the background of prostate cryotrauma.

REFERENCES

1. Горпинченко І.І., Романюк М.Г. Чоловіче безпліддя: етіологія, патогенез, діагностика та сучасні методи лікування // Здоров'є чоловіка. 2016; 1(56). 8–17.
2. Горпинченко І.І., Гурженко Ю.М., Імшинецька Л.П. Про-

ект клінічного протоколу надання медичної допомоги хворим з чоловічим фактором безпліддя подружньої пари // Здоров'є чоловіка. 2014; 4. 137–149.

3. Fafula R.V., Onufrovych O.K., Iefremova U.P., et al. Prooxidant/antioxidant balance in sperm cells of infertile men // Світ медицини та біології. 2018; 4(66). 120–124.

4. Евдокимов В.В., Жуков О.Б., Кастрюкин Ю.В., Байжуманов А.А., Туровецкий В.Б., Пирутин С.К. Оксидативний стресс и патозооспермии // Андрология и генитальная хирургия. 2017; 2. 27–32.

5. Darbandi M., Darbandi S., Agarwal A. Reactive oxygen species and male reproductive hormones // Reproductive Biology and Endocrinology. 2018; 16(1). 87.

6. Колесникова Л.И., Курашова Н.А., Долгих М.И. Особенности процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у практически здоровых мужчин // Вестник российской военно-медицинской академии. 2012; 3(39). 134–137.

7. Добреля Н.В., Бойцова Л.В., Данова І.В. Правова база для проведення етичної експертизи доклінічних досліджень лікарських засобів з використанням лабораторних тварин // Фармакологія і лікарська токсикологія. 2015; 2(43). 95–100.

8. Андріянєнков О.В., Зайченко Г.В., Журавель І.А., Таргинська Г.С. Вивчення простатопротекторної дії Талабану польового на моделі кріотравми передміхурової залози у шурів-самців // Фармакологія та лікарська токсикологія. 2012; 2(27). 3–7.

9. Шатохина И.С., Кузнецова В.С. Исследование эякулята: учебное пособие. М. 2014. 20.

10. Влізлю В.В., Федорук Р.С., Ратич І.Б. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині. Львів, СПОЛОМ, 2012. 764.

11. Agarwal A.L., Tvrda E., Sharma R. Relationship amongst teratozoospermia, seminal oxidative stress and male infertility // Reproductive Biology and Endocrinology. 2014; 12. 1–8.

12. Hajjhorbani M., Ahmadi-Hamedani M., Shahab E., Hayati F., Kafshdoozan K., Keramati K., Amini A.H. Evaluation of the protective effect of pentoxifylline on carrageenan-induced chronic non-bacterial prostatitis in rats // Inflammopharmacology. 2017; 25(3). 343–350.

13. Kershaw-Young C.M., Evans G., Maxwell W.M. Glycosaminoglycans in the accessory sex glands, testes and seminal plasma of alpaca and ram // Reproduction, Fertility and Development. 2012; 24(2). 362–369.

SUMMARY

THE STATE OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN PROSTATE GLAND OF RATS WITH CRYOTRAUMA AND ITS CORRECTION WITH DRUGS OF NATURAL ORIGIN

¹Brechka N., ¹Bondarenko V., ²Morozenko D., ³Grushanska N., ⁴Sharandak P., ¹Selukova N., ⁵Danylchenko S.

¹State Institution "Institute for Endocrine Pathology Problems named after V.Ya. Danilevsky of the National Academy of Medical Science of Ukraine"; ²National University of Pharmacy, Kharkiv; ³National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv; ⁴Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine, Kyiv; ⁵Mohyla Black Sea National University, Mykolaiv, Ukraine

The article deals with evaluation of the prooxidant-antioxidant balance in the prostate gland of rats with prostate cryotrauma caused with the help of Wartner® on the basis of biochemical

studies results. The restored glutathione, lipid hydroperoxides, diene conjugates, TBA products were investigated in the prostate homogenate, together with the state of sperm according to the following characteristics: quantity, pathological forms, motility and time of its preservation. Correction was performed using the following drugs: Chondroitin sulfate, Tribestan, Chondroitin sulfate in combination with Tribestan, Prostoplast forte and Biogloblin-U. The obtained results showed that the prostate cryotrauma in rats caused by Wartner® was characterized by intensification of lipid peroxidation processes and reduced antioxidant protection, which negatively affected the sperm. All the studied drugs had a normalizing effect on the processes of liperoxidation and the state of sperm. However, the most pronounced positive effect was obtained when using Chondroitin sulfate during prostate cryotrauma in rats.

Keywords: cryotrauma, prostate, rats, Wartner, prooxidant-antioxidant system, lipid peroxidation, sperm, Chondroitin sulfate.

РЕЗЮМЕ

СОСТОЯНИЕ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА В ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЕ КРЫС ПРИ КРИОТРАВМЕ И ЕЕ КОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТАМИ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

¹Бречка Н.М., ¹Бондаренко В.А., ²Морозенко Д.В.,
³Грушанская Н.Г., ⁴Шарандак П.В.,¹Селюкова Н.Ю.,
⁵Данильченко С.И.

¹Государственное учреждение «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского НАМН Украины», Харьков; ²Национальный фармацевтический университет, Харьков; ³Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев; ⁴Министерство аграрной политики и продовольствия Украины, Киев; ⁵Черноморский национальный университет им. Петра Могилы, Николаев, Украина

На основе результатов биохимических исследований проведена оценка прооксидантно-антиоксидантного баланса в предстательной железе крыс и состояния спермиев на фоне криотравмы, вызванной посредством препарата Вартнер®. В гомогенате простаты исследованы показатели восстановленного глутатиона, гидроперекиси липидов, диеновых ко-ньюгатов, ТБК-продуктов, а также состояние спермиев по следующим характеристикам: количество, патологические формы, подвижность и время ее сохранения. Коррекцию проводили препаратами Хондритина сульфат, Трибестан, Хондритина сульфат в комплексе с Трибестаном, Простаплант-Форте и Биоглобин-У. Установлено, что криотравма предстательной железы у крыс, вызванная препаратом Вартнер®, характеризуется интенсификацией процессов пере-

кисного окисления липидов и снижением антиоксидантной защиты, что негативно влияет на спермии. Все исследованные препараты имели нормализующее влияние на процессы липероксидации и состояние спермиев, однако наиболее выраженный позитивный эффект получен при применении Хондритина сульфата при криотравме предстательной железы у крыс.

რეზიუმე

პროოქსიდაციურ-ანტიოქსიდაციური ბალანსის მდგომარეობა ვირთაგვების წინამდებარე ჯირკვალში კრიოტრავმისა და მისი კორექციის დროს ბუნებრივი წარმოშობის პრეპარატებით

¹ნ.ბრეჩკა, ¹ვ.ბონდარენკო, ²დ.მოროზენკო, ³ნ.გრუშანსკაია, ⁴პ.შარანდაკი, ⁵ნ.სელიუკოვა, ³ს.დანილჩენკო

¹ვ.დანილჩენკოს სახ. ენდოკრინული პათოლოგიის პრობლემების ინსტიტუტი, ხარკოვი; ²ხარკოვის ეროვნული ფარმაცევტული უნივერსიტეტი; ³ბიორესურსების და ბუნებათსარგებლობის ეროვნული უნივერსიტეტი, კიევი; ⁴უკრაინის აგრარული პოლიტიკისა და სურსათის სამინისტრო, კიევი; ⁵შავი ზღვის პეტრე მოგილას სახ. ეროვნული უნივერსიტეტი, ნიკოლაევი, უკრაინა

სტატიაში ბიოქიმიური კვლევების საფუძველზე შეფასებულია პროოქსიდაციურ-ანტიოქსიდაციური ბალანსი ვირთაგვების წინამდებარე ჯირკვალში და სპერმიების მდგომარეობა პრეპარატ ვარტნერის® გამოყენებით გამოწვეული კრიოტრავმის ფონზე. პროსტატის პომოგენატში გამოკვლეულია აღდგენილი გლუტათიონი, ლიპიდების ჰიდროპეროქსიდაციის დიენური კონიუგატები, ასევე, სპერმიების მდგომარეობა შემდეგი მახასიათებლებით: რაოდენობა, პათოლოგიური ფორმები, მოძრაობის უნარი და შენარჩუნების დრო. კორექცია ტარდებოდა შემდეგი პრეპარატებით: ქონდროიტინ სულფატი, ტრიბესტანი, ქონდროიტინ სულფატი ტრიბესტანთან კომპლექსში, პროსტაპლანტ-ფორტე და ბიოგლობინ-უ.

დადგენილია, რომ პრეპარატ ვარტნერით® გამოწვეული წინამდებარე ჯირკვლის კრიოტრავმა ვირთაგვებში ხასიათდება ლიპიდების ჰეჟანგური ჟანგვის პროცესების ინტენსივობის ზრდით და ანტიოქსიდაციური დაცვის დაქვეითებით, რაც ნეგატიურად აისახება სპერმიებზე. ყველა გამოკვლეული პრეპარატი ახდენდა მანორმალურ გავლენას ლიპეროქსიდაციის პროცესებსა და სპერმიებზე, თუმცა, წინამდებარე ჯირკვლის კრიოტრავმისას ვირთაგვებში ყველაზე გამოსატყუელი დადებითი ეფექტი მიღებულია ქონდროიტინ სულფატის გამოყენებისას.

CHANGES OF CYTOLYSIS INDICATORS IN RATS' BLOOD RESULTED FROM SIMULTANEOUS INTOXICATION WITH TOBACCO SMOKE AND SODIUM NITRITE AFTER USING MILDRONATE

Lykhatskyi P., Fira L., Garlitska N., Fira D., Soroka Yu., Lisnychuk N., Delibashvili D.

Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ukraine; Tbilisi State Medical University, Georgia

Public health is formed under the influence of many factors, the determining of which is the lifestyle. Manifestations of unhealthy lifestyles in the twenty-first century become the main cause of negative changes in health, various diseases development. World Health Organization (WHO) experts and leading scientists have highlighted the global epidemic of smoking, which is becoming increasingly widespread every year, prepossessing population in increasing numbers, resulting in significant medical and social losses and economic damage [4].

Scientific studies have shown that there is no safe level of inhalation of tobacco smoke. Research has shown that 25% of harmful substances of tobacco smoke comes to the smoker's lungs, 5% remains in the cigarette, but 20% burns and 50% of toxic substances enter the air. The tobacco smoke was established to be more aggressive during passive smoking than active. In the body of a passive smoker, being in the room contaminated with tobacco smoke, the amount of carbon monoxide is doubled in an hour and a large amount of resin precipitate in the lungs. The nicotine concentration in the blood increases in 8 times for 1.5 hours [12,22,23].

The studies have shown that tobacco smoke contains a significant amount of free radicals, which inhaled into the respiratory tract, violate the balance in the system of oxidants/antioxidants. The manifestation of toxicity of free radicals leads to structural and metabolic disorders in cells with subsequent necrosis [15, 17,18].

In everyday life, a human come under the influence of several noxious agents, which leads to general intoxication. Pollution of the environment by chemical compounds has led to the occurrence of unknown chronic diseases and pathological conditions. Induced environmental pathology most often develops under the influence of specific noxious chemical pollutants - salts of heavy metals, pesticides, polyethers, detergents, and others. A significant environmental and medical-biological problem is the combined effect of inorganic nitro compounds on the human body and animals, accompanied by nitron-nitrite intoxication cases. Admission to the body of nitrates and nitrites leads to the formation of an excessive amount of nitrogen oxide, which is able to initiate chain free radical reactions [6,16].

Under the influence of several toxic factors on the body, oxidative stress develops and a significant amount of toxic products is formed, and as a consequence, cell cytology and change of membrane structures permeability [1,5].

The work purpose is to investigate the changes in the marker enzymes activity in cytolysis in rats' blood of different ages as a result of simultaneous intoxication with tobacco smoke and sodium nitrite and to correct the detected violations with the antihypoxic drug mildronate.

Material and methods. White non-breeding male rats were used in experiments, which were kept on a standard vivarium diet in the Ternopil State Medical University. Rats were divided into three age groups: immature, mature, and senile. Each age group consisted of two subgroups - intact control and experimental group. Experimental groups were exposed to tobacco smoke for 45 days. Trial rats were divided into 3 groups. The first group was given sodium nitrite (45 mg/kg) 24 hours prior to

the end of the experiment, the second group was injected sodium nitrite 72 hours before euthanasia. The third group of rats was exposed only to tobacco smoke. Two other groups, being affected with both drugs, were administered intragastrically with Mildronate (manufacturer "Grindex" Latvia) at a dose of 120 mg/kg for 30 days (from the 15th day of tobacco smoke intoxication and o.d.until the end of the experiment). A sealed chamber of the 30-liter volume was used to create a model of the chronic dependence on tobacco smoke for unrestrained rats. Tobacco smoke of 6 cigarettes "Prima silver (blue)" (containing 0.6 mg of nicotine and 8 mg of resin) was fed into the chamber through the holes. The chamber simultaneously contained 6 animals for 6 minutes. Control animals were kept for 6 minutes in a sealed chamber as well but were not exposed to tobacco smoke.

45 days after tobacco smoke affect the animals were removed from the experiment by euthanasia under thiopental anesthesia.

The blood and serum of blood of affected animals were taken for examination. The erythrocytic index of intoxication (EII) [10] was determined in the blood, while the aminotransferases activity [13], lactate dehydrogenase [7] and gamma-glutamyl-transpeptidase [7] - in the serum.

The organs were fixed in a 10% formalin solution, dehydrated in high-proof alcohol, and poured into celloidin-paraffin according to the established procedure for histodiagnosis [2].

The sections were stained with hematoxylin and eosin. The microscopic examination was carried out under the Micros 400 microscope. Microphotography of microimages was performed using a digital camera Nikon Coolpix-4500.

The Core Principles for the Care and Use of Animals in Research adopted at the National Congress on Bioethics (Kyiv, Ukraine, 2001) and reconciled with the provisions of The European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes [11] were used during testing. Statistical analysis was carried out in the SPSS-22 software package. The distribution of data is analyzed according to the Kolmogorov-Smirnov normality test. As the obtained values had a nonparametric distribution, the difference between the groups was analyzed according to the Student's t-test and The Wilcoxon signed-rank test. The χ^2 test was used to evaluate the difference between categorical data. The difference in probability values was $p \geq 0.95$ (significance level P). Differences were deemed significant at $P \leq 0.05$ [21].

Results and their discussion. The normal organs functioning depends on the cytoplasmic cell membranes state, the change in the structure and function of which violates their barrier ability [3,8,9] and is the cause of the pathological processes occurrence.

For the assessment functional state of the erythrocytes cytoplasmic membranes, it is critical to determine its permeability, since its high level indicates the degradation of the glycerophospholipids of the membrane biliary layer. Consequently it leads to elasticity reduction, an increase in osmotic fragility and fragmentation of the membrane itself. This results in the functional disorder of the cell membrane permeability to various substances [5].

Taking into account that normocyte membranes are thought of as the prototype of plasma membranes of all cells of the organ-

ism, the increase of their permeability (EII growth) can be considered as indicative for organism cells, which is manifested by their cytolysis and release of organ and organ-specific enzymes from the cytoplasm [8].

We investigated EII in 45-day-smoked rats after sodium nitrite penetration into the body and after the mildronate metabolic drug administration (Table 1).

After 45 days of tobacco smoke involvement, EII in immature rats increased by 30%, in mature rats - by 28.5%, and in senile - by 51.9%. The injection of sodium nitrite affected by the smoke led to the greater EII increase in all age groups of animals. The maximum EII was reached at the end of the experiment (45 days of tobacco smoke involvement and 72 hours of sodium nitrite poisoning). Mature animals were the most resistant to both toxicants action (EII increased by 38%, while in the immature and senile rats - by 55.6% and 54.0% respectively).

The mildronate administration has a positive effect on this indicator, statistically ($p \leq 0,05$) decreasing it in all groups of animals during the experiment.

The most effective degree of cell membranes lesion is reflected by the ratio of intracellular enzymes activity both in and outside the cell since in the normal condition a small amount of intracellular enzymes is found in serum. The level of enzymes activity correlates with the damage degree and can be expressed by pathological enhancement of cell membrane permeability or even necrosis. Organ-specific or indicator enzymes that appear to be unique for a specific type of tissue deserve the greatest attention [14].

We investigated the aminotransferases activity in rats' blood serum after 45 days of tobacco smoke affection (Table 2).

The most significant findings in ALT activity (an increase in 6.7 times) were observed in immature rats' blood serum after 45 days of tobacco smoke affection. The highest AST activity in this period reached in the mature and senile rats and exceeded the norm in 5.8 and 5.5 times, respectively.

Increasing blood serum activity of such enzymes as ALT and AST indicates a violation of the integrity of hepatocytes and is a reliable indicator of acute liver damage. However, the activity of

Table 1. Erythrocyte index of intoxication (%) in rats' blood of different ages as a result of simultaneous intoxication with sodium nitrite and tobacco smoke and after using mildronate ($M \pm m$; $n=108$)

Period of a study, day/hour	Groups of experimental animals		
	immature rats	mature rats	senile rats
Intact rats, n=18	20,83±3,09	17,29±2,29	32,91±2,36
45 day TS, n=18	50,83±1,70*	45,83±0,95*	84,79±1,31*
45 day TS+24 hour N, n=18	66,67±2,08*	52,16±0,70*	86,24±0,70*
45 day TS+24 hour SN+mildronate, n=18	41,67±3,07**	44,58±1,90**	43,42±1,78**
45 day TS+72 hour SN, n=18	76,46±2,38*	55,27±2,41*	87,05±3,55*
45 day TS+72 hour SN+mildronate, n=18	45,83±4,06**	39,67±2,03**	40,92±2,22**

note: * - probable changes in intact animals and animals affected with toxicants;
** - probable changes in affected animals and animals under the influence of correction

Table 2. The aminotransferases activity ($\mu\text{mol/L}$) in blood serum of rats of all ages as a result of simultaneous intoxication with sodium nitrite and tobacco smoke and after using mildronate ($M \pm m$; $n=108$)

Period of a study, day/hour	Groups of experimental animals		
	immature rats	mature rats	senile rats
	Alanine transaminase		
Intact rats, n=18	0,56±0,02	1,10±0,11	1,45±0,12
45 day of TS, n=18	3,76±0,29*	4,05±0,24*	3,96±0,28*
45day TS+24 hour SN, n=18	5,62±0,52*	4,34±0,29*	5,51±0,56*
45dayTS+24 hour SN+mildronate, n=18	3,89±0,21**	3,28±0,25**	4,12±0,31
45 day TS+72hour SN, n=18	4,32±0,45*	5,97±0,43*	7,67±0,53*
45 dayTS+72hour SN+mildronate, n=18	1,62±0,20**	1,22±0,09**	1,83±0,15**
	Aspartate transaminase		
Intact rats, n=18	0,93±0,08	0,63±0,03	0,66±0,05
45 day TS, n=18	3,40±0,13*	3,67±0,09*	3,67±0,24*
45day TS+24 hour SN, n=18	4,41±0,19*	4,19±0,18*	5,16±0,21*
45day TS+hour SN+mildronate, n=18	2,41±0,1**	1,41±0,06**	1,26±0,09**
45 day TS+72hour SN, n=18	4,64±0,21*	4,32±0,18*	5,41±0,208
45 dayTS+72hour SN+mildronate, n=18	2,37±0,10**	1,12±0,05**	1,07±0,08**

note: * - probable changes in intact animals and animals affected with toxicants;
** - probable changes in affected animals and animals under the influence of correction

both enzymes may increase in pathologies of other organs: the heart, muscle tissue, and lung [14,19]. The intoxication of rats with sodium nitrite and tobacco smoke has led to an increased ALT activity in blood serum (marker enzyme of the liver) in all age groups (Table 2).

By the end of the experiment, the activity of ALT in the blood serum of immature rats increased by 7.7 times relative to the intact control level, and in the other two age groups, it was 5.3-5.4 times higher.

Mildronate has shown an effective impact on this indicator. After mildronate administration in the affected organism, the ALT activity in serum was likely ($p \leq 0.05$) decreased in all age groups.

The research results showed that immature and senile animals are the most susceptible to toxicants, as the cytolytic syndrome manifested significantly, confirmed by erythrocytic membranes permeability increase, in particular, the increase in EII, as well as increase of aminotransferases in blood serum.

To confirm the development of the cytolytic syndrome in the affected organism, it was expedient to investigate the activity of another organ-specific enzyme - LDH - in the serum of rats after sodium nitrite poisoning on the background of tobacco intoxication and the mildronate use.

Lactate dehydrogenase - an enzyme of glycolysis, which participates in the initial stages of energy formation, catalyzes the reaction of the pyruvate interconversion into lactate, accompanied by a change in NADH and NAD⁺. Catalyzes the reversible oxidation reaction of L-lactate in pyruvate. If pyruvate is a key position in carbohydrate metabolism, then the lactate role is insignificant and it serves as a temporary acceptor of electrons or an oxidizing agent in conditions of insufficient supply of tissues with oxygen. Hence, the important function of LDH is not the restoration of pyruvate or oxidation of lactate, but the regulation of the ratio of NAD⁺ and NADH, since it particularly influences the rate of many catalytic reactions [24].

LDH activity was likely to increase in serum of rats in all age groups affected by tobacco smoke (Fig. 1).

LDH activity was significantly reduced ($r \leq 0.05$) in blood serum of all age groups when administrated mildronate for 30 days.

In the term of 45 days of tobacco smoke intoxication and 72 hours after the sodium nitrite intake, the enzyme activity in this group of animals was 1.8 times higher than the norm, in the immature and senile it was 1.7 times higher the level of the control group rats.

Increasing activity of LDH in serum in case of intoxication with sodium nitrite and tobacco smoke indicates activation of anaerobic glycolysis, which is observed when the aerobic glycolysis is violated. During the hypoxia, as is characteristic of the

pathology under study, most biochemical reactions follow the anaerobic type of metabolism, which leads to LDH increased activity in serum [20].

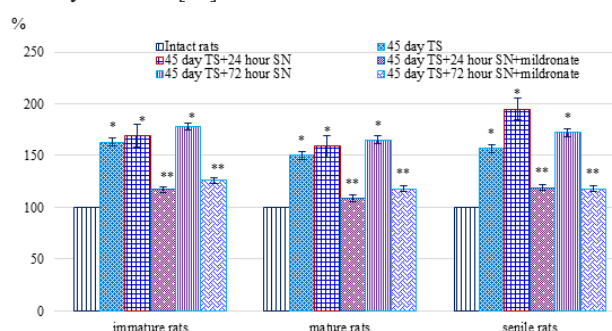


Fig.1 Lactate dehydrogenase activity in blood serum of rats of different age groups affected by tobacco smoke and sodium nitrite after mildronate use, %

note: * - probable changes in intact animals and animals affected with toxicants;

** - probable changes in affected animals and animals under the influence of correction

Gamma-glutamyltranspeptidase is a liver-specific enzyme and is a sensitive indicator of its condition. We determined the GGTP activity increase in blood serum of rats affected by tobacco smoke and both toxicants simultaneously (Table 3).

While investigating HHTP activity, an enzyme important in detoxification, leukotriene synthesis and amino acids transport in the serum of rats affected by tobacco smoke, its increase was noted in immature rats by 90% after 45 days of poisoning. As a result of both toxicants application, the activity of the enzyme by the end of the experiment was the most significant in blood serum of the immature rats and exceeded the norm by 4.1 times.

The mildronate use has led to a marked decrease in enzyme activity. Obviously, in the presence of rats lesion by sodium nitrite on the background of tobacco intoxication hepatocyte and nephrocyte cytolysis occurs massively as a result of free radical processes activation, which may be one of the reasons of HHTP increased activity in serum.

Our results of the LDH, AST, ALT, and HHTP study suggest that under these poisoning conditions the cytolysis of plasma cell membranes and their permeability changing develops, which leads to the overall yield of intracellular components in blood. The permeability increase of the erythrocytic membrane due to the systemic action of toxicants indicate this as well. Cytolytic syndrome in immature and senile rats had more pronounced na-

Table 3. The gamma-glutamyltranspeptidase activity ($\mu\text{Cat/L}$) in blood serum of rats of different ages as a result of simultaneous intoxication with sodium nitrite and tobacco smoke and after mildronate use ($M \pm m$; $n=108$)

Period of a study, day/hour	Groups of experimental animals		
	immature rats	mature rats	senile rats
Intact rats, n=18	0,65±0,06	0,80±0,06	0,79±0,06
45 day TS, n=18	1,24±0,11*	1,08±0,08*	1,29±0,08*
45 day TS+24 hour SN, n=18	2,43±0,23*	1,21±0,09*	1,64±0,09*
45 day TS+24 hour SN+mildronate, n=18	1,78±0,11	0,89±0,07	1,15±0,07**
45 day TS+72 hour SN, n=18	2,67±0,23*	1,24±0,11*	1,84±0,07*
45 day TS+72 hour SN+mildronate, n=18	1,65±0,15**	0,87±0,07**	1,26±0,11**

note: * - probable changes in intact animals and animals affected with toxicants;
** - probable changes in affected animals and animals under the influence of correction

ture. It was noted that mildronate, when administrated with antihypoxant ($p \leq 0.05$) decreased the activity of indicator enzymes in blood serum throughout the experiment.

To confirm the results, we performed morphological studies of rats of different age groups affected by sodium nitrite and tobacco smoke and after using metabolic drug mildronate.

It has been established that structural reorganization of the animals 'lungs, liver, heart of all ages affected with toxicants

is characterized by the bloodstream changes, the main morphological components (acini, hepatocytes particles, nephrons, and myocardial muscle fibers). The greatest changes occur in the lungs of senile and immature animals (Fig. 2, 3).

Histological examination of the liver of rats of different age groups affected by tobacco smoke and sodium nitrite found that blood flow vasculature increased, especially in the venous department.

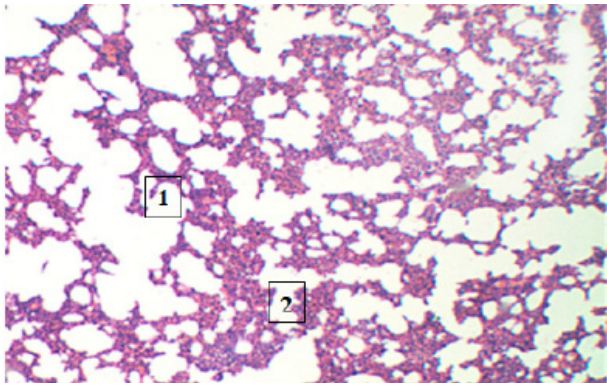


Fig. 2. Microscopic changes in the lungs of immature animal under conditions of simultaneous poisoning by tobacco smoke and sodium nitrite. Respiratory unit (1), alveoli (2) in the alveolar sac, interalveolar membrane (3). Coloring with hematoxylin and eosin. $\times 100$

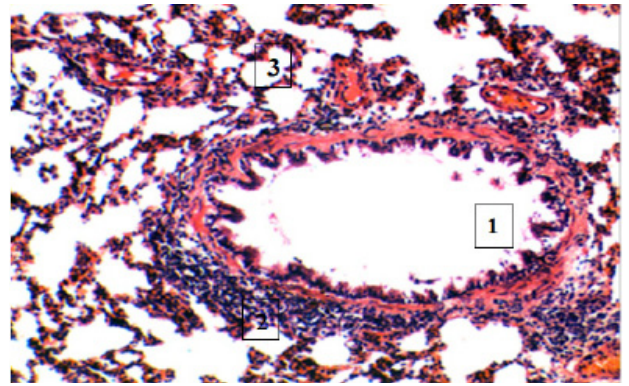


Fig. 3. Microscopic changes in the lungs of senile animal under conditions of simultaneous poisoning by tobacco smoke and sodium nitrite. Respiratory unit (1), alveoli (2) in the alveolar sac, interalveolar membrane (3). Coloring with hematoxylin and eosin. $\times 100$

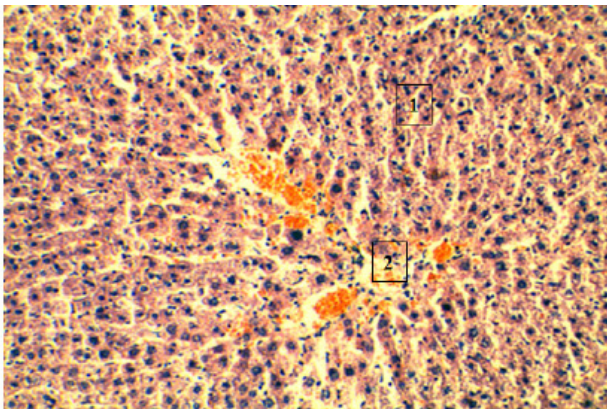


Fig. 4. Microscopic changes in the liver of the immature animal under conditions of simultaneous poisoning by tobacco smoke and sodium nitrite. Hepatocytes in the liver lobules (1), central vein (2). Coloring with hematoxylin and eosin. $\times 100$

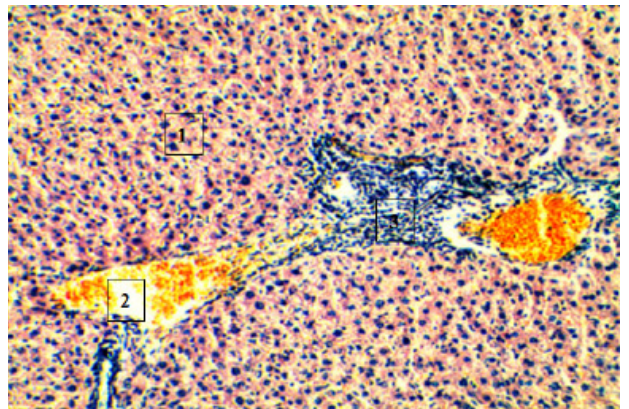


Fig. 5. Microscopic changes in the liver of the senile animal under conditions of simultaneous poisoning by tobacco smoke and sodium nitrite. Hepatocytes in the liver lobules (1), central vein (2). Coloring with hematoxylin and eosin. $\times 100$

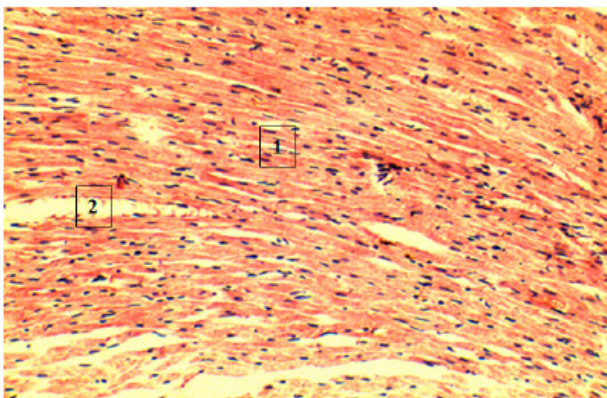


Fig. 6. Microscopic changes in the heart of immature animal under conditions of simultaneous poisoning by tobacco smoke and sodium nitrite. Cardiomyocytes (1) in the muscle fibers of the myocardium, hemocapillary (2). Coloring with hematoxylin and eosin. $\times 100$

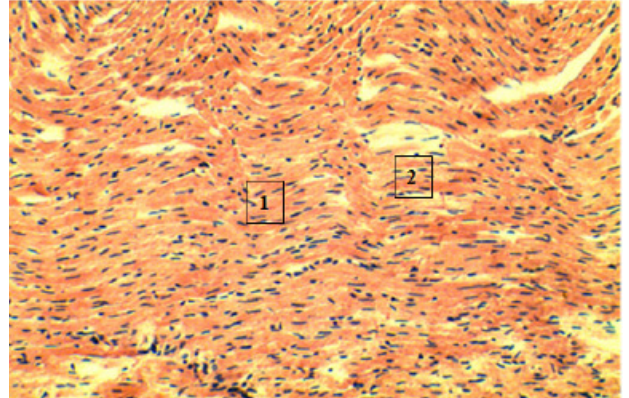


Fig. 7. Microscopic changes in the heart of senile animal under conditions of simultaneous poisoning by tobacco smoke and sodium nitrite. Cardiomyocytes (1) in the muscle fibers of the myocardium, hemocapillary (2). Coloring with hematoxylin and eosin. $\times 100$

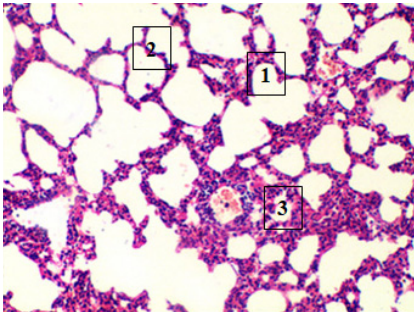


Fig.8 Microscopic changes in the lungs of the immature animal under condition of simultaneous poisoning by tobacco smoke and sodium nitrite and after mildronate application. Alveola (1), interalveolar membrane (2), infiltrate (3). Coloring with hematoxylin and eosin. $\times 200$

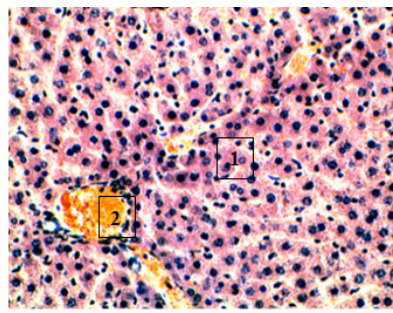


Fig.9. Microscopic changes in the liver of the immature animal under condition of simultaneous poisoning by tobacco smoke and sodium nitrite and after mildronate application. Hepatocytes in the liver lobules (1), central vein (2). Coloring with hematoxylin and eosin. $\times 200$

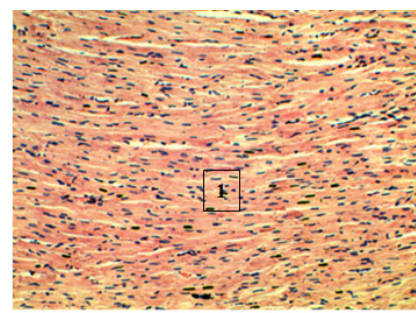


Fig. 10. Microscopic changes in the heart of the mature animal under condition of simultaneous poisoning by tobacco smoke and sodium nitrite and after mildronate application. Cardiomyocytes (1) in the muscle fibers of the myocardium. Coloring with hematoxylin and eosin. $\times 100$

The lobules structure is worsened; some of the hepatocytes have basophilic, pyknotic modified nuclei, the cleared cytoplasm mainly of cells of the peripheral regions (Fig. 4). In the senile animals' liver, the area of connective tissue increases in areas of the triads, it is saturated with white blood cells (Fig. 5).

Microscopic examination of the heart under conditions of simultaneous action of tobacco smoke and sodium nitrite has shown that in the group of immature animals the general structure of the myocardium organization is preserved. Uneven eosinophilia of cardiomyocytes in muscle fibers is observed, which reflects the contraction of myofibrils - contractile structures. There is an expansion of the lumen and blood flow vasculature of the microvasculature. In some parts of the myocardium, fibroblasts are observed due to swelling of the stroma connective tissue (Fig. 6).

More distinct changes in the heart myocardium are found in senile animals. Characteristic swelling, dissection of muscle fibers, enlargement of the lumen and blood vessel filling and leukocyte infiltration of the connective tissue (Fig. 7).

The areas with thickened interalveolar membranes, blood-filled vessels of the microvasculature and moderate lymphoid infiltration still occur in the lungs of immature and senile animals after mildronate use (Fig. 8).

Microscopic examination of the liver of animals of different age groups after mildronate application in the affected rats has established its positive effect on this organ (Fig. 9).

Histological studies of the heart of rats of different age groups after the mildronate application found that in animals, especially the mature group, the myocardium structural components by structural organization are similar to the animals of the intact group. Muscle fibers have a uniform color, layers of connective tissue without signs of edema (Fig. 10).

Consequently, after the application of mildronate, structural changes in animal organs were less pronounced, especially in mature rats. Mildronate improved the state of the vascular system of organs, contributed to the normalization of the respiratory unit structure of the lungs, liver lobules, and myocardium muscle fibers.

Conclusions. It has been experimentally proved that simultaneous intoxication of rats of different age groups by sodium nitrite and tobacco smoke leads to the cytolytic processes activation in the animals' organism, which is indicated by the activity increase of organ-specific enzymes in serum and confirmed by morphological studies of animal organs. Antioxidant and anti-hypoxants mildronate shows pronounced membrane protective

effect on the cell membranes of rats under conditions of nitrite-tobacco intoxication, which is manifested by decreased activity of organ enzymes (alanine and aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase and gamma-glutamyltransferase) in serum and red blood cell membrane permeability percent reduction. Taking into account the obtained results, it is possible to propose including the metabolic drug mildronate, which exhibits membrane-protective properties through the expressed antioxidant effect, to the schemes of complex therapy for the treatment of nitrite-tobacco toxicosis.

REFERENCES

1. Баджиян СА. Влияние оксидативного стресса на организм человека. // Медицинская наука Армении НАН РА т. LVI. 2016; 2:12-20.
2. Горальский ЛП, Хомич ВТ, Кононський ОІ. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології. Навч. посібник за ред. ЛП. Горальського. Видання третє, виправлене і доповнене, Житомир: Полісся, 2015. 286 с.
3. Горбач ТВ, Юнусов ВЮ., Мартынова СН. Уровень интоксикации организма и эластичность сосудов новорожденных крысят-потомков крыс, подвергавшихся действию табачного дыма. // Буковин. мед. Весн. 2014; 4(72):20-24.
4. Грузева ОВ. Поширеність куріння серед студентів вищих медичних навчальних закладів України і світу. Здоров'я нації. 2010; 1(13):27-31.
5. Зин АР Прооксидантно-антоксидантний гомеостаз і мембранний транспорт у живих організмах. // Вісник Львівського університету. Серія біологія. 2012; 60:21-39.
6. Иргашев ТА., Каримов АИ. Влияние нитратов на организм человека и животных. Душанбе: Нодир; 2009. 58 с.
7. Камышников ВС. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С.Камышников. – 3-е изд. – М. : МЕДпресс – информ, 2009. – 896 с.
8. Луцкий МА. Свободнорадикальное окисление липидов и белков – универсальный процесс жизнедеятельности организма. // Успехи современ. естествознания. 2014; 126:24-28.
9. Олійник СА., Козеренко Л. Окисний стрес за гіпоксичних станів.// Вісник проблем біології та медицини. 2010; 1:15-21.
10. Тогайбаев АА., Кургузкин АВ., Рикун ИВ. Способ диагностики эндогенной интоксикации. // Лаб. дело. 1988; 9:22-24.

11. Gross D, Tolba RH. Ethics in Animal-Based Research. // Eur Surg Res. 2015; 1-2(55):43-57.
12. Halpern-Felsher BL, Rubinstein ML. Clear the air: adolescents' perceptions of the risks associated with secondhand smoke. // Prev Med. 2005; 1(41):16-22.
13. Huang XJ, Choi YK, Im HS, Yarimaga O, Yoon E, Kim HS. Aspartate Aminotransferase (AST/GOT) and Alanine Aminotransferase (ALT/GPT) // Detection Techniques. Sensors (Basel). 2006; 6(7): 756-782.
14. Imlay JA. The mismetallation of enzymes during oxidative stress. // J Biol Chem. 2014; 41(289):28121-8.
15. Ivanov I, Gluhcheva Y, Petrova E, Antonova N. Hemorheological changes and hematometric erythrocyte characteristics in rats after sodium nitrite intoxication. // Korea Australia Rheology Journal. 2014; 26(2):225-228.
16. Li H, Hemann C, Abdelghany TM, El-Mahdy MA, Zweier JL. Characterization of the mechanism and magnitude of cytoglobin-mediated nitrite reduction and nitric oxide generation under anaerobic conditions. // J. Biol. Chem. 2012; 287:36623-36633.
17. Liebsch M, Grune B, Seiler A, Butzke D, Oelgeschläger M, Pirow R, et.al. Alternatives to animal testing: current status and future perspectives. // Arch Toxicol. 2011; 85(8):841-858.
18. Lykhatskyi PH, Fira LS, Lisnychuk N.Ye, Kulitska MI. Effect of tobacco smoke on ros production and inflammation in rats of different age. // Georgian Medical News 2018;2(275):150-157.
19. Merritt TA, Mazela J, Adamczak A, Merritt T. The impact of second-hand tobacco smoke exposure on pregnancy outcomes, infant health, and the threat of third-hand smoke exposure to our environment and to our children. // Przegl Lek. 2012; 10(69):717-20.
20. Ning Y, Shang Y, Huang H, Zhang J, Dong Y, Xu W, Li Q. Attenuation of Cigarette Smoke-Induced Airway Mucus Production by Hydrogen-Rich Saline in Rats. // PLoS One. 2013; 8(12):e83429.
21. Okeh U. Statistical problems in medical research. // East Afr J Public Health. 2009; 1(6):1-7.
22. Song AV, Glantz SA, Halpern-Felsher BL. Perceptions of secondhand smoke risks predict future adolescent smoking initiation. // J. Adolesc Health. 2009; 6(45): 618-625.
23. South-Eastern Europe Health Network. Reversing the Tobacco Epidemic. Saving lives in south-eastern Europe. WHO. 2008. 90.
24. Stangherlin EC, Luchese C, Ardais AP, Nogueira CW. Passive smoke exposure induces oxidative damage in brains of rat pups: Protective role of diphenyl diselenide. // Inhal Toxicol. 2009; 21(10):868-874.

SUMMARY

CHANGES OF CYTOLYSIS INDICATORS IN RATS' BLOOD RESULTED FROM SIMULTANEOUS INTOXICATION WITH TOBACCO SMOKE AND SODIUM NITRITE AFTER USING MILDRONATE

Lykhatskyi P., Fira L., Garlitska N., Fira D., Soroka Yu., Lisnychuk N., Delibashvili D.

Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ukraine; Tbilisi State Medical University, Georgia

The article is devoted to an experimental study of the effect of tobacco smoke and the effect of sodium nitrite on the back-

ground of tobacco intoxication on the body of rats of different age groups and to identify violations caused by these toxicants. It has been established that under the conditions of nitrite-tobacco intoxication, a more pronounced cytolysis of the cells takes place, which leads to a change in the permeability of the plasma membranes than in case of poisoning with only tobacco smoke. Immature rats were the most sensitive to the action of toxicants, in which the activity of membrane-dependent enzymes was more statistically significant (ALT activity in the serum increased 7,7 times, AST – 5 times, GGTP – 4,1 times, LDH – 1,8 times; $p \leq 0.05$) at the end of the study. In the same group of rats, the highest percentage of permeability of the erythrocyte membrane was revealed, as indicated by its index (55,6% higher than normal, in mature animals 38% EII was higher than in intact control animals, in old ones – 54%). When using an antihypoxant, it was noted that mildronate significantly ($p \leq 0.05$) reduced the activity of indicator enzymes in the blood serum of rats during the whole experiment, and also led to a decrease in the erythrocyte index of intoxication in the blood of rats of all age groups. To confirm the obtained results, morphological studies of the organs of rats of different age groups were carried out after sodium was damaged by nitrite against the background of tobacco intoxication and the effect of the metabolic action of mildronate on them. The membrane-protective properties of mildronate have been proven, which makes it possible to use it in various pathologies accompanied by the development of cytolytic syndrome.

Keywords: tobacco smoke, sodium nitrite, cell membranes, cytolytic processes, antihypoxant mildronate.

РЕЗЮМЕ

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИТОЛИЗА В КРОВИ КРЫС ПРИ ОДНОВРЕМЕННОМ ОТРАВЛЕНИИ ТАБАЧНЫМ ДЫМОМ И НИТРИТОМ НАТРИЯ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ МИЛДРОНАТА

Лихацкий П.Г., Фира Л.С., Гарлитская Н.И., Фира Д.Б., Сорока Ю.В., Лисничук Н.Е., Делибашвили Д.Г.

Тернопольский национальный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского МЗО Украины; Тбилисский государственный медицинский университет, Грузия

Статья посвящена экспериментальному исследованию влияния табачного дыма и нитрита натрия на фоне табачной интоксикации на организм крыс разных возрастных групп и выявления нарушений, вызванных данными токсикантами. Установлено, что в условиях нитритно-табачной интоксикации проходит более выраженный цитоллиз клеток, что приводит к изменению проницаемости плазматических мембран, чем при отравлении только табачным дымом. Наиболее чувствительными к действию токсикантов оказались неполовозрелые крысы, у которых активность мембранозависимых энзимов была более статистически значимой (активность АЛТ в сыворотке крови повысилась в 7,7 раза, АСТ – в 5 раз, ГГТП – в 4,1 раза, ЛДГ – в 1,8 раза, $p \leq 0,05$) в конце исследования. В этой же группе крыс выявлен наибольший процент проницаемости эритроцитарной мембраны, на что указывает ее индекс (на 55,6% выше нормы, у половозрелых на 38% выше, чем у животных интактного контроля, у старых – на 54%). При применении антигипоксанта отмечено, что милдронат достоверно ($p \leq 0,05$) снижа-

ет активность индикаторных энзимов в сыворотке крови крыс в течение всего эксперимента, а также приводит к снижению эритроцитарного индекса интоксикации в крови крыс всех возрастных групп. Для подтверждения полученных результатов проведены морфологические исследования органов крыс разных возрастных групп после поражения

нитритом натрия на фоне табачной интоксикации и воздействия на них препарата метаболитического действия милдроната. Доказаны мембранопротекторные свойства милдроната, что делает возможным его применение при различных патологиях, сопровождающихся развитием цитолитического синдрома.

რეზიუმე

მილდრონატის მოქმედების შემდეგ სისხლის ციტოლიზის მაჩვენებლის ცვლილებების თავისებურებები თამბაქოსა და ნატრიუმის ნიტრიტით მოწამვლის ფონზე ექსპერიმენტში

პ.ლისაძვი, ლ.ფირა, ნ.გარლიტსკაია, დ.ფირა, ი.საროკა, ნ.ლისინიუკი, დ.დელიბაშვილი,

ი.გორბანეცკის სახ. ტერნოპოლის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა;
თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, საქართველო

სტატია ეძღვნება ნატრიუმის ნიტრატის და თანბაქოს დამაზიანებელ მოქმედებას საექსპერიმენტო ვირთაგვების სხვადასხვა ასაკობრივ ჯგუფებში. დადგენილია, რომ ნიტრიტულ-თამბაქოსმიერი ინტოქსიკაციის ფონზე გაძლიერებული უჯრედების ციტოლიზი

განპირობებულია პლაზმური მემბრანის შეღწევადობის ცვლილებებით. ასევე დადგინდა ერთროციტული ინდექსის დაქვეითება. ექსპერიმენტის მიმდინარეობისას დადასტურდა მილდრონატის მემბრანოპროტექტორული მახასიათებლები ციტოლოგიური სინდრომის ფონზე.

THE ACOUSTIC RANGE ELECTRIC-MAGNETIC FIELD EFFECT ON THE PASSIVE AVOIDANCE TASK IN DEPRESSED RATS

¹Bukia N., ²Jojua N., ¹Butskhrikidze M., ¹Machavariani L., ³Svanidze M.

¹LEPL Ivane Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi; ²European University, Tbilisi;
³Iv. Javakhishvili Tbilisi State University, Tbilisi, Georgia

Nowadays, depression is one of the most common mental disorder and according to the WHO fact sheet, it affects 350 million people of all ages worldwide. Although it is possible to treat depression using pharmacological substances, about 30-40% of the patients are resistant to such treatment and so, their recovery is impossible. Besides, the long-term consumption of the drugs induces the reduction of cognitive function in the patients [4,8]. Therefore, the goal of modern psychiatric research is to find new ways for antidepressant therapy, which will allow curing this group of patients.

The electromagnetic stimulation (EMS) is a non-invasive treatment method, which is used as a complementary to the drug for the treatment of different neurodegenerative diseases. In 2008, repetitive TMS (transcranial magnetic stimulation), was approved by the FDA for the treatment of moderate treatment-resistant depression. Repetitive TMS is seen as safe without enduring side effects: no long-term neurological or cardiovascular side effects are reported [3,5].

Externally placed EMS causes induction of weak electric currents that lead to changes in neuronal polarization and activity. When EMS is delivered in a repetitive fashion, long-term alterations of cortical function are induced which can be used to study functional brain plasticity, and the changes in brain plasticity in different cognitive states, including impairment of cognition such as forgetfulness or confusion in depression condition. Depression can also make it difficult to focus on work or other

tasks, make decisions, or think clearly. Depression is associated with short-term memory loss [9].

Furthermore, repetitive EMS strategies have been developed as possible modulators of cognitive function, with potential to serve as cognitive enhancers in both healthy and disease states [6,7,9,12]. In this article, we decided to investigate correlates of emotional-motivated behavior and cognitive function in clomipramine-induced depressed rats on the background of EMS.

Material and methods. The experiments were conducted on mongrel, albino male rats, weighing 150-200 g (n=14). Proceeding from the goals set, the experimental group (depressed with medications) and the control group (non-depressed) of rats were involved in the experiments. An animal model of depression – the experimental group was injected with Clomipramine (25 mg/kg) subcutaneously from 8 to 21 days of neonatal development (I group). Control group – was injected with saline in the same period of development (II group). Electro-Magnetic stimulation—For EMS (carried for 10 consecutive days) the device with coil designed at Tbilisi Technical University, Georgia was used. The parameters of EMS (stimulus frequency, number and duration of stimuli,) which partially or fully inhibited behavior manifestation of depression, were established during pilot experiments. For repetitive EMS we used the following parameters: 10000 -15000 Hz frequency, 1,5 m/Tesla, for 15 min. Cognitive function – was study in Passive Avoidance Test. This paradigm requires the subjects to behave contrary to their in-

nate tendencies for the preference of dark areas and avoidance of bright ones. The chamber is divided into a lit compartment and a dark compartment, with a gate between the two. Animals were allowed to explore both compartments on the first day. On the following day, they were given a mild foot shock in dark compartment. Animals learned to associate certain properties of the chamber with the foot shock - aversive stimulus - 12 imp/min; 1.5mA. it was lead to the formation of an association of the dark compartment with the unconditioned stimulus. To test their learning and memory, the rats were then placed back in the compartment where no shock was delivered. Rats with normal learning and memory avoided entering the chamber where they had previously been exposed to the shock. This was measured by recording the latency to cross through the gate between the compartments. Also, it was measured by monitoring the number of entries into the dark component. Animals were tested (retention test) 1, 3, 5, 14 and 30 days after the learning test. Forced Swim Test (FST)- The test is quite sensitive to antidepressant treatment. In this task, the rats were individually placed in a vertical cylinder containing water (25°C) for a set length of time (15 min). 24 hours later, the rats were placed in the same cylinder and the time spent immobile, active swimming, struggling/climbing and spent under the water were measured during a 5 min. The Open Field Test. Against the background of repeated EMS the behavioral parameters of emotional motivated reactions were studied in the open field test. The open field appears to be a chamber with 80 cm diameter, surrounded by 30 cm height walls. The floor is divided into 32 squares and lighted with a 200 W lamp. The observation of the rats took place for 5 minutes at the same time of the day. The video registration of the following parameters took place during the experiment: entering the center, number of crossed squares, head raise, vertical stands, the frequency and duration of grooming, number of fecal boluses and urination. After each experiment, the experimental chamber was cleaned with a 30% ethanol solution. The obtained results were processed using an adequate statistical program. Data reliability was assessed using parametric and non-parametric techniques, with the use of one- and two way layout of factorial analysis.

Results and their discussion. EMS affected on behavior activity of depressed and non-treated control rats in FST.

The effects of the centrally-acting Clomipramine, on the psycho-emotional condition and subsequent learning and memory were examined. Clomipramine is on the World Health Organization's List of Essential Medicines, the most effective and safe medicines needed in a health system. Clomipramine is a tricyclic antidepressant. It is used for the treatment of obsessive-compulsive disorder, panic disorder, major depressive disorder, and chronic pain. It may decrease the risk of suicide in those over the age of 65. Its mechanism of action is not entirely clear but is believed to involve increased levels of serotonin.

The injection of Clomipramine subcutaneously from 8 to 21 days of neonatal development, caused the formation of an animal model of depression. The degree of depression was established – in the FST.

In FST on the background of clomipramine injection, the time of immobilization ($p<0.01$) was increased, the active swimming time ($p<0.05$), the time of the struggling ($p<0.05$) and the time spent under the water ($p<0.05$) were decreased. This fact indicates the development of depressive-like behavior (Fig. 1).

One-way ANOVA revealed that the EMS reduced immobility time in the FST ($p<0.01$) in the depressed rat. The EMS also increased struggling behavior ($p<0.05$) and swimming in the

FST ($p<0.05$). EMS had no effect on time spent under the water, but the data was far below the same data of the depressed rats. These findings suggest that acoustic range EMS decreases fear and anxiety degree and consequently, increases the escape activity in FST.

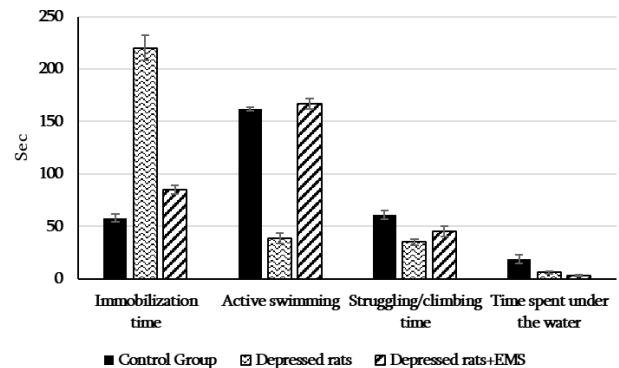


Fig. 1. Rats behavior activity in the FST. Black columns – a control group of inbred rats. Shaded columns (1)– an experimental group of white inbred rats after neonatal injection of clomipramine (Depressed Rats), (2) depressed rats after EMS

Thus, In the control, non-depressed rats, active strategies (climbing and swimming) were predominante. Depressed rats, in the inescapable aversive situation, selected passive strategies of coping. The EMS could increase the amount of active strategies in intact and depressed rats in the FST. The same effects have antidepressants. Thus, EMS (effectiveness in promoting active coping) in the FST had potential to predict its efficacy like the antidepressant

The effects of EMS on learning and retention of passive avoidance test in Depressed rats.

The Passive Avoidance task is useful for evaluating the effect of EMS on learning and memory as well as studying the mechanisms involved in cognition. During the conditioning phase, a dark compartment is associated with an inescapable foot shock. During the subsequent test (retention) phase, the animal can choose to avoid or enter the dark compartment. as an index of memory performance. The acquisition of passive avoidance was either measured as a significant increase of the step-through latency compared to the training latency or associated with reduced time spent in the dark compartment by the subjects.

On the background of EMS, in depressed rats, the latent period of entrance into the dark component decreased (from 180 to 120 sec) ($p<0.05$) compared to depressed unstimulated ones.

The EMS before the learning test of depressed rats did not affect the performance of the retention test 24 h, 3, 5 days later. So, one trial, one exposure to the inescapable shock, was sufficient to suppress the innate preference of rats for the dark compartment of the apparatus. The rapid acquisition of not making a response indicates that the test involved learned inhibition rather than loss of an innate response tendency.

The effects of EMS on passive avoidance retention tests were impaired only 14 days after the learning test. The entry latency in the dark compartment were 220 sec (14 days) and 150 sec (30 days) (Fig. 2a). Unstimulated depressed rats did not “make mistake”, they had remembered learning tests 1 month later. Both stimulated or non-stimulated control, non-treated rats attenuated the performance of passive avoidance on the 14 days after the learning test (Fig. 2b). The latency of entrance in the dark compartment was still higher on the 14 days in non-stimulated

control rats compared to EMS rats ($p < 0.05$). In the mentioned groups of rats, on the 30 days after the learning test, we did not watch differences between entry latency in the dark component.

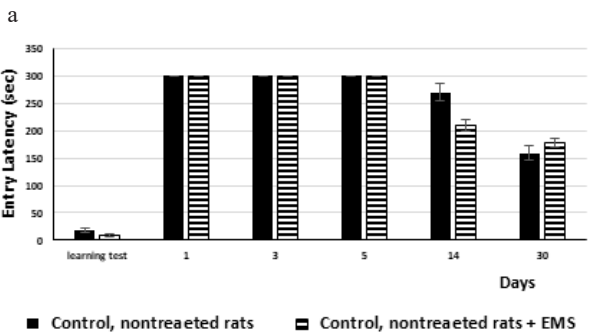
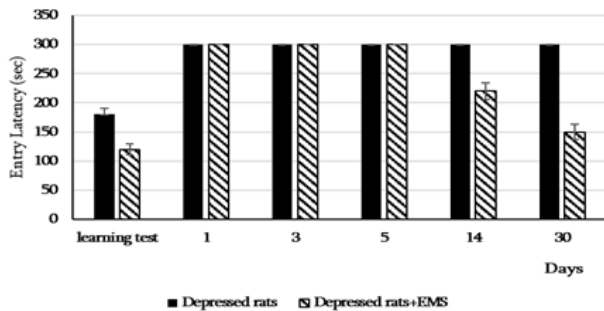


Fig. 2. The effects of EMS on the training and retention tests of depressed (a) rats and control (b), non-treated rats in the passive avoidance test

The behavior of rats also was different in the lit section. The number of attempts to enter into the dark section changed. The research activity was increased both in the depressed (Fig.3 a) and control (Fig. 3b) on the background of EMS.

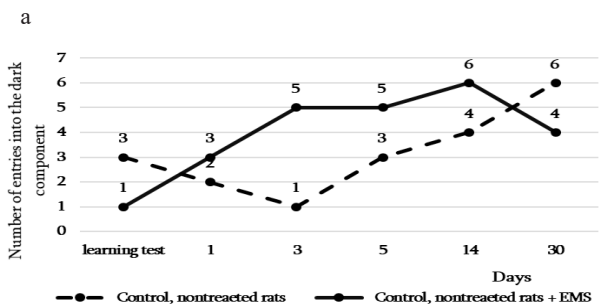
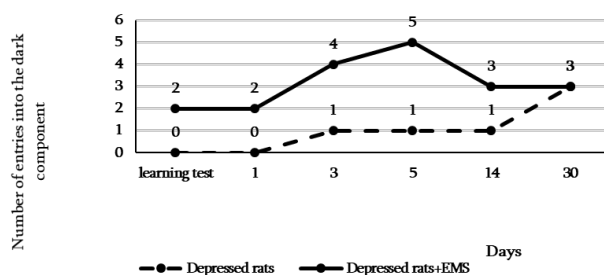


Fig. 3. The effects of EMS on the number of entries into the dark component during learning and retention tests of depressed (a) and control (b), non-treated rats in the passive avoidance test

We might think, that either the control rats have learned better the instrumental reflex (to perform a passive avoidance reaction) or due to the high degree of depression, the locomotor-exploratory activity of animals is decreased, which causes the test to be properly performed. The latter assertion is confirmed by data, received in the open field test (Fig. 4).

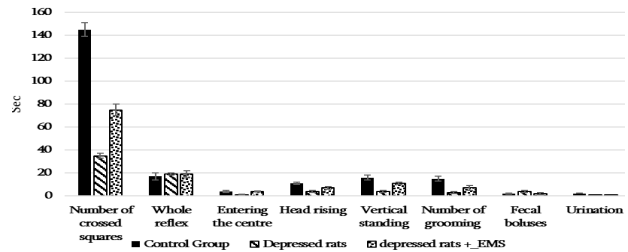


Fig. 4. The effects of EMS on the locomotor and exploratory activity of depressed rats in the open field test. Black columns - a control group of inbred rats. Shaded columns (1) - an experimental group of white inbred rats after neonatal injection of Clomipramine (Depressed Rats), (2) white, inbred depressed rats after EMS

Clomipramine treated animals exhibited most indices of depressive-like behavior in open field tests. Particularly, it was expressed in the depression of locomotor-activity: reduction of the number of crossed squares ($p < 0.01$), rising of a head and vertical standing ($p < 0.05$). The episodes of grooming behavior were also decreased ($p < 0.01$) compared to control's one. After EMS above mentioned parameters were recovered. However, the number of crossed squares did not achieve the control level (145). It was changed only from 35 (Depressed rats) to 75 (Depressed rats +EMS) ($p < 0.01$).

Besides processing in the thalamus, the higher brain centers (amygdala, hippocampus, the various cortical areas) are involved in encoding, consolidation, and extinction mechanisms of cognition. These structures are part of the neural network that subserves passive avoidance learning. The number of studies has shown that passive avoidance depends on hippocampal function and its NMDA receptors. Infusion of the NMDA receptor antagonists AP5 into the dorsal hippocampus of mice profoundly impairs passive avoidance retention [2]. Similarly, neurotoxic lesions of the cortico-hippocampal circuitry (perirhinal, postrhinal, and entorhinal cortices) cause profound deficits in passive avoidance learning in rats [13].

sensory afferents that originated from different We have stimulated the whole body by the electric magnetic field, which could modulate parts of the body. We might suggest, that the artificially created EMF changes the tonic activity of the cells located in these areas and as a result of it, created the new mode of neural impulses. Because of it, the tonic activity is also changed in the nuclei, through which the various sensory afferent ways, coming from the various parts of the body, are passing [14].

The imbalances of neurotransmitter systems in the brain are essential in the development of the depressive disorder, we suggest, that low range EMS have a neuromodulatory effect and restore the imbalance in brain structures, which are essentially responsible for the expression of depressive-like behavior and fear responses.

Conclusion. Thus, the acoustic EMS reduces the level of fear and anxiety, and therefore, increases motor activity, which worsens the reproduction of passive avoidance. EMS can improve the depressive state in rats caused by clomipramine. It offers

clinicians a novel alternative for the treatment of this disorder.

Research was supported by the Shota Rustaveli National Foundation FR 17_333.

REFERENCES

1. Angelos-Miltiadis Kryptos, Marieke Efftig, Merel Kindt, Tom Beckers Avoidance learning: a review of theoretical models and recent developments. // *Front Behav Neurosci.* 2015; 9: 189.
2. Baarendse Petra JJ, Counotte Danielle S, Patricio O'Donnell, et al. Early Social Experience Is Critical for the Development of Cognitive Control and Dopamine Modulation of Prefrontal Cortex Function. // *Neuropsychopharmacology*, 2013; 38(8): 1485–1494.
3. Bergmann T.O., Karabanov A., Hartwigsen, G., Thielscher, A., Siebner, H. R. Combining non-invasive transcranial brain stimulation with neuroimaging and electrophysiology: current approaches and future perspectives. // *Neuroimage* 2016; 140: 4–19.
4. Casasola-Castro C, Weissmann-Sánchez L, Calixto-González E, et al. Short-term and long-term effects of diazepam on the memory for discrimination and generalization of scopolamine. // *Psychopharmacology (Berl)*. 2017; 234(20):3083-3090.
5. Drumond Marra, H. L., Myczkowski, M. L., Maia Memória, C., Arnaut, D., Leite Ribeiro, P., Sardinha Mansur, C. G., et al. Transcranial magnetic stimulation to address mild cognitive impairment in the elderly: a randomized controlled study. // *Behav. Neurol.* 2015; 28;7843.
6. Gold PW, Machado-Vieira R, Pavlatou MG. Clinical and biochemical manifestations of depression: relation to the neurobiology of stress. // *Neural Plast.* 2015; 581976.
7. Hill AT, Rogasch NC, Fitzgerald PB, Hoy KE. TMS-EEG: A window into the neurophysiological effects of transcranial electrical stimulation in non-motor brain regions. // *Neurosci Biobehav Rev.* 2016; 64:175-84.
8. Moskal JR, Burgdorf JS, Stanton PK, Kroes RA, Disterhoft JF, Burch RM, Khan MA. The Development of Rapastinel (Formerly GLYX-13); A Rapid Acting and Long Lasting Antidepressant. // *Curr Neuropharmacol.* 2017; 15(1):47-56.
9. Nevler N, Ash EL. TMS. as a Tool for Examining Cognitive Processing. // *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2015; 15(8):52.
10. Nicholas Yeh, Nathan S. Rose. How Can Transcranial Magnetic Stimulation Be Used to Modulate Episodic Memory? A Systematic Review and Meta-Analysis *Front Psychol.* A2019; 10: 993.
11. O'Reardon, H.J, Solvason, H.B., Janicak, P.G., Sampson, Sh., Isenberge, K.E., Nahas, Z. et al. Efficacy and Safety of Transcranial Magnetic Stimulation in the Acute Treatment of Major Depression: A Multisite Randomized Controlled Trial. // *Biological Psychiatry.* 2007; 62, Issue 11 (1), 1208-1216.
12. Pollak DD, Rey CE, Monje FJ. Rodent models in depression research: classical strategies and new directions. // *Ann Med.* 2010; 42(4):252–64.
13. Sun MK, Alkon DL. Induced depressive behavior impairs learning and memory in rats. // *Neuroscience* 2004; 129(1):129-39.
14. Wang WC, Wing EA, Murphy DLK, Luber BM, Lisanby SH, Cabeza R, Davis SW. Excitatory TMS modulates memory representations. // *Cogn. Neurosci.* 2018; 9(3-4):151-166.

SUMMARY

THE ACOUSTIC RANGE ELECTRIC-MAGNETIC FIELD EFFECT ON THE PASSIVE AVOIDANCE TASK IN DEPRESSED RATS

¹Bukia N., ²Jojuia N., ¹Butskhrikidze M., ¹Machavariani L., ³Svanidze M.

¹LEPL Ivane Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi; ²European University, Tbilisi;

³Iv. Javakhishvili Tbilisi State University, Tbilisi, Georgia

Depression linked to memory problems, such as forgetfulness or confusion. Stress and anxiety can also lead to poor memory. Memory processes are affected by repeated electric-magnetic stimulation (EMS). The current study aimed to explore the effects of EMS on locomotor activity and cognitive function in clomipramine-induced depressed rats. In the implementation of the project, the depressed rats and albino intact rats (250-450 g) were used (n=20). An animal model of depression was received by subcutaneous injection of Clomipramine from 8 to 21 days of neonatal development. The control group received a saline injection in the same period of life. The determination of depression and anxiety reaction of rats was performed 2 months later after clomipramine injection in open field and Forced Swim Tests. For studying EMS effects on the cognitive function of depressed rats, a passive avoidance test was used. During the initial phase, the animal learns that moving to the dark compartment has negative consequences (rat receives a mild foot shock-12 imp/min; 1.5mA). Animals were tested 1, 3, 5, 14 and 30 days after learning test in the chamber. Data reliability was assessed using parametric and non-parametric techniques, with the use of the one-way layout of factorial analysis. In pilot experiments, we have obtained the optimal parameters of repeated EMS (10000 -15000 Hz frequency, 1,5 m/Tesla, during 15 min, 10 days), which fully or partially inhibit depressive-

like ECoG and behavior activity in rats. On the background of EMS, in depressed rats, in the learning test, the latent period of entrance into the dark chamber decreased (p<0.01) compared to non-stimulated ones. The EMS before the learning test of depressed rats, did not affect the performance of the retention test 24 h, 3, 5 days later. The effects of EMS on the passive avoidance retention test were impaired only 14 days after the learning test. Non-stimulated depressed rats did not “make mistake”, they had remembered the learning test 1 month later. Both stimulated or non-stimulated control, non-depressed rats attenuated the performance of passive avoidance on the 14 day after the learning test. The behavior of rats also was different in the lit section. The number of attempts to enter into the dark section changed. The research activity was increased both in the depressed and non-depressed rats on the background of EMS compared to non-stimulated ones. We might think, that either the control rats have learned better the instrumental reflex (to perform a passive avoidance reaction) or due to the high degree of depression, the locomotor-exploratory activity of animals is decreased (p<0.01), which causes the test to be properly performed. The latter assertion is confirmed by data, received in the open field test. Therefore, the acoustic range EMS decreases fear and anxiety degree and consequently, increases the locomotor-exploratory activity and attenuates retention of passive avoid-

ance task. Thus, the acoustic EMS reduces the level of fear and anxiety, and therefore, increases motor activity, which worsens the clomipramine. It offers clinicians a novel alternative for the treatment of this disorder.

Keywords: electromagnetic stimulation, passive avoidance, memory.

РЕЗЮМЕ

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ПОЛЯ АКУСТИЧЕСКОГО ДИАПАЗОНА НА ТЕСТ ПАССИВНОГО ИЗБЕГАНИЯ У ДЕПРЕССИВНЫХ КРЫС

¹Букня Н.Г., ²Джоджуа Н.В., ¹Буцхриკიძე М.П.,
¹Мачавარიანი Л.И., ³Сванидзе М.Дж.

¹Центр экспериментальной биомедицины им. И. Берташвили, Тбилиси; ²Европейский Университет, Тбилиси; ³Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили, Грузия

Депрессия связана с проблемами памяти, такими как забывчивость или путаница. Стресс и беспокойство также могут привести к ухудшению памяти. На процессы памяти влияет повторная электромагнитная стимуляция (ЭМС).

Целью данного исследования явилось изучение влияния электромагнитной стимуляции на двигательную активность и когнитивную функцию депрессивных крыс.

Исследованы депрессивные крысы и интактные крысы-альбиносы весом 250–450 г (n=20). Животная модель депрессии получена путем подкожной инъекции кломипрамина от 8 до 21 дня неонатального развития. Контрольная группа получала инъекцию физиологического раствора в течение того же периода жизни. Определение депрессии и реакции тревоги у крыс проводили спустя 2 месяца после инъекции кломипрамина в тесте открытого поля и в тесте принудительного плавания. Тест пассивного избегания использован для изучения влияния ЭМС на когнитивную функцию у депрессивных крыс. На начальном этапе теста при входе в темный отсек животные получали легкий электрический удар - 12 имп/мин; 1,5 мА. Животных тестировали спустя 1, 3, 5, 14 и 30 дней. Данные оценивали с использованием параметрических и непараметрических методов, односторонней схемы факторного анализа. В пилотных экспериментах получены оптимальные параметры ЭМС (частота 10000-15000 Гц, 1,5 м/Тесла, в течение 15 мин, 10 дней), которые полностью или частично ингибировали депрессивно-подобную поведенческую активность у крыс. В тесте пассивного избегания на фоне ЭМС у депрессивных крыс, латентный период входа в темную камеру уменьшилась ($p<0,01$) в сравнении с нестимулированными депрессивными крысами. Воспроизведение теста избегания ухудшилось лишь на 14 день. Нестимулированные депрессивные крысы «не допускали ошибок», они избегали темный отсек даже спустя 30 дней. Обе, стимулированные или нестимулированные интактные крысы входили в темный отсек на 14 день после обучающего теста. Поведение крыс также отличалось в освещенной камере, наблюдали изменение количества попыток входа в темную секцию. На фоне ЭМС исследовательская активность была увеличена как у депрессивных, так и интактных крыс в сравнении с нестимулированными. Следует предположить, что депрессивные крысы лучше запоминают инструментальный рефлекс пассивного

избегания либо ввиду высокой степени депрессии, двигательная активность животных снижена ($p<0,01$), что способствует правильному выполнению поставленной задачи. Последнее подтверждается данными, полученными в ходе испытаний в открытом поле. Таким образом, ЭМС акустического диапазона снижает уровень страха и тревоги, а следовательно, увеличивает двигательную активность, что ухудшает воспроизведение пассивного избегания. ЭМС может улучшить депрессивное состояние у крыс, вызванное кломипразином.

რეზიუმე

აკუსტიკური დიაპაზონის ელექტრომაგნიტური ველის გავლენა დეპრესიულ ვირთაგვებში პასიური განრიდების ტესტში

¹ნ.ბუკია, ²ნ.ჯოდჯუა, ¹მ.ბუცხრიკიძე, ¹ლ.მაჭავარიანი,
³მ. სვანიძე

¹ი.ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრი, თბილისი; ²ევროპული უნივერსიტეტი, თბილისი; ³თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო

დეპრესია ასოცირდება მეხსიერების პრობლემებთან, როგორცაა დაიწყო ან დაბნეულობა. სტრესმა და შფოთვამ ასევე შეიძლება გამოიწვიოს მეხსიერების გაუარესება. მეხსიერების პროცესებზე გავლენას ახდენს განმეორებითი ელექტრომაგნიტური სტიმულაცია (ემს). ამდენად, ეს კვლევა მიზნად ისახავს ემს-ის გავლენის შესწავლას დეპრესიული ვირთაგვების ემოციურ-მოტივაციურ ქცევასა და კოგნიტურ ფუნქციაზე. ექსპერიმენტი ტარდებოდა დეპრესიულ და ინტაქტურ ვირთაგვებზე (250-450 გ, n=20). დეპრესიის ცხოველური მოდელი მიღებული იქნა ვირთაგვებში, ნეონატალური განვითარების მე-8 დღიდან 21 დღის ჩათვლით კლომიპრამინის კანქვეშა ინექციით. საკონტროლო ჯგუფის ვირთაგვებს ვუკეთებდით ფიზიოლოგიურ ხსნარს ნეონატალური განვითარების იმავე პერიოდში. ვირთაგვებში დეპრესიისა და შფოთვის რეაქციების განსაზღვრას ვახორციელებდით ღია ველის ტესტში და იძულებითი ცურვის ტესტში კლომიპრამინის ინექციიდან 2 თვის შემდეგ. კოგნიტურ ფუნქციაზე ემს-ის გავლენას შევისწავლოდით პასიური განრიდების ტესტში. ტესტის საწყის ეტაპზე, ბნელ განყოფილებაში შესვლისას, ცხოველები თავებზე დებულდებდნენ მსუბუქ ელექტრულ შოკს (12 იმპ/წთ, 1,5 მ/ა). ცხოველების ტესტირებას პასიური განრიდების რეაქციის შემონახვაზე ვახდენდით 1,3,5,14 და 30 დღის შემდეგ. მონაცემთა სანდობას ვაფასებდით პარამეტრული და არა-პარამეტრული მეთოდების გამოყენებით ფაქტორული ანალიზის მეთოდით. საპილოტე ექსპერიმენტებში დავადგინეთ ემს-ის ოპტიმალური პარამეტრები (სიხშირე 10000-15000 ჰც., 1,5 მ/ტესლა, 15 წთ, 10 დღის განმავლობაში), რაც მთლიანად ან ნაწილობრივ აფერხებდა დეპრესიული ტიპის ქცევით გამოვლინებას ვირთაგვებში.

ემს-ის ფონზე, დეპრესიულ ვირთაგვებში, პასიური განრიდების ტესტში, ბნელ განყოფილებაში შესვლის ლატენტიური პერიოდი შემცირდა ($p<0,01$) არასტიმულირებულ ვირთაგვებთან შედარებით. ემს-ის ფონზე პასიური განრიდების რეაქცია გაუარესდა მხოლოდ მე-14 დღეს. არასტიმულირებული ვირთაგვები არ

უშეებდნენ შეცდომას დასწავლიდან 30 დღის შემდეგაც. ორივე სტიმულირებული და არასტიმულირებული ვირთაგვები შედიოდნენ ბნელ განყოფილებაში დასწავლიდან მე-14 დღეს. ვირთაგვების ქცევა ასევე განსხვავდებოდა განათებულ განყოფილებაში, სადაც ფიქსირდებოდა ბნელ განყოფილებაში შესვლის მცდელობათა რიცხვის ცვლილება. ემს-ის ფონზე გაიზარდა როგორც დეპრესიული, ასევე ინტაქტური ვირთაგვების კვლევიითი აქტივობა. შეიძლება ვივარაუდოთ, რომ დეპრესიულ ვირთაგვებს უკეთ ახსოვთ პასიური გან-

რიდების ინსტრუმენტული რეფლექსი, ან დეპრესიის მაღალი ხარისხის გამო შემცირებული ლოკომოტორული აქტივობა ($p < 0,01$) ხელს უწყობს დავალების სწორად შესრულებას. ეს მოსაზრება დასტურდება ღია ველში მიღებული შედეგებით. ამრიგად, აკუსტიკური დიაპაზონის ემს ამცირებს შიშისა და შფოთვის დონეს, ზრდის მოძრაობით აქტივობას, რაც აუარესებს პასიური განრიდების რეაქციას. ემს-ს შეუძლია გააუმჯობესოს კლომიპრამინის ინექციით მიღებული დეპრესიული მდგომარეობა.

SUBMICROSCOPIC ORGANIZATION OF THE PERIODONTIUM WITH EXPERIMENTAL SIX-WEEK OPIOID ACTION AND MEDICINAL CORRECTION

¹Fik V., ¹Kovalyshyn O., ¹Pal'tov Ye., ²Kryvko Yu.

¹Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ministry of Health of Ukraine;

²Andrey Krupinskiy Lviv Medical Academy, Lviv, Ministry of Health of Ukraine

Since the early 2000s, opioid overdose rates have tripled in different age categories and become the leading cause of death associated with unintentional trauma [6,13]. Recently, there are more and more scientific researches aimed at studying structural changes in the systems and organs that occur under the action of opioids [5,8,12]. Substance abuse causes a toxic effect on the tissues and organs of the oral cavity, where there is a significant spread of tooth decay, inflammatory process, sclerosis, atrophy and leads to the development of gingivitis and periodontitis [1,4,14,16].

For pathogenetic treatment effectiveness in the development of hard forms of periodontitis, along with other drugs, it is recommended to use antibacterial agents [2,3]. Particularly noteworthy is the drug pentoxifylline, which significantly improves microcirculation, actively supplies tissues with oxygen, typically anti-inflammatory and antioxidant actions, where the active substance has anti-inflammatory agent properties, decreases the level of proinflammatory cytokines and interleukins [7,9,11]. In this case, the antioxidant effect is due to the reduced activation of superoxide-anion-producing neutrophils, one of the main factors of oxidative damage [9,11].

It should be noted that based on ethical principles, patients do not have the opportunity to investigate the dynamics of the pathological process at the ultrastructural level, but the experimental studies allow to study the destructive changes in periodontal tissues under the action of opioids and to develop the optimal scheme of drug correction.

The aim of the work - to investigate the effectiveness of the use of pentoxifylline and ceftriaxone for the correction of pathological changes in periodontal tissues under the experimental effect of an opioid analgesic for six weeks at the submicroscopic level.

Material and methods. The studies were performed on 22 white rats - males of reproductive age, Wistar line, weighing 160-190 g, 4.5-6 months of age. In the experiment, the animals were divided into two groups. The first group was intact (10),

the second group - for the rats were administered a single intramuscular opioid analgesic for six weeks to a group of opiate receptor agonists- antagonist, nalbuphine. In the first two weeks, the dose of nalbuphine was 0.212 mg/kg; within 3-4 weeks the dose was increased to 0.225 mg/kg; for 5-6 weeks - 0.252 mg/kg, based on the average therapeutic dose and the average body weight of rats.

Peripheral vasodilator pentoxifylline and antibacterial agent for systemic use of ceftriaxone were used to correct changes occurring during opioid exposure in periodontal tissues. Intramuscular injections of pentoxifylline were performed once daily for four weeks (3-6 weeks) at a dose of 2,857 mg/kg. Ceftriaxone was injected intramuscularly for 11 days (5-6 weeks) at a dose equivalent to 2.86 mg/kg of the rat. Controls were 3 male rats administered 0.9% sodium chloride solution. Experimental animals were in vivarium conditions and work regarding maintenance, care, marking and all other manipulations were carried out following the provisions of the "European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes" [Strasbourg, 1985]. Before sampling the biopsy material, the animals were primed with intraperitoneal administration of sodium thiopental (25 mg/kg).

For electron microscopic examination, fragments of periodontal soft tissue were used in the area of the maxillary papilla of the upper and lower jaws. The tissue fragments were fixed in a 2.5% solution of glutaraldehyde and a 1% solution of osmium tetroxide in phosphate buffer pH 7.2-7.4, dehydrated in alcohol and propylene oxide and poured into a mixture of epoxy resins with Araldite [10,15]. Ultra-thin sections were made on a YMIIT 3M ultramicrotome, counterstained with lead citrate and uranyl acetate and studied in a ПЕМ-100-01 electron microscope.

Results and their discussion. Electron microscopic studies have shown that in rats of this subgroup after six weeks of opioid exposure when using the combined action of pentoxifylline and ceftriaxone, structural changes of periodontal components are moderately pronounced, and some dynamics of cell renewal

are observed. Submicroscopically, in all areas of the epithelial lining of the mucous membrane of the gums, the layered location of the epitheliocytes is preserved. Cells of the basal layer of the epithelium of the free part of the gums include rounded nuclei with clear contours of the cariote, small perinuclear space. The cytoplasm has tonofilaments, small mitochondria, many ribosomes, and polysomes. Areas with extended intercellular spaces lacking desmosomes are present. This contributes to the migration of lymphocytes between epitheliocytes. The basement membrane is preserved, to which cells of the basal layer are attached using a half-desmosomes (Fig. 1).

In the spinous layer, the epitheliocytes are smaller in size, separated from each other by narrow intercellular spaces, but tightly interconnected by desmosomal contacts. The nuclei of a portion of the cells are irregularly shaped by the invasion of the karyolemma. Mostly euchromatin is located in the karyolemma, but there are osmiophilic areas of heterochromatin located near the nuclear envelope. In the cytoplasm of many thin tonofibrils, they can form a moderate thickness of the bundles, especially in the area of intercellular contacts. The density of organelles is low, there are separate tubules of granular endoplasmic reticulum, small mitochondria, primary lysosomes. The cells of the granular layer exhibit electron-dense pycnotic nuclei of different sizes, often large clumps of keratohyalin. Desmosomal contacts are sometimes damaged. This confirms the formation of scales of corneum in the free area of the epithelial plate of the mucous membrane of the gums.

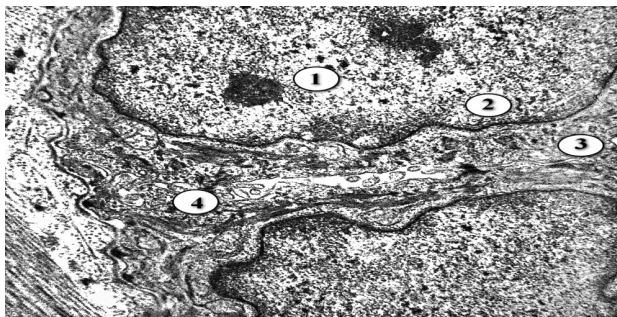


Fig. 1. The epitheliocyte of the basal layer of the epithelium of the free part of the rat gingiva after six weeks of opioid administration and correction with pentoxifylline and ceftriaxone. 1 - round nucleus, nuclei, 2 - shallow invasions of karyolemma, 3 - the cytoplasm, 4 - basal membrane. Electronogram. Coll. x14,000

In the epithelial plate of the furrow of animals of this group, the epitheliocytes in its layers are also less altered than in the subgroup of rats without corrective action. Submicroscopically cytoplasmic edema is noted only in individual epitheliocytes of the basal and spiny layers. However, part of the nuclei of the cells have invasions of karyolemma, which indicates their functional activity. Clear contours of plasmalemma and nucleolus. In the cytoplasm, most organelles are virtually unchanged, with clear desmosomal contacts and tonofilaments (Fig. 2).

In the attached part of the mucous membrane of the gums of the animals, the epithelium has similar changes in the cells of the basal and spinous layers, but the granular and layer of corneous scales is not marked, reflecting the lack of keratinization of this section of the mucous membrane. The nuclei of the epitheliocytes appear enlarged, have a predominantly elongated shape, with shallow karyoma invaginations, and euchromatin is present in the karyoplasm. In the cytoplasm, mitochondrial hyperplasia

is observed; they are small, elongated or rounded, and crystals are present in their moderately osmiophilic matrix. The plasmalemmas of the cells are clearly contoured, and the intercellular contacts are well structured, in some areas the intercellular spaces are slightly expanded (Fig. 3).

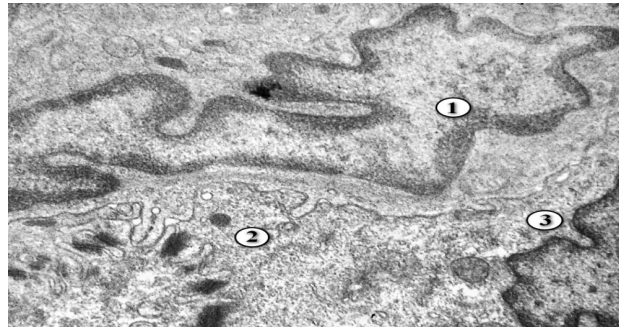


Fig. 2. Epitheliocyte of the spinous layer of rat furrow epithelium after six weeks of opioid administration and correction with pentoxifylline and ceftriaxone. 1 - irregular nucleus, 2 - cytoplasm of epitheliocyte, 3 - intercellular contacts. Electronogram. Coll. x14,000

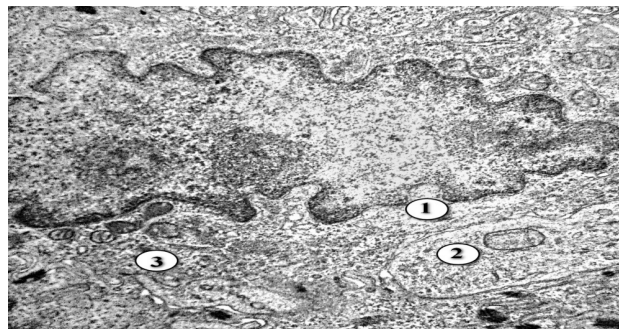


Fig. 3. Epitheliocyte of the spinous layer of the epithelium of the attached portion of the rat gingiva after six weeks of opioid administration and correction with pentoxifylline and ceftriaxone. 1 - nucleus and cytoplasm of epitheliocyte, 2 - mitochondria, 3 - intercellular contacts. Electronogram. Coll. x14,000

Electron microscopic examinations of the periodontal animals of this experimental group showed that, when corrective agents were used, changes in its structural components were not as significant as in the animal group after six weeks with opioid use. In the composition of collagen fibers, the bundles of fibrils are ordered stratified, there is only partial fragmentation. The swelling of the amorphous component of the intercellular substance of the connective tissue is negligible. The renewal of connective tissue is indicated by the presence of fibroblasts with well-defined processes that are located between the collagen fibers. In the pericarians of fibroblasts are tubules of the endoplasmic reticulum, cisterns of the Golgi complex, hypertrophied mitochondria with light matrix and partially damaged crystals. The ultrastructure of fibroblasts changes significantly. The oblong shape of the nucleus is clearly contoured; in the karyoplasm, a considerable area is occupied by euchromatin (Fig. 4).

During this period of experience, degranular tissue basophils and macrophages are detected in the periodontium, the ultrastructural organization of which indicates their active state. Macrophage plasmalemma has cytoplasmic outgrowths and invaginations that are required for phagocytosis of damaged structures. In the cytoplasm, there are primary lysosomes and phagosomes, mitochondria, vacuoles (Fig. 5).

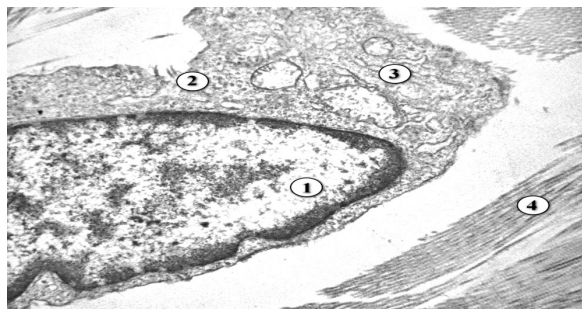


Fig. 4. Rat periodontium after six weeks of opioid administration and correction with pentoxifylline and ceftriaxone. 1 - elliptical nucleus, 2 - cytoplasm of fibroblast, 3 - mitochondria, 4 - tufts of collagen fibrils. Electronogram. Coll. x15 000

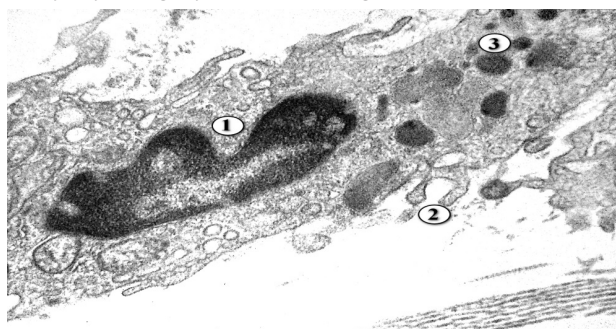


Fig. 5. Rat periodontium after six weeks of opioid administration and correction with pentoxifylline and ceftriaxone. 1 - nucleus and cytoplasm of macrophage, 2 - cytoplasmic outgrowths, 3 - lysosomes. Electronogram. Coll. x 12,000

Submicroscopic studies of the mucous membrane of the gums of animals in this experimental group under the conditions of drug use showed that changes in the structural components of the microcirculatory bed are not as significant as in the subgroup of animals without corrective action. The lumps of the blood capillaries are moderately enlarged, and they have blood cells. The nuclei of endothelial cells of a round or oblong form, the karyolemma is clear, in the karyoplasm, there are accumulations of heterochromatin. The cytoplasmic areas of the endothelial cells are thickened, they contain many ribosomes, foamy cytoskeletons, and in some areas hypertrophied mitochondria. The basement membrane is wavy, uneven, sometimes has fuzzy outlines. The perivascular spaces are wide, with a well-expressed amorphous component of connective tissue and collagen fibrils present (Fig. 6).

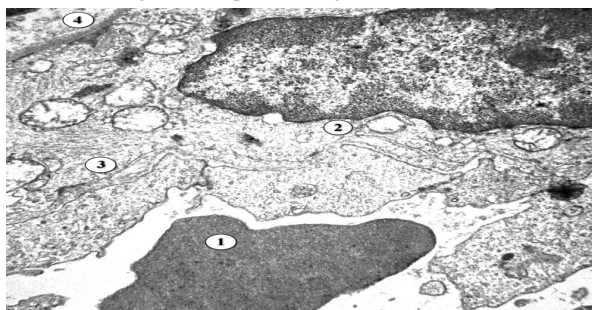


Fig. 6. The hemocapillary of the lining of the mucous membrane of the rat gingiva after six weeks of opioid administration and correction with pentoxifylline and ceftriaxone. 1 - a lumen with an erythrocyte, 2 - a nucleus and a cytoplasm of an endothelial cell, 3 - a basal membrane, 4 - a perivascular space. Electronogram. Approx. 12,000

Ultrastructural studies of venules have shown that their lumps are blood-filled, preferably including red blood cells. The cytoplasmic regions of the endothelial cells are not wide, fragmentarily protruding into the lumen, increasing the area of interaction of endothelial cells with the content of venules. Karyoplasm of nuclei of high electron density and they have unequal karyolem. Basal membrane narrow, clear, perivascular spaces enlarged (Fig. 7).

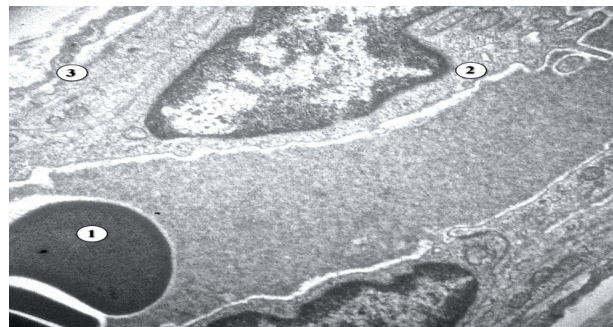


Fig. 7. Venules of the mucous membrane of the rat gums after six weeks of opioid use and correction with pentoxifylline and ceftriaxone. 1 - lumen with erythrocyte, 2 - nucleus and cytoplasm of endothelial cell, 3 - basal membrane. Electronogram. Approx. 14,000

Abuse of psychoactive substances is declared as one of today's leading problems, which is the cause of the development of many diseases of the oral cavity, in particular, periodontitis [1,4,16]. In dentistry, awareness of the symptoms of narcotic intoxication and infections that develop in the oral cavity is important [1,14]. Usage of antibacterial agents is an important component of the treatment of periodontitis [2,3]. In the development of periodontitis the inflammatory-dystrophic process dominates it is important to use pathogenetic therapy to improve peripheral circulation, anti-inflammatory and antioxidant effects. Such a therapeutic effect is achieved by the drug pentoxifylline [9,11]. In our researches, it was found that the positive effect of the combined action of drugs used in the experiment leads to a significant improvement in the ultrastructural organization of periodontal tissues with long-term opioid exposure. Comparative analysis of the received data is not possible due to the lack of such researches in the medical literature.

Thus, based on experimental studies, it can be argued that the use of complex corrective effects of drugs pentoxifylline and ceftriaxone, contributes to the positive dynamics of the ultrastructural reorganization of constituent components of the periodontium and allows to achieve the desired therapeutic effect on the morphofunctional state of the cells.

Conclusions. 1. Submicroscopically revealed minor structural changes that have a focal character of damage to periodontal cells, organelles, desmosomal contacts, partial fragmentation of collagen fibers, areas of moderate connective tissue edema, with gaps of capillaries and venules slightly increased.

2. The use of medication correction for experimental six-week opioid exposure contributes to the decrease in the rate of growth of the dystrophic-inflammatory process, which indicates the positive effect of the combined action of pentoxifylline and ceftriaxone, has a smooth dynamics in the improvement and partial organization of parotinum.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зубачик В.М., Федун І.Р. Стан органів порожнини рота в осіб, які зловживають наркотичними речовинами. Огляд літератури / В.М. Зубачик, І.Р. Федун // Новини стоматології. – 2015. – № 3(84). – С. 71 - 74.
2. Крисенко О.В. Особливості складу мікробних асоціацій та стійкості до антибіотиків мікробиоти ротової порожнини / О.В. Крисенко, Т.В. Скляр, О.С. Воронкова, О.А. Сірокваша, Т.М. Шевченко // Мікробіологія і біотехнологія. – 2014. – № 1. - С. 35 – 44.
3. Матвійків Т. І. Клінічний стан тканин пародонта у хворих на хронічний генералізований пародонтит на тлі системної антибіотикотерапії супутньої патології / Т.І. Матвійків, В.І. Герелюк // Галицький лікарський вісник. – 2012. – № 4 (19). – С. 49– 52.
4. Токмакова С.И. Особенности стоматологического статуса больных опийной наркоманией / С.И. Токмакова, Ю.В. Луницына // Дальневосточный медицинский журнал. – 2014. – № 1. – С.130-135.
5. Akhgari M. Histopathological study of cardiac lesions in methamphetamine poisoning-related deaths/ M. Akhgari, H. Mobaraki, A. Etemadi-Aleagha // Daru. – 2017. – №1 (25). – P. 5.
6. Brat G.A. Postsurgical prescriptions for opioid naive patients and association with overdose and misuse: retrospective cohort study / G.A. Brat, D. Agniel, A. Beam [et al.] // BMJ – 2018. – 360: j5790
7. Brie D. Effects of pentoxifylline on inflammatory markers and blood pressure: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / D. Brie, A. Sahebkar, P.E. Penson et al. // J Hypertens. - 2016. - 34. - P. 2318 - 29.
8. Fik V.B. Peculiarities of morphological manifestation of the periodontal tissue in experimental animals against the ground of a short-term effect of opioid analgesic / V.B. Fik, E.V. Paltov, M.V. Lohash, Yu.Ya. Kryvko // Deutsch. Wissenschaftsch. – 2017. – №2. – P. 54 – 58.
9. Genovés P. Pentoxifylline in liver ischemia and reperfusion / P. Genovés, D. García, D. Cejalvo [et al.] // J Invest Surg. – 2014. – № 27. – P.114 – 124.
10. Glauert A.M. Fixation, Dehydration and Embedding of Biological Specimens. In: Practical methods in electron microscopy. North-Holland: American Elsevier. – 1975. – №3. – 208 p.
11. McCarty M.F. Pentoxifylline for vascular health: a brief review of the literature / M.F. McCarty, J.H. O'Keefe, J.J. DiNicantonio // Open Heart. – 2016. – №3:e000365.
12. Paltov E. V. Dynamics of the onset of pathological changes in the retinal layers at the end of the first week of opioid exposure / E.V. Paltov, Yu.Ya. Kryvko, Fik V.B. [et al.] // Deutscher Wissenschaftscherold. – 2016. – №2. – P. 30 – 33.
13. Ray W.A. Prescription of long-acting opioids and mortality in patients with chronic noncancer pain / W.A. Ray, C.P. Chung, K.T. Murray [et al.] // JAMA. – 2016. – № 315 (22). – P.2415 – 2423.
14. Shekarchizadeh H. Oral health status and its determinants among opiate dependents: a cross-sectional study / H. Shekarchizadeh, M. R. Khami, S. Z. Mohebbi [et al.] // BMC Oral Health. – 2019. – №19. – P. 5.
15. Stempak J.G. An improved staining method for electron microscopy / J.G. Stempak, R.T. Ward // J Cell Biol. – 1964. – №22 (3). – P. 697 – 701.
16. Stewart A. The impact of pharmacy services on opioid prescribing in dental practice / A. Stewart, K.J. Zborovancik, K.L. Stiely // J Am Pharm Assoc. – 2017. 2S. – P. 78 – 82.

SUMMARY

SUBMICROSCOPIC ORGANIZATION OF THE PERIODONTIUM WITH EXPERIMENTAL SIX-WEEK OPIOID ACTION AND MEDICINAL CORRECTION

¹Fik V., ¹Kovalyshyn O., ¹Pal'tov Ye., ²Kryvko Yu.

¹Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ministry of Health of Ukraine; ²Andrey Krupinskiy Lviv Medical Academy, Lviv, Ministry of Health of Ukraine

This study aimed to investigate the efficacy of the use of pentoxifylline and ceftriaxone in the correction of pathological changes in the periodontium under the condition of opioid analgesics in an experiment for six weeks at the ultrastructural level. The study was conducted on 22 white rats - males of reproductive age, Wistar line, weighing 160-190 g, 4.5-6 months of age. Animals were administered intramuscularly to the opioid analgesic nalbuphine for six weeks with a dose increase gradually every two weeks, with an initial mean therapeutic dose of 0.212 mg/kg. Pentoxifylline and ceftriaxone were used to correct pathological changes. Pentoxifylline was administered at a dose of 2.857 mg/kg for 3 to 6 weeks, ceftriaxone for 11 days at the end of the experiment at a dose of 2.86 mg/kg. Submicroscopically were found minor structural changes in the cells of the epithelium of the mucous membrane of the gums, periodontium and endothelial cells of capillaries and venules, with focal damage to organelles, desmosomal contacts, partial fragmentation of collagen fibers, areas of connective tissue. The use of medication correction against the background of the opioid for six weeks reduces the rate of growth of the dystrophic-inflammatory process, which indicates a positive effect of the combined effect of pentoxifylline and ceftriaxone and has a therapeutic effect on the morphofunctional organization of cells, and has smooth dynamics in the improvement and partial restoration of periodontal tissues at the submicroscopic level.

Keywords: opioid analgesic, ultrastructure, periodontal, rats.

РЕЗЮМЕ

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПАРодОНТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ШЕСТИНЕДЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ОПИОИДА И МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ КОРРЕКЦИИ

¹Фик В.Б., ¹Ковалышин О.А., ¹Пальтов Е.В., ²Крывко Ю.Я.

¹Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого; ²Львовская медицинская академия им. Андрея Крупинского, Украина

Целью исследования явилось определение эффективности применения препаратов пентоксифиллина и цефтриаксона при коррекции патологических изменений в пародонте при экспериментальном действии опиоидного анальгетика в течение шести недель на ультраструктурном уровне.

Исследование проведено на 22 белых крысах-самцах репродуктивного возраста, линии Wistar, массой 160-190 г в возрасте 4,5-6 месяцев. Животным вводили внутримышечно опиоидный анальгетик налбуфин в течение шести недель с увеличением дозы постепенно каждые две недели, начальная средняя терапевтическая доза составила 0,212 мг/кг. Для

коррекции патологических изменений применяли препараты пентоксифиллин и цефтриаксон. Пентоксифиллин вводили в дозе 2,857 мг/кг в течение 3-6 недель, цефтриаксон в течение 11 суток в конце эксперимента (5-6 недели) в дозе 2,86 мг/кг. Субмикроскопически установлено незначительные структурные изменения в клетках эпителия слизистой оболочки десны, периодонта и эндотелиоцитах капилляров и венул, с очаговым повреждением органелл, десмосомальных контактов, частичной фрагментацией коллагеновых волокон, участками умеренного отека соединительной ткани. Применение медикаментозной коррекции на фоне действия опиоида в течение шести недель способствует снижению темпов нарастания дистрофически-воспалительного процесса, что свидетельствует о положительном влиянии комбинированного действия пентоксифиллина и цефтриаксона и оказывает лечебный эффект на морфофункциональную организацию клеток, имеет плавную динамику в улучшении и частичном восстановлении структур пародонта на субмикроскопические уровни.

რეზიუმე

პაროდონტის სუბმიკროსკოპიული ორგანიზება ოპიოიდის ექსკვირირანი ექსპერიმენტული ზემოქმედების და მედიკამენტური კორექციის დროს

¹ე. ფიკი, ¹ო.კოვალისინი, ¹ე.პალტოვი, ²ი.კრივკო

¹ღვთის დ.გალიცის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი; ²ღვთის ა.კრუპინსკის სახ. სამედიცინო აკადემია, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა პენტოქსიფილინის და ცეფტრიაქსონის პრეპარატების გამოყენების ეფექ-

ტურობის ულტრასტრუქტურულ დონეზე შეფასება პაროდონტის პათოლოგიური ცვლილებების კორექციის დროს ოპიოიდური ანალგეტიკის ექსკვირირანი ექსპერიმენტული ზემოქმედების პირობებში. კვლევა ჩატარდა 160-190 გრ წონის, 4,5-6 თვის ასაკის Wistar-ის ხაზის 22 თეთრ, მამრ ვირთაგავზე. ცხოველების კუნთებში შეჰყავდათ ოპიოიდური ანალგეტიკი ნაღბუფინი ექვსი კვირის განმავლობაში დოზის თანდათანობითი ზრდით ყოველ ორ კვირაში; საწყისი თერაპიული დოზა შეადგენდა 0,212 მგ/კგ პათოლოგიური ცვლილებების კორექციისათვის გამოიყენებოდა პენტოქსიფილინი და ცეფტრიაქსონი. პენტოქსიფილინი შეჰყავდათ დოზით 2,857 მგ/კგ 3-6 კვირის განმავლობაში, ცეფტრიაქსონი – 11 დღის განმავლობაში ექსპერიმენტის ბოლოს (მე-5-6 კვირას), დოზით 2,86 მგ/კგ.

სუბმიკროსკოპიულად დადგენილია უმნიშვნელო სტრუქტურული ცვლილებები დრძილის ლორწოვანი გარსის და პერიოდონტის ეპითელიუმში, ასევე, კაპილარებისა და ვენულების ეპითელიოციტებში, ორგანულების და დესმოსომური კონტაქტების კეროვანი დაზიანებით, კოლაგენური ბოჭკოების ნაწილობრივი ფრაგმენტაციით, შემაერთებელი ქსოვილის ზომიერი შეშუპების უბნებით. მედიკამენტური კორექციის გამოყენება ოპიოიდის მოქმედების ფონზე ექვსი კვირის განმავლობაში ხელს უწყობს დისტროფიულ-ანთებითი პროცესის განვითარების ტემპის შემცირებას, რაც მიუთითებს პენტოქსიფილინის და ცეფტრიაქსონის კომბინირებული მოქმედების დადებით შედეგზე, ახდენს სამკურნალო ეფექტს უჯრედების მორფოფუნქციურ ორგანიზებაზე, აქვს პაროდონტის სტრუქტურების აღდგენის გაუმჯობესების თანაბარი დინამიკა სუბმიკროსკოპიულ დონეზე.

ЧАСТОТА ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ GSTT1 И GSTM1 ГЕНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ В ГРУЗИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

¹Джохадзе Т.А., ¹Буадзе Т.Ж., ¹Гаიозишвили М.Н., ²Кириа Н. А., ¹Худжадзе И.Г., ¹Лежава Т.А.

¹Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили;
²Национальный центр туберкулеза и болезней легких, Тбилиси, Грузия

Известно, что эффективность фармакотерапии, а в равной степени и развитие побочных эффектов при ее применении, в существенной мере зависят от генетических факторов. Среди повреждающих побочных эффектов применения лекарственных препаратов значительная доля приходится на развитие гепатитов [14]. Показано, что гепатотоксичность многих лекарственных средств обусловлена полиморфизмом генов ферментов, обеспечивающих их метаболизм, среди которых одно из ключевых мест занимают гены глутатион-S-трансфераз (GST). GST участвуют во II фазе

биотрансформации и детоксикации многих искусственно синтезированных соединений, в том числе и лекарственных препаратов, характеризуются полиморфизмом и проявляют ассоциированную с различными патологиями этнозависимость. GSTM1 и GSTT1 нулевые варианты GST генов являются результатом делеций участков протяженностью 16 и 52 кб, хромосом 1(p13.3) и 22 (q11.22), соответственно, связаны с повышенным риском развития медикаментозного повреждения печени, различных форм опухолей, кардиоваскулярных и других заболеваний [1,21]. Выявлены

значительные межпопуляционные и внутрипопуляционные различия по частотам нулевых вариантов GSTM1 и GSTT1 генов среди населения Азии, Африки и Европы [1,2,7,9-12,15,16,20]. Широкая популяционная вариабельность нулевых фенотипов указанных генов является следствием взаимодействия многих факторов, как: различная история развития каждой популяции; отбор, обусловленный образом и жизни; различная чувствительность к токсинам и предрасположение к определенным болезням.

Значение выявления полиморфных, особенно нулевых вариантов генов GST приобретает исключительно значимую роль при болезнях, лечение которых требует длительного применения определенных лекарственных средств. К числу таких болезней относится туберкулез легких, лечение которого основано на длительном применении изониазида, рифампицина и пиразинамида - препаратов, способных вызывать повреждения печени [4,8,14,22,23].

Исходя из вышеизложенного, целью данного исследования являлось определение частот полиморфных вариантов GSTM1 и GSTT1 генов как среди здоровых индивидов грузинской популяции (Тбилисская популяция, популяции Восточной и Западной Грузии), так и больных туберкулезом; а также - выявление связи нулевых вариантов GSTM1 и GSTT1 генотипов с клиническими факторами гепатотоксичности у пациентов, принимающих противотуберкулезное лечение. Следует отметить, что исследования в данном направлении в Грузии ранее не проводились.

Материал и методы. Материалом исследования служила периферическая (капиллярная) кровь (3-5 мкл) здоровых и больных туберкулезом индивидов, относящихся к популяциям Западной и Восточной Грузии. Среди больных туберкулезом забор крови производился как у пациентов с нормальной функцией печени, так и у пациентов с изменениями в функциональных пробах печени - с измененными уровнями аланинаминотрансферазы (ALT), аспатаатамино-трансферазы (AST), глутамин-аминотрансферазы (GGT). Исследовано 185 индивидов.

В исследованиях использовался метод, основанный на изотермической смарт-амплификации (SmartAmp-2). SNP (однуклеотидный полиморфизм) генотипирование осуществлялось с использованием прибора Ese-Quant Tube Scanner, представляющего собой технологию нового поколения, основанную на изотермическом PCR, являющегося легко применяемой люминисцентной системой. Система исключительно чувствительна, эффективна и одновременно быстра (скоростная) [13]. Флуоресцентный детектор основан на современных микросистемных технологиях. Основанный на ДНМ-амплификации процесс смарт-амплификации весьма удобен для определения мутаций, в том числе и SNP. Указанный метод отличается от ранее используемых рядом преимуществ, в частности:

1. Реакция изотермическая, т.е. в отличие от PCR не требуется менять температурный режим и протекает на одной температуре.
2. Получение результатов не требует предварительного выделения ДНК и очистки, для получения результата необходимо всего лишь несколько микролитров образца крови.
3. Выявление мутаций возможно уже после 30-минутной инкубации исследуемого материала в изотермических условиях.

Реакция проводилась в 25-микролитровых пробирках, в которые добавляли 1мкл набора четырех разных праймеров (для инициации алелль-специфической амплификации). В пробирки также добавлялись ДНМ-полимераза и свобод-

ные нуклеотиды. Необходимыми компонентами являлись также диметилсульфоксид (DMSO), трис- HCl (ph=8), KCl, (NH₄)₂SO₄, MgSO₄, Tween 20 и SYBR Green - краситель зеленого цвета (все вместе является буфером реакции, создающим благоприятную химическую среду для оптимальной активности и стабильности ДНК-полимеразы). Перечисленные компоненты смешивались с заранее приготовленным исследуемым образцом, содержащим 1 часть капиллярной крови и 2 части 5%-ного раствора NaOH, образцы выдерживали при температуре 98⁰C в течение 3 минут. На последнем этапе образцы охлаждались на льду, в объеме 2 мкл переносились в PCR-тубы, помещались в специальные боксы аппарата и в течение 60 мин осуществлялась реакция смарт-амплификации.

В исследованиях использовали следующие праймеры:
набор праймеров GSTM1 дикого типа

GSTM1 TP	5'-GACAACCATATGAATTCTGGATTGTAGC-3'
GSTM1 FP	5'-ACCTTCTACCCCTCAGAAGGTGACATTTGGAGAACCAGAC-3'
GSTM1 BP	5'-CAGCTGGGCATGATCTG-3'
GSTM1 OP1	5'-GTTTTGTGGGTGGCAGGTGG-3'
GSTM1 OP2	5'-CCCAATCCAACTCTGTCA-3'

набор праймеров GSTT1 дикого типа

GSTM1 TP	5'-GACAACCATATGAATTCTGGATTGTAGC-3'
GSTM1 FP	5'-ACCTTCTACCCCTCAGAAGGTGACATTTGGAGAACCAGAC-3'
GSTM1 BP	5'-CAGCTGGGCATGATCTG-3'
GSTM1 OP1	5'-GTTTTGTGGGTGGCAGGTGG-3'
GSTM1 OP2	5'-CCCAATCCAACTCTGTCA-3'

Для контроля качества реакции использовался SmartAmp-2 кит эпидермического фактора роста (EGFR), праймерами которого являлись:

TP - 5'-CACCGCAGCATGTTCCGCACCCAGCAGTTG-3'

FP - 5'-CACCTTCACCCCTCAGAAGGTGACCTGGCAGCCAGGAACG-3'

BP - 5'-ACAGATTTTGGGCT-3'

OP1 - 5'-GACCGTCGCTTGGTGCAC-3'

OP2 - 5'-CCTCTTCTGCATGGTAT-3'

Генотипирование. Согласно общепринятому стандарту, в наших исследованиях делетированный GSTM1 ген обозначается как GSTM1 нулевой аллель, или GSTM1(-), гетерозиготы - GSTM1(+/-) и гомозиготы дикого типа GSTM1(+)/(+) в обоих случаях обозначаются как GSTM1(+). В отношении гена GSTT1 используются те же обозначения.

Статистический анализ

Стандартная ошибка вычислялась по формуле:

$$m = \pm \frac{\sqrt{n(100-n)}}{N}, \text{ где}$$

n - процентный показатель исследуемого конкретного гена, N - количество исследованных индивидов.

Для сравнения двух величин пользовались критерием Стьюдента (t):

$$t = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

Результаты и их обсуждение. На первом этапе работы определена частота полиморфизма GST генов (GSTT1, GSTM1) у здоровых индивидов грузинской популяции (Тбилиси, Восточная и Западная Грузия). Производили учет однуклеотидного полиморфизма - SNP в реальном вре-

мени по графикам амплификации, выносимых на монитор компьютера. В отдельные пробирки добавлялись наборы праймеров GSTT1, GSTM1 и EGFR генов и проводили учет

кривых амплификации (Рис. 1-4). Положительным сигналом считалось “движение” кривой вверх, отрицательным сигналом - “прямая линия”.

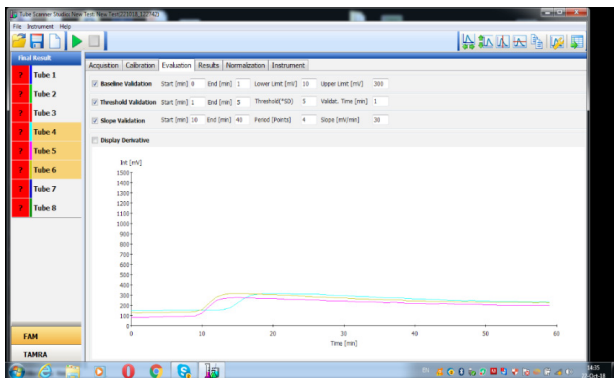


Рис. 1. Tube 4 – GSTT1 (+); Tube 5 – GSTM1 (+); Tube 6 – EGFR(+)

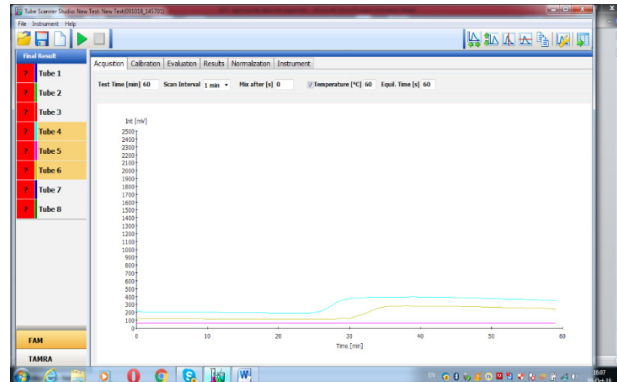


Рис. 2. Tube 4 – GSTT1 (+); Tube 5 – GSTM1 (-); Tube 6 – EGFR(+)

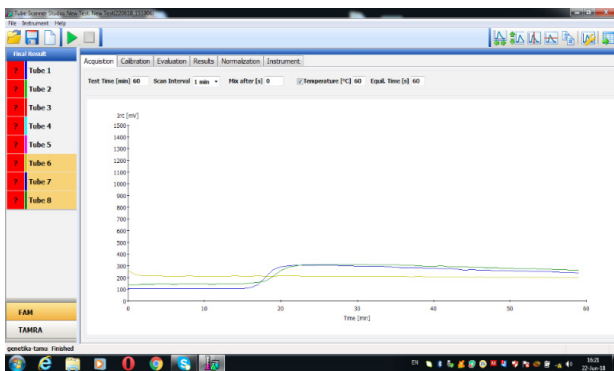


Рис. 3. Tube 6– GSTT1 (-); Tube 7 – GSTM1 (+); Tube 8 – EGFR(+)

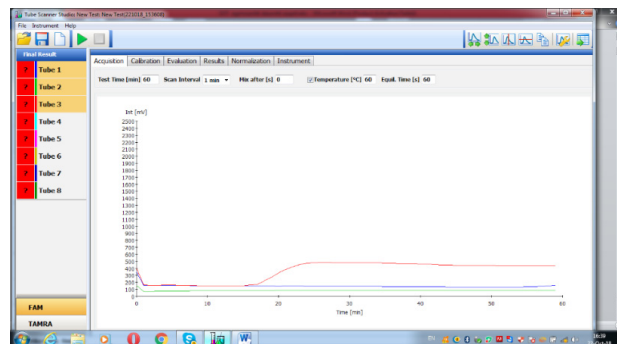


Рис. 4. Tube 1 – GSTT1 (-); Tube 2 – GSTM1 (-); Tube 3 – EGFR(+)

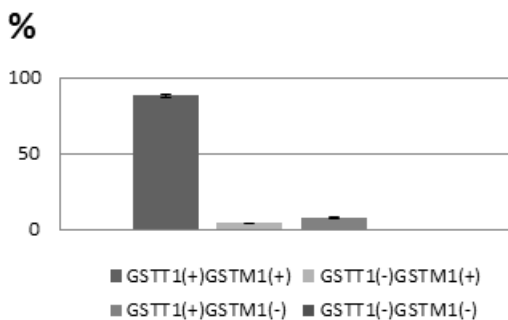


Рис. 5. Частота полиморфных вариантов GSTT1 и GSTM1 генов у индивидов Тбилисской популяции

Полиморфизм GST генов у здоровых индивидов Тбилисской популяции

Исследованию подверглись случайно отобранные здоровые индивиды Тбилисской популяции - 50 индивидов, в анамнезе которых не отмечались жалобы в отношении здоровья и не наблюдались изменения в функциональных тестах печени). Результаты исследования показали, что у 88% выявились GSTT1 и GSTM1 положительные генотипы, GSTT1(-)/GSTM1 (+) вариант был зафиксирован у 4% индивидов, а GSTT1(+)/GSTM1(-) у 8% (Рис. 5). Следует отметить, что двойные нулевые варианты не проявились.

Результаты исследований полиморфизма GST у популяции Восточной Грузии. Среди здоровых индивидов Восточной Грузии (n=50) при изучении полиморфизма GST генов

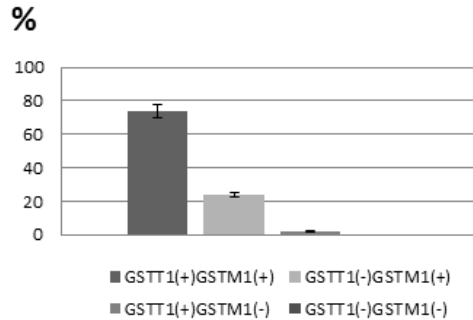


Рис. 6. Частота полиморфных вариантов GSTT1 и GSTM1 генов у лиц популяции Восточной Грузии

(GSTT1 и GSTM1 варианты) 74% оказались обладателями GSTT1 и GSTM1 положительных генотипов, GSTT1(-)/GSTM1(+), генотип зафиксирован у 24% индивидов, а генотип GSTT1(+)/GSTM1 (-) оказался у 2%. Двойные нулевые варианты - GSTT1(-)/GSTM1(-) не обнаружались и в этом случае (Рис. 6).

Результаты исследований полиморфизма GST у популяции Западной Грузии. Изучение полиморфизма у случайно отобранной клинически здоровых индивидов, относящихся к популяции Западной Грузии, показало, что носители GSTT1 и GSTM1 положительных генотипов составили 84%, носители варианта - GSTT1(-)/GSTM1(+), а вариант GSTT1(+)/GSTM1(-) оказался у 0% исследованных индивидов. Следует отметить, что в данной группе двойной

нулевой вариант - GSTT1(-)/GSTM1(-) отмечался у 8% исследованных лиц (Рис. 7). Все индивиды, носители двойного нулевого варианта, не имели проблем, связанных со здоровьем, не подвергались лечению сильнодействующими лекарственными препаратами и не имели изменений в функциональных тестах печени, тем не менее, исходя из генотипа, они относятся к риск-группе, так как в случае лечения определенными препаратами, у них может развиваться гепатотоксичность.

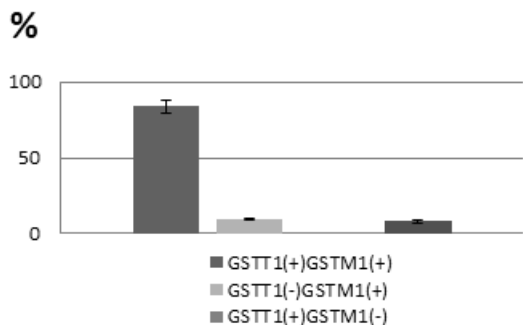


Рис. 7. Частота полиморфных вариантов GSTT1 и GSTM1 генов у лиц популяции Западной Грузии

Для создания полной картины распределения полиморфных вариантов GST генов по грузинской популяции в целом произведен суммарный анализ данных по популяциям Тбилиси, Восточной и Западной Грузии (n=151). В результате оказалось, что общепопуляционный показатель по GSTT1 и GSTM1 положительным вариантам гена GST составил 82%; по GSTT1(-)/GSTM1(+) варианту – 13%; по аллелю GSTT1(+)/GSTM1(-) у 2%; что касается двойного нулевого варианта GSTT1(-) /GSTM1(-), общепопуляционный показатель составил 3% (Рис. 8).

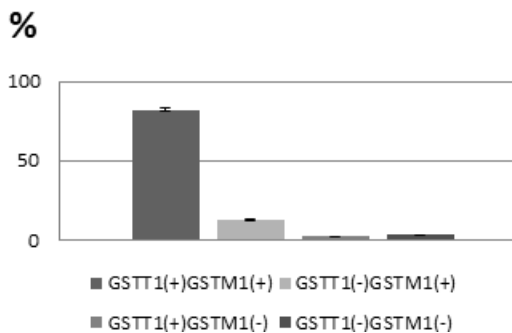


Рис. 8. Частота полиморфных вариантов GSTT1 и GSTM1 генов у здоровых индивидов грузинской популяции

Как отмечалось выше, согласно литературным данным, показатель полиморфных вариантов генов GST значительно варьирует по популяциям, в связи с чем, подчеркивается необходимость изучения отдельных популяций в данном направлении, что является необходимым условием при создании правильной схемы медикаментозного лечения [6]. При сравнении данных, полученных нами с данными, полученными для разных популяций, оказалось, что частоты полиморфных вариантов грузинской популяции совпадают с аналогичными данными, полученными, в основном, для европейских популяций. Например, двойные нулевые варианты для сербской популяции составили 1,6%, в грузинской популяции – 3%. Почти совпадают данные по GSTT1(-) GSTM1(+) генотипу как с показателями сербской попу-

ляции, так и с другими европейскими странами – с Италией [17], Финляндией, Швецией, Данией, Францией [5]. Что касается азиатских стран, напр., Турции GSTT1(-)/GSTM1(+) вариант зафиксирован в 81,9% изученной популяции [19], что отличается от полученного нами показателя. Что касается показателя по GSTM1(-)/GSTT1(+) варианту, полученный нами показатель для грузинской популяции отличается от показателей как европейских, так и азиатских популяций [8,9].

Полиморфизм GST генов в грузинской популяции больных туберкулезом индивидов. Проведено изучение полиморфных вариантов генов GST у лиц грузинской популяции, больных туберкулезом с целью выявления связи двойных нулевых вариантов генов - GSTT1 и GSTM1 с развитием гепатотоксичности при лечении антитуберкулезными препаратами. В результате исследований оказалось, что у 79% изученных нами пациентов выявились положительные генотипы изучаемых генов - GSTT1(+)/GSTM1(+); у 3% - вариант GSTT1(-)/GSTM1(+), а вариант по гену GSTT1(+)/GSTM1(-) у 6%, а двойной нулевой вариант - GSTT1(-) /GSTM1(-) у 12%, что значительно превышает общепопуляционный показатель для здоровых индивидов (Рис. 9). При этом, следует отметить, что показатель двойного нулевого варианта, достигающий 20%, зафиксирован только у больных туберкулезом пациентов, у которых в образцах отмечались нарушения функциональных показателей печени, а у индивидов, в образцах которых функциональные нарушения печени не отмечались двойные нулевые показатели изучаемых генов не выявлены (Рис. 10).

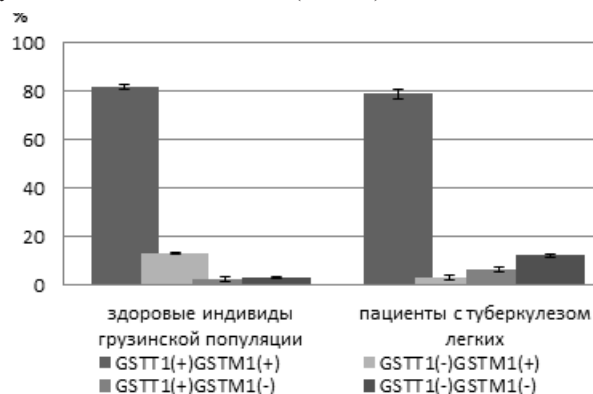


Рис. 9. Частота полиморфных вариантов GSTT1 и GSTM1 генов у здоровых и больных туберкулезом индивидов грузинской популяции

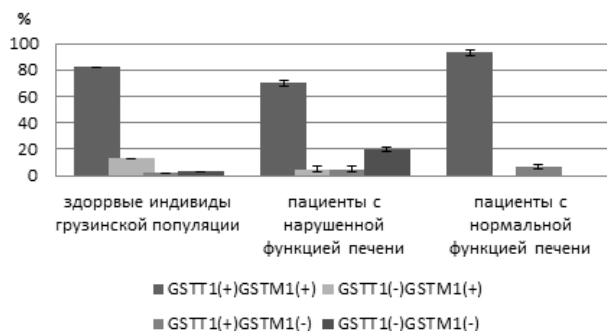


Рис. 10. Частота полиморфных вариантов GSTT1 и GSTM1 генов у здоровых и больных туберкулезом индивидов грузинской популяции с нарушенной и нормальной функцией печени

Связь полиморфных вариантов GST генов с развитием различных болезней активно исследуется во многих странах, в частности для Сербской популяции установлена связь GSTM1(-) генотипа и двойных нулевых генотипов GSTT1(-)/GSTM1(-) с атерогенезом, что, по мнению авторов, является важным маркером развития атеросклероза [6]. Результаты аналогичных исследований, проводимых в Тунисе, показали что гепатотоксичность, вызванная карбамазином, была выше у индивидов с генотипами GSTM1(-) или GSTT1(-)/GSTM1(-) [3]. Проведенные исследования Иранской популяции показали связь полиморфных вариантов GST генов с острой миелоидной лейкемией, в частности у 12% больных выявлен двойной нулевой генотип GSTT1(-)/GSTM1(-) [18].

Исходя из полученных нами данных, можно заключить, что существует связь между нулевыми генотипами GSTM1 и GSTT1 генов и обусловленным лекарствами поражением печени у больных туберкулезом индивидов грузинской популяции, подвергавшихся противотуберкулезному лечению.

Таким образом, полученные нами результаты позволяют рекомендовать при лечении пациентов антитуберкулезными препаратами предварительно проводить анализ полиморфизма GSTM1 и GSTT1 генов, и в случае выявления их нулевых генотипов, провести соответствующие превентивные мероприятия с целью предотвращения повреждений печени.

Исследования в данном направлении впервые проведены в Грузии.

Благодарность. Работа выполнена в рамках грантового проекта Национального научного фонда им. Шота Руставели - DI-2016-39

ЛИТЕРАТУРА

1. Abbas A, Delvinquiere K, Lechevrel M, et al. GSTM1, GSTT1, GSTP1 and CYP1A1 genetic polymorphisms and susceptibility to esophageal cancer in a French population: different pattern of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma // *World J Gastroenterol.* 2004;10: 3389–3393.
2. Buchard A, Sanchez JJ, Dalhoff K, Morling N. Multiplex PCR detection of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 Gene variants: simultaneously detecting GSTM1 and GSTT1 gene copy number and the allelic status of the GSTP1 Ile105Val genetic variant // *J Mol Diagn.* 2007; 9:612–617.
3. Chbili Ch, Hassine A, Fathallah N, et al. Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms and the risk of mild hepatotoxicity induced by carbamazepine in a Tunisian population study // *BMC Neurology* 2018; 18-24.
4. Devarbhavi H. Antituberculous drug-induced liver injury: current perspective // *Trop Gastroenterol.* 2011; 32(3):167-74.
5. Garte S, Gaspari L, et al. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001; 10:1239-1248.
6. Grubisa I, Otasevic P, Vucinic N, et al. Combined GSTM1 and GSTT1 null genotypes are strong risk factors for atherogenesis in a Serbian population // *Genetics and Molecular Biology* 2018; 41, 1: 35-40.
7. Gundacker C, Komarnicki G, Jagiello P, et al. Glutathione-S-transferase polymorphism, metallothionein expression, and mercury levels among students in Austria // *Sci Total Environ.* 2007; 385:37–47.
8. Gupta V, Singh M, Amarapurkar D, et al. Association of GST null genotypes with anti-tuberculosis drug induced hepatotoxicity in Western Indian population // *Ann Hepatol.* 2013; 12(6):959-965.
9. Kasthurinaidu S, Ramasamy T, Ayyavoo J, Dave D, Adroja D. *GSTM1-T1 null Allele Frequency Patterns in Geographically Assorted Human Populations: A Phylogenetic Approach* // *PLoS One.* 2015; 10(4): e0118660.
10. Liu L, Li C, Gao J, Li K, et al. Genetic polymorphisms of glutathione S-transferase and risk of vitiligo in the Chinese population // *J Invest Dermatol.* 2009; 129:2646–2652.
11. Magno LA, Talbot T, et al. Glutathione S-Transferase variants in a Brazilian population // *Pharmacology* 2009; 83:231–236.
12. Nafissi S, Saadat I, Saadat M. Genetics polymorphism of glutathione-S-transferase Z1 in Iranian population // *Mol Biol Rep.* 2011; 38:3391-3394.
13. Okada R, Ishizu Y, Endo R, et al. Direct and rapid genotyping of glutathione-S-transferase M1 and T1 from human blood specimens using the SmartAmp2 method // *Drug Metab Dispos.* 2010; 38, 10:1636- 1639.
14. Park WB, Kim W, Lee KL, et al. Antituberculosis drug-induced liver injury in chronic hepatitis and cirrhosis // *J Infect.* 2010; 61,4: 323-329.
15. Piacentini S, Polimanti R, Porreca F. GSTT1 and GSTM1 gene polymorphisms in European and African populations // *Mol Biol Rep.* 2011; 38:1225–1230.
16. Rafiee L, Saadat I, Saadat M. Glutathione S-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTT1 and GSTO2) in three Iranian population // *Mol Biol Rep,* 2010; 37:155-158.
17. Santovito A, Cervella P, et al. Analysis of glutathione S-transferase M1 and glutathione S-transferase T1 gene polymorphisms suggests age-related relationships in a northern Italian population // *Arch Toxicol.* 2008; 82:903-907.
18. Sheikhha MH, Kalantar M, Tobal K, John A, Yin L. Glutathione S transferases Null Genotype in Acute Myeloid Leukemia // *IJI* 2005; 3:141-151.
19. Unal M, Guven M, et al. Glutathione S transferase M1 and T1 genetic polymorphisms are related to the risk of primary open-angle glaucoma: a study in Turkish population // *Br J Ophthalmol.* 2007; 91:527-530.
20. Vettriselve V, Vijayalakshmi K, Solomon F, et al. Genetic variation of GSTM1, GSTT1 and GSTP1 genes in a South Indian population // *APJCP* 2006; 7:325-328.
21. Wang J, Zou L, Huang S, et al. Genetics polymorphism of glutathione-S-transferase genes GSTM1 and GSTT1 and risk coronary heart disease // *Mutagenesis* 2010; 25:365-369.
22. Watkins P, Desai M, et al. Evaluation of drug-induced serious hepatotoxicity (eDISH): application of this data organization approach to phase III clinical trials of rivaroxaban after total hip or knee replacement surgery // *Drug Saf.* 2011; 34, 3:243-252.
23. WHO, Global tuberculosis report (Geneva, Switzerland: World Health Organization) 2014; (accessed on June 29, 2015).

SUMMARY

FREQUENCY OF POLYMORPHIC VARIANTS OF GSTT1 AND GSTM1 GENES IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS IN GEORGIAN POPULATION

¹Jokhadze T., ¹Buadze T., ¹Gaiozishvili M., ²Kiria N., ¹Khujadze I., ¹Lezhava T.

¹I. Javakhishvili Tbilisi State University; ²National Center of Tuberculosis and Lung Diseases, Tbilisi, Georgia

A study was made for determining the frequencies of polymorphic variants of GST genes - GSTM1 and GSTT1, both among

healthy individuals of the Georgian population (the Tbilisi population, populations of Eastern and Western Georgia), and among patients with tuberculosis; was also conducted a study on the relationship of certain genotypes with hepatotoxicity in patients taking anti Pulmonary Tuberculosis (PT) treatment.

As a result of the analysis, it turned out that the general population indicator for healthy individuals for GSTT1 and GSTM1 positive variants of GST genes was 82%; for GSTT1 (-) / GSTM1 (+) variant was 13%; The GSTT1 (+) / GSTM1 (-) genotype was observed in 2%; as for the double null genotype - GSTT1 (-) / GSTM1 (-), the total population indicator was 3%. As for individuals suffering pulmonary tuberculosis, it turned out that 79% of studied patients revealed positive genotypes by the studied genes - GSTT1 (+)/GSTM1 (+); 3% have the GSTT1(-)/GSTM1(+) genotype; the genotype GSTT1(+)/GSTM1(-) was observed in 6% of investigated individuals, and the double null genotype - GSTT1 (-) / GSTM1 (-) - in 12%, which significantly exceeds the general population indicator for healthy individuals. The results of the studies also showed that there is a relationship between the double null genotypes of GSTM1 and GSTT1 genes and drug induced liver injury in patients with pulmonary tuberculosis, in Georgian population.

It has been suggested that it is possible to recommend a preliminary analysis of the polymorphism of GSTM1 and GSTT1 genes in patients with pulmonary tuberculosis, before starting antituberculous treatment, for preventive measures in the case of detection of double null genotypes. It should be noted, that this study has been conducted in Georgia first time.

Keywords: GST genes, hepatotoxicity, Pulmonary Tuberculosis, Polymorphism.

РЕЗЮМЕ

ЧАСТОТА ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ GSTT1 И GSTM1 ГЕНОВ У ПАЦИЕНТОВ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ В ГРУЗИНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

¹Джохадзе Т.А., ¹Буадзе Т.Ж., ¹Гаიозшвили М.Н.,
²Кириа Н.А., ¹Худжадзе И.Г., ¹Лежава Т.А.

¹Тбилисский государственный университет им. И. Джавахишвили; ²Национальный центр туберкулеза и болезней легких, Тбилиси, Грузия

Проведено исследование частот полиморфных вариантов GST генов - GSTM1 и GSTT1 как среди здоровых индивидов грузинской популяции (Тбилисская популяция, популяции Восточной и Западной Грузии), так и среди больных туберкулезом; проведено также изучение связи определенных генотипов с гепатотоксичностью у пациентов, принимающих противотуберкулезное лечение.

В результате проведенного анализа оказалось, что общепопуляционный показатель для здоровых индивидов по GSTT1 и GSTM1 положительным вариантам генов GST составил 82%; по GSTT1(-)/GSTM1 (+) варианту – 13%; по варианту GSTT1(+)/GSTM1 (-) у 2%; что касается двойного нулевого варианта GSTT1(-)/GSTM1(-), общепопуляционный показатель составил 3%. Что касается больных туберкулезом индивидов оказалось, что у 79% изученных нами пациентов выявились положительные генотипы изучаемых генов - GSTT1(+)/GSTM1(+); у 3% - генотип GSTT1(-)/GSTM1(+); генотип GSTT1(+)/GSTM1(-) у 6%, а двойной нулевой вариант - GSTT1(-)/GSTM1(-) у 12%, что значительно превышает

общепопуляционный показатель для здоровых индивидов. Результаты исследований также показали, что существует связь между нулевыми генотипами GSTM1 и GSTT1 генов и, обусловленной лекарствами поражения печени у больных туберкулезом индивидов грузинской популяции.

Высказано предположение о возможности рекомендации предварительного проведения анализа полиморфизма GSTM1 и GSTT1 генов у больных туберкулезом для проведения превентивных мероприятий в случае обнаружения их нулевых генотипов. Следует отметить, что исследования в данном направлении в Грузии ранее не проводились.

რეზიუმე

GSTT1 და GSTM1 გენების პოლიმორფული ვარიანტების სისშირე ქართული პოპულაციის ფილტვის ტუბერკულოზით დაავადებულ პაციენტებში

¹თ.ჯოხაძე, ¹თ.ბუაძე, ¹მ.გაიოზიშვილი, ²ნ.ქირია, ¹ი.ხუჯაძე, ¹თ.ლეჟავა

¹ი.ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი; ²ტუბერკულოზისა და ფილტვის სნეულეზათა ეროვნული ცენტრი, თბილისი, საქართველო

ჩატარებულია GST გენების GSTM1 და GSTT1 პოლიმორფული ვარიანტების სისშირის კვლევა ქართული პოპულაციის როგორც ჯანმრთელ, ისე ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში. შესწავლილია გარკვეული გენოტიპების კავშირი პაციენტებში ანტიტუბერკულოზური პრეპარატებით განპირობებულ ჰეპატოტოქსიკურობასთან.

ჩატარებული ანალიზის შედეგად აღმოჩნდა, რომ ზოგად პოპულაციურმა მანვენებელმა ჯანმრთელი ინდივიდებში GSTM1 და GSTT1 დადებითი ვარიანტებისათვის შეადგინა 82%; GSTT1(-)/GSTM1(+) ვარიანტისათვის - 13%; GSTT1(+)/GSTM1(-) ვარიანტისათვის - 2%; ორმაგი ნულოვანი ვარიანტების - GSTT1(-)/GSTM1(-) მატარებელთა სისშირე კი 3%-ს უტოლდებოდა. რაც შეეხება ტუბერკულოზით დაავადებულებს, აღმოჩნდა, რომ ჩვენს მიერ გამოკვლეული პაციენტების 79%-ს გამოუვლინდა დადებითი გენოტიპები შესასწავლი გენების მიხედვით - GSTT1(+)/GSTM1(+); 3%-ს - GSTT1(-)/GSTM1(+) გენოტიპი; GSTT1(+)/GSTM1(-) ვარიანტი დაფიქსირდა გამოკვლეული ინდივიდების 6%-ში; GST გენების ორმაგი ნულოვანი ვარიანტი - GSTT1(-)/GSTM1(-) კი აღინიშნა ინდივიდთა 12%-ში, რაც მნიშვნელოვნად აღემატებოდა ჯანმრთელი ინდივიდების ზოგადპოპულაციურ მანვენებელს. კვლევის შედეგებმა აჩვენა, აგრეთვე, რომ არსებობს კავშირი GSTM1 და GSTT1 გენების ნულოვან ვარიანტებსა და ქართული პოპულაციის ტუბერკულოზით დაავადებულ ინდივიდებში ანტიტუბერკულოზური სამკურნალწამლო პრეპარატებით განპირობებულ ღვიძლის დაზიანებებს შორის.

გამოთქმულია მოსაზრება GSTM1 და GSTT1 გენების პოლიმორფიზმის წინასწარი ანალიზის ჩატარების რეკომენდირებასთან დაკავშირებით პაციენტთა ანტიტუბერკულოზური მკურნალობის დაწყებამდე, რაც ამ გენების ნულოვანი ვარიანტების გამოვლენის შემთხვევაში შესაძლებელს გახდის პრევენტიული ღონისძიებების გატარებას. კვლევები აღნიშნული მიმართულებით საქართველოში პირველად ჩატარდა.

HISTOMORPHOMETRIC EVALUATION OF BONE REPAIR AFTER CARBON/CARBON COMPOSITE IMPLANTATION IN LUMBAR VERTEBRAE IN RATS

¹Popov A., ¹Ashukina N., ¹Maltseva V., ²Gurin I., ¹Ivanov G.

¹Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkiv;

²National Science Center "Kharkiv Institute of Physics and Technology", Ukraine

Carbon is one of the materials used since the 1980s in orthopedics and traumatology for endoprosthesis, osteosynthesis, as a plastic material [2,19]. Its advantages over metals include high durability, elasticity, biocompatibility and non-toxicity [3,16]. There is a reported use of gas-deposited pyrocarbon in orthopedics for endoprosthesis of hand [3] and wrist [22], and more recently, of humerus heads [12], as interbody implants [15,27].

Spine surgery requires regular rethinking of approaches to select materials for reconstructive and regenerative interventions. The development of the latest technologies makes it possible to solve this problem. In the case of vertebrectomy of thoracolumbar spine titanium implants are mainly used [21]. However, in the case of postoperative CT or MRI examination of the spine after a metallic construction is installed, the effect of increasing the hard radiation or blurring of the image is observed on the CT scan, and on the MRI shows the magnetic susceptibility artifact [24]. Ernstberger T. et al. compared the number of artifacts occurring on MRI scans of intervertebral spacers for anterior spine fusion made of different materials (titanium, cobalt-chromium and carbon) and found that the smallest amount was determined after using a carbon implant and the largest amount was determined after titanium implantation [11]. These effects prevent determination of the condition of the area of surgical intervention, which is critical in the treatment of patients with tumor and metastatic spine injuries – the most difficult group for diagnostics and treatment. It's particularly important for such patients to control the dynamics after combined treatment, including surgery, to detect possible recurrence. The presence of metal implants can make it difficult to obtain high-quality results from radiation testing and MRI. In particular, it is difficult to determine the condition of the components of the vertebral motor segments around the implant and in the spinal canal in the case of installing a transpedicular structure that fixes the higher and lower vertebra beyond the lesion, and the interbody implant replaces the affected vertebra.

Taking into account all the mentioned above it is necessary that implants, in addition to strength and biocompatibility, do not create artifacts in MRI and CT scans. Pyrocarbon-based materials (pyrolytic carbon, pyrocarbon, Pyrolytic carbon) can be used to manufacture such implants. The use of flexible pyrolytic graphite (PG) composite foam during MRI examination of the cervical spine has been found to reduce the number of artifacts from 16% to 2% by improving the uniformity of the B0 field by eliminating noise created by adipose tissue [20]. It is likely that the use of pyrocarbon implants may also improve the quality of postoperative MRI examination in patients with tumor resection, given that with age the amount of fat in bone tissue increases due to the replacement of red bone marrow by yellow one. Carbon-fiber cage is known to be used successfully in corpectomy in thoracolumbar spine, and one of the benefits of using it is full transparency for X-ray in the condition of further monitoring of the fusion zone in these patients [15].

Another unresolved problem of interbody implants usage in corpectomy is their subsidence over time into adjacent vertebral bodies. Patients with anterior cervical corpectomy (n=75) were

found to have a significantly lower carbon-fiber cage subsidence level than titanium mesh cages and titanium expandable cages (0.7 mm vs. 2.9 mm, average) [27]. The results of a clinical follow-up of 102 patients over 3.5 years have recently been published, demonstrating the safety of using carbon-fiber cage implants in anterior cervical corpectomy with a subsidence level greater than 3 mm only in 9 patients [6].

One of the characteristics of pyrocarbon is the ability to absorb phospholipids (molecules that synthesize synoviocytes of the articular capsule) and on its surface to form a film that prevents the material wear [3]. In addition, its elastic modulus is similar to compact bone, which is results in its successful use as a material for endoprosthetic leg [14]. However, information on the osseointegration and osteoinductive properties of pyrocarbon is controversial and obtained under experimental conditions. In particular, in a rabbit study using pyrocarbon implants installed in the distal femur, after 12 weeks their osseointegration was worse compared to titanium implants as a result of histomorphometric and radiographic analyzes [8]. S. L. Salkeld and co-authors compared Co-Cr and pyrocarbon implants in focal osteochondral defects in medial femoral condyle Beagle dogs and found no difference in osseointegration rates at 12, 24, and 52 weeks [23]. In a study of the regeneration of the distal femur of rats with implanted carbon material, the formation of spongy bone was observed in 16 weeks after implantation [25]. Therefore, osseointegration of pyrocarbon implants is an unknown issue and needs to be studied.

The aim is to study the characteristics of bone regeneration under the conditions of implantation of carbon/carbon composite material with and without pyrocarbon coating in the vertebral bodies of rat.

Material and methods. The study used carbon-carbon composite material (c/c composite) with and without pyrocarbon coating. C/c composite was created in the National Science Center "Kharkiv Institute of Physics and Technology" (NSC KIPT). The peculiarity of such material is the use of viscose carbon fibers to create a reinforcing frame and original thermal gradient gas-phase methods for sealing the reinforcing frame with pyrocarbon. Thus, the material is a composite in which the pyrocarbon matrix is further strengthened with carbon fibers. The obtained c/c composite has a high intrinsic purity [18], tensile and flexural strength at 120-240 MPa and an elastic modulus at 16-20 GPa. Internal open (transport) porosity is 4-12%, which will facilitate the diffusion of biological fluids at the implant site.

The surface of c/c composite sample was further deposited with a pyrocarbon layer using gas-phase methods at 900-1000°C by pyrolysis of natural gas (methane content ~ 90%) thus c/c composite & pyrocarbon coating (c/c composite & PC) was obtained. Such a surface layer, if not further machined, has a silver color, high roughness and a reduced "marking" inherent to the surfaces of conventional c/c composite after machining. Increased microroughness has been found to support osseointegration of implants, particularly when used for spinal fusion [13].

C/c composite & PC, taking into account the similarity of the

coating and the matrix of the base material, should retain all the benefits of the c/c composite implants, including, above all, high biocompatibility.

The study was performed on 18 white mature laboratory male rats (6-7 months old, 250-350 g weight) of the population of the experimental-biological clinic of the State Institution "Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology National Academy of Medical Science of Ukraine" in compliance with the rules of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals, which are used for experimental and other scientific purposes and the Law of Ukraine on the Protection of Animals from Cruelty [7, 26]. Experiments on animals were approved by the Committee on Bioethics at the SI «Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology NAMS» (protocol № 164 from 04/18/2017). Rats were randomly divided into two groups (9 animals each) for surgery to implant carbon/carbon composite with and without coating.

The rats were fixed in the supine position, hair was cut, and the operating field treated with Betadine® antiseptic. Under general anesthesia (ketamine (50 mg/kg, intramuscularly), a linear incision was made along the median line of the abdomen in the projection of the lumbar spine. From the anterior access the lumbar motor segment (L_{II}-L_{IV}) was carefully opened. A hole defect was created in the body of the L_{III} vertebra using tooth boron (2 mm diameter). This stipulated the size of the implant – diameter 2 mm, depth 2 mm. The c/c composite implant or c/c composite & PC implant were placed in the defect of vertebra using a press-fit technique. After the wound was treated with a dry antibiotic and sewn in layers.

Euthanasia of rats was performed after 15, 30 and 90 days (5 animals in each group) after surgery by administering a lethal dose of anesthetic (sodium thiopental, 90 mg/kg intramuscularly).

After the rats were sacrificed lumbar motor segment (L_{II}-L_{IV}) with implant was extracted, fixed in a solution of 10% formalin, decalcified in a 10% solution of formic acid. After decalcification, the implant was carefully removed with a preparatory needle from L_{III} vertebra, which later was dehydrated in alcohols of increasing concentration and a mixture of paraffin and xylene (1:1), poured into paraffin.

Axial histologic sections of L_{II}-L_{IV} lumbar segments were prepared on the Reichert microtome (Austria), stained with hematoxylin and eosin and by Van Gieson. The cell structure and extracellular substance structure were analyzed by Olympus BX63 microscope (Japan) and photographed using Olympus DP73 camera.

At the site of implantation of carbon implants on axial histological sections (3 from each animal), the percentage of newly formed tissue (bone tissue, connective tissue) contact with the implant was evaluated using CellSens Dimension 1.8.1 software (Olympus, 2013) for the Olympus BX-63 microscope (2×).

The data are presented as mean ± standard deviation (SD). One-way ANOVA analysis was used to detect the effect of post-implantation time (15, 30, and 90 days) on osseointegration of carbon materials in the c/c composite group and in the c/c composite & PC group. Student's t-test (unpaired t-test) was used to evaluate the quality of osseointegration of different carbon materials (coated and uncoated) after 15, 30, and 90 days.

Results and their discussion. All test rats showed a decrease in appetite and motor activity during the first two days after surgery. On the 3rd day there was an increase in physical activity and appetite recovery. Primary wound healing was recorded in all rats at the 3-4th day. Starting with the 4-5th day after implantation and throughout the observation, the animals have completely restored their life.

Histological analysis. 15 days after implantation. In the course of histological examination, the location of the defect in the vertebral body of both study groups was determined by the presence of a cavity formed after implant extraction. The formation of a mature granulation tissue with a significant cell density of fibroblastic and osteoblastic differons with large basophilic nuclei and advanced cytoplasm, which indicates the biosynthesis of protein, was determined along the perimeter of the implantation area from the bone tissue of the vertebral body. Single macrophages and carbon fragments were observed in the granulation tissue layer without signs of inflammatory reaction around them (Fig. 1a, b).

The newly formed bone tissue in the form of fine-meshed coarse fibrous trabeculae was found in a larger area of the perimeter of the implant separated from it by a layer of fibroreticular tissue, but in some areas was located directly on the surface of the carbon material. The newly formed bone trabeculae contained an increased number of brightly colored osteocytes, and functionally active osteoblasts were located on their outer surface, indicating the course of reparative osteogenesis. The newly formed bone tissue was closely layered on the native bone, forming a close contact. The inter-trabecular spaces of the newly formed trabecular bone contained a fibrous connective tissue with thin-walled single vessels.

According to the results of histomorphometric analysis, the content of bone tissue along the perimeter of the c/c composite & PC implant was not significantly different from the indicators in the c/c composite group for this period of observation (Table).

In the native cortical bone and bone trabeculae near the implantation site destructive changes were observed in the form of micro cracks and bone fragments resulting from traumatic damage during the formation of the defect for the implant. At the distance from the implantation area, the bone structure of the vertebral body was normal. The periosteum was expanded on the implant adjacent areas due to the formation of osteogenic and fibrotic layers.

30 days after implantation. Histologically the formation of two types of tissues was revealed around the implantation site and the c/c composite and the c/c composite & PC. They were woven bone and connective tissue of varying maturity (Fig. 1c, d). Young bone tissue was characterized by an increased density of osteocytes and osteoblasts on the surface of the bone trabeculae. In the connective tissue and in the inter-trabecular spaces near the implantation site, micro particles of carbon material were observed whose size was larger when using c/c composite.

Based on histomorphometric analysis, it was determined that the relative bone content around c/c composite decreased 1.3 times ($p < 0.01$) compared to 15 days of observation and was statistically significantly less 1.4 times ($p < 0.001$) than in the c/c composite & PC group (Table).

90 days after implantation. During histological examination of the area of the defect after implantation of c/c composite and c/c composite & PC significant differences were not observed. Around the implanted carbon material, the formation of a layer of lamellar bone tissue with newly formed bone trabeculae that closely contacted the implant and cortical bone of the vertebral body was noted. It was characterized by high density of osteocytes; vascular canals, basophilia, and the divergence of cementation lines were formed on some trabeculae which can be explained by the reorganization of the regenerate near the implant material. Between the implantation area and the newly formed trabeculae, layers of connective tissue were found in which carbon material particles were located in some places (as in the pre-

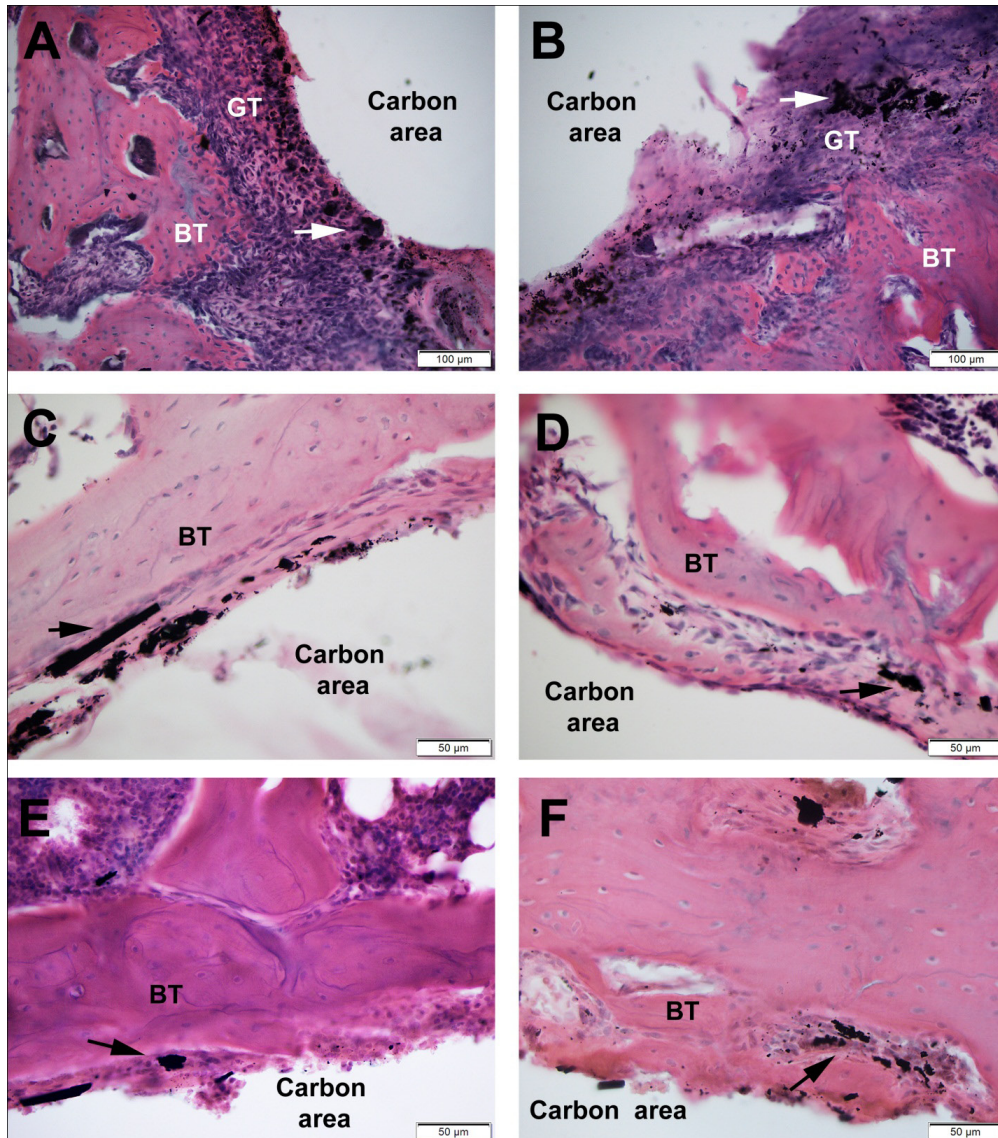


Fig. 1. Histological analysis of osseointegration of two type of carbon materials: carbon/carbon composite without coating (a, c, e) and carbon/carbon composite with coating (b, d, f) at 15th (a, b), 30th (c, d) and 90th (e, f) days after implantation in L_{III} vertebral body of rats. BT–bone tissue, GT–granulation tissue, arrow–carbon material fragments. Hematoxylin and eosin staining

Table. The relative content of tissues (%) in contact with implanted carbon material in the rats' vertebral body L_{III} at 15, 30 and 90 days after implantation

Terms	Bone tissue contact (SD)	Soft tissue contact (SD)	unpaired t-test*	one-way ANOVA**
Carbon/carbon composite				
15 days (n = 3)	64,14 ± 7.44	36,86 ± 7.45	–	p<0.01
30 days (n = 3)	48,98 ± 10.54	51,02 ± 10.54	–	ns
90 days (n = 3)	50,70 ± 14.20	49,30 ± 14.20	–	ns
Carbon/carbon composite & pyrocarbon coated				
15 days (n = 3)	67,14 ± 8.71	32,86 ± 8.71	ns	ns
30 days (n = 3)	70,08 ± 5.69	29,92 ± 5.69	p<0.001	ns
90 days (n = 3)	71,71 ± 6.04	28,29 ± 6.04	p<0.001	ns

Difference between mean values in groups carbon/carbon composite and carbon/carbon composite & pyrocarbon coated:

*compare same study periods using the different material type (unpaired t-test),

**compare different study periods when using the same material type (one-way ANOVA).

Statistical significance provided p < 0.05. SD – standard deviation

vious observation period without signs of inflammation). In some places, carbon contacted directly with the bone marrow of adjacent inter-trabecular spaces, indicating its compatibility with the bone. Carbon micro fragments were also detected in the inter-trabecular spaces of the newly formed bone tissue (Fig. 1 e, f).

According to the histomorphometric study the groups differed significantly: the relative bone content at the border with the implant was 1.4 times higher ($p < 0.001$) when using the c/c composite & PC than when using the c/c composite implant (Table).

Native bone tissue, at a distance from the defect, was in accordance with the norm.

Carbon material was considered promising for use in orthopedics and traumatology due to the ability to regulate mechanical properties as early as in the 1980s and 1990s [5]. Experimental studies have proved its biocompatibility and safety [19]. The growth of osteoblasts on nanosized carbon fibers has been shown in cell culture [10]. It was established that the introduction of c/c composite specimens into a hole defect in the distal metaphysis of the femur of rats does not disturb the course of bone regeneration in the peripheral departments of the defect [9,19]. In clinical practice, carbon implants are used in areas with high friction (phalangeal joints, shoulder joints) [3,12,22] and for the formation of spinal fusion at various levels after corpectomy (interbody implants) [15,27]. The use of carbon materials in the case of spinal reconstruction in cancer patients is promising, since carbon will not create artifacts on MRI and CT imaging [15,20], which is critical for postoperative monitoring of such patients.

Despite the long period of development and study of the behavior of carbon materials under bone implantation, the data regarding their osseointegration are controversial. In particular, osseointegration was worse in comparison with titanium implants in the rabbit experiment [8], and did not differ in comparison with Co-Cr implants in the Beagle dogs' study for the same study period (12 weeks) [23]. However, the evaluation of osseointegration is a necessary step in the development of plastic materials for use in skeletal reconstruction, since it is this index that determines the stability of the implant fixation and depends on the speed of bone formation and reorganization around it [1,17]. That is, this issue needs further study, especially in the context of materials modification, including carbon.

The results of morphological study of vertebral bodies of the lumbar spine of rats after implantation of two types of carbon materials – carbon/carbon composite and carbon/carbon composite coated pyrocarbon are presented. We identified the same direction of bone regeneration around both types of carbon materials. In the case of using c/c composite & PC 90 days after its installation, direct contact with the lamellar bone (osseointegration) on $71.71 \pm 1.56\%$ of the surface was determined. This indicator was 1.4 times greater ($p < 0.001$) than in the case of using c/c composite, where the relative length of bone contact was $50.70 \pm 3.67\%$. Some researchers cite significantly lower figures – $20.8 \pm 6.3\%$ for 84 days from the date of carbon implant implantation in focal osteochondral defects in the medial femoral condyle Beagle dogs [23] due to the location of the implant and its possible instability, as well as the lower rate of tissue regeneration in dogs compared to rats. In the experiment [4] on rabbits using c/c composite coated with pyrocarbon implanted in the upper jaw, faster spongy bone formation was observed at 15 days and fully matured bone tissue at 84 days compared to c/c composites.

The migration of carbon particles was observed in small areas in histological analysis without signs of inflammatory reaction around them, which confirms the biocompatibility of the studied carbon materials. Earlier in the case of implantation of c/c com-

posite into the subcutaneous adipose tissue of rats, no carbon microparticles were detected after 3 and 12 months in the internal organs (liver, kidneys, lungs) [19], which is also a confirmation of its biocompatibility. The direct contact of the material with the bone and bone marrow of the inter-trabecular spaces reflects its biocompatibility with these tissues and its ability to osseointegration [1].

Conclusion. The investigated carbon/carbon composite & pyrocarbon coated implants and carbon/carbon composite without coated are characterized by biocompatibility, do not disturb the course of bone regeneration, do not cause inflammatory processes and productive reactions. Osseointegration qualities are better in carbon/carbon composite & pyrocarbon coated.

REFERENCES

1. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. // *Eur Spine J.* 2001 Oct;10 Suppl 2(Suppl 2):S96-101.
2. Beckenbaugh RD. Preliminary experience with a noncemented nonconstrained total joint arthroplasty for the metacarpophalangeal joints Orthopedics. 1983 Aug 1;6(8):962-5.
3. Bellemère P. Pyrocarbon implants for the hand and wrist. // *Hand Surg Rehabil.* 2018 Jun;37(3):129-15.
4. Blazewicz M. Carbon materials in the treatment of soft and hard tissue injuries. // *Eur Cell Mater.* 2001 Aug 30;2:21-9.
5. Brückmann H, Hüttinger K. Carbon, a promising material in endoprosthetics. Part 1: the carbon materials and their mechanical properties. // *Biomaterials.* 1980 Apr;1(2):67-72.
6. Cawley DT, Alzakri A, Fujishiro T, Kieser DC, Tavalaro C, Boissiere L, Obeid I, Pointillart V, Vital JM, Gille O. Carbon-fibre cage reconstruction in anterior cervical corpectomy for multilevel cervical spondylosis: mid-term outcomes. // *J Spine Surg.* 2019 Jun;5(2):251-258.
7. Council of Europe. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. 1986, Mar 18. Available from: <http://www.worldlii.org/int/other/treaties/COETSER/1986/1.html>
8. Daecke W, Veyel K, Wieloch P, Jung M, Lorenz H, Martini AK. Osseointegration and mechanical stability of pyrocarbon and titanium hand implants in a load-bearing in vivo model for small joint arthroplasty. // *J Hand Surg Am.* 2006 Jan;31(1):90-7.
9. Dedukh N, Karpinsky M, Chzhou L, Malyskina S. Regeneration and mechanical strength of bone in the implantation conditions of carbon material. // *Ortop Travmatol Protez.* 2016;(3):41-47.
10. Elias KL, Price RL, Webster TJ. Enhanced functions of osteoblasts on nanometer diameter carbon fibers. // *Biomaterials.* 2002 Aug;23(15):3279-87.
11. Ernstberger T, Heidrich G, Bruening T, Krefft S, Buchhorn G, Klinger HM. The interobserver-validated relevance of intervertebral spacer materials in MRI artifacting. // *Eur Spine J.* 2007 Feb;16(2):179-85.
12. Garret J, Harly E, Le Huec JC, Brunner U, Rotini R, Gode-nèche A. Pyrolytic carbon humeral head in hemi-shoulder arthroplasty: preliminary results at 2-year follow-up. // *JSES Open Access.* 2018 Dec 24;3(1):37-42.
13. Gittens RA, Olivares-Navarrete R, Schwartz Z, Boyan BD. Implant osseointegration and the role of microroughness and nanostructures: lessons for spine implants. // *Acta Biomater.* 2014 Aug;10(8):3363-71.
14. Hassler M. Other commonly used biomedical coatings: pyrolytic carbon coatings. In: Driver M., editor. *Coatings for biomedical applications.* Woodhead Publishing; 2012. p. 75-105.

15. Heary RF, Khetepal A, Mammis A, Kumar S. Stackable carbon fiber cages for thoracolumbar interbody fusion after corpectomy: long-term outcome analysis. // *Neurosurgery*. 2011;68(3): 810-819.
16. Hillock R, Howard S Utility of carbon fiber implants in orthopedic surgery: literature review. // *Reconstructive Review*. 2014;4(1):23-32.
17. Javed F, Ahmed HB, Crespi R, Romanos GE. Role of primary stability for successful osseointegration of dental implants: Factors of influence and evaluation. // *Interv Med Appl Sci*. 2013 Dec;5(4):162-7.
18. Kaplenko OG, Gurin IV, Yakovitskaya TS. Cleanliness of graphite and carbon composite materials. // *Probl Atomic Sci Technol*. 2011;72(2):132-6.
19. Korzh M, Dedukh N, Tyazhelov O, Chzhou L. Experimental-clinical study of carbon biomaterials application in orthopedics and traumatology (literature review) [in Russian]. *Ortop Travmatol Protez*. 2017;(2):114-121.
20. Lee G, Jordan C, Tiet P, Ruiz C, McCormick J, Phuong K, Hargreaves B, Conolly S. Improved frequency selective fat suppression in the posterior neck with tissue susceptibility matched pyrolytic graphite. // *J Magn Reson Imaging*. 2015 Mar;41(3):684-93.
21. Papanastassiou ID, Gerochristou M, Aghayev K, Vrionis FD. Defining the indications, types and biomaterials of corpectomy cages in the thoracolumbar spine. // *Expert Rev Med Devices*. 2013 Mar;10(2):269-79.
22. Russo S, Bernasconi A, Busco G, Sadile F. Treatment of the trapeziometacarpal osteoarthritis by arthroplasty with a pyrocarbon implant. // *Int Orthop*. 2016 Jul;40(7):1465-71.
23. Salkeld SL et al. Biological and functional evaluation of a novel pyrolytic carbon implant for the treatment of focal osteochondral defects in the medial femoral condyle: assessment in a canine model. // *J Orthop Surg Res*. 2016 Dec 1;11(1):155.
24. Stradiotti P, Curti A, Castellazzi G, Zerbi A. Metal-related artifacts in instrumented spine. Techniques for reducing artifacts in CT and MRI: state of the art. // *Eur Spine J*. 2009 Jun;18 Suppl 1(Suppl 1):102-8.
25. Tyazhelov OO, Ashukina NO, Ivanov GV, Komarov MP. Assessment of biocompatibility of carbon-carbon composite material in the experiment [in Ukrainian]. // *Ortop Travmatol Protez*. 2006;(4):47-50.
26. Verkhovna Rada of Ukraine. The law of Ukraine on the protection of animals from cruel treatment. 2006 Jun 2. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>
27. Weber MH, Fortin M, Shen J, Tay B, Hu SS, Berven S, Burch S, Chou D, Ames C, Deviren V. (2017). Graft Subsidence and Revision Rates Following Anterior Cervical Corpectomy. // *Clin Spine Surg*. 2017 Nov;30(9):E1239-E1245.

SUMMARY

HISTOMORPHOMETRIC EVALUATION OF BONE REPAIR AFTER CARBON/CARBON COMPOSITE IMPLANTATION IN LUMBAR VERTEBRAE IN RATS

¹Popov A., ¹Ashukina N., ¹Maltseva V., ²Gurin I., ¹Ivanov G.

¹Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkiv; ²National Science Center "Kharkiv Institute of Physics and Technology", Ukraine

The aim is to study the characteristics of bone regeneration under the conditions of implantation of carbon/carbon compos-

ite material with and without pyrocarbon coating in the vertebral bodies of rat.

C/c composite (n=9) or c/c composite & PC (n=9) were implanted into hole defects in the L_{III} vertebral bodies of white laboratory male rats (6-7 months, weight 250-350 g). The material was made in the form of a cylinder (diameter 2 mm, height 2 mm). Histological and histomorphometric study were performed at 15, 30 and 90 days after implantation.

After 15 days, bone and granulation tissues were found in the ratio of 1/2 along the perimeter of both materials. After 30 days, fibroreticular bone tissue and connective tissue of varying degrees of maturity formed around the implants. The relative content of new formed bone tissue near the c/c composite after 30 and 90 days was 1.4 times lower (p<0.001) compared with the c/c composite and PC group.

The studied materials are biocompatible, do not interfere with bone regeneration, and do not cause inflammatory reactions. Osseointegration qualities are higher for the c/c composite & pyrocarbon coated.

Keywords: carbon-carbon composite, pyrolytic carbon, lumbar spine, rats, osseointegration.

РЕЗЮМЕ

ГИСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТИ ПОСЛЕ ИМПЛАНТАЦИИ УГЛЕРОД/УГЛЕРОДНОГО КОМПОЗИТА В ПОЗВОНКИ ПОЯСНИЧНОГО ОТДЕЛА ПОЗВОНОЧНИКА КРЫС

¹Попов А.И., ¹Ашукина Н.А., ¹Мальцева В.Е.,
²Гурин И.В., ¹Иванов Г.В.

¹ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов им. проф. М.И. Ситенко Национальной академии медицинских наук Украины», Харьков; ²Национальный Научный центр «Харьковский физико-технический институт», Украина

Цель исследования - определить особенности регенерации кости после имплантации в тела позвонков крыс углерод-углеродного композитного материала с покрытием пироуглеродом и без него.

В дефекты тел L_{III} позвонков 9 белых лабораторных крыс-самцов (6-7 мес., вес 250-350 г) имплантировали углерод-углеродный композитный материал (УУКМ) и УУКМ с покрытием пироуглеродом (n=9). Материал изготовлен в виде цилиндра (диаметр 2 мм, высота 2 мм). Спустя 15, 30 и 90 суток после имплантации проведено гистологическое и гистоморфометрическое исследование.

Спустя 15 суток по периметру обоих материалов обнаружены костная и грануляционная ткани в соотношении 1/2. Спустя 30 суток вокруг имплантатов сформировалась грубоволокнистая костная ткань и соединительная ткань различной степени зрелости. Относительное содержание костной ткани вблизи УУКМ спустя 30 и 90 суток было в 1,4 раза меньше (p<0,001) в сравнении с УУКМ с покрытием.

В результате проведенного исследования установлено, что используемые материалы являются биосовместимыми, не нарушают процесс регенерации кости, не вызывают воспалительных реакций. Остеоинтеграционные качества оказались выше у УУКМ с покрытием.

რეზიუმე

ვირთაგვების ხერხემლის წველის მალეების მიდამოებში ნახშირბად/ნახშირბადის კომპოზიტის იმპლანტაციის შემდეგ ძვლის რეგენერაციის პისტომორფოლოგიური შეფასება

¹ა. პოპოვი, ¹ნ.აშუკინა, ¹ვ.მალცევა, ²ი.გურინი, ¹გ.ივანოვი

¹სახელმწიფო დაწესებულება “უკრაინის სამედიცინო მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის პროფ. მ. სიტენკოს სახ. ხერხემლისა და სახსრების პათოლოგიის ინსტიტუტი”, ხარკოვი; ²ეროვნული სამეცნიერო ცენტრი “ხარკოვის ფიზიკისა და ტექნიკის ინსტიტუტი”, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ძვლის რეგენერაციის თავისებურების შესწავლა ვირთაგვების მალეებში ნახშირბად-ნახშირბადის კომპოზიტური მასალის პირნახშირბადის დანაფარით და დანაფარის გარეშე იმპლანტაციის შემდეგ.

9 თეთრი ლაბორატორიული ვირთაგვების (6-7 თვე, წონა 250-350 გ) L_{III} მალეების დევექტებში იმპლანტირებული იყო ნახშირბად-ნახშირბადის კომპოზიტური მასალა (ნკმ) და ნკმ პირნახშირბადის დანაფარით (n=9). მასალა დამზადებული იყო ცილინდრის ფორმით (დიამეტრი 2 მმ, სიმაღლე 2 მმ). იმპლანტაციიდან 15, 30 და 90 დღე-ღამის შემდეგ ჩატარდა ჰისტოლოგიური და პისტომორფომეტრიული გამოკვლევები.

15 დღეში ორივე მასალის პერიმეტრზე აღმოჩნდა ძვლოვანი და გრანულაციური ქსოვილი შეფარდებით 1/2. 30 დღე-ღამის შემდეგ იმპლანტანტების ირგვლივ ჩამოყალიბდა უხეშობოჭკოვანი ძვლოვანი და სხვადასხვა ხარისხის სიმწიფის შემადგენელი ქსოვილები. ძვლოვანი ქსოვილის ფარდობითი შემცველობა ნკმ-ს სიახლოვეში 30 და 90 დღე-ღამის შემდეგ იყო 1,4-ჯერ ნაკლები დანაფარით ნკმ-თან შედარებით (p<0.001).

ჩატარებული კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ მასალები ბიოშეთავსებადია, არ არღვევენ ძვლის რეგენერაციის პროცესს, არ იწვევენ ანთებით რეაქციებს. ოსტეოინტეგრაციული თვისებები უფრო მაღალი აღმოჩნდა ნკმ-ს დანაფარით.

INTERNAL STRUCTURE OF THE LYMPHOID NODULES OF THE PEYER'S PATCHES OF SMALL INTESTINE IN ALBINO RATS

Hryn V.

Ukrainian Medical Stomatological Academy, Department of Human Anatomy, Poltava, Ukraine

An individual Peyer's patch, regardless of its localization, shape and size, is a group combination of several homogeneous lymphoid formations, currently called as nodules (although their former name, follicles, is sometimes found in the literature). Consequently, the study of Peyer's patches can be reduced to the analysis of the microscopic structure of a single lymphoid nodule.

It has long been considered that a lymphoid nodule of Peyer's patches is a locally concentrated mass of immunocompetent cells functionally associated with a single-layered intestinal epithelium (follicle-associated epithelium) [4,12,19], consisting of the base (embedded into the submucous layer of the small intestine wall), the mantle, in the middle of which a germinal (reactive) core is located, and the apical part or dome (its top is covered with intestinal epithelium). At the same time, separate T- and B-dependent zones are distinguished [3,8,14,17,20,21]. The first of them occupies its marginal, i.e., peripheral, position in the nodule, while the second one directly adjoins the germinal core. Consequently, in the Peyer's patch, all its nodules (with the exception of those ones located on its periphery) border each other with their T-zones. Moreover, along these zones, within the Peyer's patch, the lymphoid nodules are embordered by the intestinal villi of various shapes, between which (at their base) intestinal crypts (glands of Lieberkühn) are opened with their orifices [2,7,13]. Obviously, the major depth of the lymphoid nodules may seem like a simple accumulation of lymphoid tissue, devoid of signs of any structural architecture. In fact, a care-

ful examination of microimages, provided by many authors in their publications, reveals that the depth of the lymphoid nodules is a complex honeycombed network woven from sinuous fine stripes of lymphoid tissue. However, in the literature this structural feature is not given any significance, which prompted a study to clarify this issue.

Purpose - the paper is aimed at the study of the internal structure of the lymphoid nodules of the Peyer's patches of albino rats' small intestine.

Material and methods. 30 mature albino male rats weighted 200,0±20,0 g were involved into the study. Before the experiment, all animals were kept in standard conditions of the experimental biological clinic (vivarium) at the Ukrainian Medical Stomatological Academy in compliance with the regulations on keeping experimental animals, adopted by the European Parliament and Council Directive (2010/63 / EU), the Order of the Ministry of Education and Science, Youth and Sports of Ukraine as of 01.03.2012, No. 249 “On approval of the procedure for conducting tests, experiments on animals by research institutions” and “General ethical principles of experiments on animals”, adopted by the V National Congress on Bioethics (Kiev, 2013), (Minutes No. 155 as of 26.04.2017 of meeting the Commission on Biomedical Ethics at Ukrainian Medical Stomatological Academy) [10,11,15].

After vivisection, which was carried out by an overdose of thiopental anesthesia (75 mg/kg of animal body weight intramuscularly in the upper third of the thigh of the hind paw) [1]

in compliance with the requirements for dissection of the abdominal cavity, the entire complex of the gastrointestinal tract was removed, which was fixed in 10% formalin solution for two days. Subsequently, short sections of the small intestine, containing Peyer's patches, were selectively excised. Finding the latter was not difficult due to their clear visualization on the external (non-mesenteric) surface of the small intestine in the form of whitish spots.

The specimens, after washing from formalin and dehydration in alcohol of increasing concentration, were embedded into paraffin blocks, from which serial sections of 4 μm thick (Microm HM 325) were obtained with subsequent staining with hematoxylin-eosin and Van Gieson. Their study and documentation was carried out using the "Konus" light microscope equipped with the Sigeta DCM-900 9.0MP digital microphoto attachment and the Biorex 3 program (serial number 5604) adapted for these studies. The morphometric characteristics of the tissue structures of the corresponding specimens were obtained using a system of visual analysis of histological specimens, as well as using the Sigeta X1 mm/100 Div.x0.01mm stage micrometer, the scale of which (equal to 1 mm, where a small step corresponds to 10 μm) was applied to the corresponding microimage obtained in the same magnification.

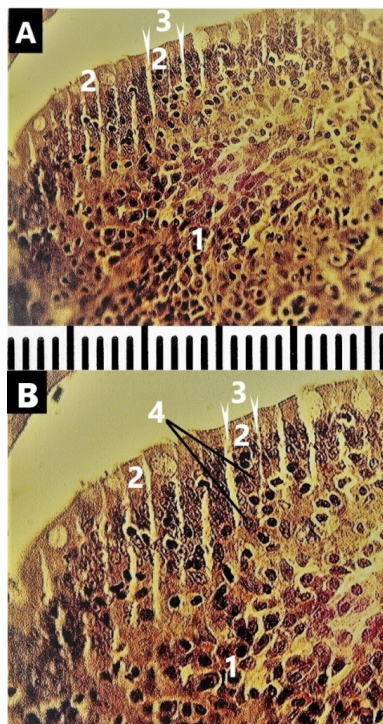


Fig. 1 (A, B). Apical part of the lymphoid nodule of the Peyer's patch of the small intestine. Paraffin section; H&E stain. A – Lens: 40 \times magnification (one step of the scale is equal 10 μm), B – Lens: 100 \times magnification. 1 – lymphoid elements; 2 – lymphoepithelial columns and 3 – intercellular fissures, separating them; 4 – dendritic cells

Results and their discussion. The findings of the study have shown that the lymphoid nodules of Peyer's patches of the small intestine of albino rats are not a simple massive aggregation of lymphocytic elements. In any plane of section, histological sections clearly revealed, that the lymphoid tissue was distributed in the form of twisted strands, aligned mainly from the apical part of the dome of the lymphoid nodule to its base, adjacent to

the muscular tunic of the small intestine. For better understanding the basic principle of the lymphoid strands' architecture, it is necessary to refer to one of the forms of organization of the follicle-associated (dome) epithelium that was identified during the study, which was described in the previous publication. On histological sections it had a columnar pattern of organization. Notably, in its description attention was drawn to the fact that these lymphoepithelial columns were separated by relatively wide intercellular fissures, which were closed by tight contacts from the apical surface of enterocytes, whereas in the basal part they were linked with clear gaps separating the sinuous strands of lymphoid tissue (Fig. 1 A, B).

The clear gaps are interstitial fissures, filled with an amorphous substance, which is a colloidal fluid. Throughout the entire thickness of the lymphoid nodules, these interstitial fissures form a dense, looped network. At the same time, as they approach the base of the nodule, they expand, and in some cases take the form of extensive cisterns, the longitudinal axis of which are oriented at right angles to the muscular tunic of the small intestine. It is in their looped coverage, in the form of fine strands of various shapes, that aggregations of lymphocytic elements are located (Fig. 2). Notably, they are interrelated with the layers of loose fine-fibrous connective tissue, which has an eosinophilic color, against which lymphocytic elements are clearly distinguished by the dense basophilia of their nuclei.

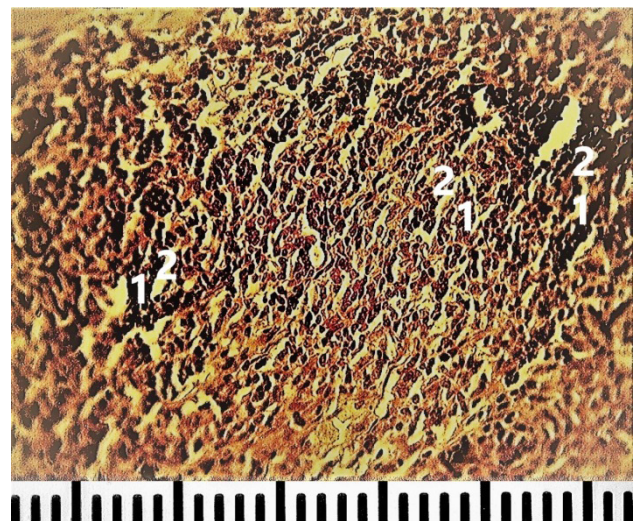


Fig. 2. Basal part of the lymphoid nodule of the Peyer's patch of the small intestine. Paraffin section; H&E stain; Lens: 40 \times magnification. The smallest step of the scale is equal 10 μm . 1 – lymphocytic strands and 2 – interstitial layers, separating them

Obviously, all this is clearly not sufficient to understand the constructive principle of the microscopic organization of lymphoid nodules. Clarification of the nature of their looped interstitial network is required with regard to the fundamental principles of microangiology, as well as publications on the organization of lymphatic vessels in Peyer's patches [6,9,16]. Thus, microangiology shows that the interstitial space, consisting of separate compartments of amorphous substance of loose connective tissue, is considered as a mediating medium between the blood and the working cells of the organ. At the same time, it is drained by blindly originating lymph capillaries, through the endothelial wall of which the filtering process of the interstitial fluid is carried out together with the antigenic substances contained in it, which ultimately flow through the afferent lymphatic

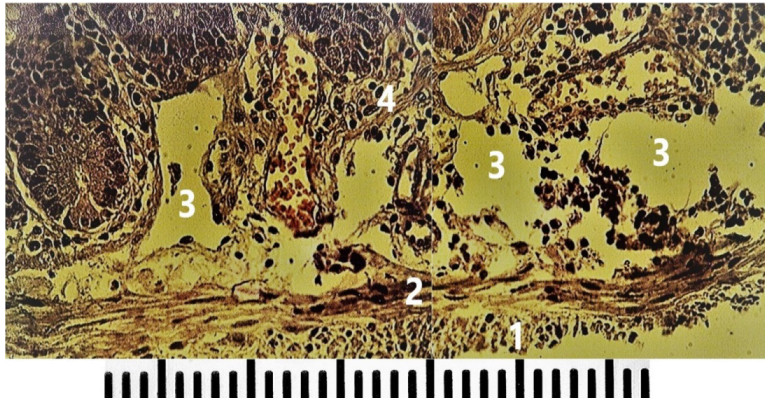


Fig. 3. Basal part of the small intestine at the Peyer's patch. Paraffin section; Van Gieson stain; Lens: 40×magnification. One step of the scale is equal 10 μm. 1 – serous membrane; 2 – muscular tunic; 3 – lymphatic sinuses of the submucous layer; 4 – muscle plate of the mucous membrane

vessels into the regional lymph nodes. Naturally, such general principle of the conversion of interstitial fluid to lymph also occurs in Peyer's patches of the small intestine [9,18]. Moreover, some guidelines on the lymphatic system contain schematic representations of the lymphatic flow of Peyer's patches [5]. They indicate that the lymph capillaries of intestinal villi located around the circumference of lymphoid nodules are the sources of lymph in the Peyer's patch. Further conjoining, they transfer into the lymphatic vessels, which are localized in the depth of the internodular zones. Passing along them, the lymph is directed to the general lymphatic network located beneath the bases of the lymphoid nodules, i.e., in the gap between them and the muscular tunic of the small intestine, which is visualized on histological sections (Fig. 3). Apparently, this process requires a link between the interstitial network of lymphoid nodules, described above, and the lymphatic vessels.

Therefore, this link is to be the lymphatic capillaries, which are blindly originated in the compartments of the interstitial network of nodules. Unfortunately, they cannot be detected on conventional histological preparations.

Conclusion. Consistent with this scheme, we can presumably indicate the direction of the processes of extravascular fluid microcirculation and lymph outflow pathways in the lymphoid nodules of Peyer's patches. Notably, one of the origins of these pathways could be intercellular fissures of the lymphatic epithelial columns, providing paracellular transport of fluid from the contents of the small intestine to the interstitial network of lymphoid nodules. If this leaking fluid contains antigenic substances, then in the course of their movement they will inevitably come into contact with the macrophages of these lympho-epithelial columns, after which information about this antigen will be presented to T-lymphocytes through the dendritic cells, initiating the development of the immune response of the mucous membranes.

In this case, a variant of the initiation of immune responses in Peyer's patches is presented, without the participation of specific enterocytes, called the M-cells. In the literature, this variant of events is not excluded, as well as the fact that other types of enterocytes also possess phagocytic properties in the intestinal epithelium associated with lymphoid nodules. However, it is currently not known whether these mechanisms are alternative or whether each of them is intended for the selective perception of antigenic substances. Moreover, when conducting experimental studies, it should be taken into account that pronounced functional polymorphism is characteristic of Peyer's patches.

REFERENCES

1. Васютинна МЛ, Смирнова СВ. Сравнительный анализ препаратов, используемых для общей анестезии у крыс. Вестник новгородского государственного университета. 2015;86(1):41-43.
2. Гринь ВГ, Костиленко ЮП. Структурная организация кишечных крипт пейеровых бляшек тонкой кишки белых крыс. *Morfologiya*. 2019;13(3):32-39.
3. Гринь ВГ. Загальний принцип будови лімфоїдних вузликів у складі пейерових бляшок тонкої кишки білих щурів. Вісник проблем біології і медицини. 2019;2,2(151):200-204.
4. Драннік ГН, Прилуцький ОС, Бажора ЮІ. Клінічна імунологія та алергологія. К.: Здоров'я. 2006:888 с. ISBN 5-311-01314-1.
5. Злыгостев АС, Марченко ТО. Система лимфатических и млечных сосудов. Анатомия и физиология человека. Таганрог. 2012. [Электронный ресурс]. <http://anfiz.ru/books/item/f00/s00/z0000025/st013.shtml>
6. Караганов ЯЛ, Кердиваренко НВ, Левин ВН. Микроангиология: Атлас. Кишинев: Штиинца. 1982. 247 с.
7. Морозова ЕН, Морозов ВН, Кузьмачук ДО, Моргун ЮА. Взгляд на морфогенез пейеровых бляшек тонкой кишки крыс. Вісник проблем біології і медицини. 2013;2(2):27-32.
8. Морозова ОМ. Мікроскопічна будова пейерових бляшок тонкої кишки інтактних щурів різних порід. Український морфологічний альманах. 2014;12(1):117-122.
9. Петренко ВМ, Петренко ЕВ. Аркадные лимфатические сосуды тонкой и толстой кишки у белой крысы как пути коллатерального лимфотока. Вестник лимфологии. 2014;3:4-6.
10. Наказ Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах. Офіційний вісник України. 2012;24:82. Стаття 924, код акта 60909/2012 [Електронний ресурс]. <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12>
11. Рыбакова АВ, Макарова МН, Кухаренко АЕ, Вичаре АС, Рюффер Ф. Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2018;8(4):207-217.
12. Фальчук ЕЛ, Марков АГ. Изучение барьерных характеристик эпителия пейеровых бляшек крысы. Вестник СПбГУ. 2015;3(3):75-86.
13. Altay G, Larrañaga E, Tosi S, Barriga FM, Batlle E, Fernández-Majada V, Martínez E. Self-organized intestinal epithelial

monolayers in crypt and villus-like domains show effective barrier function. *Scientific Reports*. 2019;9:1-14.

14. Camille J, Hugot JP, Barreau F. Peyer's Patches: The Immune Sensors of the Intestine. *International Journal of Inflammation*. 2010;10:1-12.

15. European Parliament and of the Council. On the protection of animals used for scientific purposes. Directive 2010/63/EU (sept. 22, 2010). *Official Journal of the European Union*. 2010;53:276:33-79.

16. Haley PJ. The lymphoid system: a review of species differences. *J Toxicol Pathol*. 2017;30(2):111-123.

17. Hryn VH, Kostylenko YuP, Korchan NA, Lavrenko DA. Structural form of the follicle-associated epithelium of peyers' patches of the albino rats' small intestine. *Georgian medical news*. 2019;9(294):118-123.

18. Hryn VH. Planimetric correlations between Peyer's patches and the area of small intestine of white rats. *Reports of morphology*. 2018;2(24):66-72.

19. Markov AG, Falchuk EL, Kruglova NM, Radloff J, Amasheh S. Claudin expression in follicle-associated epithelium of rat Peyer's patches defines a major restriction of the paracellular pathway. *Acta Physiologica*. 2016;1:112-119.

20. Morozov VN, Morozova EN. The relationship between parameters of the Peyer's patches of the small intestine in intact rats. *Scientific results of biomedical research*. 2015;1,4(6):54-55.

21. Onori P, Franchitto A, Sferra R, Vetuschchi A, Gaudio E. Peyer's patches epithelium in the rat: a morphological, immunohistochemical, and morphometrical study. *Dig Dis Sci*. 2001;46(5):1095-1104.

SUMMARY

INTERNAL STRUCTURE OF THE LYMPHOID NODULES OF THE PEYER'S PATCHES OF SMALL INTESTINE IN ALBINO RATS

Hryn V.

Ukrainian Medical Stomatological Academy, Department of Human Anatomy, Poltava, Ukraine

An individual Peyer's patch, regardless of its localization, shape and size, is a group combination of several homogeneous lymphoid formations, currently known as nodules. The internal structure of the lymphoid nodules of Peyer's patches of the small intestine of albino rats has been studied. 30 mature albino male rats weighing 200.0±20.0 g were involved into the study. Areas of the small intestine with Peyer's patches have been studied. Serial paraffin sections have been analyzed using the "Konus" light microscope. Morphometric characteristics of the tissue structures were obtained using the Sigeta X 1 mm / 100 Div.x0.01 mm stage micrometer. Apparently, intercellular fissures of the lymphatic epithelial columns, providing paracellular transport of fluid from the contents of the small intestine to the interstitial network of lymphoid nodules can initiate the processes of extravascular fluid microcirculation and lymph outflow pathways in the lymphoid nodules of Peyer's patches. In this case, a variant of the initiation of immune responses in Peyer's patches is presented. A pronounced functional polymorphism is characteristic of Peyer's patches, which must be taken into account when conducting experimental studies.

Keywords: Peyer's patch, small intestine, albino rats, lymphoid

РЕЗЮМЕ

ВНУТРЕННЕЕ СТРОЕНИЕ ЛИМФОИДНЫХ УЗЕЛКОВ ПЕЙЕРОВЫХ БЛЯШЕК ТОНКОЙ КИШКИ БЕЛЫХ КРЫС

Гринь В.Г.

Украинская медицинская стоматологическая академия, департамент анатомии человека, Полтава, Украина

Отдельная пейерова бляшка, независимо от ее локализации, формы и размера, представляет собой групповое объединение нескольких однотипных лимфоидных образований, именуемых в настоящее время узелками. Изучено внутреннее строение лимфоидных узелков пейеровых бляшек тонкой кишки белых крыс. Исследование осуществлено на 30 белых крысах-самцах репродуктивного возраста, массой 200,0±20,0 грамм. Материалом для изучения служили участки тонкой кишки с пейеровыми бляшками. Изучали серийные парафиновые срезы под световым микроскопом «Konus». Морфометрические характеристики тканевых структур получали с помощью объект-микрометра Sigeta X1 мм/100 Div.x0.01 мм. Одним из признаков начала процессов внесосудистой микроциркуляции жидкости и путей лимфооттока в лимфоидных узелках пейеровых бляшек могут являться межклеточные щели лимфоэпителиальных колонок, по которым возможен парацеллюлярный транспорт жидкости из содержимого тонкой кишки в интерстициальную сеть лимфоидных узелков. В данном случае имеет место вариант инициации иммунных реакций в пейеровых бляшках. Для пейеровых бляшек свойственен выраженный функциональный полиморфизм, что необходимо учитывать при проведении экспериментальных исследований.

რეზიუმე

თეთრი ვირთავების წვრილი ნაწლავის პეიერის ფოლაქების ლიმფოიდური კვანძების შიდა სტრუქტურა

ვ. გრინი

უკრაინის სამედიცინო სტომატოლოგიური აკადემია, ადამიანის ანატომიის კათედრა, პოლტავა, უკრაინა

ცალკეული პეიერის ფოლაქები, მიუხედავად მათი ადგილმდებარეობის, ფორმისა და ზომის, წარმოადგენენ რამდენიმე ერთგვაროვანი ლიმფოიდური წარმონაქმნის ჯგუფურ კომბინაციას, რომელსაც ამჟამად უწოდებენ კვანძებს.

შესწავლილია თეთრი ვირთავების წვრილი ნაწლავის პეიერის ფოლაქების ლიმფოიდური კვანძების შიდა სტრუქტურა. კვლევა ჩატარდა რეპროდუქციული ასაკის 30 თეთრ მამრ ვირთავებაზე, წონით 200,0±20,0 გრ. შესწავლილია წვრილი ნაწლავის ნაწილები პეიერის ფოლაქებით. პარაფინის სერიული ანათლები შესწავლილია «Konus»-ის სხივური მიკროსკოპის მეშვეობით. ქსოვილის სტრუქტურების მორფომეტრული მახასიათებლები მიღებულია Sigeta X 1 mm/100 Div.x0.01 mm მიკრომეტრის ობიექტის გამოყენებით. პეიერის ფოლაქების ლიმფოიდურ კვანძებში ექსტრავასკულური სითხის მიკროცირკულაციის და ლიმფური დრენაჟის დასაწიხის წარმოადგენენ უჯრედ-

შორისი ნაპრალები, რომელთა მეშვეობით შესაძლებელია პარაცელულური სითხის ტრანსპორტირება წერილი ნაწლავიდან ღიმფოიდური კვანძების ინტერსტიციულ ქსელში. ამ შემთხვევაში აღინიშნება პეიერის

ფოლაკებში იმუნური რეაქციების დასაწყისი. პეიერის ფოლაკებისთვის დამახასიათებელია გამონატული ფუნქციური პოლიმორფიზმი, რომელიც გასათვალისწინებელია ექსპერიმენტული კვლევების ჩატარებისას.

TLR9 EXPRESSION, LANGERHANS CELL DENSITY AND LYMPHOCYTIC INFILTRATION IN PROGRESSING CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA

Manjgaladze K., Tevdorashvili G., Muzashvili T., Gachechiladze M., Burkadze G.

Tbilisi State Medical University, Georgia

Toll-like receptors (TLRs) are a family of receptors, which are present in phagocytic cells. They are homologs to the Drosophila receptor called Toll [1]. To date there are 12 members of TLR family identified in mammals [2]. They represent the crucial component of the innate immune system to help host organism from infectious diseases [1]. TLRs are expressed in a number of various immune cells including: macrophages, dendritic cells, B cells, T cells and some non-immune cells including fibroblasts and epithelial cells. Expression of TLRs are regulated by pathogen dependent manner, by a variety of cytokines and environmental stresses[1].

TLR9 recognizes and is activated by unmethylated cytosine-phosphate-guanine (CpG) dinucleotides, which are common in bacterial and viral DNA but are suppressed and methylated in vertebrate DNA [3]. Binding of DNA containing unmethylated CpG motifs to TLR9 causes a conformational shift in the receptor, which is suggested to result in recruitment of the adapter protein MyD88, activation of signalling pathways with the phosphorylation of mitogen-activated protein kinases and activation of nuclear factor- κ B [4]. At a cellular level, activation of TLR9 initiates a cascade of innate and adaptive immune responses. The immune role of TLR9 has been studied in plasmacytoid dendritic cells (pDCs) and B cells [5], which might represent the only human immune cells which constitutively express TLR9. Cellular activation is reported to induce TLR9 expression in additional cell types, including human neutrophils, monocytes and monocyte-derived cells and CD4 T cells, but the biologic role for this is less well understood. TLR9 expression has also been reported in some nonimmune cells, including pulmonary epithelial cells and lung cancers, keratinocytes and intestinal epithelium [6], in addition some studies report the increased expression of TLR9 in cervical squamous intraepithelial neoplasia [7].

CD1a presents lipid antigens with defined alkyl chain length to activate T cells [8] and it is used as a marker of Langerhans cells. It has been shown that in cervical epithelium Langerhans cells represent the first line of the immune defence, which are responsible for antigen recognition, activation of T lymphocytes and virus eradication [9]. Some studies show that the distribution of Langerhans cells are altered in different kinds of cervical epithelial lesions. The aim of our study was to analyse the expression of TLR9 and CD1a in cervical squamous intraepithelial neoplasia, together with NK cell and lymphocytic infiltration, such as CD3, CD8 and CD4 T cells and proliferation and apoptosis markers, including Ki67 and BCL2.

Material and methods. Archival formalin-fixed and paraffin-embedded (FFPE) tissue samples, diagnosed as CIN or in situ

CA, between 2015-2018 years, were obtained from the department of pathological anatomy, N. Kipshidze central university clinic, Tbilisi, Georgia. Study cohort included 20 cases with normal cervical tissue, 31 cases of CIN1, 24 cases of CINII, 26 cases of CINIII and 42 cases of in situ carcinoma (CA), and 35 cases of invasive cervical carcinoma (CA), altogether 178 cases. Specimens of lesions were obtained from cervical biopsies, cone biopsies, loop electrosurgical excision procedure and radical hysterectomy. Normal cervical samples were obtained from hysterectomy, due to benign conditions, without a history of CIN or abnormal Pap smears. Standard Haematoxylin and Eosin (H&E) stained sections were revised by two independent pathologists (T.M. and G.B.). From 31 CIN1 cases, 8 cases were further progressed in CIN2 and from original 24 CIN2 cases, 12 cases were progressed into CIN3 or in situ CA. The age of patients varied from 30 to 50 years.

4 μ FFPE tissue sections were deparaffinized in xylene and rehydrated by using serial dilutions of ethanol (96%, 80%, 70%) and heat mediated antigen retrieval has been performed. Antibodies against the following antigens were used: Ki67, BCL2, TLR9, CD1a, CD56, CD3, CD4 and CD8. Lymphocyte counts were analysed in 20 high power fields (HPF) per case. We have calculated the NK cell epithelial index meaning the ratio between 100 epithelial cells and CD56 positive NK cells and Langerhans cell epithelial index meaning the ratio between 100 epithelial cell and CD1a positive Langerhans cells. The ratio 0.1-0.2 was considered as low, the ratio 0.3-0.5 was considered as moderate and the ratio >0.5 was considered as high. In addition, immune cell proliferation apoptotic index was calculated as the proportion of Ki67 and BCL2 positive cells as following: the number of Ki67 positive immune cells were divided into the number of BCL2 positive cells and the index was recorded.

Comparisons between different groups has been performed by the use of Kruskal-Wallis test and non-parametric correlations have been estimated by Spearman's rank test. In all tests, p values < 0.05 considered as significant. Statistical analysis of data has been performed using SPSS 19 statistical program.

Results and their discussion. TLR9 expression in cervical tissues was characterised with marked variability from negative to weak to moderate and strong expression. In normal cervix negative TLR9 expression was seen in 8/20 (40%) and weak expression was seen in 12/20 (60%) cases. In CINI negative TLR9 expression was seen in 6/31 (19.4%), weak TLR9 expression was seen in 20/31 (64.5%) and moderate TLR9 expression was seen in 5/31 (16.1%) cases. In CINII negative TLR9 expression was seen in 1/24 (4.2%), weak expression was seen in 11/24

(45.8%), moderate expression was seen in 10/24 (41.7%) and strong expression was seen in 2/24 (8.3%) cases. In CINIII none of the cases were characterised with TLR9 negativity, weak TLR9 expression was seen in 6/26 (23%), moderate TLR9 expression was seen in 12/26 (46.2%) and strong TLR9 expression was seen in 8/26 (30.8%) cases. In in situ carcinoma weak TLR9 expression was seen in 4/42 (9.5%), moderate TLR9 expression was seen in 20/42 (4.8%) and strong TLR9 expression was seen in 18/42 (42.9%) cases. In invasive carcinoma none of the cases were characterised with TLR9 negativity or weak expression. Moderate TLR9 expression was seen in 13/35 (37.1%) and strong TLR9 expression was seen in 22/35 (62.9%) cases. From 8 CINI cases which were progressed into CINII, 5 (62.5%) cases were characterised with the moderate TLR9 expression and 3 (37.5%) cases were characterised with weak TLR9 expression. From 12 CINII cases which were progressed into CINIII or in carcinoma in situ, 10 (83.3%) cases were characterised with the moderate TLR9 expression and 2 (16.7%) cases were characterised with the strong TLR9 expression.

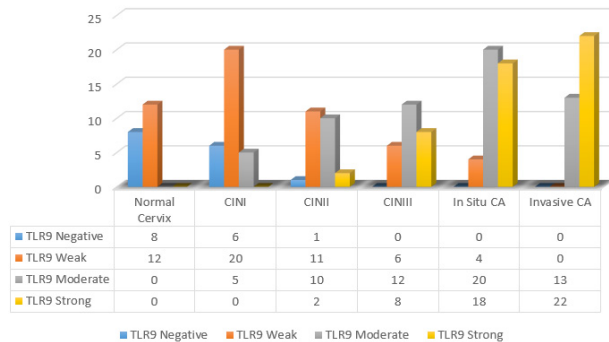


Fig 1. Distribution of TLR9 in cervical intraepithelial lesions

CD1a positive Langerhans cell count was 57 ± 4.5 in normal cervix, 43 ± 3.4 in CINI, 38 ± 4.8 in CINII, 27 ± 1.2 in CINIII, 23 ± 6.8 in in situ carcinoma and 15 ± 5.6 in invasive carcinoma of the cervix. The mean count of CD3 positive T lymphocytes were 27 ± 3.8 in normal cervix, 35 ± 5.4 in CINI, 42 ± 6.8 in CINII, 49 ± 2.3 in CINIII, 57 ± 8.6 in in situ carcinoma and 63 ± 11.4 in invasive carcinoma. The mean count of CD4 positive T lymphocytes was 9 ± 1.9 in normal cervix, 11 ± 5.4 in CINI, 15 ± 9.6 in CINII, 14 ± 2.6 in CINIII, 18 ± 5.3 in in situ carcinoma and 21 ± 4.4 in invasive carcinoma. The mean count of CD8 positive cytotoxic T lymphocytes were 13 ± 4.6 in normal cervix, 15 ± 8.2 in CINI, 17 ± 2.9 in CINII, 19 ± 6.3 in CINIII, 23 ± 5.5 in in situ carcinoma and 29 ± 7.9 in invasive carcinoma. In 8 CINI lesions which progressed into CINII disease, mean Langerhans cell count was 21 ± 3.2 , mean CD3 lymphocyte count was 22 ± 4.8 , mean CD4 lymphocyte count was 4 ± 1.1 and mean CD8 lymphocyte count was 11 ± 5.2 . In 12 CINII lesions which progressed into CINIII or in situ carcinoma, mean Langerhans cell count was 27 ± 3.6 , mean CD3 count was 32 ± 2.1 , mean CD4 cell count was 8 ± 2.2 and mean CD8 cell count was 13 ± 4.2 .

In normal cervix low (0.1-0.2) NK epithelial index was detected in all 20 (100%) cases. In CINI low NK epithelial index was detected in 21/31 (32.3%) and moderate (0.3-0.5) NK epithelial index was detected in 10/31 (67.7%) cases. In CINII low NK epithelial index was detected in 14/24 (58.3%), moderate index was detected in 6/24 (25%) and high index (>0.5) was detected in 4/24 (16.7%) cases. In CINIII low NK epithelial index was detected in 4/26 (15.4%), moderate NK epithelial index was detected in 12/26 (46.2%) and high NK epithelial index was de-

tected in 10/26 (38.5%) cases. In in situ carcinoma of the cervix the low NK epithelial index was detected in 2/42 (7.1%), moderate index was seen in 14/42 (33.3%) and high index was seen in 26/42 (61.9%) cases. In invasive carcinoma of the cervix low NK epithelial index was detected in 0/35 (0%), moderate NK epithelial index was detected in 6/35 (17.1%) cases and high NK epithelial index was detected in 29/35 (82.9%) cases. In 8 CINI cases which progressed into CINII all cases were characterised with low NK epithelial index and in 12 CINII cases which were progressed into CINIII or in situ carcinoma all cases were also characterised with low NK epithelial index.

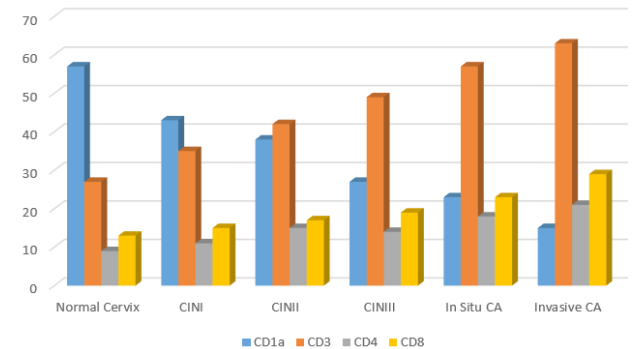


Fig. 2. The distribution of Langerhans cells and lymphocytes in cervical intraepithelial neoplasia

In normal cervix high (>0.5) Langerhans epithelial index was detected in all 20 (100%) cases. In CINI low (0.1-0.2) Langerhans epithelial index was detected in 2/31 (6.5%), moderate (0.3-0.5) Langerhans epithelial index was detected in 11/31 (35.5%) and high Langerhans epithelial index was detected in 18/31 (58%) cases. In CINII low Langerhans epithelial index was detected in 3/24 (12.5%), moderate index was detected in 13/24 (54.5%) and high index was detected in 8/24 (33%) cases. In CINIII low Langerhans epithelial index was detected in 7/26 (27%), moderate Langerhans epithelial index was detected in 13/26 (50%) and high Langerhans epithelial index was detected in 6/26 (23%) cases. In in situ carcinoma of the cervix the low Langerhans epithelial index was detected in 25/42 (59.5%), moderate index was seen in 17/42 (40.5%) and high index was seen in 0/42 (0%) cases. In invasive carcinoma of the cervix low Langerhans epithelial index was detected in 27/35 (77.1%) and moderate Langerhans epithelial index was detected in 8/35 (22.9%) cases. High Langerhans epithelial index was not detected in invasive carcinoma of the cervix. In 8 CINI cases which progressed into CINII 2/8 (25%) cases were characterised with low and 6/8 (75%) cases were characterised with moderate Langerhans epithelial index. From 12 CINII cases which were progressed into CINIII or in situ carcinoma 3/12 (25%) cases were characterised with low Langerhans epithelial index and 9/12 (75%) cases were characterised with moderate Langerhans epithelial index.

The results of proliferation-apoptotic index (PAi) analysis in cervical epithelium showed that, mean PAi in normal cervix was 0.026 ± 0.01 , PAi in CINI was 0.46 ± 0.032 , PAi in CINII was 2 ± 0.21 , PAi in CINIII was 3.2 ± 1.3 , PAi in in situ carcinoma was 5.33 ± 2.4 and PAi in invasive carcinoma was 18 ± 6.7 . The results of PAi analysis in lymphocytes showed that, PAi in normal cervix was 8 ± 2.4 , PAi in CINI was 6.7 ± 3.6 , PAi in CINII was 4.3 ± 2.2 , PAi in CINIII was 2.1 ± 1.4 , PAi in in situ carcinoma was 1.1 ± 0.2 and PAi in invasive carcinoma was 0.6 ± 0.07 .

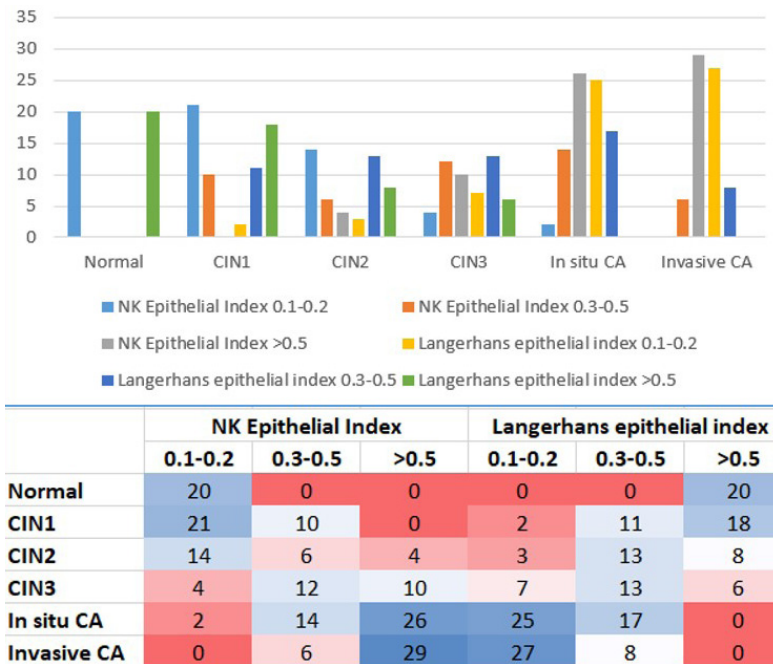


Fig. 3. Distribution of NK epithelial index and Langerhans epithelial index in cervical intraepithelial neoplasia

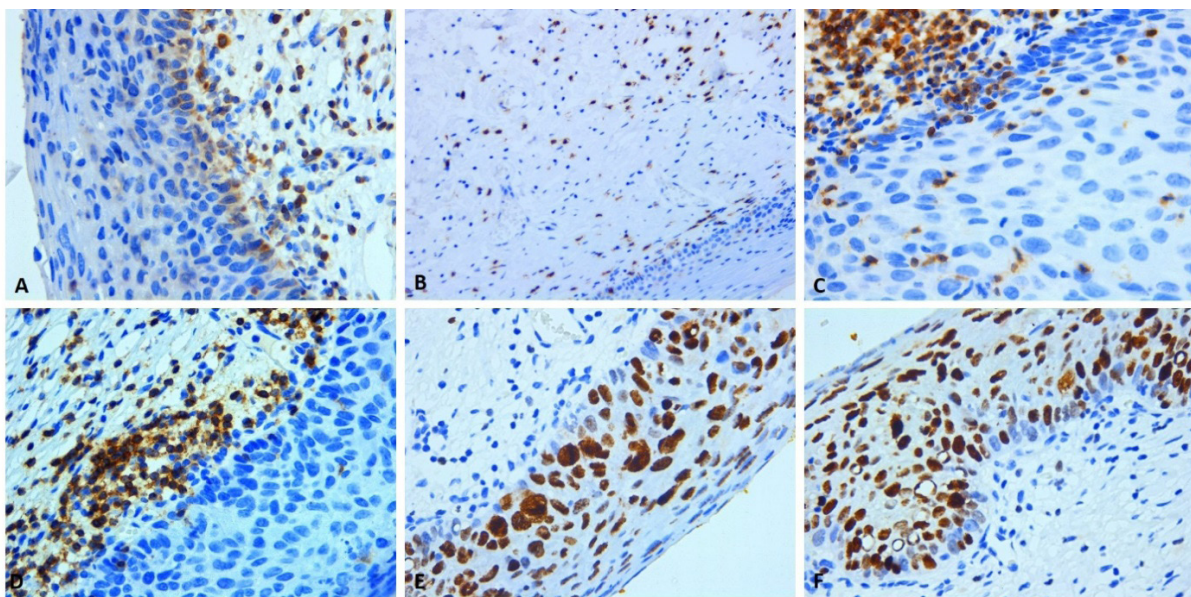


Fig. 4. Representative images of A. TLR9 expression, B. CD1a positive Langerhans cells, C. CD3 T lymphocyte infiltration, D. CD8 T lymphocyte infiltration, E. Ki67 expression and F. BCL2 expression. IHC, X100

The results of our study indicates that TLR9 expression is significantly increased in higher grades of cervical intraepithelial lesions, with the maximal expression of in situ and invasive carcinomas. In addition, TLR9 expression is also relatively increased during the progression of CIN lesions. Lee et al., have also studied the expression of TLR9 expression in cervical intraepithelial neoplasia and they found out the gradual increase in TLR9 expression with the increase of CIN grade which is in line to our study results [10]. Similar results have been seen from Fehri et al., who also investigated the expression of TLR9 in cervical intraepithelial neoplasia and in cervical carcinoma [7]. Hasimu and colleagues found out that TLR9 expression significantly correlates with HPV infection[11]expression of TLRs in cancer cells is as-

sociated with tumor proliferation and invasion. To explore the role of TLRs expression in cervical carcinogenesis in Uighur women, we detected the expressions of TLR3, TLR4, TLR7, and TLR9 in 25 normal cervical tissues, 64 cervical intraepithelial neoplasia (CIN). Our results are in concordance with their findings, as we also found out that TLR9 expression is significantly higher in CINII cases which progressed into CINIII compared to CINII cases which were not progressed into CINIII (p<0.05) and in CINII cases which were progressed into CINIII or invasive carcinoma, compared to cases which were not progressed (p<0.05). Therefore, the expression of TLR9 in cervical intraepithelial neoplasia might be used as relatively cheaper and efficient biomarker for the testing of HPV infection, as well as for defining the progression risk of CIN lesions.

Intraepithelial Langerhans cell represent the immature skin dendritic cells, which process and present antigens and provide specific signals for the activation of antigen specific T cells. In our study we have found that the number of Langerhans cells as well as Langerhans epithelial index was significantly decreased in higher grades of CIN lesions and especially in in situ and invasive carcinomas. It was also minimal in CIN cases which were subsequently progressed into higher grade disease. It has been shown that in HPV 16/18 infected CIN and cervical cancer tissues antigen presentation function of Langerhans cells decreases and our study results are in line with previous findings. We have also studied the distribution of CD3, CD4 and CD8 T cells in cervical intraepithelial neoplasia and in cervical carcinoma. The results of our study showed that the T lymphocytic infiltration is gradually increased during the progression of CIN disease and reaches its maximum in invasive cervical carcinoma. Bedoya et al., also found that the density of CD8+ T lymphocytes is higher in carcinoma, compared to CINIII lesions [12]. These data collectively suggest that immune infiltrates are significantly increased in higher grades of CIN lesions and in situ and invasive CA, which might be due to the activation of innate and adaptive immune system. However, not in all cases immune infiltrate is able to stop the progression of the disease, which might be due to some innate and adaptive immune defects.

In addition, we have studied NK epithelial index and Langerhans cell epithelial index. NK cells are one of the most important cell type, which participates in control of HPV infection [13]. They represent the major factor of innate immune system which bear the extraordinary efficiency against viruses. Particularly, against viruses which cause the deregulation of MHC class molecules and evasion from T cell response. Therefore, NK cells represent the biological barrier. Around normal, healthy cells, which express MHC molecules NK cells are resided in resting state. In case of the presence of dangerous cells, which express deteriorated MHC molecules NK cells immediately recognize damaged cells and eliminate them either by particle-dependent cytotoxicity [14] in rare patients the defect in NK cells represents the major immune abnormality. These individuals have NK cell deficiency (NKD) or by the expression of cytokines and chemokines which activate other immune cells [15]. To the best of our knowledge we are first who examined the NK epithelial cell index in cervical intraepithelial neoplasia and in cervical carcinoma. The results of our study showed that the NK epithelial index is markedly increased in higher grades of CIN lesions and in carcinoma of the cervix. Previous literature also shows the increase of NK cells in HPV positive cervical intraepithelial neoplasia [16]. However, our study results also showed that in CIN cases which were subsequently progressed into higher grade disease NK epithelial index was lower, which further indicates the important role of NK cells in viral carcinogenesis.

We have also studied the proliferation apoptotic index of cervical epithelium and immune infiltrates. Whilst proliferation apoptotic index is increased in cervical epithelium during the progression of the CIN disease and in carcinoma, it is significantly decreased in lymphocytes. Meaning that later stages of malignancy lymphocytes are not characterised with high proliferative potential and they are characterised with higher apoptotic potential. This might represent the explanation of why immune infiltrates are not functional at later stages of malignancy and why tumor still progress despite increased immune infiltration.

To the best of our knowledge we are first who studied such an index in cervical intraepithelial neoplasia and in cervical cancer patients.

Conclusions. Based on our study results TLR9 expression might be used as an important marker for the presence of high risk HPV infection and therefore as an additional marker for defining the progression risk of CIN disease. Whilst NK epithelial and Langerhans epithelial index can be also used as an additional marker for the progression of CIN, we think that the assessment of proliferation apoptotic index of lymphocytes more accurately reflects the functional state of the immune system during HPV infection and this characteristic might be also well used as an additional criterion for the assessment of CIN progression potential.

REFERENCES

1. Barton G. M., Medzhitov R. Toll-like receptor signaling pathways // *Science*. 2003; 300 (5625):1524-5.
2. Akira S., Uematsu S., Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity // *Cell*. 2006; 124(4):783-801.
3. Krieg A. M. Therapeutic potential of toll-like receptor 9 activation // *Nature Reviews Drug Discovery*. 2006; 5(6):471-84.
4. Latz E. et al. Ligand-induced conformational changes allosterically activate Toll-like receptor 9 // *Nat. Immunol.*, 2007; 8 (7):772-9.
5. Iwasaki A., Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses // *Nature Immunology*. 2004; 5(10):987-95.
6. Krieg A. M. Toll-like receptor 9 (TLR9) agonists in the treatment of cancer // *Oncogene*. 2008; 27(2):161-7.
7. Fehri E. et al. Expression of toll-like receptor 9 increases with progression of cervical neoplasia in Tunisian women - A comparative analysis of condyloma, cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma // *Asian Pacific J. Cancer Prev*. 2014; 15(15): 6145-6150.
8. Hyung J. et al. CD1a on Langerhans cells controls inflammatory skin diseases // *Nat Immunol*. 2016; 17(10): 1159-1166.
9. Campaner A.B., Nadais R.F., Galvão M.A., Santos R.E., Aoki T. Evaluation of density of Langerhans cells in human cervical intraepithelial neoplasia // *Acta Obstet. Gynecol. Scand*. 2007; 86(3): 361-366.
10. Lee J.W. et al. Increased toll-like receptor 9 expression in cervical neoplasia // *Mol. Carcinog*. 2007; 46(11):941-7.
11. Hasimu A., Ge L., Li Q.Z., Zhang R.P., Guo X. Expressions of Toll-like receptors 3, 4, 7, and 9 in cervical lesions and their correlation with HPV16 infection in Uighur women // *Chin. J. Cancer*, 2011; 30(5):344-50.
12. A. M. Bedoya et al. Location and density of immune cells in precursor lesions and cervical cancer // *Cancer Microenviron*. 2013; 6(1): 69-77.
13. Vago A. R. et al. Assessment of natural killer cells in tissues from patients with cervical abnormalities // *Obstet. Gynecol. Int*. J. 2018; 9(6): 471-475.
14. Orange J. S. Natural Killer Cell Deficiency // in *Stiehm's Immune Deficiencies*, 2014.- 132(3):515-525.
15. Alici E., Sutlu T. Natural killer cell-based immunotherapy in cancer: Current insights and future prospects // *J. Intern. Med*. 2009; 266(2): 154-81.
16. Hu T. et al. Accumulation of invariant NKT cells with increased IFN- γ production in persistent high-risk HPV-infected high-grade cervical intraepithelial neoplasia // *Diagn. Pathol*. 2015; 10(1): 1-10.

SUMMARY

TLR9 EXPRESSION, LANGERHANS CELL DENSITY AND LYMPHOCYTIC INFILTRATION IN PROGRESSING CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA

Manjgaladze K., Tevdorashvili G., Muzashvili T., Gachechiladze M., Burkadze G.

Tbilisi State Medical University, Georgia

Toll like receptors (TLRs), NK cells, Langerhans cells and T cells play an important role in the protection of host organism from human papilloma virus (HPV) infection. The aim of our study was to analyse TLR9 expression, Langerhans cell density and NK cell and Lymphocytic infiltration in the progression of cervical intraepithelial neoplasia (CIN). By using standard immunohistochemistry, we have investigated TLR9, CD1a Langerhans cell marker, CD56 NK cell marker, CD3 general T cell marker, CD4 T helper cell marker and CD8 cytotoxic T cell marker. We have introduced NK cell epithelial index and Langerhans cell epithelial index. In addition, we have introduced proliferation apoptotic index of lymphocytes using Ki67 and BCL2 markers. The results of our study showed that TLR9 expression, T cell infiltration and NK epithelial index is significantly increased during the progression of CIN disease. Whilst Langerhans cell epithelial index is significantly decreased. Proliferation apoptotic index of lymphocytes is also significantly decreased during the progression of CIN. Based on our study results we recommend the assessment of TLR9 and proliferation apoptotic index as an additional markers for defining CIN progression potential.

Keywords: TLR9, NK Cells, HPV, Ki67, BCL2.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ TLR9, РАСПРЕДЕЛЕНИЯ КЛЕТОК ЛАНГЕРГАНСА И ЛИМФОЦИТАРНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИИ В ПРОЦЕССЕ ПРОГРЕССИИ ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НЕОПЛАЗИЙ ШЕЙКИ МАТКИ

Манджгаладзе К.Т., Тевдорашивили Г.Г., Музашвили Т.З., Гачечиладзе М.Д., Буркадзе Г.М.

Тбилисский государственный медицинский университет, Грузия

Толл-подобные рецепторы (TLRs), NK клетки, клетки Лангерганса и Т-лимфоциты играют важную роль в элиминации папилломавирусной инфекции. Целью нашего исследования было изучение особенностей экспрессии TLR9, распределения клеток Лангерганса, NK клеток и Т-лимфоцитов в процессе прогрессии интраэпителиальных неоплазий шейки матки. Стандартным иммуногистохимическим методом были изучены следующие молекулярные маркеры: TLR9, CD56 - маркер NK клеток, CD1a - маркер клеток Лангерганса, CD3 - маркер Т-лимфоцитов, CD4 - маркер

Т-хелперов, CD8 - маркер цитотоксических Т клеток. Мы применили NK эпителиальный индекс и Лангерганс эпителиальный индекс, также пролиферативно-апоптотический индекс лимфоцитов с использованием маркеров Ki67 и BCL2. Результаты нашего исследования показали, что экспрессия TLR9, Т клеточная инфильтрация и NK эпителиальный индекс значительно увеличивается в процессе прогрессии интраэпителиальных неоплазий шейки матки, тогда как Лангерганс эпителиальный индекс существенно уменьшается. Пролиферативно-апоптотический индекс лимфоцитов также существенно уменьшается в процессе прогрессии интраэпителиальных неоплазий шейки матки. Мы рекомендуем, использовать оценку TLR9 и пролиферативно-апоптотического индекса, как дополнительных маркеров для определения прогрессии интраэпителиальных неоплазий шейки матки.

რეზიუმე

TLR9 ექსპრესიის, ლანგერჰანსის უჯრედების განაწილებისა და ლიმფოციტური ინფილტრაციის თავისებურებები საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიის პროგრესიის პროცესში

კმანჯგალაძე, გ.თევდორაშვილი, თ.მუზაშვილი, მ.გაჩეჩილაძე, გ.ბურკაძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, საქართველო

Toll- მსგავსი რეცეპტორები (TLRs), NK უჯრედები, ლანგერჰანსის უჯრედები და T ლიმფოციტები მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ადამიანის პაპილომა-ვირუსით ინფექციის ელიმინაციაში. ჩვენი კვლევის მიზანს შეადგენდა შეგვესწავლა TLR9, NK უჯრედების, ლანგერჰანსის უჯრედების და T ლიმფოციტების განაწილების თავისებურებების საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური დაზიანებების პროგრესიის პროცესში. სტანდარტული იმუნოჰისტოქიმიური მეთოდის გამოყენებით ჩვენ შევისწავლეთ TLR9, CD56 NK უჯრედების მარკერი, CD1a ლანგერჰანსის უჯრედების მარკერი, CD3 T ლიმფოციტების, CD4 T ჰელპერი უჯრედების და CD8 ციტოტოქსიური T უჯრედების მარკერი. ჩვენ გამოვიყვანეთ NK ეპითელური ინდექსი და ლანგერჰანს ეპითელური ინდექსი. ჩვენ ასევე შემოვიღეთ ლიმფოციტების პროლიფერაციულ აპოპტოზური ინდექსი Ki67 და BCL2 მარკერების გამოყენებით. ჩვენი კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ TLR9 ექსპრესია, T უჯრედული ინფილტრაცია და NK ეპითელური ინდექსი მნიშვნელოვნად იზრდება საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიის პროგრესიის პროცესში. ხოლო, ლანგერჰანს ეპითელური ინდექსი კი მნიშვნელოვნად მცირდება. ლიმფოციტების პროლიფერაციულ აპოპტოზური ინდექსი ასევე მნიშვნელოვად მცირდება საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიის პროგრესიის პროცესში. ჩვენ ვიძლევეთ რეკომენდაციას, TLR9 რომ და პროლიფერაციულ აპოპტოზური ინდექსი გამოყენებული იქნას საშვილოსნოს ყელის ინტრაეპითელური ნეოპლაზიის პროგრესიის განმსაზღვრელ დამატებით მაკერებად.

INFLUENCE OF ENDOTHELIOPATHY OF SPIRAL ARTERIES ON PLACENTAL ISCHEMIA

^{1,2}Borzenko I., ³Konkov D., ^{1,2}Kondratova I., ²Basilayshvili O., ¹Gargin V.

¹Kharkiv National Medical University; ²Kharkiv Regional Clinical Perinatal Center;

³National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine

Placenta is a fairly complex organ that acts as the lungs, intestine, kidney, and liver of the fetus during pregnancy [2]. Of course, the success of its functioning depends on the level of blood supply and associated oxygenation, the insufficient level of which underlies the development of preeclampsia [7]. Sufficient oxygen saturation of the placenta and, as a consequence, embryo/fetus is essential for successful pregnancy [12]. In this regard, the state of utero-placental circulation is a key factor needed to provide the main function of the placenta, the exchange of oxygen between the mother's body and the growing fetus. Recently, worldwide authors have paid particular attention to vascular endothelium in the mother-placenta-fetus system for the development of vascular network and its normal functioning, gestational endotheliopathy (GE), which is an impairment of vasodilating, angioprotective, antiproliferative endothelium functions developing during pregnancy [11]. The effects of GE are observed in a wide network of utero-placental circulation, which makes it the subject of examination measures, including biopsy [19].

Physiological transformation of the uterine spiral arteries in the placenta is important for healthy pregnancy [4,5]. The common idea is that an impairment of this transformation due to inadequate trophoblast invasion underlies complications of pregnancy, such as preeclampsia, restriction of fetal growth, miscarriage and premature birth. Understanding invasive behavior and remodeling properties of trophoblast in the wall of the uterus is important in clarifying the etiology of these complications during pregnancy [4]. However, there is a lack of satisfactory samples of the placental vessel network to expand our knowledge of the mechanisms that control the trophoblast invasion, leading to such invasive interventions as placental biopsy [19].

Today, generalized endothelial dysfunction is considered to be the main pathogenic link of hemodynamic disorders in the fetoplacental complex [6]. Endothelial dysfunction is important in the development of thrombosis, neoangiogenesis and vascular remodeling, being the key to the development of obstetric and perinatal disorders.

The aim of the study was to reveal morphological signs of endotheliopathy in spiral arteries in preeclampsia, which is important for understanding the development of pregnancy complications.

Material and methods. Membranes and placenta (15 cases) taken after delivery from mothers with preeclampsia served as the material for morphological study. A comparison group included 10 cases from women with a physiological course of pregnancy. The average age of the mothers in the study group was 30.2 years, and 31.8 years in the comparison group. The average gestation period was 38.7 for the first and 38.3 for the second group, respectively.

The material, taken for histological study, was fixed in neutral 10% formalin. The tissues fixed in formalin were consolidated and embedded into paraffin. Slices of 5×10^{-6} m were made for further staining. The morphological structure was studied after staining the slices with hematoxylin and eosin (H&E), and according to van Gieson.

The microslides were studied using Olympus BX-41 microscope and then assessed using Olympus DP-soft version 3.1 software to determine the intensity of histochemical reactions and conduct a morphometric study. Spiral arteries with a diameter of <4 mm were considered as one artery in accordance with the recommendations of C.Salafia [16]. Morphometry was used to determine the specific vascular density, specific density of connective tissue, thickness of the walls of the spiral arteries, cross sectional area of spiral arteries, endotheliocyte height, the diameter of the nuclei of endothelial cells, nuclear cytoplasmic relationships in endotheliocytes, relative volume of injured endothelial cells. All values are expressed as means and standard error of the mean for statistical analysis. Statistical comparison was performed using Mann-Whitney test for statistical analysis. The accepted level of significance was $p < 0.05$.

The procedure was done strictly after approval from the Regional Ethical Review Board at Kharkiv National Medical University protocol №9 (14.09.2016).

Results and their discussion. In the group of mothers with preeclampsia, microscopic examination (Fig.) showed large foci of fibrinoid in the decidual lining and in some cases, total fibrinoidal transformations, including calcifications. There was a moderate sclerosis of the stroma of large and middle villi, with a predominantly perivascular localization of the stroma. The study also revealed uneven swelling of syncytial and endothelial basal membranes.

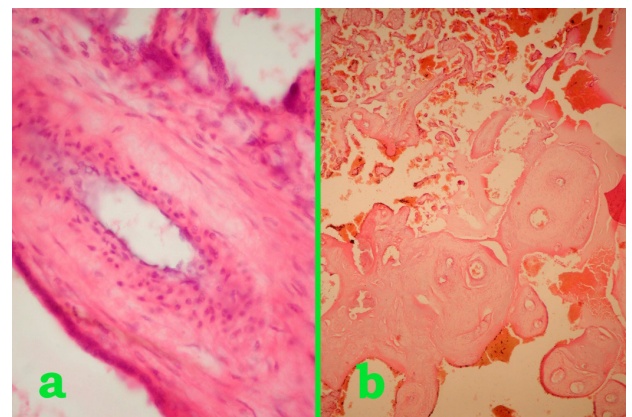


Fig. Placenta from the mother with preeclampsia. Foci of fibrinoid. Mild sclerosis. Uneven swelling of syncytial and endothelial basal membranes. Desquamation of endotheliocytes. Thickening of the wall of the spiral artery. Sclerotic perivascular changes in the spiral artery and its branches in the group of women with preeclampsia. Hypertrophy of the muscular layer of the spiral artery. Formation of fibrous cuffs with narrowing of vascular lumen. H&E stain. $\times 40$ (a) $\times 400$ (b)

Anchoring villi were mostly small and contained vessels surrounded by fibrinoid substance, often located in the center of the villi. Syncytiotrophoblast was flattened with a sharp diminution of nuclei. Syncytiotrophoblast nuclei were distributed unevenly along the perimeter of the villa. There were areas of complete absence of syncytial cover. There was a proliferation of syncytiotrophoblast next to these areas.

Table 1. Morphometric of spiral artery and its branches

Group	Specific vascular density, (%)	Specific density of connective tissue, (%)	Thickness of the walls of the spiral arteries, $\times 10^{-6}$ m	Cross sectional area of spiral arteries, mm
Physiological course of pregnancy	18,91 \pm 1,73	21,40 \pm 1,77	107,67 \pm 11,74	0,085 \pm 0,007
Preeclampsia	12,01 \pm 1,13*	30,73 \pm 1,28*	303,99 \pm 15,42*	0,054 \pm 0,006*

p<0,05 compared to physiological course of pregnancy

Table 2. Morphometric characteristics of endotheliocytes of spiral artery and its branches

Group	Endotheliocyte height, $\times 10^{-6}$ m	The diameter of the nuclei of endothelial cells, $\times 10^{-6}$ m	Nuclear cytoplasmic relationships in endotheliocytes	Relative volume of injured endothelial cells, %
Physiological course of pregnancy	6,19 \pm 0,07	3,25 \pm 0,02	0,281 \pm 0,004	6,16 \pm 0,23
Preeclampsia	4,78 \pm 0,06*	2,97 \pm 0,04*	0,372 \pm 0,007*	47,07 \pm 3,61*

p<0,05 compared to physiological course of pregnancy

Furthermore, histological examination of the afterbirth in the group of women with preeclampsia revealed a decrease in vascularization of the decidua lining of the placenta. These morphometric changes were accompanied by a statistically significant reduction of the cross sectional area of spiral arteries (Table 1). The spiral arteries were also found to have proliferation of the endothelium, hypertrophy of the muscular layer, pronounced enlargement of the perivascular connective tissue with the formation of so-called fibrous cuffs, resulting in the narrowing of the lumen of the vessels, up to their obliteration.

In general, the vascular bed of the placenta in women with preeclampsia was found to have uneven blood flow. Some vessels were collapsed; others were sharply enlarged and filled with blood. Most vessels had thick walls. There were small blood clots in the lumen of such vessels. In addition, the microthrombi were revealed. Endothelial cells were more often flattened, with signs of desquamation. There were no angiogenetic processes. The perivascular space was found to be affected by marked sclerotic processes. Morphometric characteristics of endotheliocytes of spiral artery and its branches presented in Table 2.

Modification of the spiral arteries with the loss of the muscular vascular wall, invaded by the trophoblasts, represents the goal of the physiological vascular adaptation during human implantation. Inadequate remodeling and cytotrophoblast invasion of the spiral arteries are believed to promote the abnormal placental development seen in the future perinatal pathology [3].

Trophoblast migration down the spiral arteries is dependent on trophoblast-endothelial cells interactions. However, the mechanisms by which trophoblast migration is regulated remain unclear. It is often assumed that trophoblasts migrate down the spiral arteries retrograde to flow, but aside from the presence of trophoblasts in the arteries, little direct evidence exists to support this claim. The occlusion of the spiral arteries by trophoblast plugs in the first trimester means that blood flow through these vessels is likely to be very slow during this time, and our previous work has shown that this may create an environment favourable for the remodelling of the spiral arteries. As a central player in clinically significant allograft rejection, coagulation, not surprisingly, has been also implicated in the pathogenesis of obstetric compromise, including endotheliopathy related fetal death, and preeclampsia [1]. Failed re-growth of the maternal endothelium over the converted uteroplacental vascular wall of fibrinoid material and embedded trophoblasts, and protracted exposure of the maternal vascular wall to the maternal circula-

tion, has been identified in preeclampsia [9] with consequences of ischemia [18].

The morphological picture described above can be regarded as GE [11]. It is believed that GE is characterized by the following pathophysiological and pathohistological manifestations: activation of lipid peroxidation, increased activity of phospholipases, circulating neurohormones (endothelin, catecholamines), thromboxane, decreased activity of α 2-macroglobulin protease inhibitor, congenital hemostasis defects, etc [5, 13].

Development of endotheliosis is one of the specific manifestations of preeclampsia, manifested by swelling of the cytoplasm with deposition of fibrin around the basement membrane and within the swollen endothelial cytoplasm [17]. Initially it is localized in the vessels of the placenta and uterus, and then extends to other organs [17]. Endotheliosis results in discontinuity of vascular tone; activation of proliferative processes of the vascular wall; changes in the structure and number of endothelial cells; adhesiveness of the internal surface of the vascular wall with the subsequent transmigration of leukocytes to the perivascular tissue [17].

Thus, the study of the state of spiral arteries of the decidua lining in preeclampsia has shown that their evaluation opens new opportunities in understanding the development of placental disorders, including in its early, preclinical phase, and the elaboration of preventive therapy on this grounds may give a possibility to prevent fatal perinatal complications [10, 14].

In recent years, one of the ways to detect endothelial desquamation has been the determination of desquamated endotheliocytes, parameters of biochemical markers of endothelial dysfunction (von Willebrand factor, microalbuminuria, and others) in blood serum [8]. It should be noted that evaluation of blood parameters is rather arbitrary, since a change in the studied parameters does not necessarily mean pathological processes in the placenta. Nevertheless, elaboration of diagnostic methods for gestational complications associated with endothelial dysfunction and the search for new methods for early detection of imbalance of vascular homeostasis can provide prerequisites for preventing the development of fetoplacental insufficiency related to endothelial dysfunction. Aspects of diagnosis of adaptation disorders and the initiation of pathological mechanisms leading to destabilization of vascular tone, remain crucial for the prevention of obstetric and perinatal disorders, and morphological study of such cases can give a possibility to choose proper therapeutic measures [15].

Endotheliocytes are cells represented throughout the vascular bed that are labile in their morpho-functional state and their in-depth study allows us to establish not only their status, but also the consequences of their damage, which is important in assessing the severity of systemic endotheliopathy.

Conclusions. Development of preeclampsia is associated with signs of remodelling of the spiral arteries. Placental spiral arteries in preeclampsia are characterized by a decrease of specific vascular density by 36,49% with a simultaneous increase of specific density of connective tissue by 43,60%, which is accompanied by thickening of the walls of the spiral arteries 2,82 times and reducing of cross sectional area of spiral arteries 1,57 times. The spiral arteries are also found to have proliferation of the endothelium, hypertrophy of the muscular layer, marked enlargement of the perivascular connective tissue with the formation of the so-called fibrous cuff, resulting in the narrowing of the lumen of the vessels, up to their obliteration.

Gestational endotheliopathy is characterized by a decrease in the height of endotheliocytes from $6.19 \pm 0.07 \times 10^{-6}$ m to $4.78 \pm 0.06 \times 10^{-6}$ m, a decrease in the diameter of cells from $3.25 \pm 0.02 \times 10^{-6}$ m to $2.97 \pm 0.04 \times 10^{-6}$ m, an increase in the relative volume of damaged endotheliocytes from $6.16 \pm 0.23\%$ to $47.07 \pm 3.61\%$.

REFERENCE

1. Burton GJ, Jauniaux E. The cytotrophoblastic shell and complications of pregnancy. // *Placenta*. 2017 Dec;60:134-139.
2. Burton GJ, Jauniaux E. What is the placenta? // *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Oct;213(4 Suppl):S6.e1, S6-8.
3. Dunk C, Petkovic L, Baczyk D, Rossant J, Winterhager E, Lye S. A novel in vitro model of trophoblast-mediated decidual blood vessel remodeling. // *Lab Invest*. 2003 Dec;83(12):1821-8.
4. Enders AC, Blankenship TN. Modification of endometrial arteries during invasion by cytotrophoblast cells in the pregnant macaque. // *Acta Anat (Basel)*. 1997;159(4):169-93.
5. Fraser R, Whitley GS, Thilaganathan B, Cartwright JE. Decidual natural killer cells regulate vessel stability: implications for impaired spiral artery remodelling. // *J Reprod Immunol*. 2015 Aug;110:54-60.
6. Huppertz B. Maternal and fetal factors and placentation: implications for pre-eclampsia. // *Pregnancy Hypertens*. 2014 Jul;4(3):244.
7. Huppertz B. Oxygenation of the placenta and its role in preeclampsia. // *Pregnancy Hypertens*. 2014 Jul;4(3):244-5.
8. Ilika V, Davydenko I. Von Willebrand factor immunohistochemical staining quantitative optical density parameters in the endothelium and fibrinoid of the placenta during secundines inflammation and concomitant iron deficiency anemia in gravidas. // *Georgian Med News*. 2017 Dec;(273):108-113.
9. James JL, Cartwright JE, Whitley GS, Greenhill DR, Hoppe A. The regulation of trophoblast migration across endothelial cells by low shear stress: consequences for vascular remodelling in pregnancy. // *Cardiovasc Res*. 2012 Jan 1;93(1):152-61.
10. Jauniaux E, Burton GJ. Pathophysiology of Placenta Accreta Spectrum Disorders: A Review of Current Findings. // *Clin Obstet Gynecol*. 2018 Dec;61(4):743-754.
11. Konkov DG, Bulavenko OV, Taran OA. Features of the trimesteral dynamics of vasotonic regulation in gestational endotheliopathy. // *Perinatology and pediatric*. Ukraine. 2017.4(72):70-77.
12. Lawrence DJ, Escott ME, Myers L, Intapad S, Lindsey SH, Bayer CL. Spectral photoacoustic imaging to estimate in vivo placental oxygenation during preeclampsia. // *Sci Rep*. 2019 Jan 24;9(1):558.
13. Matsubara K., Higaki T., Matsubara Y., Nawa A. Nitric oxide and reactive oxygen species in the pathogenesis of preeclampsia // *Int J Mol Sci*. 2015 Mar 2;16(3):4600-14.
14. Peng M, Yu L, Ding YL, Zhou CJ. [Trophoblast cells invading the placenta bed and change of spiral arteries and microvessels in pre-eclampsia]. // *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2008 Feb;33(2):121-9.
15. Popovych AI, Davydenko IS, Davydenko OM. Histochemical evaluation of protein oxidative modification in fibrinoid of the placenta, depending on calcium deposits, combined with iron deficiency anemia of pregnancy. // *Archives of the Balkan Medical Union*. 2018 June;53(2): 200-204.
16. Salafia CM, Misra DP, Yampolsky M, Charles AK, Miller RK. Allometric metabolic scaling and fetal and placental weight. // *Placenta*. 2009 Apr;30(4):355-60.
17. Starzyk KA, Salafia CM, Pezzullo JC, Lage JM, Parkash V, Vercruyse L, Hanssens M, Pijnenborg R. Quantitative differences in arterial morphometry define the placental bed in preeclampsia. // *Hum Pathol*. 1997 Mar;28(3):353-8.
18. van Rijn BB, Franx A, Sikkema JM, van Rijn HJ, Bruinse HW, Voorbij HA. Ischemia modified albumin in normal pregnancy and preeclampsia. // *Hypertens Pregnancy*. 2008;27(2):159-67.
19. Veerbeek JH, Post Uiterweer ED, Nikkels PG, Koenen SV, van der Zalm M, Koster MP, Burton GJ, van Rijn BB, Franx A. Biopsy techniques to study the human placental bed. // *Placenta*. 2015 Aug;36(8):775-82.

SUMMARY

INFLUENCE OF ENDOTHELIOPATHY OF SPIRAL ARTERIES ON PLACENTAL ISCHEMIA

^{1,2}Borzenko I., ³Konkov D., ^{1,2}Kondratova I.,
²Basilayshvili O., ¹Gargin V.

¹Kharkiv National Medical University; ²Kharkiv Regional Clinical Perinatal Center; ³National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine

Recently, worldwide authors have paid particular attention to vascular endothelium in the mother-placenta-fetus system for the understanding of development of vascular network and its normal functioning, possible gestational endotheliopathy. Endothelial dysfunction is important in the development of thrombosis, neoangiogenesis and vascular remodeling, being the key to the development of obstetric and perinatal disorders.

The aim of the study was to reveal morphological signs of endotheliopathy in spiral arteries in preeclampsia, which is important for understanding the development of pregnancy complications.

Placentas were obtained after delivery from mothers with preeclampsia served as the material for morphological study. A comparison group included cases from women with a physiological course of pregnancy. The morphological structure was studied after proceeding of slides stained with hematoxylin and eosin, and according to van Gieson. Morphometry was used to determine the specific vascular density, specific density of connective tissue, thickness of the walls of the spiral arteries, cross sectional area of spiral arteries, endotheliocyte height, the diameter of the nuclei of endothelial cells, nuclear cytoplasmic relationships in endotheliocytes, relative volume of injured endothelial cells.

As results, it was detected, that development of preeclampsia is associated with signs of remodelling of the spiral arteries. Placental spiral arteries in preeclampsia are characterized by a decrease of specific vascular density by 36,49% with a simultaneous increase of specific density of connective tissue by 43,60%, which is accompanied by thickening of the walls of the spiral arteries 2,82 times and reducing of cross sectional area of spiral arteries 1,57 times. The spiral arteries are also found to have proliferation of the endothelium, hypertrophy of the muscular layer, marked enlargement of the perivascular connective tissue with the formation of the so-called fibrous cuff, resulting in the narrowing of the lumen of the vessels, up to their obliteration.

Gestational endotheliopathy is characterized by a decrease in the height of endotheliocytes from $6.19 \pm 0.07 \times 10^{-6}$ m to $4.78 \pm 0.06 \times 10^{-6}$ m, a decrease in the diameter of cells from $3.25 \pm 0.02 \times 10^{-6}$ m to $2.97 \pm 0.04 \times 10^{-6}$ m, an increase in the relative volume of damaged endotheliocytes from 6.16±0.23% to 47.07 ±3.61%.

Keywords: pregnancy, preeclampsia, spiral arteries, morphometry, endotheliopathy.

РЕЗЮМЕ

ВЛИЯНИЕ ЭНДОТЕЛИОПАТИИ СПИРАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ НА ПЛАЦЕНТАРНУЮ ИШЕМИЮ

^{1,2}Борзенко И.Б., ³Коньков Д.Г., ^{1,2}Кондратова И.Ю.,
²Басилайшвили О.В., ¹Гаргин В.В.

¹Харьковский национальный медицинский университет;
²Харьковский региональный перинатальный центр; ³Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Украина

Целью исследования явилось выявление морфологических признаков эндотелиопатии спиральных артерий при наличии преэклампсии, что важно для понимания развития осложнений беременности.

Материалом для морфологического исследования послужили плаценты, полученные после родов от матерей с преэклампсией. Группу сравнения составили случаи женщин с физиологическим течением беременности. Морфологическое строение изучалось после изготовления микропрепаратов, окрашенных гемтоксилином и эозином, по ван Гизону. Проводилась морфометрия для определения удельной плотности сосудов, удельной плотности соединительной ткани, толщины стенок спиральных артерий, площади поперечного сечения спиральных артерий, высоты эндотелиоцитов, диаметра ядер эндотелиальных клеток, ядерно-цитоплазматических взаимоотношений в эндотелиоцитах, относительного объема поврежденных эндотелиальных клеток.

Выявлено, что развитие преэклампсии сочетается с моделированием спиральных артерий. Плацентарные спиральные артерии при преэклампсии характеризуются снижением удельной плотности сосудов на 36,49% с одновременным увеличением удельной плотности соединительной ткани на 43,60%, что сопровождается утолщением стенок спиральных артерий в 2,82 раза и уменьшением площади поперечного сечения спиральных артерий в 1,57 раза. Спиральные артерии характеризуются также пролиферацией эндотелия, гипертрофией мышечного слоя, выраженным периваскулярным склерозом с образованием, так называемых, фиброзных манжет, что приводит к сужению просвета сосудов, вплоть до их облитерации.

Гестационная эндотелиопатия характеризуется уменьшением высоты эндотелиоцитов с $6,19 \pm 0,07 \times 10^{-6}$ м до $4,78 \pm 0,06 \times 10^{-6}$ м, уменьшением диаметра клеток с $3,25 \pm 0,02 \times 10^{-6}$ м до $2,97 \pm 0,04 \times 10^{-6}$ м, увеличением относительного объема поврежденных эндотелиоцитов с 6,16±0,23% до 47,07±3,61%.

რეზიუმე

სპირალური არტერიების ენდოთელიოპათიის გავლენა პლაცენტურ იშემიაზე

^{1,2}ი.ბორზენკო, ³დ.კონკოვი, ^{1,2}ი.კონდრატოვა,
²ო.ბასილაიშვილი, ¹ვ.გარგინი

¹ხარკოვის ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი;
²ხარკოვის რეგიონული პერინატალური ცენტრი;
³ვინიცას ნ.პიროგოვის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სპირალური არტერიების ენდოთელიოპათიის მორფოლოგიური ნიშნების გამოვლენა პრეეკლამპსიის დროს, რაც მნიშვნელოვანია გართულებული ორსულობის განვითარების ასესისათვის.

მორფოლოგიური კვლევის მასალად გამოყენებულ იყო პრეეკლამპსიის მქონე დედების მშობიარობის შემდეგ მიღებული პლაცენტები. შედარების ჯგუფი შეადგინა ქალებმა ორსულობის ფიზიოლოგიური მიმდინარეობით. მორფოლოგიური შენება შეისწავლბოდა ვან გინზონის მიხედვით ჰემატოქსილინით და ეოზინით შეღებილი მიკროპრეპარატების დამზადების შემდგომ. მორფომეტრიულად განისაზღვრებოდა: სისხლძარღვების კუთრი სიმჭიდროვე, შემავრთბელი ქსოვილის განიკვეთის ფართობი, კუთრი სიმჭიდროვე, სპირალური არტერიების კედლის სისქე და ენდოთელიოციტების სიმაღლე, ენდოთელიური უჯრედების ბირთვის დიამეტრი, ბირთვ-ციტოპლაზმური დამოკიდებულება ენდოთელიოციტებში დაზიანებული ენდოთელიური უჯრედების მოცულობასთან მიმართებით.

დადგენილია, რომ პრეეკლამპსიის განვითარება შერწყმულია სპირალური არტერიების რემოდეირებასთან. პლაცენტის სპირალური არტერიები პრეეკლამპსიის დროს ხასიათდება სისხლძარღვების კუთრი სიმჭიდროვის შემცირებით 36,49%-ით და შემავრთბელი ქსოვილის კუთრი სიმჭიდროვის 43,60%-ით გაზრდით, რასაც მოსდევს სპირალური არტერიების კედლის გასქელება 2,82-ჯერ და განიკვეთის ფართობის შემცირება 1,57-ჯერ. სპირალური არტერიები, ასევე, ხასიათდება ენდოთელიუმის პროლიფერაციით, კუნთოვანი შრის ჰიპერტროფიით, გამოხატული პერივასკულური სკლეროზით და ე.წ. ფიბროზული მანჯეტების წარმოქმნით, რაც განაპირობებს სისხლძარღვების სანათურის შევიწროებას, ობლიტერაციამდეც კი.

გესტაციური ენდოთელიოპათია ხასიათდება ენდოთელიოციტების სიმაღლის შემცირებით $6,19 \pm 0,07 \times 10^{-6}$ მ-დან $4,78 \pm 0,06 \times 10^{-6}$ მ-მდე, უჯრედების დიამეტრის შემცირებით $3,25 \pm 0,02 \times 10^{-6}$ მ-დან $2,97 \pm 0,04 \times 10^{-6}$ მ-მდე, დაზიანებული ენდოთელიოციტების მოცულობის შეფარდებითი მომატებით 6,16±0,23%-დან 47,07±3,61%-მდე.

THE CHALLENGES OF LEGAL REGULATION OF PUBLIC PROCUREMENT OF MEDICINES AND MEDICAL PRODUCTS IN UKRAINE

¹Pochynok K., ²Antonova O., ³Barehamian S., ³Tykhomyrova G., ³Severinova O.

¹University of the State Fiscal Service of Ukraine, Irpin; ²National Academy of Public Administration under the President of Ukraine, Kyiv; ³Mariupol State University, Ukraine

Healthcare is one of the priorities of the state. The legal, organizational, economic and social principles of health care in Ukraine, the regulation of social relations in this area are defined by the Law of Ukraine “Fundamentals of the Legislation of Ukraine on Health Care” [7]. The state budget in 2019 allocated 95,08 billion UAH for health care. It is 10% more than in 2018. Additional funds are aimed at ensuring the necessary changes in the medical sphere in Ukraine [9].

The formation and implementation of state policy in the field of health care is provided by the central executive body, namely the Ministry of Health of Ukraine [12]. The authorities of the Ministry of Health of Ukraine are: ensuring the formation and implementation of state policy in the field of health care; the implementation of the organization of medical care at the primary, secondary and tertiary level, the organization of medical care provision in disciplines, including using telemedicine; the monitoring of health status of the population, activities and resources of the health care institutions; ensuring the efficient and targeted use of budget funds [12].

Indeed, the right to free medical care in state-owned and municipal health care institutions is enshrined in part three of Article 49 of the Constitution of Ukraine. This right includes ensuring the needs of the population in basic (vital) medicines and medical devices through public procurement [4].

Today, public procurement of medicines and medical products is one of the most painful and acutely criticized problems in Ukraine. The legislative changes that have taken place in recent years in this area are mainly aimed at eliminating corruption manifestations and attracting international specialized organizations that make purchases. However, it should be noted that these changes do not solve the essence of the problems and are mostly administrative and organizational [8]. At the same time, due to the constant changes in the law about public procurement in general and the search for new mechanisms for public procurement of medicines and medical products in Ukraine, the scientific research on this issue remains beyond the attention of researchers and needs further research.

The purpose of this article is to study the requirements of the current regulations about the organization and conduct of public procurement of medicines and medical products on the basis of the activities of the Ministry of Health of Ukraine during 2015-2018 and the beginning of 2019. As well as the main problems and ways to eliminate them are identified in this area.

Material and methods. Materials for the study of public procurement are: national legislation, the Constitution of Ukraine, the Law of Ukraine “On Public Procurement”, the UNCITRAL Model Law on Procurement of Goods, the Government Procurement Agreement (GPA) WTO. Materials for research in the field of medicines and medical products: Laws of Ukraine “Fundamentals of the legislation of Ukraine on health care”, “On Medicines”, “Convention for the Protection of Human Rights and Fundamental Freedoms”, “The Concept of Reforming Procurement of Medicines and Medical Devices, Ancillary Products and Other Medical Products”.

The topic of the study, its purpose and objectives, the nature of the object and the subject determined its methodological basis.

In the article general theoretical methods of research (analysis, synthesis, comparison and description) have been used to highlight the current problems of legal regulation of public procurement of medicines and medical products. The special scientific methods (formal logic and comparative legal method) made it possible to perform a comparative analysis of public procurement in Ukraine and abroad and emphasized certain problems of laws and regulations harmonization. The statistical method made it possible to reach conclusions due to the appropriation of public funds for the purchase of medicines and medical products by specialized organizations.

Results and their discussion. Currently, quite different definitions and interpretations of public or state procurement are found in legal and economic scientific literature. The definition of “public procurement” is used in the Ukrainian legislation since December 25, 2015 (the adoption of the Law of Ukraine “On Public Procurement” [21]). A significant part of the work of scientists was written before the adoption of the relevant legislative act. Therefore scientists actively used the concept of “state procurement”, which was enshrined by the Law of Ukraine “On State Procurement” at that time. Although certain authors even began to use the term “public procurement”.

V. Kvach and R. Afanasiiev mean that public procurement is “the process of purchasing by the customer of goods, works and services that are necessary for its full and effective functioning. This process takes place in accordance with the law on public procurement, within the ambit of fair competition in order to ensure efficiency and maximum economy of state funds” [3]. S. Pappas emphasizes that “public procurements are a set of social legal relations that arise in the course of customer’s implementation of public needs in goods, works and services funding for public finances in accordance with the law” [11].

In particular, foreign countries use the term “procurement” (purchases) which is defined “as a set of methods that allow to meet the customer’s requirements in products, works and services” [6]. Procurement is the purchasing of goods and / or services with the best possible total cost of ownership, with the proper quality and quantity, at the right time, in the right place and from the right source for direct benefit or use by corporations, individuals or even government [24]. Public procurement is the purchasing by the customer of goods, works and services performed by appropriate order [21].

Pharmaceuticals play an important role in managing health because when someone is ill medicines are always prescribed by doctors. The purchase of medicines is one of the largest parts of health expenditures in any country in the world: ranging from 5% to 12% in developed countries and up to 40% in developing countries [26].

The legal regulation of public procurement in the planning process of medicines and medical devices is carried out according to general procedure (the Laws of Ukraine “On Public Procurement” [21], “On Medicines” [19], “Fundamentals of the Legislation of Ukraine on Health Care” [7] and the Resolution of the Cabinet of Ministers of Ukraine Resolution “On measures to stabilize prices for medicines and medical products” [18]). This process is also carried out in accordance with the require-

ments of special regulatory legal acts that govern the relations in various spheres, in particular, in health care.

The holistic character of legislation in this area is divided into general and special. Special legislation is a set of normative and legal acts that are applied in the course of carrying out public procurement procedures for medicines and medical products. They usually: regulate the choice of the subject matter of the procurement [14], regulate the turnover of the subject matter of the procurement [13], approve state programs and measures in health care; carry out state price adjustment for medicines and medical products [1], determine the mechanism for spending money on centralized health care [15], regulate the formation of medical and technical requirements for the subject matter of the procurement, etc.

While forming the legal regulation of public procurement of medicines and medical products, the priority tasks are: the reduction of corruption risks; the rational use of budget funds; reducing bureaucratic burdens, administrative costs and appropriate barriers; the implementation of transparent procurement; patient orientation [5].

Procurement is an important part of effective management of medicines and their delivery, as well as an important procedure for all levels of health care centers. An effective procurement process provides the availability of the right medicine, at the right time for the right patient, at reasonable prices and with recognized quality standards. Thus, purchasing is not just an act of purchase, but it embraces a complex range of operational, business, information technology, security and risk management, as well as legal systems targeting to meet the needs of an institution. In particular, persons involved in the procurement of pharmaceuticals should identify, accredit and control the relevant sources of supply; evaluate the work of suppliers; choose a strategy or approach to the purchase; control the drug delivery; evaluate clinical outcomes and use the results; evaluate new products and the pharmaceutical market. Successful purchases in hospitals are also a collaborative process involving people with purchasing, finance, management, clinical and nursing skills, pharmacy, quality control and even end user: the patient [26].

The most important moment in conducting public procurement is the defining of subject matter of the procurement. The further process of this subject depends on its implementation and signing a contract on the purchase of the product which closely corresponds to the needs of the customer.

The cost of the subject matter of the procurement of goods, services is equal to or exceeds 200 thousand UAH, value of work – 1.5 million UAH [21].

Nikolaos Maniadakis, Anke-Peggy Holtorf, Jose Ottawa Correa, Photini Jalama, and Kalman Vijaya consider that “tenders must be well-planned, organized and conducted to be profitable. Countries that possess well defined and transparent tender frames and processes will be better equipped to achieve the desired improvements in healthcare systems. “Suitable tender practice” includes a clear definition of requirements that will be used as selection criteria in addition to acquisition costs and to monitor the success of the tender. “Suitable tender practice” can help manage spending and improve healthcare at the same time” [25].

The subject matter of the procurement is goods, works or services purchased by the customer through procurement procedure. The participants are allowed to submit tenders or proposals during negotiations (in the case of the use of negotiated procurement procedure) [21, § 37, part 1, Article 1].

Medicine – “any substance or combination of substances that are capable of preventing / treating humans or animals’ diseases. The medicine is introduced to determine the medical diagnosis or restoration, recovery, correction and changing of physiological functions through pharmacological, immunological, metabolic actions” [22].

Medicine – any substance or combination of substances (including one or several active factors and pharmaceutical aids) that possess properties intended for the treatment or human disease prevention. Or it is any substance or combination of substances (including one or several active factors and pharmaceutical aids) which can be targeted at preventing pregnancy, recovery, correction and changing of human physiological functions through pharmacological, immunological, metabolic actions or determination of medical diagnosis [19].

The subject matter of the procurement is determined according to the “Procedure for determining the subject matter of the procurement” [14]. In the course of the procurement of medicines, the procurement item is determined on the basis of the third digit of the Glossary of Procurement Terms with the indication in the brackets of the international non-proprietary name (INN) of the medicinal product. In case if the subject matter of procurement of medicinal products contains two or more medicines, the customer points at in brackets the international non-proprietary name (INN) for each medicine [14].

The customer may identify individual parts of the procurement items according to INN, due to output, adjusting dosage, in terms of volume and / or according to delivery of medicines.

Thus, the documents submitted for the purchase of medicines should conform to certain medical and technical requirements:

- medicines should be registered in Ukraine;
- medicines must be registered in the producer country;
- the quality of the manufacturing process of the drug products should be confirmed;
- medicines should be accompanied by the prescribing information. It should be in Ukrainian and approved in an orderly manner;
- the shelf life must be not less than 75% of the prescribed period of storage.

Medical devices – (healthcare products, medical equipment) are specially designed for use separately or in combination with other medicines or for other medical purposes (as a precaution, diagnosis, disease treatment and other medical condition and physiological status, supervision, rehabilitation, medical procedures, research of medical and laboratory character, including for laboratory diagnostics in vitro, measurements, control over metrological properties, replacement or modification of human organs or physiological process necessary for the improvement of the functioning of human organs and tissues, control over the process of fertilization, embryo-fetal development) systems, devices, including invasive devices, vehicles, equipment, devices, tools, dressing and suturing, dental materials, reagents, reagent reaction products, sample storage facilities, calibrators, control materials and standard samples, software, implants, polymer / rubber/other material products, their practical application may not be related to the direct chemical, pharmacological, immunological or metabolic effects on the human body, special-purpose clothes and personal safety equipment [14].

When purchasing healthcare products, the subject matter of the procurement process is determined on the basis of the fourth digit of the Glossary of Procurement Terms with the code and the name of the medical product specifying between the brackets according to the national classification NK 024:2019 “Classifi-

cation of medical products”, [17]. In case if the subject matter of procurement contains two or more medicines, the contractor shall indicate in brackets the code and the name of each medicine.

Healthcare facilities calculate the need for procurement of medicines by public funds through international specialized organizations since 2015 [16], taking into account the number of patients they serve.

Purchases were made through 3 international organizations for the fourth year running: Crown Agents (United Kingdom), United Nations Development Program (UNDP) and UNICEF.

The Ministry of Health of Ukraine (the acting Minister of Healthcare Suprun U.) during 2017-2018 attracted international specialized organizations for the implementation of centralized procurement of medicines, immunobiologicals (vaccines) and medical products for the implementation of national programs and centralized health care activities [16]. UAH 11930,4 million have been allocated from the state budget for these purposes. This money was aimed at preserving and strengthening health, disease prevention, reducing morbidity rate, disability and mortality, improving the quality and efficiency of provision of medical aid, ensuring social equity and defense of the rights of citizens to health care [2].

International specialized organizations do not disclose information about the details of the procurement procedures, with details of their participants, their price proposals and the criteria how winners are identified. These organizations only post the information about announced tenders on their web site, a complete list of bidding documents, in particular, the qualification requirements for the procurement participants and the subject matter of procurement [10].

Consequently, such a procurement mechanism does not provide a complete understanding by the Ukrainian citizens how the principles of openness, transparency and competitiveness during the purchasing process are adhered to.

In October 2018, the Ministry of Health of Ukraine established a state-owned commercial enterprise “Medical Procurement of Ukraine”. The purpose of this organization (in line with the Statutes) is to organize and conduct procurement procedures for medicines, medical products, supporting equipment, health com-

modities, services and procurement under the framework agreements of medical goods and services in favour of customers according to the Law of Ukraine “On Public Procurement” [27].

In 2019, this company will carry out preliminary procurements of only two positions of medicines for the treatment of adults, cancer patients and four positions – for the treatment of patients with TB.

In 2019, the state budget of Ukraine for the procurement of medicines and medical products provides 6,58 billion UAH – for 626 million USD more than in previous years. It means that patients will receive more vital high-end drugs that usually can not afford to buy them. In particular, the public procurement program includes such medicines and medical products for serious diseases that require prolonged and / or expensive treatment – pediatric oncology and adult oncology, tuberculosis, viral hepatitis B and C, HIV/AIDS, etc. [23].

Conclusions. Thus, regulatory legal acts about planning and conducting public procurement of medicines are not effective, contrary to the requirements of the legislation and also duplicate each other. As a result, we claim about the suitability of their revision and cancellation.

As to the medical products, it is urgent to adopt the relevant law “On medical products” that would regulate the legal relations connected with the circulation, state supervision (control) of quality, including the safety and effectiveness of medical products, defining rights, obligations and responsibilities of business entities and the subjects of institutional and economic authority in this area.

In particular, it is necessary to introduce an effective system of control, namely:

- 1) internal control over the draft on public finance funds and purchased material items;
- 2) control of the contractual requirements compliance signed with international specialized organizations, in particular on the timely repayment by these organizations of available funds of government budget on completing the fiscal year;
- 3) control about the use of the balance after the procurement, specification of the medical and technical characteristics of the subject matter of procurement, etc.

Table 1. The appropriation of funds through the state budget for public procurement of medicines and medical products for 2015-2018 [2]

Year	2015	2016	2017	2018
the amount of money	92,9 million UAH	3352,4 million UAH	5047,6 million UAH	1337,4 million UAH
the amount of money % transferred to international specialized organizations	4,2%	85%	84%	22,6%

Table 2. The appropriation of public funds for the purchase of medicines and medical products purchased on the terms and pursuant to the conditions set out in the agreement (agreements) by specialized organizations for 2016-2017 year

Year	2016			
Names of specialized organizations	UNICEF	CRAUN	UNDP	Total
Allocated funds	843284600,00	1066778700,00	2034015900,00	3944079200,00
The amount of medicines, medical products and vaccines that must be purchased in	55253919	39984939	177946238	273185096
Year	2017			
Names of specialized organizations	UNICEF	CRAUN	UNDP	Total
Allocated funds	1081713300,00	1028671100,00	3902211800,00	6012596200,00
The amount of medicines, medical products and vaccines that must be purchased in	83539247	30453555	171596750	285589552

The main reason for the unproductive and ineffective use of public funds of the Ministry of Health of Ukraine is the transfer to the accounts of international specialized organizations of all funds allocated for the purchase of medicines and medical products. It is necessary to transfer only not more than 30% and later – 70% after the purchase of medicines and medical products. Indeed, due to fluctuations in the exchange rate there may be differences between the amounts of agreed estimates and the payment of the Ministry of Health of Ukraine.

In accordance with an agreement (agreements) signed by the Ministry of Health of Ukraine with UNICEF, CROWN, UNDP that make purchases by public funds, we propose to make the following changes:

1) in the part relating to violating the terms of delivery of medicines and medical products for the implementation of national health programs;

2) to foresee penal sanctions for violation of terms of delivery of medicines and medical products.

REFERENCES

1. Деякі питання державного регулювання цін на лікарські засоби і вироби медичного призначення: Постанова Кабінету Міністрів України від 25.03.2009 № 333. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/333-2009-п>.
2. Звіт про результати аудиту ефективності використання коштів державного бюджету, виділених у 2017-2018 роках Міністерству охорони здоров'я України для здійснення державних закупівель із залученням спеціалізованих організацій за бюджетною програмою “Забезпечення медичних заходів окремих державних програм та комплексних заходів програмного характеру”, затверджено рішенням Рахункової палати від 23.04.2019 № 10-2.
3. Квач В.Ю., Афанасієв Р. В. Загальнотеоретичні положення про публічні закупівлі: поняття та призначення. Молодий учений 2017. № 11. С. 884-887.
4. Конституції України: Закон України від 28.06.1996 № 254к/96-ВР. URL: <https://zakon.rada.gov.ua>
5. Концепція реформування закупівель лікарських засобів та медичних виробів, допоміжних засобів, інших товарів медичного призначення: Розпорядженням Кабінету Міністрів України від 23.08.2017 № 582. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/582-2017-р>.
6. Кузнецов К.В. Конкурентные закупки: торги, тендеры, конкурсы. Санкт-Петербург: Питер, 2005. 227 с.
7. Основи законодавства України про охорону здоров'я: Закон України від 19.11.1992 № 2801-XII. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/ru/2801-12>.
8. Остап'юк М.В. Господарсько-правове регулювання державних закупівель лікарських засобів та медичних виробів: автореф. дис. ... канд. юрид. наук: 12.00.04 “Господарське право, господарське процесуальне право”. 2015. 22 с.
9. Офіційний сайт Кабінету Міністрів України. URL: <https://www.kmu.gov.ua>.
10. Офіційний сайт Міністерства охорони здоров'я України. URL: moz.gov.ua
11. Паппас С. Політика ЄС у сфері державних закупівель. Київ: 2005; 121.
12. Положення про Міністерство охорони здоров'я України: Постанова Кабінету Міністрів України від 25.03.2015 № 267. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/267-2015-п>.
13. Положення про реєстр оптово-відпускних цін на лікарські засоби і вироби медичного призначення, поря-

док внесення до нього змін: Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 18.08.2014 № 574. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1097-14>.

14. Порядок визначення предмета закупівлі: Наказ Міністерства економічного розвитку і торгівлі України від 17.03.2016 № 454. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws>

15. Порядок використання коштів, передбачених у державному бюджеті для виконання програм та здійснення централізованих заходів з охорони здоров'я: Постанова Кабінету Міністрів України від 17.03.2011 № 298. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/298-2011-п>.

16. Про внесення змін до деяких законів України щодо забезпечення своєчасного доступу пацієнтів до необхідних лікарських засобів та медичних виробів шляхом здійснення державних закупівель із залученням спеціалізованих організацій, які здійснюють закупівлі: Закон України від 19.03.2015 №269-VIII. URL: <https://zakon.rada.gov.ua>

17. Про затвердження національного класифікатора НК 024:2019 “Класифікатор медичних виробів”: Наказ Міністерства економічного розвитку і торгівлі України від 05.02.2019 № 159. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/>

18. Про заходи щодо стабілізації цін на лікарські засоби і медичні вироби: Постанова Кабінету Міністрів України від 17.10.2008 № 955. URL: <https://zakon.rada.gov.ua>

19. Про лікарські засоби: Закон України від 04.04.1996 №123/96-ВР. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/>

20. Про медичні вироби: проект закону. URL: <https://www.arteka.ua/article/8794>.

21. Про публічні закупівлі: Закон України від 25.12.2015 № 922-VIII. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/922-19>.

22. Act of 6 September 2001 on Pharmaceutical Law. 2001. // Journal of Laws. No. 126 item 1381.

23. Basu S, Hassenplug JC. Patient access to medical devices – a comparison of U.S. and European Review Processes. // New England Journal of Medicine. 2012. 367 (6). Pp. 485-488.

24. Dobler D, Burt D (1996) Purchasing and Supply Management. New York: McGraw Hill.

25. Nikolaos Maniadaakis, Anke-Peggy Holtorf, José Otávio Corrêa, Fotini Gialama, and Kalman Wijaya. Shaping Pharmaceutical Tenders for Effectiveness and Sustainability in Countries with Expanding Healthcare Coverage. // Applied Health Economics and Health Policy. 2018. - 16(5). Pp. 591-607.

26. Ombaka E. Current Status Of Medicines Procurement. // American Journal of Health-system Pharmacy. - 2009.- 66 (5). Pp.20-28.

27. Parvizi N., Woods K. Regulation of medicines and medical devices: contrasts and similarities. London. 2014. Clinical medicine. 14(1);6-12.

SUMMARY

THE CHALLENGES OF LEGAL REGULATION OF PUBLIC PROCUREMENT OF MEDICINES AND MEDICAL PRODUCTS IN UKRAINE

¹Pochynok K., ²Antonova O., ³Barehamian S.,
³Tykhomyrova G., ³Severinova O.

¹University of the State Fiscal Service of Ukraine, Irpin; ²National Academy of Public Administration under the President of Ukraine, Kyiv; ³Mariupol State University, Ukraine

The purpose of this article is to investigate the requirements of the current statutory acts about the organization and conduct

of public procurement of medicines and medical products, to identify the main problems in this area and ways to eliminate.

Materials for the study of public procurement are: national legislation, the Government Procurement Agreement (GPA) WTO, etc. Materials for research in the field of medicines and medical products: "Convention for the Protection of Human Rights and Fundamental Freedoms", "The Concept of Reforming Procurement of Medicines and Medical Devices, Ancillary Products and Other Medical Products", Laws of Ukraine "Fundamentals of the legislation of Ukraine on health care", "On Medicines", etc.

The topic of the study, its purpose and objectives, the nature of the object and the subject determined its methodological basis. In the article general theoretical methods of research have been used to highlight the current problems of legal regulation of public procurement of medicines and medical products. The specific scientific methods made it possible to perform a comparative analysis of public procurement in Ukraine and abroad and emphasized problems of laws and regulations harmonization. The statistical method made it possible to reach conclusions due to the appropriation of public funds for the purchase of medicines and medical products by specialized organizations.

The main reason for the unproductive and unfeasible use of budget funds by the Ministry of Health of Ukraine is the transfer of the total amount of state funds to the accounts of international specialized organizations. Ukraine should urgently adopt the relevant law "On medical devices" that would adjust legal relations, connected to circulation, state supervision (control) of quality, including the safety and effectiveness of medical products, defining the rights, obligations and responsibilities of business entities, as well as subjects of organizational and economic authority in this area.

Keywords: public procurement, medicines, medical products, Ministry of Health of Ukraine, international specialized organizations.

РЕЗЮМЕ

ПРОБЛЕМЫ ПРАВОВОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ ПУБЛИЧНЫХ ЗАКУПОК ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ В УКРАИНЕ

¹Починок К.Б., ²Антонова Е.Р., ³Барегамян С.Х.,
³Тихомирова Г.Е., ³Севернинова А.Б.

¹Университет государственной фискальной службы Украины, Ирпень; ²Национальная академия государственного управления при Президенте Украины, Киев; ³Мариупольский государственный университет, Украина

Целью данной статьи является исследование требований действующих нормативных актов по организации и проведению публичных закупок лекарственных средств и медицинских изделий, а также выявление основных проблем в этой сфере и предложение путей их устранения.

Материалом для изучения публичных закупок является: национальное законодательство, Соглашение о государственных закупках СОТ и др. Материалом для исследования в области лекарственных средств и медицинских изделий стали "Конвенция о защите прав человека и основных свобод", "Концепция реформирования закупок лекарственных средств и медицинских изделий, вспомогательных средств, других товаров медицинского назначения", Законы Украины: "Основы законодательства Украины о здравоохранении", "О лекарственных средствах".

Тема исследования, ее цель и задачи, характер объекта и предмет определили его методологическую основу. В статье использованы общетеоретические методы исследования для освещения актуальных проблем правового регулирования публичных закупок лекарственных средств и медицинских изделий. Специальные научные методы позволили провести сравнительный анализ публичных закупок в Украине и за рубежом, а также указать на проблемы их правового регулирования. Статистический метод позволил сделать выводы, касающиеся выделения государственного финансирования специализированным организациям на закупку лекарств и медицинских изделий.

Сделан вывод, что основной причиной непродуктивного и нерезультативного использования бюджетных средств Министерством здравоохранения Украины является перечисление на счета международных специализированных организациях всей суммы государственных средств. Подчеркнута необходимость принятия закона "О медицинских изделиях", который бы урегулировал правоотношения, связанные с обращением, государственным контролем качества (включая безопасность и эффективность медицинской продукции), определил права, обязанности и ответственность субъектов хозяйствования, а также субъектов организационно-хозяйственных полномочий в этой сфере.

რეზიუმე

მედიკამენტებისა და სამკურნალო დანიშნულების პროდუქტების საზოგადოებრივი წესის რეგულირების პრობლემები უკრაინაში

¹კ.პოჩინოკი, ²ე. ანტონოვა, ³ს.ბარეგამიანი,
³გ.ტიხომიროვა, ³ა. სევერინოვა

¹უკრაინის სახელმწიფო ფისკალური სამსახურის უნივერსიტეტი; ²უკრაინის პრეზიდენტთან არსებული სახელმწიფო მართვის ეროვნული აკადემია; ³მარიუპოლის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, უკრაინა

ამ სტატიის მიზანია მედიკამენტებისა და სამედიცინო საშუალებების სახელმწიფო შესყიდვების ორგანიზებისა და ჩატარების შესახებ არსებული რეგულაციების მოთხოვნების შესწავლა, აგრეთვე ამ სფეროში არსებული ძირითადი პრობლემების დადგენა და მათი გადაჭრის გზების შემოთავაზება.

სახელმწიფო შესყიდვების შესწავლის მასალაა: ეროვნული კანონმდებლობა, ჩო საჯარო შესყიდვების შესახებ შეთანხმება და ა.შ. მედიკამენტებისა და სამედიცინო ხელსაწყოების სფეროში გამოკვლევისთვის არის "ადამიანის უფლებათა და ძირითადი თავისუფლებების დაცვის კონვენცია", "მედიკამენტებისა და სამედიცინო პროდუქტების შესყიდვის რეგორმის კონცეფცია, დამხმარე საშუალებები, სხვა სამედიცინო წყაროები", უკრაინის კანონები: "უკრაინის კანონმდებლობის საფუძვლები ჯანდაცვის შესახებ", "მედიკამენტებზე".

კვლევის თემა, მისი მიზანი და ამოცანები, ობიექტისა და საგნის ბუნება განსაზღვრავენ მის მეთოდოლოგიურ საფუძველს. სტატიაში გამოყენებულია ზოგადი თეორიული კვლევის მეთოდები, მედიკამენტებისა და სამედიცინო საშუალებების სახელმწიფო შესყიდვების სამართლებრივი რეგულირების შესაბამისი პრობლემების გასამახვილებლად. სპეციალურმა სა-

მეცნიერო მეთოდებმა შესაძლებელი გახადა სახელმწიფო შესყიდვების შედარებით ანალიზის ჩატარება უკრაინისა და მის ფარგლებს გარეთ, ასევე აღინიშნა მათი სამართლებრივი რეგულირების პრობლემები. სტატისტიკური მეთოდი საშუალებას მოგვცა გამოვიტანოთ დასკვნები მედიკამენტებისა და სამედიცინო ხელსაწყოების შესაძენად სპეციალურ ორგანიზაციებზე სახელმწიფო დაფინანსების გამოყოფასთან დაკავშირებით.

დაასკვნეს, რომ უკრაინის ჯანდაცვის სამინისტროს მიერ საბიუჯეტო სახსრების არაპროდუქტიული და არაეფექტური გამოყენების ძირითადი მიზეზი

არის საერთაშორისო სპეციალიზირებული ორგანიზაციების ანგარიშებზე გადარიცხვა სახელმწიფო სახსრების მთელი ოდენობით. საზგასმით აღინიშნა „სამედიცინო აღჭურვილობის შესახებ“ კანონის მიღების აუცილებლობა, რომელიც არეგულირებს მიმოქცევასთან დაკავშირებულ სამართლებრივ ურთიერთობებს, სახელმწიფო ხარისხის კონტროლს (მათ შორის, სამედიცინო პროდუქტების უსაფრთხოებას და ეფექტურობას), განისაზღვროდა როგორც ბიზნეს სუბიექტების, ისე ამ სფეროში ორგანიზაციულ და ეკონომიკური უფლებამოსილების მქონე პირების უფლებები, მოვალეობები და პასუხისმგებლობები.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ КВЕРЦЕТИНА И ЕГО ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ КОРВИТИНА НА МОДЕЛИ ДИКЛОФЕНАК-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГАСТРОПАТИИ

Степанюк Н.Г.

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

Среди многочисленных лекарственных препаратов, которые на сегодняшний день имеются в арсенале клиницистов, нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) занимают особое место благодаря высоким лечебным свойствам и относительной безопасности. Несмотря на общепризнанные положительные свойства НПВС, их использование в клинике ограничено риском возникновения серьезных осложнений со стороны внутренних органов и крови. Наиболее распространенной и опасной реакцией, которая возникает при длительном использовании препаратов данной группы – является НПВС-индуцированная гастропатия [1,18,20,21].

Сегодня с целью профилактики и лечения НПВС-гастропатий, в основном, используют ингибиторы протонного насоса (омепразол, лансопразол), блокаторы H₂-рецепторов гистамина (фамотидин) и синтетический аналог простагландина E₁-мизопростол. Указанные лекарственные средства не всегда удовлетворяют потребностям клиницистов, так как недостаточно эффективны и характеризуются побочными эффектами [16,17].

Учитывая многогранность патогенеза НПВС-гастропатий, по нашему мнению, оптимизировать фармакологические эффекты нестероидных антифлогистиков и повысить их безопасность возможно путем комбинации НПВС с препаратами, обладающими полифункциональными свойствами, которые хорошо сопоставимы с патогенезом указанных патологических состояний.

К числу таких лекарственных препаратов следует отнести кверцетин и его водорастворимую форму корвитин. Выбор кверцетина (корвитина) для профилактики язвенной болезни обусловлен его природным происхождением. Препарат характеризуется ценным комплексом политропных фармакологических эффектов, в частности противовоспалительным, антиоксидантным, антигипоксантным, стимулирующим действием микроциркуляторные и репаративные процессы, которые согласно литературным данным

имеют перспективу использования при воспалительных и ишемических процессах [14,19,22]. Кроме того, кверцетин относится к безопасным и малотоксичным лекарственным средствам.

Согласно литературным данным, применение кверцетина в составе лекарственных препаратов в виде таблеток и гранул ограничено его свойством нерастворимости в водной среде, а, следовательно, и в физиологических жидкостях организма, что определяет низкую его биодоступность. [10]. Вышеизложенное диктует необходимость поиска путей получения новых лекарственных форм кверцетина для парентерального применения. В Научно-производственном центре Закрытого акционерного общества «Борщяговский ХФЗ» получена водорастворимая форма кверцетина с высокой биодоступностью. Указанный биофлавоноид в данной лекарственной форме использован в качестве кардиопротекторного препарата в лечении острого инфаркта миокарда и положительно зарекомендовал себя в плане эффективности и безопасности [7].

Для модели гастропатии применен диклофенак, который благодаря выраженному противовоспалительному и обезболивающему эффектам, а также умеренной ульцерогенности, в наибольшей мере удовлетворяет потребности клиницистов.

Целью исследования явилось определить защитное действие кверцетина и его водорастворимой формы - корвитина в сравнении с современными гастропротекторными препаратами на модели диклофенак-индуцированной гастропатии.

Материал и методы. Исследования проведены на 56 нелинейных крысах-самцах массой 190-250г, разбитых на 7 групп по 7 животных в каждой. Гастропатию моделировали у крыс, которые на протяжении 1 суток были лишены пищи со свободным доступом к воде, путем однократного введения в желудок диклофенака-натрия (фармацевтиче-

Таблица. Влияние корвитина, кверцетина и препаратов-сравнения на ulcerогенное действие диклофенака у крыс ($M \pm t$, $n=7$)

Условия эксперимента	Количество деструкций на СОЖ	Процент изменений относительно контроля
0,9% NaCl+ диклофенак (контроль)	9,62±1,06	-
Омепразол+диклофенак	1,73±0,41* ^{1,5-7}	-82
Корвитин+диклофенак	2,12±0,34* ^{1,6-7}	-78
Кверцетин+диклофенак	2,31±0,36* ^{1,7}	-76
Фамотидин+диклофенак	2,89±0,42* ¹	-70
Мизопростол+диклофенак	3,08±0,38* ¹	-68
Де-нол+ диклофенак	3,65±0,44* ¹	-62

примечание. * - $p \leq 0,05$ относительно группы, номер которой стоит возле звездочки

ская компания «Дарница») в дозе 50 мг/кг [4]. Исследуемые препараты в терапевтически эффективных дозах [3,5,7] вводили предварительно перед диклофенаком 3 раза с интервалом 12 ч, последнее введение производилось за 1 час до диклофенака: использовали гранулы кверцетина - 100 мг/кг, в/ж), корвитин - 5 мг/кг, в/м (оба препарата – производства НПЦ «Боршаговский ХФЗ», Украина). Для сравнения использовали омепразол - 50 мг/кг, в/ж, фамотидин - 50 мг/кг, в/ж, синтетический аналог ПГЕ₁ мизопростол - 0,05 мг/кг, в/ж и коллоидный субцитрат висмута - де-нол, 50 мг/кг, в/ж. Животные контрольной группы получали в/ж эквивалентное количество физиологического раствора натрия хлорида. Спустя 24 часа после введения диклофенака этаназию крыс проводили под эфирным наркозом. Все этапы исследования выполнены согласно Международным требованиям и принципам «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» [15].

Степень противоязвенного действия препаратов оценивали спустя одни сутки после введения диклофенака по динамике среднего показателя количества деструкций (язва, эрозия, кровоизлияния) на слизистой оболочке желудка (СОЖ) крыс каждой группы [13].

Статистическую обработку результатов проводили при помощи пакета «Statistica6.1» (принадлежит НИЦ ВМУ им. М.И. Пирогова, лицензионный номер BXXR901E246022FA).

Результаты и их обсуждение. Проведенное исследование показало, что однократное в/ж введение крысам диклофенака в дозе 50 мг/кг вызывает в контрольной группе животных на СОЖ в среднем 9,62±1,06 деструкций (таблица).

Превентивное трехкратное введение крысам перед диклофенаком корвитина (5мг/кг в/м в пересчете на кверцетин) или кверцетина в дозе 100 мг/кг в/ж, подобно референс-препаратам тормозило ulcerогенное действие НПВС, на что указывает достоверное снижение показателя количества деструкций на СОЖ соответственно на 78 и 76% относительно контроля. Оба препарата проявили практически одинаковую эффективность и заняли при этом промежуточное положение между омепразолом (наиболее эффективным препаратом) и фамотидином, противоязвенное действие которых составило 82% и 70%, соответственно.

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют заключить, что препараты с полифункциональными фармакологическими свойствами - корвитин и кверцетин характеризуются высокой степенью защитного действия на СОЖ в условиях диклофенак-индуцированной гастропатии. По значимости указанного эффекта корвитин и гранулы кверцетина практически сопоставимы с омепразолом.

Полученные результаты обосновывают целесообразность использования кверцетина (корвитина) с целью предупреждения повреждений СОЖ, вызванных НПВС. Механизм защитного действия обоих препаратов на СОЖ в условиях диклофенак-индуцированной гастропатии можно связать со способностью указанных препаратов стимулировать кровоснабжение СОЖ, антиоксидантному, противоишемическому и антигипоксантному эффектам. Ulcerогенность НПВС, как известно, обусловлена, в основном, их антипростагландиновыми свойствами, в частности, угнетением синтеза простагландинов с вазодилатирующим и антиагрегантным эффектами (PGE₂ и PGI₂). Вследствие чего, как известно, возникают нарушения регионарного кровотока и кислородного режима в СОЖ, что приводит к возникновению в ней микроинфарктов [8,11]. Согласно литературным данным [12], кверцетин (корвитин) обладает способностью стимулировать кровоснабжение СОЖ и создавать в ней определенный кислородный резерв. Исходя из этого, предварительное введение корвитина перед диклофенаком нивелирует нарушения кровотока и кислородного режима в желудке, вызванных указанным НПВС. Эти эффекты биофлавоноидов реализуются благодаря наличию у препаратов антиоксидантной активности, способности стимулировать синтез эндогенного NO и в конечном итоге способствовать вазодилатации, противоишемическому и антигипоксантному эффектам [11]. Защитное действие корвитина реализуется также за счет его способности непосредственно стимулировать во внутренних органах продукцию простагландинов с цитопротективным действием (ПГЕ₂ и ПGI₂) [19,21].

Антиоксидантная активность кверцетина (корвитина) обусловлена прежде всего его химической структурой, в частности наличием в структуре большого количества гидроксильных радикалов позволяет кверцетину являться донором электронов и водорода, связывая перекись водорода и окисля супероксид-анион [2]. Согласно данным исследований [6,9], кверцетин сам может выступать в качестве ловушки свободных радикалов, снижать концентрацию малонового диальдегида и дисенных конъюгатов при активации процессов липопероксидации, а также активировать ферменты антиоксидантной защиты.

Флавоноид кверцетин кроме вышеуказанных свойств, обладает выраженным противовоспалительным действием (ингибирует 5-липоксигеназу, продукцию IL-1β и IL-8), положительно влияет на систему синтеза NO, что лежит в основе механизмов его вазодилатирующего и противоишемического эффектов. Весьма значимым фактом является также способность кверцетина ингибировать продукцию соляной кислоты и рост H⁺ в желудке [15,16,21].

Таким образом, приведенные данные указывают на то, что одним из механизмов ослабления кверцетином (корвителином) ульцерогенности диклофенака – является способность биофлавоноида нивелировать вызванные НПВС нарушения кровоснабжения и кислородного режима в СОЖ. Кроме того, наличие у кверцетина (корвителина) противовоспалительного действия за счет антилейкотриенового эффекта [5], на наш взгляд, будет иметь положительное влияние на выраженность противовоспалительного действия диклофенака, что позволит использовать более низкие терапевтические дозы нестероидного антифлогистика и тем самым нивелировать возникновение побочных эффектов.

Вывод. Превентивное введение кверцетина (корвителина) перед диклофенаком в такой же мере, как и омепразол, способствуют ослаблению ульцерогенности указанного НПВС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вікторов О.П., Бази́ка О.Є., Деяк С.І. Порівняльне дослідження побічних реакцій в Україні при медичному застосуванні деяких нестероїдних протизапальних лікарських засобів. Укр. Науково-медичний молодіжний журнал. 2011; 4; 105.
2. Вильчинская Т. Кверцетин и его роль как антиоксиданта, цитостатика и онкопротектора / Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. 2014; 1-2 (70-71): 55-58.
3. Загородній М.І. Обґрунтування ефективності комбінованої терапії гастропатій, викликаних диклофенаком натрію, у хворих на остеоартроз (експериментально-клінічне дослідження): автореф. Дис. на здобуття наук. ступеню канд. мед. наук: спец. 14.01.02 «Фармакологія» К.: 2003; 21.
4. Исмаилова А.Ф., Зарудий Ф.С., Лазарева Д.Н., Исмаилова З.Ф., Савицкий Ф.П., Тропинина Ю.Г., Давидова В.А., Кривоногов В.Р. Влияние некоторых производных пиримидина на экспериментальные язвы желудка у крыс. Экспериментальная и клиническая фармакология. 1998; 61(4): 23-25.
5. Ковалев В.Б., Ковган В.В., Колчина Е.Ю. Механизмы лечебного действия биофлавоноида кверцетина (обзор литературы). Український медичний альманах. 1999; 2(4): 176-182.
6. Конкина И.Г., Грабовский С.А., Муринов Ю.И., Кабальнова И.И. Сравнительная оценка реакционной способности кверцетина и дигидрокверцетина по отношению к пероксильным радикалам. Химия растительного сырья. 2011; 3: 207-208.
7. Мойбенко А.А. Патогенетическое обоснование эффективности нового отечественного кардиопротектора корвителина (водорастворимого кверцетина) при остром инфаркте миокарда. Вісник фармакології та фармації. 2007; 5: 38-47.
8. Остапчук О.І. Вплив антиоксидантів та омепразолу на протизапальну активність, побічну дію та фармакокінетику індометацину: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія» К.: 1999; 17.
9. Паронік В.А., Степченко Л.М., Дяченко Л.М., Левих А.С., Шевцова А.І. Вплив корвителину та гуміліді на стан оксидантно-антиоксидантної системи щурів на фоні введення адреналіну. Біологія тварин. 2015; 17; 4: 109-114.
10. Пат. 38504 Україна: МПК А61К9/14 Кардіопротекторний засіб для лікування гострого інфаркту міокарда, спосіб його отримання та спосіб його застосування / Шаламай А.С., Безпалько Л.В., Сова Е.О., Кишеня О.М.; №2000074202: заявл.1407.2000; опубл. 15.05.2001, Бюл. №4.
11. Свінцицький А.С. Механізми терапевтичної ефективності та побічної дії не стероїдних протизапальних препаратів. Практикуючий лікар. 2012; 4: 5-12.
12. Степанюк Н.Г., Степанюк Г.И., Шаламай А.С. Корекция корвителином нарушений кровотока и кислородного режима в желудке, вызванных диклофенаком. Человек и лекарство: 8-ой Рос. Конгрес: Тез. докл. М: 2006; 590.
13. Черноіван Н.Г., Бухтіарова Т.А., Шаламай А.С. Вплив корвителину на шлунковий кровотік та утилізацію кисню шлунком. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2011; 3: 64-66.
14. Яковлева Л.В., Оболенцева Г.В., Брюзгінова Л.П. Экспериментальне вивчення нових протизапальних препаратів. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. Рекомендації; за ред. О.В. Стефанов. – К.: Авіцена. 2001: 321-333.
15. Basu A., Das A.S., Majumder M., Mukhopadhyay R. Anti-atherogenic roles of dietary flavonoids Chrysin, Quercetin and Luteolin. J. Cardiovascular pharmacology. 2016; 68(1): 89-96.
16. Borse SP, Singh DP, Upadhyay D, Nivsarkar M. Potential synergistic effects of quercetin with other phytoconstituents of *Costus pictus* (insulin plant) extract in the control of hyperglycemia and prevention of NSAID-induced gastroenteropathy in diabetic rats. Food Chem. Toxicol. 2018; 120: 448-461.
17. Eid HM, Haddad PS. The antidiabetic Potential of Quercetin: Underlying mechanisms. Curr Med Chem. 2017; 24(4): 355-364.
18. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes – Strasbourg: Council of Europe. 1986; 123; 52.
19. Fialova P., Vitek J. The role of anti-ulcerative drugs in treatment and prevention of gastropathies induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Vnitri Lek: 2004; 50(11): 858-866.
20. Grace Y. Sun, Zihong Chen, Kimberly J. Jasmer, Dennis Y. Chuang, Zezong Gu, Mark Hannink, Agnes Simonyi Quercetin Attenuates Inflammatory Responses in BV-2 Microglial Cells: Role of MAPKs on the Nrf2 Pathway and Induction of Heme Oxygenase-1. PLoS One. 2015; 10(10): e0141509.
21. Gwee K.A., Gwee K.A., Goh V., Lima G., Setia S. Coprescribing proton-pump inhibitors with nonsteroidal anti-inflammatory drugs: risks versus benefits. Journal of pain research. 2018; 11:361-374.
22. Hamalainen M., Nieminen R., Asmawi M.Z., Moilanen E. Effects of Flavonoids on Prostaglandin E-2 Production and on COX-2 and mPGES-1 Expressions in Activated Macrophages. Planta medica. 2011; 77(13): 1504-11.
23. Hummel M., Knappenberg T., Reilly M., Whiteside G.T. Pharmacological evaluation of NSAID-induced gastropathy as a «Translatable» model of referred visceral hypersensitivity. World J Gastroenterol.: 2017; 22 (33): 6065-6076.
24. Kim J.K., Sang U.P. Quercetin and its role in biological functions: an updated review. EXCLI J: 2018.
25. Sinha M., Gautam L., Shukla P.K., Kaur P., Sharma S., Singh T. Current perspective in NSAID-induced gastropathy. Mediators of inflammation. 2013.
26. Singh DP, Borse SP, Nivsarkar M. Overcoming the exacerbating effects of ranitidine on NSAID-induced small intestinal toxicity with quercetin: Providing a complete GI solution. Chem. Biol. Interact. 2017; 272: 53-64.
27. Schlansky B., Hwang. Prevention of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastropathy. Gastroenterol. 2009; 44: 44-52.
28. Wai Mun Loke, Julic Proudfoot, Scott Stewart, Allan

J. Mckinley, Paul W. Needs, Paul Antony Knoon, Jonathan Hodgson, Kevin D. Croft. Metabolic transformation has a profound effect on anti-inflammatory activity of flavonoids such as quercetin: Lack of association between antioxidant and lipoxygenase inhibitory activity. *Biochemical pharmacol.* 2008; 75(5): 1045-53.

29. Yao Li., Jiaying Y., Chunyan H., Jiabin Y., Tabassun M., Shengnan W., Hongnan L., Yulong Y. Quercetin, inflammation and immunity. *Nutrients.* 2016;8(3); 167.

SUMMARY

CHARACTERISTICS OF THE PROTECTIVE EFFECTS OF QUERCETIN AND ITS WATER-SOLUBLE FORM CORVITIN IN THE MODEL OF DICLOFENAC-INDUCED GASTROPATHY

Stepaniuk N.

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsa, Ukraine

Today, worldwide, there is an intensive search and development of new approaches to increasing the efficiency and safety of classical NSAIDs. In view of the many-sided nature of the pathogenesis of NSAIDs-gastropathy, in our opinion, to optimize the pharmacological effects of NSAIDs, first of all, to increase their safety can be by combining them with drugs with polytropical pharmacological properties.

The aim of research - The characterize degree of gastroprotective effect of quercetin (corvitin) in comparison with antisecretory drugs, misoprostol and De-Nol in diclofenac-induced gastropathy.

The study was conducted on 56 nonlinear male rats, distributed in 7 groups. Gastropathy was modeled by administered diclofenac sodium once in a stomach in a dose of 50 mg / kg. Investigated drugs were administered 3 times in advance with an interval of 12 hours; the last administration was 1 hour before diclofenac: the quercetin granules (100 mg/kg, intragastrically), corvitin (5 mg/kg, intramuscularly), as well as comparisons of omeprazole (50 mg/kg, intragastrically), famotidine (50 mg/kg, intragastrically), synthetic an analogue of PGE₁, misoprostol (0.05 mg/kg, intragastrically) and colloid bismuth subcitrate (de-nol) (50 mg/kg, intragastrically). Animals of the control group received intragastrically equivalent amount of physiological sodium chloride solution. The degree of antiulcer activity of the drugs was evaluated one day after the introduction of diclofenac sodium according to the dynamics of the average number of destructions on the mucous membranes of the stomach each group of rats.

The study showed that a single dose of diclofenac in rats induced gastric mucosa in control animals at an average of 9.62±1.06 destructions. Preventive administration of rats before diclofenac corvitin or quercetin was similar to reference drugs inhibiting the ulcerogenic effect of this NSAID, indicating a probable decrease in the number of destructions per gastric mucosa respectively at 78% and 76% against 82% under the action of omeprazole.

Preventive administration of quercetin (corvitin) before diclofenac to the same extent as omeprazole promotes weaken the ulcerogenicity of this NSAID.

Keywords: diclofenac-induced gastropathy, Quercetin, Corvitin, De-Nol, gastroprotection.

РЕЗЮМЕ

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ КВЕРЦЕТИНА И ЕГО ВОДОРАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ КОРВИТИНА НА МОДЕЛИ ДИКЛОФЕНАК-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГАСТРОПАТИИ

Степанюк Н.Г.

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

Цель исследования - охарактеризовать степень гастропротекторного эффекта кверцетина (корвитина) в сравнении с антисекреторными препаратами, мизопростолом и де-нолом при диклофенак-индуцированной гастропатии.

Исследование проведено на 56 нелинейных крысах-самцах, разбитых на 7 групп. Гастропатию моделировали у крыс, путем одноразового введения в желудок диклофенака-натрия в дозе 50 мг/кг. Исследуемые препараты вводили перед диклофенаком 3 раза с интервалом 12 часов, последнее введение было за 1 час до диклофенака: использовали гранулы кверцетина - 100 мг/кг, в/ж, корвитин - 5мг/кг, в/м, в пересчете на кверцетин, а также референс-препараты омепразол - 50 мг/кг, в/ж, фамотидин - 50 мг/кг, в/ж, синтетический аналог ПГЕ₁ мизопростол - 0,05 мг/кг, в/ж и коллоидный субцитрат висмута (де-нол) - 50 мг/кг, в/ж. Животные контрольной группы получали в/ж эквивалентное количество физиологического раствора натрия хлорида. Степень противоязвенного действия препаратов оценивали спустя 1 сутки после введения диклофенака по динамике среднего показателя количества деструкций на слизистой оболочке желудка (СОЖ) крыс каждой группы.

Одноразовое введение крысам диклофенака вызывает у животных контрольной группы на СОЖ в среднем 9,62±1,06 деструкций. Профилактическое трехразовое введение крысам перед диклофенаком корвитина или кверцетина, подобно референс-препаратам, ингибировало ulcerогенное действие НПВС, на что указывало достоверное снижение показателя количества деструкций на СОЖ соответственно на 78 и 76% против 82% под действием омепразола.

Профилактическое введение кверцетина (корвитина) перед диклофенаком в такой же мере, как и омепразол способствует ослаблению ulcerогенного действия указанного НПВС.

რეზიუმე

კვრცეტინის (კორვიტინის) დამკველობითი მოქმედების დახასიათება დიკლოფენაკ-ინდუცირებული გასტროპათიის მოდელზე

ნ.სტეპანიუკი

ვინიცას ნ.პიროგოვის სახ. ეროვნული სამედიცინო უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა კვრცეტინის (კორვიტინის) გასტროპროტექტორული ეფექტის დახასიათება ანტისეკრეტორულ პრეპარატებთან – მიზოპროსტოლთან და დე-ნოლთან შედარებით დიკლოფენაკ-ინდუცირებული გასტროპათიის დროს.

კვლევა ჩატარდა 56 არახაზოვან მამრ ვირთაგვანზე, რომელნიც დაიყო 7 ჯგუფად. გასტროპათია მოდ-

ელირდებოდა კუჭში დიკლოფენაკანატირუმის ერთჯერადი შეყვანით, დოზით 50 მგ/კგ. საკვლევი პრეპარატები შეიყვანებოდა დიკლოფენაკამდე, 3-ჯერ, 12-საათიანი ინტერვალით, ბოლო შეყვანა - დიკლოფენაკამდე ერთი საათით ადრე. გამოიყენებოდა კვერცვინის გრანულები (100მგ/კგ, კუჭში), კორვიტინი (5 მგ/კგ, კუნთებში), კვერცვინზე გადათვლით), ასევე, რეფერენს-პრეპარატები ომეპრაზოლი (50 მგ/კგ, კუჭში), ფამოტიდინი (50 მგ/კგ, კუჭში), მიზოპროსტოლი (0,05 მგ/კგ, კუჭში) და ბისმუტის კოლოიდური სუბციტრატი (დენოლი, 50 მგ/კგ, კუჭში). საკონტროლო ჯგუფის ცხოველები კუჭში იღებდნენ NaCl-ის ფიზიოლოგიური ხსნარის ექვივალენტურ რაოდენობას. პრეპარატების ანტიულცერული მოქმედება ვირთაგვების ცალკეულ ჯგუფში ფასდებოდა დიკლოფენაკის შეყვანიდან 1 დღე-ღამის შემდეგ დესტრუქციების რაოდენობის მიხედვით კუჭის ლორწოვანზე.

დიკლოფენაკის ერთჯერადი შეყვანა საკონტროლო ჯგუფის ცხოველების კუჭის ლორწოვან გარსზე იწვევს საშუალოდ $9,62 \pm 1,06$ დესტრუქციას. დიკლოფენაკამდე კორვიტინის, ან კვერცვინის პრევენციული შეყვანა, რეფერენს-პრეპარატების მსგავსად, აინჰიბირებს არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატების ულცეროგენულ მოქმედებას, რაზეც მეტყველებს დესტრუქციების სარწმუნო შემცირება კუჭის ლორწოვან გარსზე, შესაბამისად, 78 და 76%-ით, ომეპრაზოლის ასეთივე მოქმედების 82%-ის პირობებში.

კვერცვინის (კორვიტინის) პრევენციული შეყვანა დიკლოფენაკის წინ, ისევე, როგორც ომეპრაზოლი, ხელს უწყობს აღნიშნული არასტეროიდული ანთების საწინააღმდეგო პრეპარატის ულცეროგენული მოქმედების შემცირებას

SYSTEMIC STEM CELLS EQUILIBRIUM THEORY – THE LAW OF LIFE

Tamazashvili T.

New York, USA

Cells are a constitutional element of all living organisms. The human body consists of about 30-37 trillion cells [32]. The life span of cells differ, but all of them stop functioning after a certain period of time and are replaced by new same kind of cells, occurring after mitosis [12,39,41]. Precursor of new cells are stem cells, which are spread all over the body in every organ and tissue in a special environment niche [31,33,36,43]. The stem cell niche generates signals that regulates stem cells self renewal, quiescence and differentiation [6,35]. Even adult stem cells that have long term proliferative activity cannot function forever and need to be replaced by new stem cells.

According to the Hayflick limit theory, the human cells ability to divide is limited to approximately 50 times after which they stop dividing [21].

Based on telomere theory, telomeres become shorter with each successive cell division [7]. Telomerase is shown to restore telomere, ensuring that certain cells, such as egg and sperm cells, can continue to reproduce themselves. Telomerase cannot, however, ensure the permanent division and survival of stem cells. First of all, most cells lack telomerase repair capacity, their telomere shorten with every division, and when it reaches a critical length, those cells stop replication. Even in stem cells which possess telomerase repair capacity, telomerase cannot prevent telomere shortening after extensive stem cell division [13,14,22,24,38].

All those studies confirm that adult stem cells can replicate for a certain period of time and eventually they need replacement.

To explain how production of systemic stem cells correlates with their utilization throughout the life and why this balance is of vital importance, the new phenomenon has been established – Systemic stem cells equilibrium theory.

According to this theory, the life of mammalian organisms is governed by systemic stem cell pools which comprises cells

with different proliferative abilities and differentiation stages. They include: 1) Embryonic stem cells which are pluripotent and can become all cell types in the body. They reside from the embryonic period and actually cannot be reproduced. Embryonic stem cells population basically determines many physiological processes in the body, even the length of life. 2) Adult/somatic stem cells are produced from embryonic stem cells. They are multipotent with broad differentional development, especially while they are remained in the circulatory system of the body. 3) Stational stem cells are the same adult stem cells after extravasation. They are situated in a special niche of tissues and organs and give offspring to all tissues even beyond their boundaries. They usually are progenitor of lineage restricted stem cells. This is the basic constituent of the system stem cells pool. They provide the total systemic proliferative potential of the body.

Some studies have been done indicating the property of stem cells to be trans-differentiated, re-differentiated, or even de-differentiated via their reprogramming abilities [2,19,23,26,42]. This kind of development of stem cells, however, should be considered as a response to arised specific environmental conditions in terms of situational adaptation and can provide just additional supply to the systemic stem cells pool.

So, at birth, the body already has systemic stem cells and total proliferative potential which is destined to be used throughout the life.

Based on the systemic stem cells equilibrium theory, the production rate of total body stem cells is always in balance with their adequate utilization during all periods of life preventing accumulation of excessive stem cells especially in the circulatory system.

Systemic stem cells balance is maintained throughout the life span in spite of absolutely distinct major processes, taking place in the body, when each of them require “privilege” supply with systemic stem cells.

Production of systemic stem cells does not have steady rate throughout the life. It increases gradually after birth and reaches its peak by the end of puberty when body growth process is basically accomplished [44].

Systemic stem cells pool remained stable during whole reproductive period and tends to decline thereafter. Diminishment in systemic stem cells production continues until the end of life [27,30,36].

There is inconsistency in utilization of systemic stem cells throughout the life and depends on the period of body development, which determines basically the “privilege” of systemic stem cells use.

In the living organism there are three major processes that mainly require predominant supply with vast number of stem cells: 1) functioning of own organs and systems 2) body growing process and 3) reproductive function – spermatogenesis in male and pregnancy in female.

Supply of body organs and systems with new cells is a permanent lifetime process, whereas body growth and reproductive function are periodic events occurring only in a given period of life. To change periodic predominance of the utilization of systemic stem cells, the body has a unique property of redistribution of massive stem cells supply from body growing process towards performing of reproductive function.

Redistribution of stem cells is a very important function to maintain a steady and safety level of circulatory stem cells in the body and avoid lack of distribution or overloading the regional tissues with excessive number of stem cells, which can trigger process of oncogenesis.

Lifetime instability in production and utilization of new stem cells constantly puts under risk systemic stem cells equilibrium and creates the chance of accumulation of excessive stem cells. This risk, unfortunately, is so real and harmful in all periods of life, that the body has a very unique and effective remedy to get rid of it, in terms of discharging from extra stem cells. One of the main ways to discharge the body from excessive stem cells in all periods of life is functioning of hair follicles, which will be discussed later. Fig. shows the correlation between production and utilization of systemic stem cells throughout the life.

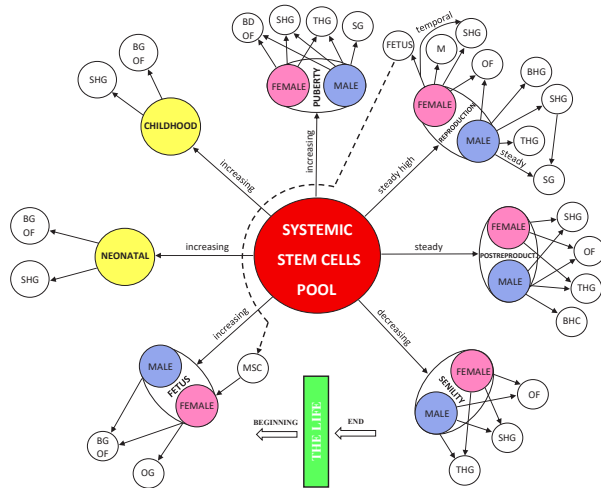


Fig. Systemic Stem Cells Equilibrium Throughout Life
Abbreviations: BG – Body Growth; BHG – Beard Hair Growth; M – Menses; MSC – Maternal Stem Cells; OF – Organs Functioning; OG – Oogenesis; SG – Spermatogenesis; SHG – Scalp Hair Growth; THG – Torsal Hair Growth

During embryonic period, the basic need in stem cells are fetus growing process and functioning of fetus organs and systems in both genders. In females, additional need of stem cells is required to support oogenesis. At 5 months of gestation in the ovaries, about 6-7 million germ cells are produced during oogonial proliferation period. At the beginning of gestation, the main source to provide the fetus needs is maternal stem cells with gradual replacement by the stem cells of own production. For example, hematopoiesis begins early in embryonic development. During the second week of gestation, angiogenic cell clusters appear in the yolk sac. In the sixth week, hematopoiesis begins in the liver. Hematopoiesis in the bone marrow begins during the second month of gestation. From this time on, most hematopoiesis occurs in the bone marrow of the fetus.

Growth and functioning of all body systems still remain as an essential way of consumption of systemic stem cells during neonatal period and childhood until late puberty and beginning reproductive period. By that time, body growth process is basically accomplished and a vast number of systemic stem cells become available to be redistributed to support spermatogenesis in male and pregnancy in female.

Spermatogenesis occurs in seminiferous tubules whose combined length is about 400m. They produce 100 million spermatozoa each day. Spermatogenesis requires about 64 days and their transport throughout the epididymis to the ejaculatory duct requires an additional 12-21 days. Spermatogonia are nonmotile stem cells that divide by mitosis to form two cellular pools: a pool of additional stem cells, which undergo continual renewal by mitosis, and a pool of type A spermatogonia, which enters the maturation process called spermatogenesis. Each spermatogonial cell (type A) gives rise to 64 sperm cells.

High telomerase activity prolongs the proliferation capacity of spermatogonia, however, it still has limited duration because of a very extensive rate of mitosis.

Thus, spermatogenesis requires participation of a vast number of systemic stem cells which become available after they are released from ceased body growth processes and gradually redistributed towards spermatogenesis.

Different from male, germ cell formation in female occurs in the fetal period. At 5 month gestation in the two ovaries, about 6-7 million germ cells are produced during oogonial proliferation period. Therefore, consumption of systemic stem cells during the reproduction period in females occurs via supporting of the own body needs plus fetus development, which actually requires a large number of systemic stem cells.

There is no doubt, that proliferation and differentiative ability of germ cells cannot supply the fetus through the gestation and the maintenance of increasing need requires external support which could only be maternal stem cells. Maternal stem cells are delivered to the fetus through the placenta which formation is completed and fully functioning starting at 21 days of gestation. The fetus actively uses not only maternal stem cells but steroid hormones as well, necessary to maintain continuously increased metabolism.

We assert, that maternal stem cells are used for fetus development until the end of gestation when own production of stem cells is completely accomplished. If it is so, what happens after delivery with those extra maternal stem cells that were previously used for fetus supply?

This is a very important question which has a clear explanation and is one of the obvious confirmations of the systemic stem cells equilibrium theory.

Baby delivery is always accompanied by postpartum bleeding, which continues for up to 10 days. Light bleeding and spotting after pregnancy can continue for up to six weeks after delivery. Intensity of postpartum bleeding varies from person to person and pregnancy to pregnancy. Anyway, female is losing a certain amount of blood and central stem cells there in. Uterinal bleeding is one of the ways to discharge extra stem cells. If fertilization doesn't occur, uterinal bleeding has a periotic character as menstruation. So, menstruation is another way to discharge extra female stem cells accumulated at the first half of the cycle along with thickening of endometrium.

This is the body's preparation for pregnancy, and if fertilization doesn't happen, there is no need for those prepared elements and the period begins. Under normal conditions, menstrual blood loss constitutes 30 to 80 ml and more.

We have intentionally skipped the second half of gestation, when hemopoiesis in fetus bone marrow gradually increases and eventually completely provides itself with stem cells. In this situation, there no longer exists the necessity in maternal stem cells and the question arises: What way is used to discharge the extra maternal stem cells?

At the end of gestation, extra maternal stem cells are redistributed towards maternal scalp hair follicles. As a result, duration of the anagen phase increases and more percent of hair follicles continue functioning in hair growth regime. That way, many women enjoy thicker hair during pregnancy as more hairs than normal are growing and fewer than normal are resting/shedding.

Stem cell loss via postpartum bleeding lowers the number of extra stem cells in maternal body and they cannot be distributed to the hair follicles any more.

Increased number of hair follicles, functioning in the regime of extra cellular supply, now become deprived from additional stem cells and they have to enter into the resting phase with consecutive increased shedding of hairs. That is the cause of postpartum hair loss, which commonly starts at around 3 months after birth. Most women return to the usual hair growth cycle 6 months after birth.

How hair follicles fulfill their discharge function during other period of life when necessity of massive redistribution of systemic stem cells doesn't exist?

Based on follicular proliferative activity and adequate humoral supply equilibrium theory, each hair follicle has different proliferative potential in correspondence with individual humoral supply achieved by migration of the follicle inside the skin. Poor blood supply of the hair follicles situated superficially in the skin makes limitation in distribution of stem cells, whereas follicles with high proliferative activity always migrate deeply in the skin and gets more access to the circulatory stem cells [37].

Translocation of hair follicles in the skin happens on a regular basis and ensures body discharge from extra circulatory stem cells throughout the life.

Massive dislocation of stem cells from scalp hair follicles towards spermatogenesis occurs in case of hyper-reproductive activities in males. High level of androgen hormones is required to maintain spermatogenesis. Production of androgen hormones is increased among sexually active males.

According to solar radiation causative theory, high level of androgen makes scalp hair follicles more vulnerable to the solar ultraviolet radiation because of increased mitotic rate of hair follicles and causes pattern hair loss. That is why pattern alopecia is always associated with increased sexual activities [37]. There is evidence for DNA damage accumulation in non-dividing cells of mammals [24]. This confirms that solar radiation can affect

not only cells in hair follicular matrix but "quiescent" stem cells at bulge area as well. Vast number of systemic stem cells released from previously functioning hair follicles in bald individuals become available now to support increased reproductive function in males.

Thus, still is used redistribution property of the body for predominant use of systemic stem cells to support more important function at a present time period.

According to systemic stem cells equilibrium theory, life span of individuals depends on total proliferative potential of systemic stem cells pool, which maximally needs to be saved. Therefore, rational use and loss of systemic stem cells is very important to maintain long term functioning of the body. However, hair growth from multiple hair follicles actually means loss of vast number of stem cells lasting from birth to the end of life. In this regard, how existence and continuous functioning of multiple hair follicles can be explained?

"Loss vs Harm" – is the brief expression and explanation of the problem.

There is a constant lifetime risk of disturbance in systemic stem cells equilibrium resulting in accumulation of excessive stem cells with very serious life threatening effect. In this regard, negative influence from loss of stem cells becomes negligible compared to the harmful effect of their extra-accumulation. Discard from extra stem cells is so important that their loss in this situation should be considered as physiologically justified and life saving mean.

In senility, red bone marrow producing stem cells are gradually replaced by fat storing yellow marrow with decreased systemic stem cells pool. Tissues and organs cannot be replenished with adequate amount of stem cells resulting in insufficiency of their functioning and development of body aging and different pathologies.

After decelerated consumption there still remained a chance of accumulation of excessive stem cells and for their discharge body uses slowly growing torsal hair follicles, the number of which significantly increases after reproductive period.

There are many proposals to explain the process of aging, but neither of them appear to be fully satisfying [11]. All existing theories basically fall into two main categories: programmed and damage or error theories. The first one includes: 1) Programmed longevity - explaining aging as a result of switching on and off certain genes and based on genetic instability in aging 2) Endocrine theory - proposing biological clocks acting through hormones to control the pace of aging [40]. 3) Immunological theory - indicating that immune system is programmed to decline over time leading to an increased susceptibility to infectious disease and thus aging and death [10,25].

The leading role of damage or error processes in aging is proposed by another group of theories: 1) Wear and tear theory - according to which cells and tissues have vital part that wear out resulting in aging.

2) Rate and living theory - indicating to the inverse proportion of rate of oxygen basal metabolism and lifespan [4].

3) Cross-linking theory – proposing that accumulation of cross-linked proteins damages cells and tissues, slowing down living processes resulting in aging [3].

4) Free radical theory - showing the main role of free radicals, like superoxide, cause damage to the macromolecular elements of the cells causing a stop to their functioning [1,17,20].

5) Somatic DNA damage theory - according to which DNA damage continuously occur in cells throughout the life. Polymerase fail to correct all damages and their accumulation result in aging [25].

In reality, all of the above listed theories give explanation of just partial processes of the global event occurring in the body during the given period of life.

According to systemic stem cells equilibrium theory, the lifespan indeed is programmed at birth, however, it is programmed not as gene switching, hormone biological clock or decline of the immune system, but as systemic stem cells total proliferative potential, which is in direct proportional correlation with length of life. All damages and errors proposed by existing theories of course can accelerate aging and death via early depletion of the systemic stem cells pool resulting in shortening life span of the body.

Thus, even in senility, systemic stem cell equilibrium theory allows to elucidate the real dynamics of aging process, which can definitely serve as a platform to find the real ways to slow down the pace of aging in the future.

There is widely accepted assumption that angiogenesis is the essential factor to maintain cancer growth and this is explained only by the providing humoral support of the malignant cells showing high mitotic activity [5,8,9,15,16,18,28,34,45].

Hypervascularization, however, increases blood flow and corresponding delivery of systemic stem cells to the tumor region. This should be considered as a main reason why devascularization results in regression of tumor growth, because continuous growth of tumor requires central supply with systemic stem cells.

This conception is also confirmed by the rate of proliferative activity of tumor cells in different aged groups. Tumor growth significantly increases the consumption of systemic stem cells. Among young individuals, increased use of systemic stem cells by the tumor can be compensated by increased rate of their production which eventually allows to sustain fast growth of tumor. Declined production of new stem cells in aged group cannot provide adequate replenish of tumor with new stem cells and it usually grows remarkably slow. Poor supply of tissues and organs with systemic stem cells is the main determining factor of slow tumor growth in senior group.

Thus, systemic stem cells equilibrium theory is of vital importance to illustrate many physiological processes occurring in the organism throughout the life and may serve as a base to prevent different pathologies in the future.

Conclusion. Systemic stem cells equilibrium theory is a designation of the global and very important physiological function of the living organism, which is manifested in precise balance and correlation between production, distribution and utilization of systemic stem cells. This is normal physiology of the body controlling different vital processes throughout the life. This theory gives explanation of many events occurring in the body:

1. How new cells supply of living organisms occur based on systemic stem cells equilibrium theory.
2. What is the source of body supply with stem cells throughout the life.
3. Why stem cells balance has vital importance.
4. How the equilibrium of systemic stem cells is achieved in different periods of life.
5. What is the real destination of scalp and torsal hairs.
6. What is the meaning of periodic uterine bleeding in female as menstruation and why it exists only during reproductive period.
7. Does pattern hair loss has any physiological meaning.
8. What is the cause of postpartum hair loss.
9. Why accumulation of excessive systemic stem cells is so dangerous and what is the normal physiological ways to avoid it.
10. What is the predominant redistribution of systemic stem cells and its role in all periods of life etc.

Systemic stem cells equilibrium theory might also be very help-

ful to find the answer to the following questions in the future:

1. Is the gradual diminish in production and utilization of systemic stem cells the cause of aging?
2. Are Parkinson's and Alzheimer's Dx caused by impairment of distribution of systemic stem cells to the brain?
3. Is malignancy the result of overdistribution of systemic stem cells, in other words, can stem cells overdistribution be considered as a triggering factor of oncogenesis?
4. Can development of diabetes type A be the result of impairment in timely distribution of systemic stem cells to the certain regions of pancreas etc.?

Thus, all above presented facts confirm that systemic stem cells equilibrium theory actually gives full coverage of all global processes occurring in the living organisms during all periods of life, therefore, should be right to consider this theory as the law of life.

REFERENCES

1. Afanas'ev I. Signaling and Damaging Functions of Free Radicals in Aging- Free Radical Theory, Hormesis, and TOR. // *Aging Dis.* - 2010; 1:75-88.
2. Bettencourt-Dias M, Mittnacht S, Brockes JP. // *J Cell Sci* 2003; 116: 4001-4009.
3. Bjorksten J. The Crosslinkage Theory of Aging. // *J Am Geriatr Soc* 1968; 16: 408-427.
4. Brys K, Vanfleteren JR, Braeckman BP. Testing the rate-of-living/oxidative damage theory of aging in the nematode model *Caenorhabditis elegans*. // *Exp Gerontol* 2007; 42: 845-851.
5. Bu Y, Cao D. The origin of cancer stem cells. // *Front in Biosci* 2012; S4: 819-830.
6. Calvi LM and Link DC. The hematopoietic stem cell niche in homeostasis and disease. *Blood* 2015; 126: 2443-2451.
7. Campisi J. Cancer, aging and cellular senescence. In *Vivo* 2000; 14:183-188.
8. Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature* 2005; 438: 932-936.
9. Carmeliet P and Jain RK. Principles and mechanisms of vessel normalization for cancer and other angiogenic diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2011; 10: 417-427.
10. Cornelius E. Increased incidence of lymphomas in thymectomized mice - evidence for an immunological theory of aging. *Experientia* 1972; 28: 459.
11. Davidovic M, Sevo G, Svorcan P, et al. Old age as a privilege of the "selfish ones". *Aging Dis* 2010; 1:139-146
12. Eguizabal C, Aran B, Chuva de Sousa Lopes SM, et al. Two decades of embryonic stem cells: a historical overview. // *Hum Reprod Open.* 2019 Jan 29;2019(1):hoy024. doi: 10.1093/hropen/hoy024. eCollection 2019.
13. Ferrón SR, Marqués-Torrejón MA, Mira H, Flores I, et al. Telomere shortening in neural stem cells disrupts neuronal differentiation and neurogenesis. // *J Neurosci* 2009; 29: 14394-14407.
14. Flores I, Cayuela ML, Blasco MA. Effects of telomerase and telomere length on epidermal stem cell behavior. // *Sci* 2005; 309: 1253-1256.
15. Folkman J. Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery // *Nat Rev Drug Discov* 2007; 6: 273-286.
16. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. // *N Engl J Med* 1971; 285:1182-1186.
17. Gershman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Fenn WO. Oxygen poisoning and X-irradiation: A mechanism in common. // *Sci* 1954; 119: 623-626
18. Goel S, Duda D.G., Xu L, et al. Normalization of the vascu-

lature for treatment of cancer and other diseases. // *Physiol Rev* 2011; 91:1071-1121.

19. Goodell MA, Nguyen H, Shroyer N. Somatic stem cell heterogeneity: diversity in the blood, skin and intestinal stem cell compartments. // *Nat Rev Mol Cell Biol* 2015; 16: 299-309.

20. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. // *J Gerontol* 1956; 11: 298-300.

21. Hayflick L and Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains // *Exp Cell Res* 1961; 25: 585-562.

22. Herbig U, Ferreira M, Condel L, Carey D, Sedivy JM. Cellular senescence in aging primates. // *Sci* 2006; 311: 1257.

23. Holden C and Vogel G. Plasticity: Time for a reappraisal? // *Sci* 2002; 296: 2126-2129.

24. Jin K. Modern Biological Theories of Aging. // *Aging Dis* 2010; 1: 72-74.

25. Khurana S. The effects of proliferation and DNA damage on hematopoietic stem cell function determines aging. // *Developmental Dynamics* 2016; 245: 739-750.

26. Lagasse E, Connors H, Aldhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. // *Nat Med* 2000; 6:1229-1234

27. Mohammad K, Medkour Y, et al. Quiescence entry, maintenance, and exit in adult stem cells. // *Int J Mol Sci* 2019; 1: 9.

28. Ramjiawan RR, Griffioen AW, Duda DG. Anti-angiogenesis for cancer revisited: Is there a role for combinations with immunotherapy? // *Angiogenesis* 2004; 20: 185-204.

29. Santoro A, Spinelli CC, Martucciello S, et al. Innate immunity and cellular senescence: The good and the bad in the developmental and aged brain. // *J Leukocyte Biol* 2018; 103:509-524.

30. Schultz MB., Sinclair DA. When stem cells grow old: phenotypes and mechanisms of stem cell aging. // *Dev* 2016; 143: 3-14.

31. Seita J and Weissman IL. Hematopoietic stem cell: Self-renewal versus differentiation. // *Rev Syst Biol Med* 2010; 2: 640-653.

32. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacterial cells in the body. // *PLoS Biol* 2016; 14: e1002533.

33. Seshadri M., Qu CK. Microenvironmental regulation of hematopoietic stem cells and its implications in leukemogenesis. // *Curr Opin Hematol* 2016; 23:339-345.

34. Shang B, Cao Z, Zhou Q. Progress in tumor vascular normalization for anticancer therapy: challenges and perspectives. // *Front Med* 2012; 6: 67-78.

35. Shen Q, Goderie KS, Jin L, et al. Endothelial cells stimulate self-renewal and expand neurogenesis of neural stem cells. // *Sci* 2004; 304: 1338-1340.

36. So WK and Cheung TH. Molecular regulation of cellular quiescence: A perspective from adult stem cells and its niches. // *Methods Mol Biol* 2018; 1686: 1-26.

37. Tamazashvili T. New Concepts in Physiology of the Hair Follicle and Etio-Pathogenesis of Pattern Alopecia. // *Morris Publishing*, 2010, p. 237.

38. Taupin P. Aging and Neurogenesis, a Lesion from Alzheimer's Disease. // *Aging Dis* 2010; 1:89-104.

39. Titorenko V. Aging and Age-related Disorders: From Molecular Mechanisms to Therapies. // *Int J Mol Sci* 2019; 20: E3280.

40. Van Heemst D. Insulin, IGF-1 and longevity. // *Aging Dis* 2010; 1:147-157.

41. Warrier S, Taelman J, Tilleman L, et al. Transcriptional landscape changes during human embryonic stem cell derivation. // *Mol Hum Reprod* 2018; 24:543-555.

42. Wulf GG, Jackson KA, Goodell MA. Somatic stem cell plasticity. // *Exp Hematol* .- 2001; 29:1361-1370.

43. Xia H, Li X, Gao W, et al. Tissue repair and regeneration

with endogenous stem cells. // *Nature* 2018; 3: 174-193.

44. Zakrzewski W, Dobrzyński M, Rybak Z. Stem cells: past, present, and future. // *Stem Cell Res Ther* 2019; 10.

45. Zhao Y, Bao Q, Renner A, et al. Cancer stem cells and angiogenesis. // *Int J Dev* 2011; 55: 477-482.

SUMMARY

SYSTEMIC STEM CELLS EQUILIBRIUM THEORY – THE LAW OF LIFE

Tamazashvili T.

New York, USA

Despite progress in physiology, there unfortunately still remains a gap that does not explain what the governing nature of periodical morpho-functional changes of the body during normal development and if it can be associated with the different pathological processes.

The aim of the current study was to determine the role of systemic stem cells during different periods of life via introducing a new theory.

Systematic stem cells equilibrium theory is a new concept in physiology which reflects the lifetime balance of systematic stem cells via their synchronized production, utilization and distribution/redistribution, determined by the need of a certain period of life with predominant support of reproductive function of the body. According to this theory, all mammalian organisms have innate total systemic stem cell pools, which consist of three major categories of stem cells:

1) central – embryonic stem cells. 2) distributary stem cells circulating in the blood stream and lymphatic system. 3) stationary/regional somatic stem cells, situated in the “niche” of tissues and organs. Redistribution of systematic stem cells occurs throughout the life and is an integral property of a living organism. Periodical change in systematic stem cell distribution is usually a normal process, that serves as a base for morpho-functional remodeling of the body necessary for a certain period of life. Changes in distribution of systemic stem cells, unfortunately, may occur situationally as well, causing pathological morpho-functional changes in the body and trigger development of different pathological processes including oncogenesis.

Equilibrium of systemic stem cells has vital importance for the living organism because disbalance in this system can cause accumulation of excessive number of stem cells in the circulatory system and their unnecessary delivery to the regions, creating a favorable condition for cancer development.

Keywords: stem cells, systemic stem cells, embryonic stem cells, somatic stem cells, law of life, oncogenesis, cancer development, pregnancy, menstruation, hair growth, hair loss.

РЕЗЮМЕ

ТЕОРИЯ РАВНОВЕСИЯ СИСТЕМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК - ЗАКОН ЖИЗНИ

Тамазашвили Т.Ш.

Нью Йорк, США

Несмотря на достигнутые успехи, в физиологии все ещё остаются пробелы, которые не позволяют полностью по-

знать природу морфо-функциональных изменений в организме в процессе его нормального развития, а также установить их роль в развитии различных патологических процессов.

Целью исследования явилось определение роли системных стволовых клеток на разных этапах жизнедеятельности организма.

Результаты анализа научной литературы показали, что теория равновесия системных стволовых клеток - это новая концепция в физиологии, которая отражает пожизненный баланс системных стволовых клеток с помощью их синхронизированного образования, применения и редистрибуции, диктуемые потребностью данного периода жизни с доминированием репродуктивной функции организма. Согласно этой теории, организм владеет начальным запасом системных стволовых клеток и состоит из трёх основных категорий: 1) центральные - эмбриональные стволовые клетки; 2) дистрибуционные стволовые клетки, циркулирующие по кровеносной и лимфозной системам; 3) стационарные/региональные/соматические стволовые клетки, располагающиеся в специальных нишах тканей и органов. Редистрибуция системных стволовых клеток происходит на протяжении всей жизни и является неотъемлемым свойством живого организма. Периодические изменения в дистрибуции системных стволовых клеток являются нормальным процессом, что служит основой морфо-функциональной ремоделизации организма, необходимой для конкретного периода жизни. Изменения в дистрибуции системных стволовых клеток, к сожалению, могут носить ситуативный характер и вызывать патологические морфо-функциональные сдвиги в организме и спровоцировать развитие различных патологических процессов, в том числе онкогенез.

Сохранение равновесия системных стволовых клеток имеет жизненно важное значение для организма, поскольку их дисбаланс может способствовать аккумуляции избыточного количества стволовых клеток в циркулирующей системе и их ненужную доставку к регионам, создавая тем самым благоприятные условия для опухолеобразовательного процесса.

რეზიუმე

სისტემური ღეროვანი უჯრედების წონასწორობის თეორია - სიცოცხის კანონი

თ. თამაზაშვილი

ნიუ-იორკი, აშშ

მიუხედავად მიღწეული წარმატებებისა, ფიზიოლოგიაში კვლავ რჩება ცალკეული შეუსწავლელი

საკითხები, რაც ხელს უშლის ორგანიზმის მორფო-ფუნქციური ცვლილებების ბუნების ახსნას როგორც ნორმალური განვითარების, ასევე სხვადასხვა პათოლოგიური ცვლილებების დროს.

კვლევის მიზანს წარმოადგენს სისტემური ღეროვანი უჯრედების როლის განსაზღვრა სიცოცხლის განვითარების სხვადასხვა ეტაპებზე შესაბამისი თეორიის ფორმულირებით. მასალის ანალიზმა გამოავლინა, რომ სისტემური ღეროვანი უჯრედების თეორია არის სრულიად ახალი კონცეფცია ფიზიოლოგიაში, რომელიც ასახავს ღეროვან უჯრედთა სისტემურ ბალანსს მთელი სიცოცხლის განმავლობაში - მათი სინქრონიზირებული წარმოქმნის, გამოყენების და გადაანაწილების გზით, რაც კანონზომიერად განსაზღვრულია ორგანიზმის განვითარების სხვადასხვა პერიოდებით. ამასთან, მკვეთრად გამოიხატება რეპროდუქციული ფუნქციის დომინანტური როლი.

აღნიშნული თეორიის თანახმად, ცოცხალ ორგანიზმში არსებობს სისტემური ღეროვანი უჯრედების საერთო მარაგი, რომელიც შესდგება სამი ძირითადი კატეგორიისაგან: 1) ცენტრალური - ემბრიონული ღეროვანი უჯრედები; 2) დისტრიბუციული ღეროვანი უჯრედები, რომლებიც ცირკულირებენ სისხლძარღვთა და ლიმფურ სისტემებში; 3) სტაციონარული/რეგიონალური სომატური ღეროვანი უჯრედები, რომლებიც განლაგებულია ქსოვილთა და ორგანოთა სპეციალურ ლოკაციებში, ე.წ. ნიშაში.

სისტემური ღეროვანი უჯრედების პერიოდული რე-დისტრიბუცია/გადანაწილება ხორციელდება მთელი სიცოცხლის მანძილზე და წარმოადგენს ცოცხალი ორგანიზმის განუყოფელ თვისებას. სისტემური ღეროვანი უჯრედების დისტრიბუციული ცვლილებები წარმოადგენს ნორმალურ პროცესს, რომელიც განაპირობებს სხეულის მორფო-ფუნქციურ რემოდელიზაციას, რაც აუცილებელი და მკაცრად სპეციფიკურია სიცოცხლის განვითარების სხვადასხვა ეტაპებისთვის.

სისტემური ღეროვანი უჯრედების დისტრიბუციული ცვლილებები შესაძლოა მოხდეს სიტუაციურადაც, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს ორანიზმის პათოლოგიური მორფო-ფუნქციური ცვლილებები და ხელი შეუწყოს სხვადასხვა პათოლოგიური პროცესების, მათ შორის ონკოგენეზის, განვითარებას.

დადგენილია, რომ სისტემური ღეროვანი უჯრედების წონასწორობას ორგანიზმისათვის აქვს სასიცოცხლო მნიშვნელობა, რადგან ამ სისტემის დისბალანსს შეუძლია გამოიწვიოს ღეროვან უჯრედთა მოჭარბებული აკუმულაცია ცირკულაციურ სისტემებში და მათი არასაჭირო რეგიონალური დისტრიბუცია, რაც ხელსაყრელ პირობებს ქმნის სიმისიონური პროცესის განვითარებისთვის.

РОЛЬ ИНТЕРЛЕЙКИНА 8 / CXCL8 В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ И КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ (ОБЗОР)

Досжан А.Д., Бектаева Р.Р., Иманбаева Н.Д., Галиева А.Ж., Курманкина А.Т.

АО «Медицинский университет Астана», кафедра внутренних болезней №2, Нур-Султан, Казахстан

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) - язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК) по сей день остаются актуальной проблемой клинической гастроэнтерологии. Показатели случаев заболеваемости ВЗК заметно возросли во второй половине двадцатого века, а с начала XXI века ВЗК считаются одними из наиболее часто встречающихся патологий желудочно-кишечного тракта [8]. Распространенность этих заболеваний, согласно данным литературы, варьирует в широких пределах. Ежегодно, в среднем, диагностируется от 7 до 15 новых случаев на 100 000 населения в год [2]. Согласно данным E. Szegedy et al. [24], в Северной Америке эти показатели варьируют в пределах 3,1-14,6 на 100 000 населения для болезни Крона и в пределах 2,2-14,3 - для ЯК. Данные последнего систематического обзора [16] показали глобальность проблемы ВЗК. 16 (72,7%) из 22 исследований с БК и 15 (83,3%) из 18 исследований с ЯК продемонстрировали стабильную или снижающую частоту случаев ВЗК в Северной Америке и Европе. Однако в новых промышленно развитых странах Африки, Азии и Южной Америки, включая Бразилию и Тайвань, с 1990 года отмечается рост числа заболеваемости ВЗК. В Республике Казахстан (РК) ВЗК и КРП являются такой же серьезной проблемой, как и во всем мире. Согласно данным информационной системы «Электронный регистр диспансерных больных», в РК в 2018 году зарегистрировано 2218 больных ЯК и 555 - БК.

Доказано, что у пациентов с ЯК и БК наблюдается более высокий риск развития колоректального рака (КРП) в сравнении с общей популяцией. Возникновение КРП при ВЗК выявлено еще в 1925 году Кроном и Розенбергом. К настоящему времени многочисленные исследования однозначно продемонстрировали прямую связь между риском КРП и продолжительностью ВЗК, протяженностью поражения толстой кишки, активностью воспаления и ассоциированным первичным склерозирующим холангитом [13]. КРП является третьим наиболее распространенным злокачественным новообразованием и одной из значимых причин смертности от рака в мире. В публикациях за последние 20 лет данные о совокупном риске варьируют в диапазоне от 1,4% после 18 лет до 34% после 25 лет от начала заболевания. И хотя ВЗК-ассоциированные КРП составляют, приблизительно, 2% от всех КРП, показатели смертности от КРП у пациентов с ВЗК варьируют в пределах 10-15%. Популяционные исследования показывают, что ВЗК и КРП имеют одинаковую распространенность в мире с ростом заболеваемости в северо-западной Европе и США [9, 13, 23]. В отчете Международного агентства по изучению случаев рака за 2018 год сообщается, что уровень заболеваемости КРП в Казахстане на 100000 населения составил 15,4, смертности - 10,5 и занимает 4 и 3 места по этим показателям [25].

Молекулярный патогенез раковых заболеваний, связанных с хроническим воспалением, остается предметом многих исследований. Самая сильная корреляция между длительностью воспаления и онкогенезом прослеживается при КРП [9]. Изучение патогенетических механизмов ВЗК показало, что иммунологическая дисрегуляция характеризуется

эпителиальным повреждением, усилением воспаления, вызванного кишечной флорой и возрастающим количеством клеток, проникающих в собственную пластинку слизистой оболочки (СО), включая Т-клетки, В-клетки, макрофаги, дендритные клетки и нейтрофилы [2,8,10,22], что приводит к изменениям в экспрессии цитокинов, которые также играют значимую роль в канцерогенезе. Значение цитокинов в иницировании и развитии процессов клеточного и тканевого повреждения доказано множеством экспериментальных и клинических исследований. Большое количество медиаторов активно секретируется в собственной пластинке СО толстой кишки, включая цитокины с провоспалительной активностью, одним из которых является интерлейкин (ИЛ) 8. Этот мощный медиатор воспаления относится к семейству α -хемокинов СХС, в связи с чем имеет два взаимозаменяемых обозначения ИЛ-8 и CXCL8. CXCL8 играет решающую роль в хемотаксисе и миграции нейтрофилов, моноцитов, лимфоцитов и фибробластов. CXCL8 участвует также в ангиогенезе и онкогенезе, регулируя пролиферацию раковых клеток [5,27]. В данном обзоре обобщены последние данные об участии и роли CXCL8 в ключевых механизмах воспалительного процесса и канцерогенеза у пациентов с ВЗК.

CXCL8 является негликозилированным протеином с молекулярной массой 8,4 кДа, предшественником которого является белок, состоящий из 99 аминокислот. На принадлежность к семейству СХС хемокинов указывают два остатка цистеина, разделенных третьей промежуточной аминокислотой. Существуют две основные формы CXCL8: моноцитарная форма, состоящая из 72 аминокислот и преобладающая в культурах моноцитов и макрофагов, и эндотелиальная форма, которая имеет пять дополнительных N-концевых аминокислот и превалирует в культурах эндотелиальных клеток и фибробластов. Удлиненные формы CXCL8 (79 и 77 аминокислот) и укороченные формы (69 аминокислот) были выделены из кондиционированной среды лимфоцитов и фибробластов, стимулированных бактериальными липополисахаридами и ИЛ-1 или ФНО соответственно. Ген человеческого CXCL8 (SCYB8) имеет длину 5.1 kb и картирован на хромосоме 4q12-q21 [20]. CXCL8, связывая два рецептора, которые отвечают за большинство активированных внутриклеточных сигнальных событий. Они обозначены как CXCR1/CXCR2 и идентифицированы на разных типах клеток как эндотелиальные клетки, эпителиальные клетки, фибробласты и нейтрофилы. Данный факт свидетельствует о наличии множества эффектов CXCL8, которые выходят за рамки активации полиморфонуклеарных клеток и хемотаксиса. Более того, несмотря на то, что CXCR1 и CXCR2 высоко гомологичны, описаны расхождения во внутриклеточных сигнальных каскадах и биологических процессах, активированных после взаимодействия CXCL8 с рецептором [5].

Увеличение экспрессии CXCL8 в СО толстой кишки при ВЗК.

Секретируемый мононуклеарными клетками CXCL8 вызывает миграцию нейтрофилов и базофилов в очаг воспаления и их дегрануляцию, выделение супероксидного радикала. После открытия CXCL8 многочисленные исследования

продемонстрировали его экспрессию при различных острых и хронических воспалительных процессах, включая патологию желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Так, при анализе биоптатов СО толстой кишки у пациентов с ВЗК было обнаружено увеличение экспрессии CXCL8 в сравнении с контрольной группой [5,26]. Оценка сывороточного профиля из 38 маркеров (цитокины, хемокины и факторы роста) с использованием мультиплексного анализа у пациентов с ЯК и БК выявила повышение уровня эотаксина, онкогена, регулирующего рост, и ФНО- α у пациентов с ЯК, ИФН- γ , ИЛ-6 и ИЛ-7 в группе БК и CXCL8 в обеих группах ЯК и БК. Отмечалось также отсутствие разницы в концентрациях CXCL8 при ЯК и БК [14,20].

В более ранних публикациях показано, что концентрация CXCL8 и mRNA CXCL8 в СО толстой кишки коррелирует со степенью воспаления. К примеру, Grim MC. et al. наблюдали нарастание экспрессии mRNA CXCL8 в СО при повышении степени активности заболевания [7]. В работах Ugucioni M. et al. CXCL8 обнаружен в гомогенатах биопсий больных ЯК с различной степенью воспаления [26]. По данным Daniel S. отмечена статистически значимая и положительная корреляция между концентрацией CXCL8 в СО ($r_s = +0,481$, $p < 0,01$) и степенью эндоскопической активности. Кроме того, уровень CXCL8 ($r_s = + 0,460$, $p < 0,01$) достоверно положительно коррелирует и с индексом гистологической активности [19]. Результаты исследования по изучению цитокинового профиля у пациентов с ВЗК различной степени активности, проведенного на кафедре внутренних болезней №2 АО «Медицинский университет Астана», согласуются с литературными данными. В частности, концентрация сывороточного CXCL8 была существенно выше в группе больных ЯК умеренной активности в отличие от группы с минимальной активностью. Анализ значений CXCL8, ИЛ-6 и ФНО- α у пациентов с различной локализацией поражения толстой кишки выявил, что как при ЯК, так и при БК наиболее высокий уровень характерен для CXCL8 при любой протяженности поражения, достигая достоверно значимых различий при тотальном колите [1]. Следует подчеркнуть, что в ряде исследований по изучению уровня цитокинов в биоптатах толстой кишки установлены наиболее высокие концентрации CXCL8 в сравнении с ИЛ-6 и ФНО- α [3]. Вышеуказанные результаты позволяют выделить ведущую роль CXCL8 в развитии деструктивно-воспалительного воспаления толстой кишки.

Увеличение экспрессии CXCL8 при КРР

Сверхэкспрессия CXCL8 и рецепторов CXCR1/2 описывается и при неопластической трансформации клеток тканей, в частности, на клеточных моделях *in vitro* и *in vivo* были представлены убедительные доказательства того, что CXCL8 способствует росту опухоли, индукции метастазирования и развитию химиорезистентности. CXCL8 активирует сигнальные пути митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) и киназы Akt и повышает экспрессию генов, ответственных за пролиферацию клеток, инвазию и ангиогенез [15,17]. Согласно выводам Doll D. et al. повышенная экспрессия CXCL8 определяется в ткани колоректальной карциномы в сравнении с нормальной тканью толстой кишки [6].

Известно, что CXCL8 вызывает ангиогенез, это свойство реализуется за счет активации CXCR2 рецепторов независимо от стимуляции хемотаксиса полиморфонуклеарных клеток. В настоящее время исследования показали, что ангиогенный потенциал CXCL8 поддерживается посредством множества механизмов, включая индукцию экспрессии

сосудистых эндотелиальных факторов роста (VEGF) и матриксных металлопротеиназ MMP-2 и MMP-9 в эндотелиальных клетках. Два последних фактора участвуют в деградации базальной мембраны и стромы, способствуя росту капилляров [5,11,21].

Множество научно-исследовательских работ, посвященных изучению молекулярных механизмов транскрипции мРНК CXCL8, помогли получить более фундаментальное представление о ведущей роли этого хемокина в инициации онкогенной трансформации клеток. Влияние CXCL8-активированных сигнальных каскадов на патогенез ВЗК и онкогенез описано в первоначальных экспериментах *in vitro* с использованием эпителиальных монослоев кишечника. Установлено, что транскрипция мРНК CXCL8 регулируется посредством взаимодействия индуцибельной и конститутивной экспрессии транскрипционных факторов. Вследствие чего фактор транскрипции активатор протеина 1 (AP-1) и цис-регуляторный фактор взаимодействуют с индуцибельным ядерным фактором κ B (NF- κ B) транскрипции для индукции экспрессии мРНК CXCL8. Результаты экспериментальных исследований показывают также ключевую роль CXCL8 в продукции активных форм кислорода (АФК) в полиморфонуклеарных клетках. Известно, что АФК являются доказанными факторами, стимулирующими пролиферацию и способствующими развитию канцерогенеза и ангиогенезу [5,18,27].

Заключение. Связь между воспалением и развитием канцерогенеза не вызывает сомнений. Оба процесса считаются взаимосвязанными, что наблюдается в контексте риска развития рака у пациентов с ВЗК. Со времени первого открытия CXCL8 общее понимание его роли в развитии воспалительных и злокачественных процессов значительно расширилось. CXCL8 - это один из основных ангиогенных и провоспалительных факторов. Экспериментальные исследования *in vitro* и *in vivo* показали участие CXCL8 в сложном, многофакторном, до конца неизученном патогенезе ВЗК и КРР, предполагая потенциальные механизмы, посредством которых происходят эти процессы. Многие научные поиски сосредоточены на выявлении способности CXCL8 вызывать различные сигнальные события в полиморфонуклеарных клетках, что и подтвердилось в его активном участии в окислительном стрессе, хемотаксисе нейтрофилов, индукции экспрессии молекул клеточной адгезии и дегрануляции. CXCL8 выступает в качестве ключевого медиатора воспаления посредством активации сигнального пути NF- κ B, который, является одной из наиболее значимых молекул, связывающих хроническое воспаление с малигнизацией, и играющих ключевую роль в функционировании раковых клеток. Кроме того, CXCL8 действует как аутокринный фактор роста при КРР [4,5,9,12,20]. Несмотря на значительный прогресс в изучении биохимических свойств цитокинов, существует еще много нерешенных вопросов относительно CXCL8 и воспаления. Лучшее понимание патомеханизмов развития воспаления у пациентов с ВЗК позволит разработать новые терапевтические стратегии, что обеспечит снижение риска развития КРР у пациентов с ВЗК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Досжан А.Д., Бектаева Р.Р., Галиева А.Ж., Адрисова К.С. Определение цитокинового профиля и фекального кальпротектина у пациентов с воспалительными заболеваниями

толстой кишки различной степени активности. К.С. J Clin Med Kaz 2019;2(52):23-29.

- Ивашкин В.Т., Лапина Т.Л. Гастроэнтерология. Национальное руководство: краткое издание / под редакцией В.Т. Ивашкина, Т.Л. Лапиной. - М. : ГЭОТАР-Медиа; 2015. – 480.
- Конович Е.А., Широких К.Е., Халиф И.Л., Шапина М.В. Цитокины толстой кишки при тяжелой форме язвенного колита. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2016;26(1):93-98.
- Brew R, Erikson JS, West DC, Kinsella AR, Slavin J, Christmas SE. Interleukin-8 as an autocrine growth factor for human colon carcinoma cells in vitro. Cytokine. 2000;12(1):78–85.
- Cotton JA, Platnich JM, Muruve DA, Jijon HB, Buret AG, Beck PL. Interleukin-8 in gastrointestinal inflammation and malignancy: induction and clinical consequences. International Journal of Interferon, Cytokine and Mediator Research. 2016;8:13–34.
- Doll D, Keller L, Maak M, Boulesteix A-L, Siewert J.R., Holzmann B., et al. Differential expression of the chemokines GRO-2, GRO-3 and interleukin-8 in colon cancer and their impact on metastasis disease and survival. Int J Colorectal Dis. 2010;25:573–581.
- Grimm MC, Elsbury SKO, Pavli P, Doe WF. Interleukin 8: cells of origin in inflammatory bowel disease. Gut. 1996;38:90-98.
- Guan Q, Zhang J. Recent Advances: The Imbalance of Cytokines in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. Mediators of Inflammation. 2017; 2017:4810258.
- Hnatyszyn A, Hryhorowicz S, Kaczmarek-Ryś M, Lis E, Słomski R, Scott RJ, et al. Colorectal carcinoma in the course of inflammatory bowel diseases.
- Ince MN, Elliott DE. Immunologic and molecular mechanisms in inflammatory bowel disease. The Surgical Clinics of North America. 2007; 87(3):681–696.
- Li H, Qiu Z, Li F, Wang C. The relationship between MMP-2 and MMP-9 expression levels with breast cancer incidence and prognosis. Oncol Lett. 2017; 14(5): 5865–5870.
- Long X, Ye Y, Zhang L, Liu P, Yu W, Wei F, et al. IL-8, a novel messenger to cross-link inflammation and tumor EMT via autocrine and paracrine pathways (Review). International Journal of Oncology. 2016;48:5-12.
- Manninen P, Karvonen AL, Huhtala H, Aitola P, Hyöty M, Nieminen I, et al. The risk of colorectal cancer in patients with inflammatory bowel diseases in Finland: A follow-up of 20 years. Journal of Crohn's and Colitis. 2013;7 (11):e551–e557.
- Martinez-Fierro ML, Garza-Veloz I, Rocha-Pizaña MR, Cardenas-Vargas E, Cid-Baez MA, Trejo-Vazquez F, et al. Serum cytokine, chemokine, and growth factor profiles and their modulation in inflammatory bowel disease. Medicine 2019;98:38(e17208).
- Mager LF, Wasmer MH, Rau TT, Krebs P. Cytokine-induced modulation of colorectal Cancer. Front Oncol. 2016.
- Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Nang W, Benchimol EI, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. Lancet. 2018;390(10114):2769-2778.
- Ning Y, Manegold PC, Hong YK, Zhang W, Pohl A, Lurje G, et al. Interleukin-8 is associated with proliferation, migration, angiogenesis and chemosensitivity in vitro and in vivo in colon cancer cell line models. Int J Cancer. 2011; 128(9): 2038–2049.
- Ono, M. Molecular links between tumor angiogenesis and inflammation: inflammatory stimuli of macrophages and cancer cells as targets for therapeutic strategy. Cancer Sci. 2008;99(8):1501-6.
- Pearl DS, Shah K, Whittaker MA, Nitch-Smith H, Brown

- JF, Shute JK, et al. Cytokine mucosal expression in ulcerative colitis, the relationship between cytokine release and disease activity. Journal of Crohn's and Colitis. 2013; 7(6): 481–489.
- Qazi BS, Tang K, Qazi A. Recent Advances in Underlying Pathologies Provide Insight into Interleukin-8 Expression-Mediated Inflammation and Angiogenesis. International Journal of Inflammation. 201; article ID 908468, 13 pages.
- Said AH, Raufman JP, Xie G. The Role of Matrix Metalloproteinases in Colorectal Cancer. Cancers (Basel). 2014 Mar; 6(1): 366–375.
- Souza HS, Fiocchi CV. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. 2016;13(1):13–27.
- Stewart BW, Wild CP. World cancer report 2014. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- Szigethy EV, McLafferty LA, Goyal AF. Inflammatory bowel disease. Child and Adolescent Psychiatric Clinics of North America. 2010; 19(2):301–318.
- The Global Cancer Observatory, 2018. [<http://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/398-kazakhstan-fact-sheets.pdf>]
- Uguccioni M, Gionchetti P, Robbiani DF, Rizzello F, Peruzzo S, Campieri M, et al. Increased expression of IP-10, IL-8, MCP-1, and MCP-3 in ulcerative colitis. Am J Pathol. 1999; 155:331–336.
- Walczak A, Przybylowska K, Dziki L, Sygut A, Chojnacki C, Chojnacki J, et al. The IL-8 and IL-13 Gene Polymorphisms in Inflammatory Bowel Disease and Colorectal Cancer. DNA and Cell Biology. 2012;31(8).

SUMMARY

THE ROLE OF INTERLEUKIN 8 / CXCL8 IN THE IMMUNOPATHOGENESIS AND CARCINOGENESIS OF INFLAMMATORY BOWEL DISEASES (REVIEW)

Doszhan A., Bektayeva R., Imanbayeva.N., Galiyeva A., Kurmankina A.

JSC «Astana Medical University», Department of Internal Medicine #2, Nur-Sultan, Kazakhstan

The aim of this review was to analyze and synthesize recent data on the role of interleukin 8/CXCL8 in key mechanisms of the inflammatory process and carcinogenesis in patients with inflammatory bowel disease (IBD).

Currently, the study of the relationship between the pathogenesis of cancer and chronic inflammation remains an urgent task for many researchers. It has been proven that the strongest correlation between the duration of inflammation and oncogenesis is observed in colorectal cancer (CRC). The discovery of interleukin 8 / CXCL8 as one of the powerful mediators of inflammation has expanded the general understanding of its contribution to the pathogenesis of IBD. This review emphasizes the role of CXCL8 in carcinogenesis in IBD, presents the results of studies on the molecular mechanisms of CXCL8 expression in IBD and CRC, and describes its properties as one of the main angiogenic and pro-inflammatory factors that regulate the cancer cells proliferation. Study of the effects of CXCL8 on signaling pathways activation may serve as a prerequisite for the search for and discovery of new therapeutic approaches, that will reduce the risk of CRC in patients with IBD.

Keywords: ulcerative colitis, cytokines, interleukin 8/ CXCL8, colorectal cancer, carcinogenesis.

РЕЗЮМЕ

РОЛЬ ИНТЕРЛЕЙКИНА 8 / CXCL8 В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ И КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ
ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ (ОБЗОР)

Досжан А.Д., Бектаева Р.Р., Иманбаева Н.Д., Галиева А.Ж., Курманкина А.Т.

АО «Медицинский университет Астана», кафедра внутренних болезней №2, Нур-Султан, Казахстан

Целью представленного обзора явились анализ и обобщение последних данных об участии и роли интерлейкина 8 / CXCL8 в ключевых механизмах воспалительного процесса и канцерогенеза у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника.

Изучение взаимосвязи между патогенезом раковых заболеваний и хроническим воспалением по сей день остается актуальной задачей для многих исследователей. Доказано, что самая сильная корреляция между длительностью воспаления и онкогенезом наблюдается при колоректальном раке (КРР). Открытие интерлейкина 8 / CXCL8 как одного из мощных медиаторов воспаления

расширило общее понимание его вклада в патогенез воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК). В данном обзоре подчеркивается роль CXCL8 в канцерогенезе при ВЗК, приведены результаты исследований о молекулярных механизмах экспрессии CXCL8 при ВЗК и КРР, описаны его свойства как одного из основных ангиогенных и провоспалительных факторов, регулирующих пролиферацию раковых клеток. Изучение эффектов CXCL8 на активацию сигнальных путей может послужить предпосылкой для поиска и открытия новых терапевтических подходов, что позволит снизить риск КРР у пациентов с ВЗК.

რეზიუმე

ინტერლეიკინ 8 / CXCL8-ის როლი მსხვილი ნაწლავის ანთებითი დაავადებების იმუნოპათოგენეზში და კარცინოგენეზში (მიმოხილვა)

დ.დოსჯანი, რ.ბექტაევა, ნ.იმანბაევა, ა.გალიევა, ა.კურმანკინა

სს „ასტანას სამედიცინო უნივერსიტეტი“, შინაგანი დაავადებათა კათედრა №3, ნურ-სულთან, ყაზახეთი

მიმოხილვის მიზანს წარმოადგენს რეტროსპექტიული და თანამედროვე ლიტერატურის ანალიზი ინტერლეიკინ 8 / CXCL8-ის როლის შესახებ მსხვილი ნაწლავის ანთებითი დაავადებათა იმუნოპათოგენეზში და კარცინოგენეზში.

სადღეისოდ გადაუდებელ ამოცანას წარმოადგენს კიბოს პათოლოგიასა და ქრონიკულ ანთებას შორის ურთიერთკავშირის შესწავლა. დამტკიცებულია, რომ ძლიერი კორელაცია არსებობს დაავადების ხანგრძლივობასა და ონკოგენეზს შორის კოლორექტალური კიბოს დროს. ინტერლეიკინ 8 / CXCL8-ის, როგორც ანთების მედიატორის აღმოჩენამ, გააფართოვა ცოდნა მისი წვლილის შესახებ ნაწლავების ანთებით დაავადებათა პათოგენე-

ზში. მიმოხილვაში საზგასმულია CXCL8-ის როლი ნაწლავების ანთებითი დაავადებების კანცეროგენეზში. მოყვანილია CXCL8-ის ექსპრესიის მოლეკულური მექანიზმების გამოკვლევის შედეგები ნაწლავის ანთებითი დაავადებებისა და კოლორექტალური კიბოს დროს. აღწერილია მისი ანგიოგენური და ანთებისგამომწვევი თვისებები, რომლებიც არეგულირებენ კიბოს უჯრედების პროლიფერაციას. CXCL8-ის სასიგნალო გზების გააქტიურებაზე მოქმედების შესწავლა წარმოადგენს წინაპირობას ახალი თაერაპიული მიდგომების აღმოჩენის წინაპირობას და უზრუნველყოფს კოლორექტალური კიბოს განვითარების რისკის შემცირებას ნაწლავის ანთებითი დაავადებით პაციენტებში.

ПРОБЛЕМА ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРАВА НА МЕДИЦИНСКУЮ ПОМОЩЬ ЗАДЕРЖАННОГО (СОДЕРЖАЩЕГОСЯ ПОД СТРАЖЕЙ) ЛИЦА В УГОЛОВНОМ ПРОЦЕССУАЛЬНОМ ЗАКОНОДАТЕЛЬСТВЕ: ОПЫТ УКРАИНЫ И ЗАРУБЕЖНЫХ СТРАН

¹Теремецкий В.И., ²Чмелюк В.В., ³Мацюк В.Я., ⁴Галаган В.И., ⁴Удовенко Ж.В.

¹Тернопольский национальный экономический университет; ²Университет государственной фискальной службы Украины, Ирпень; ³Главное оперативное управление Государственной фискальной службы Украины; ⁴Национальный университет "Киево-Могилянская академия", Украина

«Быть или не быть?» – этот Гамлетовский вопрос вполне может быть применим к дискуссии о необходимости закрепления права на медицинскую помощь в национальном уголовно-процессуальном законодательстве. Внесение законодательной нормы о праве на медицинскую помощь для задержанного либо содержащегося под стражей лица отражает передовые демократические принципы, гарантирующие всестороннее соблюдение прав всех без исключения участников уголовного производства. С другой стороны, отсутствие данной нормы может лишить задержанного или содержащегося под стражей лица права на медицинский уход, необходимый для поддержания надлежащего уровня его здоровья. При этом следует учитывать, что право на такой жизненный уровень, включая пищу, одежду, жилище, медицинский уход и необходимое социальное обслуживание, которое необходимо для поддержания здоровья и благосостояния каждого человека, утверждено ст. 25 Всеобщей декларации прав человека [1].

Как известно, Украина закрепила в своей Конституции необратимость европейского курса. А после недавних выборов в парламент активизировала реформирование во всех сферах жизнедеятельности с целью адаптации национального законодательства к стандартам и условиям *Acquis communautaire*. Однако обновление национального правового массива сопряжено с наличием декларативности некоторых положений украинского законодательства. Так, принятие в 2012 году Уголовного процессуального кодекса (УПК) Украины в целом позитивно отразилось на судебной и правоохранительной системах, однако отдельные его положения по сей день остаются нереализованными. Речь идет об участии в уголовном производстве оперативных подразделений Государственного бюро расследований Украины, производстве по уголовным проступкам [4].

Следует отметить, что согласно Устава Всемирной организации здравоохранения, обладание наивысшим достижимым уровнем здоровья является одним из основных прав каждого человека, без различия расы, религии, политических убеждений, экономического или социального положения [13]. Поэтому действенность указанной международной нормы становится наиболее значимой в период её максимальной уязвимости. Часто такая уязвимость возникает во время задержания либо заключения под стражу лица в рамках уголовного производства.

Целью исследования явилось научное осмысление проблемы обеспечения права на медицинскую помощь задержанного либо заключенного под стражу лица в уголовном процессуальном законодательстве, исходя из опыта Украины и некоторых зарубежных стран, разработка рекомендаций по разрешению этой проблемы.

Материал и методы. В июне 2019 г. с помощью метода анкетирования опрошены 239 респондентов из числа сотрудников Национальной полиции Украины и 72 адвоката. Проведенный анализ национального украинского законода-

тельства, публикаций в средствах массовой информации и научной периодики, аналитических материалов, судебной практики, а также справочных изданий для выявления причин и проблем, связанных с обеспечением права на медицинскую помощь задержанного либо заключенного под стражу лица в уголовном процессуальном законодательстве Украины. Для выявления недостатков и спорных положений уголовного процессуального законодательства Украины в контексте правового обеспечения реализации права на медицинскую помощь задержанного лица в сравнении с положениями правовых актов отдельных государств использовались методы сравнительного правоведения.

Результаты и их обсуждение. Число дел, поданных против Украины в Европейский Суд по правам человека (ЕСПЧ) постоянно возрастает, что обусловлено недостатками действующего национального законодательства. Значительная часть этих дел касается соблюдения Украиной ст. 3 «Запрещение пыток» Конвенции о защите прав человека и основных свобод. Указанная статья гласит, что «никто не должен подвергаться пыткам и бесчеловечному или унижающему достоинство обращению или наказанию» [2]. По информации, размещенной на официальном сайте Министерства юстиции Украины, можно ознакомиться с количеством решений, принятых ЕСПЧ в отношении Украины, где ссылка на ст. 3 Конвенции включает несколько составляющих: 1) ненадлежащее обращение со стороны представителей государства и отсутствие эффективного расследования – 83 решения; 2) ненадлежащие условия содержания под стражей – 49 решений; 3) необеспечение своевременной и надлежащей медицинской помощи – 34 решения; 4) о выдаче лица (экстрадиция) – 2 решения [8]. Указанные данные демонстрируют наличие проблем в национальном законодательстве Украины по вопросам обеспечения права на медицинскую помощь задержанного либо заключенного под стражу лица.

Следует обратить внимание, что право на медицинскую помощь в широком смысле подразумевает реализацию права на медицинскую помощь, надлежащее медицинское обследование, создание условий, при которых исключено нанесение ущерба здоровью задержанного либо содержащегося под стражей лица; т.е. обеспечение реализации права на медицинскую помощь, которое может проявляться в свободном выборе лечащего врача и надлежащем и независимом медицинском обследовании. Авторы этого исследования рассматривают указанное право лишь в узком значении.

Общезвестно, что основные права человека, как и права участников уголовного производства, закреплены в международных и национальных законодательных актах. Однако не все известные права участников уголовного производства надлежащим образом закреплены в уголовном процессуальном законодательстве Украины, что иногда приводит к нарушению таких прав или злоупотреблению ими.

Информация из ежегодного доклада Уполномоченного Верховного Совета Украины по правам человека - «Состояние соблюдения и защиты прав и свобод человека и гражданина в Украине» за 2018 г. свидетельствует, что во время мониторинга исправительных колоний выявлены грубые нарушения прав и свобод заключенных на охрану здоровья и медицинскую помощь. Критической является неуклоплектованность должностей врачей в медицинских частях, ввиду чего в некоторых из них не обеспечено круглосуточное дежурство медицинских работников. Аналогичные проблемы присущи учреждениям, находящимся в сфере управления Национальной полиции. Так, из отчета омбудсмена следует, что были нарушены права на надлежащие условия пребывания в изоляторах временного содержания, а также на охрану здоровья и медицинскую помощь [9].

В период за 2014–2015 гг. Международным фондом «Возрождение» совместно с Правовой Инициативой Открытого Общества (Будапешт, Венгрия) и с национальными фондами Фундаций Открытого Общества в Молдове и Грузии, учеными Университета Западной Англии проведено исследование практического обеспечения процессуальных гарантий лиц, задержанных по подозрению в совершении правонарушений. Объектом проведенного исследования являлись права и гарантии, в числе которых и право на доступ к необходимой медицинской помощи. Что касается обеспечения права на медицинскую помощь, зафиксированы случаи непредоставления либо ненадлежащего/несвоевременного оказания медицинской помощи лицам, находящимся в болезненном состоянии, состоянии алкогольного или наркотического опьянения. Отмечено, что в Украине отсутствует эффективный механизм оказания медицинской помощи задержанным лицам [6]. Поскольку вышеуказанное исследование проводилось в рамках действия принятого в 2012 г. «нового» УПК Украины, негативные результаты проведенного исследования диктуют необходимость усовершенствования отдельных его положений.

Следует отметить, что проблемы подобного характера существуют не только в Украине. Данные проведенного в США общенационального опроса «Здоровье и здравоохранение заключенных в США» свидетельствуют о том, что многие заключенные с серьезными хроническими заболеваниями не получают надлежащей медицинской помощи в заключении. Следует повысить эффективность работы исправительных учреждений здравоохранения и общественных служб охраны психического здоровья, которые могли бы предотвращать преступления и тюремные заключения как их последствия [20].

В Украине право на охрану здоровья гарантировано ст. 49 Конституции Украины, согласно которой каждый имеет право на охрану здоровья, медицинскую помощь и медицинское страхование [3], однако на практике, в рамках уголовного производства это конституционное положение соблюдается не в полной мере, особенно если в ходе такого производства появляется задержанное либо заключенное под стражу лицо.

Так, в чч. 3 и 4 ст. 42 («Подозреваемый, обвиняемый») УПК Украины, предусмотрено 18 процессуальных прав подозреваемого, а для обвиняемого - 8 прав дополнительно [4]. Однако в перечне процессуальных прав таких участников отсутствуют нормы, касающиеся обеспечения права на медицинскую помощь.

Статья 6 («Правовое положение лиц, находящихся в местах предварительного заключения») Закона Украины «О

предварительном заключении» гласит, что «лица, находящиеся в местах предварительного заключения, имеют обязанности и права, установленные законодательством для граждан Украины, с ограничениями, предусмотренными настоящим Законом и другими нормативно-правовыми актами» [5]. Однако среди предусмотренных ст. 9 указанного Закона прав лиц, взятых под стражу, право на медицинскую помощь и надлежащее медицинское обследование отсутствует. Хотя ст. 11 («Материально-бытовое обеспечение и медицинское обслуживание лиц, взятых под стражу») определяет некоторые условия и особенности медицинского обслуживания таких лиц, но при этом оперирует бланкетными положениями, в частности: «условия, соответствующие правилам санитарии и гигиены», «медицинское обслуживание, а также лечебно-профилактическая и противоэпидемическая работа в местах предварительного заключения организовываются и проводятся в соответствии с законодательством об охране здоровья», «порядок предоставления заключенным медицинской помощи, использование с этой целью не подчиненных органов, осуществляющим предварительное заключение, государственных и коммунальных учреждений здравоохранения, привлечение их медицинского персонала и проведение медицинских экспертиз определяется Кабинетом Министров Украины» [5].

В противовес вышеизложенному можно привести п. 6 ч. 3 ст. 212 УПК Украины («Лицо, ответственное за пребывание задержанных»), в которой указывается, что должностное лицо, ответственное за пребывание задержанных, обязано обеспечить безотлагательное предоставление надлежащей медицинской помощи и фиксацию медицинским работником телесных повреждений или ухудшение состояния здоровья задержанного. В состав лиц, оказывающих задержанному медицинскую помощь, по его желанию может быть допущено конкретное лицо, которое имеет право на занятие медицинской деятельностью [4]. Не до конца ясной остается практическая возможность воплотить такое желание задержанного без должного нормативного закрепления соответствующего права и механизма его реализации.

Как показывает анализ уголовного процессуального законодательства Украины, реализация права на медицинскую помощь не нашла соответствующего закрепления и усложнена отсылками к «правилам», «порядкам» и «соответствиям». Следствием такого законодательного подхода является растущее количество решений ЕСПЧ, удовлетворяющих иски против Украины за нарушение норм Европейской Конвенции по правам человека.

Проведенный авторами этого исследования сравнительный анализ соответствующих положений в законодательстве ряда зарубежных стран свидетельствует о неоднозначном подходе к вопросу закрепления права на медицинскую помощь в ходе уголовного производства.

Так, уголовные процессуальные кодексы Республик Казахстан, Беларусь, Азербайджан, Узбекистан и Киргизской Республики, кроме общих положений фактически не выделяют права задержанных либо содержащихся под стражей лиц на медицинскую помощь, включая надлежащее медицинское обследование. Частично определен принцип недопущения лишения медицинской помощи либо вреда для здоровья участников уголовного производства в кодексах Российской Федерации, Республики Армения, Туркменистана, что позволяет утверждать о весьма фрагментарном упоминании права на медицинскую помощь в уголовном процессуальном законодательстве ряда постсоветских

стран. Сделанный в содержании отдельных кодексов акцент на медицинское обслуживание арестованных либо содержащихся под стражей лиц, как и в случае с украинским законодательством, не подкреплен соответствующими правами арестованного или подозреваемого (обвиняемого).

Вместе с тем, законодательство отдельных стран включает положения, детально раскрывающие исследуемое право. С этой точки зрения интересен Уголовно-процессуальный кодекс Грузии, которым среди прав и обязанностей обвиняемого, закрепленных в ч. 9 ст. 38, содержится следующее положение: «обвиняемый вправе немедленно по задержании или в случае ареста требовать бесплатное медицинское освидетельствование и получить соответствующее письменное заключение. Это право обвиняемого должно быть осуществлено немедленно. Он также вправе в порядке, установленном законодательством Грузии, в любое время, за собственный счет немедленно пройти медицинское освидетельствование у избранного им эксперта» [11]. В этом плане важен акцент на немедленном и бесплатном характере такого медицинского освидетельствования, а также возможности его прохождения у избранного эксперта за собственные средства.

Уголовно-процессуальный кодекс Республики Молдова разграничивает и закрепляет право на медицинскую помощь для подозреваемого и обвиняемого (подсудимого). Так, согласно п. 15 ч. 2 ст. 64 «Права и обязанности подозреваемого», подозреваемый имеет право подавать заявление, в том числе в отношении независимой медицинской помощи. Согласно пп. 18 и 18-1 ч. 2 ст. 66 «Права и обязанности обвиняемого, подсудимого», подсудимый вправе подавать заявление об оказании независимой медицинской помощи и незамедлительно после задержания или ознакомления с решением о применении к нему мер пресечения иметь доступ к медицинскому обследованию и независимой медицинской помощи, в том числе за свой счет [12]. Следовательно, молдавское уголовно-процессуальное законодательство предоставляет возможность для надлежащей реализации права на медицинскую помощь и медицинское обследование как бесплатно, так и за собственные средства.

В законодательстве некоторых стран-участниц ЕС проблема обеспечения права на медицинскую помощь решается иным образом. Акцент в реализации медицинских прав смещается от участника уголовного процесса в сторону лица, задержанного полицией. Например, Уголовно-процессуальный кодекс Республики Польша не обходит вниманием вопросы, связанные со статусом задержанного (арестованного лица) в уголовном производстве. Из содержания параграфов 1, 2 артикула 74 следует, что подозреваемый не обязан доказывать свою невиновность, так же как и не обязан предоставлять доказательства, которые могут ему навредить, однако он обязан пройти: 1) осмотр тела и исследования, связанные с нарушением целостности тела, взятие отпечатков пальцев, фотографирование; 2) психологические и психиатрические исследования, а также исследования, связанные с проведением процедур на теле, за исключением хирургических, при условии, что это не угрожает здоровью, если проведение таких исследований является необходимым, в том числе забор крови, волос или выделений из организма, например, слюны. Исследования должны быть проведены уполномоченным работником службы здравоохранения; 3) взятие полицейским мазка со слизистой оболочки щеки, если это необходимо и не несет угрозы для здоровья. Интересно, что невыполнение данных обязанностей подозреваемым

может привести к его задержанию и принудительному выполнению, а также к применению в отношении него необходимых мер физического воздействия или технических средств, созданных для усмирения [17]. Вышеизложенное свидетельствует, что польский уголовный процессуальный Закон регламентирует в большей степени не право задержанного на медицинскую помощь, а меры и условия медицинского вмешательства в ходе уголовного производства, что также способствует недопущению нарушения прав такого участника уголовного производства.

Необходимо обратить внимание на отдельные распоряжения министра юстиции Республики Польша в 2015 г., в которых определены типовые инструкции по разъяснению прав участников уголовного производства, в том числе задержанных и заключенных под стражу. Так, лицо, задержанное на основании европейского ордера на арест, в числе прочего наделено правом на доступ к необходимой медицинской помощи (п. 14). Лицо, задержанное в порядке уголовного производства, имеет право на доступ к необходимой медицинской помощи (п. 10) [19]. Исходя из предписаний, приведенных выше актов, следует сделать вывод, что различные категории лиц, имеющие ограничения в свободе, обеспечиваются возможностью реализовать право на необходимую им медицинскую помощь, что актуализировано для каждой отдельной категории (задержанный, арестованный, арестованный по евроордеру).

Уголовный процессуальный кодекс Румынии содержит достаточное количество норм, детально регламентирующих различные аспекты, связанные с медицинскими вопросами, возникающими в ходе уголовного производства. Это и нахождение на принудительном лечении, и передача в медицинское учреждение, и меры возможных исследований психологического состояния лица, в отношении которого осуществляется производство, а также случаи невозможности нахождения под арестом ввиду медицинских показаний. Следует подчеркнуть, что в ч. 2 артикула 228 («Объявление о предварительном аресте и месте, нахождения под предварительным арестом») предусмотрено, что лицо, в отношении которого назначена мера досудебного ареста, необходимо уведомить в письменной форме о своих правах, указанных в артикулах 83 и 210, а также праве на доступ к неотложной медицинской помощи [16].

В Великобритании тема организации надлежащего обеспечения медицинской помощи задержанному либо находящемуся под стражей лицу раскрыта достаточно широко. Так, на официальном сайте правительства Великобритании размещена информация о правах задержанных лиц, где в доступной форме опубликованы соответствующие права задержанного, среди них и право на медицинскую помощь в случае плохого самочувствия задержанного [15].

Британские ученые акцентируют внимание на том, что в 25 европейских странах были обнаружены большие различия в моделях оказания медицинской помощи задержанным. Такие модели варьировали в пределах от вызова врача в случае необходимости до наличия постоянных специалистов здравоохранения для работы с задержанными. Общие рекомендации и квалификации для таких специалистов по оказанию медицинской помощи задержанным существенно разнятся. Отмечается, что в отдельных федеративных государствах (Великобритания, Федеративная Республика Германия) даже национальное законодательство в субъектах федерации имеет различия в возможностях реализации прав задержанных на медицинскую помощь [18].

Французские исследователи Орели Бьюфре и Патрик Шаро уместно отмечают, что условия содержания в помещениях французской полиции часто унижительны. Это касается гигиены, температуры, возможности отдыха, а иногда и условий питания. При такой ситуации содержание под стражей может быть травмирующим даже для молодых и здоровых людей, а не только для пожилых, которые обычно страдают хроническими заболеваниями [14, с. 662].

Зарубежные исследования проблемы реализации права задержанных на медицинскую помощь, в целом, касаются отдельных составляющих этой проблематики. Среди них можно выделить: а) допустимые пределы и способы взятия биологических образцов для проведения медицинских обследований задержанных; б) отдельные аспекты физического и психического здоровья задержанных; в) безопасность полицейских и медицинского персонала при работе с задержанными; г) специфика медицинского сопровождения отдельных групп задержанных лиц (пожилых, детей, женщин, военных).

Таким образом, следует сделать вывод о наличии различных подходов к закреплению права на медицинскую помощь задержанного либо содержащегося под стражей лица в уголовных процессуальных актах отдельных государств. При этом двойственность вопроса закрепления или отсутствия этого права, как самостоятельного элемента статуса определенных участников уголовного производства, отражается на последующем развитии законов и принятых в их исполнение подзаконных актов. В последних формализуется или детализируется порядок реализации права на медицинскую помощь в уголовном производстве.

Возвращаясь к украинским реалиям, отметим, что в опубликованной еще в 2012 г. статье «Реальность или декларация?», посвященной гарантии обеспечения прав и законных интересов лица, содержащегося под стражей на предоставление ему квалифицированной медицинской помощи, которая традиционно обеспечивается работниками медицинской части следственного изолятора, автор приходит к интересным выводам. Он отмечает наличие соответствующего правового основания для обеспечения взятого под стражу лица необходимой медицинской помощью, а также тем, что реализация этого права зависит не столько от его правового обеспечения, сколько от того, насколько его дестабилизируют различные детерминанты неправового характера - человеческий фактор, правосознание практических работников, которые не всегда готовы признать приоритет обеспечения прав человека в сфере уголовного судопроизводства, коррупционные практики [7].

Авторы этого исследования не разделяют позицию наличия надлежащего правового основания для реализации медицинских прав участниками уголовного производства, в частности задержанными и арестованными. Сегодня в ряде резонансных уголовных дел уже сформировалась определенная традиция, когда задержанный демонстрирует внезапное ухудшение самочувствия либо внезапно и серьезно заболевает. Для задержанных либо содержащихся под стражей лиц длительное лечение превращается в возможность побега, затягивания процессуальных действий или предоставления фальсифицированных медицинских заключений. С другой стороны, указанные выше по тексту решения ЕСПЧ против Украины, свидетельствуют о систематическом нарушении права на надлежащую медицинскую помощь для ряда участников уголовного производства, при-

чинами которого является, в том числе и отсутствие нормативного закрепления для реализации такого права в УПК Украины.

В исследовании проблемных вопросов медицинского обеспечения лиц, приговоренных к лишению свободы, украинские исследователи [10] предлагают проблему медицинского обслуживания заключенных решить путем создания независимой медицинской службы, отвечающей за плановые и внеплановые наблюдения за состоянием здоровья осужденных и проведением их осмотра, информацию о состоянии здоровья заключенных, контроль за соблюдением медработниками режимных условий относительно конкретного осужденного. Вполне возможно, что деятельность соответствующей службы при её создании могла бы распространиться на задержанных или содержащихся под стражей лиц.

В рассматриваемом контексте представляют интерес данные проведенного опроса респондентов (n=239) из числа сотрудников Национальной полиции Украины и адвокатов (n=72), приведенные в диаграмме на рис. Так, из 239 полицейских за внесение изменений и дополнений в действующий УПК Украины в части закрепления права на медицинскую помощь и медицинское обследование высказали свое мнение 133 полицейских, 72 – считают действующие нормы и положения эффективными и 34 – не определились с ответом. Среди адвокатов за изменения высказали 54 опрошенных, 18 – считают удовлетворительными существующие положения.

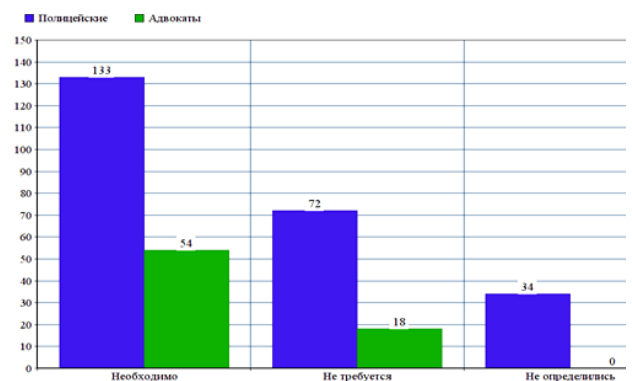


Рис. Диаграмма оценки необходимости закрепления права задержанных (содержащихся под стражей) лиц на медицинскую помощь

Выводы. Подводя итог рассмотрению проблемы обеспечения права на медицинскую помощь задержанного либо содержащегося под стражей лица в уголовном процессуальном законодательстве, учитывая опыт Украины и некоторых зарубежных стран, рекомендуется:

1. Дополнить ст. 42 действующего УПК Украины нормой, предусматривающей право задержанного либо содержащегося под стражей лица на надлежащую медицинскую помощь, включая свободный выбор врача и независимое медицинское обследование. Значение закрепления этой нормы состоит в создании правового основания для формирования четкой процедуры обеспечения соответствующего права в ходе уголовного производства, с последующей конкретизацией этого положения в подзаконных нормативно-правовых актах.

2. Законодательно закрепить право задержанного либо содержащегося под стражей лица на медицинскую помощь

в уголовном процессуальном законодательстве Украины, в результате чего следует осуществить: 1) сокращение количества фактов нарушения прав человека в ходе уголовного производства, что приблизит украинское уголовно-процессуальное законодательство к действующим стандартам ЕС; 2) уменьшение случаев злоупотребления правом на медицинскую помощь в ходе уголовного производства со стороны лиц, в отношении которых оно осуществляется; 3) минимизация возможности удовлетворения исков, поданных в ЕСПЧ против Украины, о нарушениях права на медицинскую помощь.

ЛИТЕРАТУРА

1. Всеобщая декларация прав человека. Принята резолюцией 217 А (III) Генеральной Ассамблеи ООН от 10 декабря 1948 года. URL: https://www.un.org/ru/documents/decl_conv/declarations/declhr.shtml
2. Европейская конвенция о защите прав человека и основных свобод от 03.09.1953. URL: https://www.echr.coe.int/Documents/Convention_RUS.pdf
3. Конституція України: Закон України від 28.06.1996. Відомості Верховної Ради України. 1996; № 30. Ст. 141.
4. Кримінальний процесуальний кодекс України: Закон України від 13.04.2012 № 4651-VI. Відомості Верховної Ради України від 08.03.2013. 2013; № 9-10. Ст. 88.
5. Про попереднє ув'язнення: Закон України від 30.07.1993 № 3352-XII. Відомості Верховної Ради України від 31.08.1993. 1993; № 35, Ст. 360.
6. Процесуальні гарантії підозрюваних осіб. Міжнародний фонд «Відродження». Дослідження від 18.12.2014. URL: http://www.irf.ua/allevnts/news/doslidzhennya_protseualni_garantii_pidozryvanih_osib/
7. «Реальність чи декларація?» від 08.08.2012. Адвокат-консалтинг. URL: <http://advocat-cons.info/index.php?newsid=15921>
8. Рішення щодо України, винесені Європейським судом з прав людини. Сайт Міністерства юстиції України. URL: https://minjust.gov.ua/cat_9329
9. Стан додержання та захисту прав і свобод людини і громадянина в Україні. 2018 рік. URL: <http://www.univ.kiev.ua/content/upload/2019/-697223196.pdf>
10. Теремецький В.І., Музичук О.М., Салманова О.Ю., Кириченко О.Ю., Ігонін Р.В. Проблемні питання медичного забезпечення осіб, засуджених до позбавлення волі. *Wiadomości Lekarskie*. 2018, 9 (71). p. 1777-1780.
11. Уголовно-процессуальный кодекс Грузии: Закон Грузии от 09.10.2009 № 1772-Пс. URL: <https://matsne.gov.ge/ru/document/download/90034/69/ru/pdf>
12. Уголовно-процессуальный кодекс Республики Молдова: Закон Республики Молдова от 14.03.2003. № 122-XV. URL: <http://lex.justice.md/viewdoc.php?action=view&view=doc&id=326970&lang=2>
13. Устав Всемирной организации здравоохранения (World Health Organization) URL: <http://apps.who.int/gb/bd/PDF/bd47/RU/constitution-ru.pdf?ua=1>
14. Aurélie Beaufrère, Patrick Chariot The health of older arrestees in police cells Age and Ageing. 07.2015; № 44. Issue 4. p. 662–667.
15. Being arrested: your rights. URL: <https://www.gov.uk/arrested-your-rights>
16. Criminal Procedure Code of Romania: Law of the 01.07.2010 (Unofficial translation 07.02.2014). URL: [https://www.venice.coe.int/webforms/documents/default.aspx?pdffile=CDL-REF\(2018\)043-e](https://www.venice.coe.int/webforms/documents/default.aspx?pdffile=CDL-REF(2018)043-e)
17. Kodeks postępowania karnego: Ustawa z dnia 06.06.1997 Nr 89 poz. 555. URL: <http://isap.sejm.gov.pl/DetailsServlet?id=WDU19970890555>
18. McKinnon I, Thomas S, Noga H, Senior J. Police custody health care: a review of health morbidity, models of care and innovations within police custody in the UK, with international comparisons. *Risk Management and Healthcare Policy*. 2016; № 9. p. 213-226 <https://doi.org/10.2147/RMHP.S61536>
19. Tłumaczenia wzorów pouczeń. Tłumaczenia wzorów pouczeń w postępowaniu karnym. URL: <https://www.arch.ms.gov.pl/pl/dzialalnosc/wzory-pouczen>
20. Wilper et al. The Health and Health Care of US Prisoners: Results of a Nationwide Survey *American Journal of Public Health*. 2009; № 99 p. 666–672.

SUMMARY

PROBLEM OF ENSURING THE RIGHT TO MEDICAL CARE OF A DETAINEE (DETAINED IN CUSTODY) WITHIN CRIMINAL PROCEEDINGS: EXPERIENCE OF UKRAINE AND FOREIGN COUNTRIES

¹Teremetskiy V., ²Chmelyuk V., ³Matsiuk V., ⁴Galagan V., ⁴Udovenko Zh.

¹Ternopil National Economic University; ²National University of State Fiscal Service of Ukraine, Irpin; ³State Fiscal Service of Ukraine; ⁴National University of "Kyiv-Mohyla Academy", Ukraine

The objective of the article is the scientific understanding of the problem of ensuring the right to medical care of a detainee or detained in custody within criminal proceedings, based on the experience of Ukraine and some foreign states, as well as the formation of conclusions and recommendations to resolve this problem. In the process of writing a scientific article, the authors have used general scientific, special and legal methods. Questionnaires – to interview respondents from among police officers of the National Police of Ukraine and lawyers. The analysis method made it possible to study the reasons that contribute to the existence of problems related to ensuring the right to medical care of a detainee or detained in custody within criminal proceedings of Ukraine. The methods of comparative law were used to identify shortcomings and controversial provisions of the criminal procedural legislation of Ukraine in comparison with the provisions of legal acts of some foreign states. The authors of the article have concluded about the need to supplement the Art. 42 of the Criminal Procedural Code of Ukraine with the norm stipulating the right of a detainee or detained in custody for appropriate medical care, including the free choice of a physician and an independent medical examination. The result of the legislative consolidation of the right to medical care of a detainee or detained in custody within criminal proceedings of Ukraine must be: 1) reduction of the number of facts of violation of human rights in the course of criminal proceedings, bringing the national Ukrainian criminal procedure legislation closer to the EU standards; 2) reduction of cases of abuse of the right to medical care during criminal proceedings by the person against whom it is carried out; 3) minimization of the possibility of satisfying claims filed with the ECHR against Ukraine regarding violations of the right to medical care.

Keywords: a detainee, detained in custody, the right to medical care, medical examination, criminal proceedings.

РЕЗЮМЕ

ПРОБЛЕМА ОБЕСПЕЧЕНИЯ ПРАВА НА МЕДИЦИНСКУЮ ПОМОЩЬ ЗАДЕРЖАННОГО (СОДЕРЖАЩЕГОСЯ ПОД СТРАЖЕЙ) ЛИЦА В УГОЛОВНОМ ПРОЦЕССУАЛЬНОМ ЗАКОНОДАТЕЛЬСТВЕ: ОПЫТ УКРАИНЫ И ЗАРУБЕЖНЫХ СТРАН

¹Теремецкий В.И., ²Чмелюк В.В., ³Мацюк В.Я.,
⁴Галаган В.И., ⁴Удовенко Ж.В

¹Тернопольский национальный экономический университет, ²Университет государственной фискальной службы Украины, Ирпень; ³Главное оперативное управление Государственной фискальной службы Украины; ⁴Национальный университет "Киево-Могилянская академия", Украина

Цель исследования – научное осмысление проблемы обеспечения права на медицинскую помощь задержанного либо содержащегося под стражей лица в уголовном процессуальном законодательстве, исходя из опыта Украины и некоторых зарубежных стран, разработка рекомендаций для разрешения этой проблемы.

В работе использовались общенаучные и специально-правовые методы: анкетирование – для опроса респондентов из числа сотрудников Национальной полиции Украины и адвокатов; метод анализа для изучения причин возникновения проблем, связанных с обеспечением права на медицинскую помощь задержанных либо содержащихся под стражей лиц в уголовном процессуальном законодательстве Украины; методы сравнительного правоведения использовались для выявления недостатков и спорных вопросов уголовного процессуального законодательства Украины в сравнении с положениями правовых актов отдельных государств. Авторами статьи сделан вывод о необходимости дополнения ст. 42 Уголовного процессуального кодекса Украины нормой, предусматривающей право задержанного либо содержащегося под стражей лица на надлежащую медицинскую помощь, включая свободный выбор врача и независимое медицинское обследование.

Результатом законодательного закрепления права на медицинскую помощь задержанного либо содержащегося под стражей лица в уголовном процессуальном законодательстве Украины должно стать: 1) сокращение количества фактов нарушения прав человека в ходе уголовного производства, что приблизит украинское уголовно-процессуальное законодательство к действующим стандартам ЕС; 2) уменьшение случаев злоупотребления правом на медицинскую помощь в ходе уголовного производства со стороны лиц, в отношении которых оно осуществляется; 3) минимизация возможности удовлетворения исков, поданных в ЕСПЧ против Украины о нарушениях права на медицинскую помощь.

რეზიუმე

ტუსადების სამედიცინო დახმარების უზრუნველყოფის მდგონარეობა სისხლის სამართლის პროცესუალურ კანონმდებლობაში: უკრაინის და საზღვარგარეთი ქვეყნების გამოცდელიბა

¹ვ.ტერემციკი, ²ვ.ჩმელიუკი, ³ვ.მაციუკი, ⁴ვ. გალაგანი, ⁴ვ.უდოვენკო

¹ტერნოპოლის ეკონომიკის ეროვნული უნივერსიტეტი; ²უკრაინის სახელმწიფო ფისკალური სამსახურის უნივერსიტეტი; ³უკრაინის სახელმწიფო ფისკალური სამსახურის მთავარი ოპერატიული სამართველო; ⁴ეროვნული უნივერსიტეტი "კიევი-მოგილიანსკი აკადემია", უკრაინა

სტატიის მიზანს წარმოადგენს დაკავებული პირის სამედიცინო მომსახურების უფლების უზრუნველყოფის პრობლემის გააზრება სისხლის სამართლის საპროცესო კანონმდებლობაში უკრაინის და საზღვარგარეთი ქვეყნების გამოცდელიბის გათვალისწინებით და აღნიშნული პრობლემის დაგასაწვევად რეკომენდაციების გამომუშავება.

კვლევაში გამოყენებული იყო ზოგად-სამეცნიერო და სპეციალურ-სამართლებრივი მეთოდები: ანკეტირება - ეროვნული პოლიციის თანამშრომლების და ადვოკატების გამოკითხვისათვის, ანალიზის მეთოდი - დაკავებული პირისთვის სამედიცინო დახმარების გაწევასან დაკავშირებული არსებული პრობლემების შესწავლის მიზნით. შედარებითი მეთოდი გამოყენებული იყო საკამათო საკითხების ნაკლოვანებების გამოსავლენად უკრაინის სისხლის სამართლის კანონმდებლობაში და მათ შესადარებლად სხვადასხვა ქვეყნის სამართლებრივ აქტებთან.

სტატიის ავტორების მიერ გამოტანილია დასკვნა, რომ უკრაინის სისხლის სამართლის პროცესუალურ კოდექსში 42 მუხლში დამატებების შეტანის შესახებ, რაც ითვალისწინებს დაკავებული ან დაპატიმრებული პირის სათანადო სამედიცინო მომსახურებას, მათ შორის ექიმის თავისუფალ არჩევანს და დამოუკიდებელ სამედიცინო შემოწმებას.

ჩატარებული კვლევის შედეგად ავტორებს გამოტანილი აქვთ დასკვნა იმის შესახებ, რომ 1) შემცირდეს დაკავებული ან დაპატიმრებული პირის უფლებების დარღვევის შემთხვევები სისხლის სამართლის პროცესუალური მსვლელობის დროს, რაც დაახლოვებს უკრაინის სისხლის სამართლის კანონმდებლობას ევროკავშირის სტანდარტებთან; 2) სამედიცინო დახმარების უფლების ბოროტად გამოყენების შემთხვევების შემცირება იმ პირთა მიერ, რომელთა მიმართ სორციელებდა სიხლ-სამართალ წარმოება; 3) სამედიცინო დახმარების უფლების დარღვევასთან დაკავშირებით ადამიანის უფლებათა ევროპული სასამართლოს მიერ შეტანილი სარჩელების დაკმაყოფილების შემთხვევათა მინიმუმზაცია.

ОСОБЕННОСТИ НАЛОГООБЛОЖЕНИЯ ОПЕРАЦИЙ ПО ОКАЗАНИЮ УСЛУГ ПО ОХРАНЕ ЗДОРОВЬЯ В УКРАИНЕ

¹Сарана С.В., ¹Фаст А.А., ²Сидоренко В.В., ³Олейник О.А., ⁴Литвин Н.А.

¹Институт права и общественных отношений Открытого международного университета развития человека «Украина», Киев; ²Белоцерковский институт экономики и управления Открытого международного университета развития человека «Украина»; ³Николаевский межрегиональный институт развития человека университета «Украина»; ⁴Университет государственной фискальной службы Украины, Ирпень, Украина

Значимым элементом функционирования любого государства является система здравоохранения и обеспечение доступного медицинского обслуживания граждан. В статье 49 Конституции Украины закреплено право каждого на охрану здоровья. Это право реализуется путем предоставления бесплатной медицинской помощи в государственных и коммунальных учреждениях здравоохранения (далее – медицинских учреждениях) и путем государственного содействия развитию лечебных учреждений всех форм собственности.

Украина, ратифицировав Соглашение об ассоциации с Европейским Союзом, стремится приблизиться к европейским стандартам по медицинскому обслуживанию. С этой целью осуществляется реформирование здравоохранения, направленное на обеспечение граждан качественными и доступными медицинскими услугами.

Одним из средств анализируемой сферы регулирования является налогообложение операций по поставкам услуг по охране здоровья (далее – медицинских услуг). Отношения налогообложения операций по поставке таких услуг регулируются Налоговым кодексом Украины (далее – Кодекс). Особенности налогообложения в этой сфере обусловлены следующими факторами: статус медицинского учреждения как налогоплательщика, характер, содержание и объем подобных операций. Однако механизм правового регулирования указанных операций в Украине по сей день является несовершенным. Поэтому актуален анализ особенностей правового регулирования этого вопроса и поиск его эффективной модели в современных условиях.

Цель исследования заключается в определении особенностей налогообложения операций по поставке медицинских услуг в Украине, выявления проблем в налогообложении таких операций, путей их решения, а также специфики уплаты налогов отдельными категориями медицинских учреждений; установление недостатков механизма налогообложения и разработка путей их совершенствования.

Материал и методы. С целью получения результатов, касающихся особенностей налогообложения операций по поставке медицинских услуг, проведен анализ норм налогового и иного законодательства Украины, документов Государственной фискальной службы Украины (далее – ГФС Украины), Министерства здравоохранения Украины (далее – Минздрав). Проанализированы отчеты Счетной палаты о результатах аудита эффективности и обоснованности применения налоговых льгот относительно налога на добавленную стоимость (далее – НДС) на операции по поставке медицинских услуг с целью определения особенностей и недостатков правового регулирования в этой сфере. В ходе исследования использовались методы анализа, синтеза, обобщения, систематизации.

Результаты и их обсуждение. Система здравоохранения в современных условиях активно реформируется. Европейские системы здравоохранения, которые, в основном, финансируются налогами, должны эффективно реагировать на новые экономические и медицинские условия для сохранения жизнеспособности [13].

При проведении медицинской реформы в Украине необходимо учитывать современные мировые тенденции. Одной из задач является реорганизация медицинских учреждений из бюджетных в коммунальные некоммерческие предприятия, которые: 1) создаются на основе собственности территориальной общины; 2) являются унитарным предприятием; 3) владеют имуществом, находящимся в их оперативном управлении; 4) имеют статус неприбыльной организации и внесены в Реестр неприбыльных учреждений и организаций. Другой задачей медицинской реформы является расширение частной медицинской практики и сети частных клиник с одновременным контролем их деятельности.

При реформировании сферы здравоохранения значимым вопросом является совершенствование механизма налогообложения операций по поставке медицинских услуг, которые предоставляют коммунальные некоммерческие предприятия и частные больницы. Факторами, влияющими на систему налогообложения указанных субъектов, являются: виды медицинских услуг и объемы их предоставления, стоимость приобретаемого медицинского оборудования, количество используемых лекарственных средств и медицинских препаратов. Что касается коммунальных некоммерческих предприятий, то изменение ими организационно-правовой формы существенно влияет на уплату (неуплату) налогов. Согласно Методических рекомендаций Минздрава по вопросам преобразования учреждений здравоохранения из бюджетных в коммунальные некоммерческие предприятия, последние не платят: налог на прибыль при соблюдении условий некоммерческого статуса, земельный налог в случае полного финансирования за счет бюджета, единый налог, налог на недвижимое имущество, отличное от земельного участка. Необходимо отметить, что НДС уплачивается ими в соответствии с требованиями Кодекса [6,7]. Особенностью налогообложения медицинских услуг, оказываемых врачами, которые являются физическими лицами-предпринимателями, является то, что они согласно ст.293 Кодекса, могут зарегистрироваться плательщиком единого налога второй группы и платить фиксированную сумму единого налога (в пределах до 20% минимальной заработной платы) [8]. Однако, если такие плательщики единого налога полностью или частично получают оплату за медицинские услуги от страховых фирм-юридических лиц или же предоставляют платные медицинские услуги юридическим лицам в соответствии с заключенными договорами, то они должны зарегистрироваться плательщиком единого налога третьей группы. В таком случае особенность уплаты единого налога состоит в том, что процентная ставка единого налога будет составлять 3% дохода в случае уплаты НДС или 5% дохода в случае включения НДС в состав единого налога [8].

Следует обратить внимание и на положения ст. 291 Кодекса относительно права на применение упрощенной системы налогообложения в следующем календарном году. Им могут воспользоваться частные врачи и частные больницы, в которых в течение календарного года объем их дохода не превышает: для плательщиков единого налога второй группы 1,5 млн гривен; третьей группы – 5 млн гривен [8].

Что касается налогообложения медицинского учреждения, в состав которого входят несколько медицинских работников, работающих по трудовому договору, то такое учреждение является налоговым агентом по уплате единого социального взноса, налога с доходов физических лиц и военного сбора с заработной платы работников. Особенностью уплаты медицинскими работниками налога с доходов физических лиц является их право на налоговую скидку налогооблагаемого дохода плательщика по результатам отчетного налогового года при следующих условиях: отражение фактически осуществленных в течение отчетного налогового года затрат, включаемых в налоговую скидку, в годовой налоговой декларации - подается по 31 декабря включительно следующего за отчетным налоговым года; документальное подтверждение таких расходов с указанием стоимости, в частности медицинский работник, как любой другой налогоплательщик, имеет право включить в налоговую скидку сумму средств, уплаченных им в пользу медицинских учреждений, в том числе для приобретения лекарств, донорских компонентов, протезно-ортопедических приспособлений, изделий медицинского назначения для индивидуального пользования инвалидов. В этом случае налоговая скидка является компенсацией стоимости платных услуг по лечению такого налогоплательщика или члена его семьи первой степени родства.

Налоговая скидка предоставляется на сумму средств, уплаченных налогоплательщиком, признанным в установленном порядке инвалидом, в пользу протезно-ортопедических предприятий, реабилитационных учреждений для компенсации стоимости соответствующих платных услуг. Скидка предоставляется такому налогоплательщику или его ребенку-инвалиду в размерах, которые не перекрываются выплатами из фондов общеобязательного государственного социального медицинского страхования. При этом отдельные расходы на косметическое лечение или косметическую хирургию; протезирование зубов с использованием драгоценных металлов, фарфора и гальваноластики; лечение венерических заболеваний; лечение табачной или алкогольной зависимости не включаются в налоговую скидку. Согласно ст. 166 Кодекса, налогоплательщик не имеет права включить в налоговую скидку расходы на приобретение лекарств, медицинских средств и приспособлений, оплату стоимости медицинских услуг, не являющимися жизненно необходимыми [8].

Необходимо акцентировать внимание на особенностях уплаты НДС медицинскими учреждениями, поскольку согласно ст. 185 Кодекса, операции по поставке ими услуг являются объектом обложения этим налогом [8]. Значимым вопросом является регистрация поставщика медицинских услуг как плательщика НДС, так как при этом следует учитывать совокупную стоимость предоставленных услуг [1]. В случае, если сумма операций, являющихся объектом налогообложения, превышает 1 млн. гривен за последние 12 месяцев, необходимо зарегистрироваться плательщиком налога. ГФС Украины в своем письме от 12.09.2016 № 19610/6/99-99-15-03-02-15 разъясняет, что к общему объему операций по поставке товаров (услуг) для целей регистрации лица как плательщика НДС относятся операции, подлежащие налогообложению по основной ставке НДС, ставке 7%, нулевой ставке НДС и освобожденные (условно освобожденные) от налогообложения НДС [5]. Аналогичную позицию занимает и Верховный Суд Украины при рассмотрении подобных вопросов.

Обычно ставка НДС устанавливается от базы налогообложения в размере 20%. Однако ст. 193 Кодекса предусмотрено, что операции по поставке и ввозу на таможенную территорию Украины лекарственных средств облагаются по ставке 7%. Нормой этой статьи определены условия применения именно этой ставки. Лекарственные средства должны быть разрешены для производства и применения в Украине; внесены в Государственный реестр лекарственных средств (медицинские изделия – в Государственный реестр медицинской техники и изделий медицинского назначения) или отвечать требованиям соответствующих технических регламентов, что подтверждается документом о соответствии; разрешены для предоставления на рынке и/или ввода в эксплуатацию и применения в Украине. Что касается лекарственных средств, медицинских изделий и медицинского оборудования, разрешенных для применения в рамках клинических испытаний, то условием применения ставки 7% является наличие разрешения Минздрава Украины на проведение испытаний (ст. 193 Кодекса) [8].

Однако сам Перечень медицинских изделий, операций по поставке и ввоза на таможенную территорию Украины, которые подлежат обложению НДС по ставке 7%, определенный в постановлении Кабинета Министров Украины от 03.09.2014 № 410 [9], является несовершенным, поскольку другие аналогичные товары, непредусмотренные этим Постановлением, облагаются налогом по ставке 20%. Перечень таких товаров требует пересмотра по четким критериям. Другой проблемой является введение в 2014 году ставки 7% на рассматриваемые операции, что стало одной из причин повышения цен на лекарственные средства и лекарственные изделия, которые стали недоступными для многих граждан (цены в Украине на некоторые из них выше, чем в соседних государствах, где также применяются пониженные ставки на эти товары). С целью снижения цены на лекарственные средства и изделия предлагаем уменьшить ставку НДС для таких операций с 7% до 0%, (т.е. освободить от налогообложения).

Значимым элементом механизма налогообложения сферы здравоохранения во многих государствах являются льготы. Например, в США почти все некоммерческие больницы освобождаются от уплаты федеральных, штатных и местных налогов [11]. Кроме того, предоставляются федеральные, государственные и местные налоговые субсидии на медицинскую помощь и медицинское страхование [12].

Относительно операций, которые освобождаются от налогообложения НДС, то их перечень определен подп. 197.1.5 п. 197.1 ст. 197 раздела V Кодекса, а именно: а) операции по поставке услуг по охране здоровья учреждениями здравоохранения (перечень учреждений здравоохранения утвержден приказом Минздрава от 28.10.2002 № 385); б) операции по поставке услуг реабилитационными учреждениями для инвалидов и детей-инвалидов, кроме услуг, определенных подпунктами «а» – «о» подп. 197.1.5 п. 197.1 ст. 197 раздела V Кодекса. Указанные субъекты должны иметь лицензию на поставку таких услуг в соответствии с законодательством. Однако содержание рассматриваемой нормы требует усовершенствования путем ограничения категорий лиц, которым предоставляются медицинские услуги. Требуют своего определения понятия «медицинское учреждение с обычным обслуживанием» и «медицинское учреждение с улучшенным сервисным обслуживанием» для более совершенного определения перечня медицинских услуг, которые освобождаются от налогообложения.

Таблица 1. Нарушение Министерством здравоохранения Украины законодательства о здравоохранении и лицензировании

Правонарушения	Выявленные факты
Ненадлежащий государственный надзор (контроль) за соблюдением требований Лицензионных условий осуществления хозяйственной деятельности в сфере медицинской практики	Плановые мероприятия проводились только в IV квартале 2016 г.; количество внеплановых мероприятий незначительно (в 2016 и 2017 гг. – 1, в январе-сентябре 2018г. – 8), в 100% проверенных заведений выявлены нарушения законодательства об охране здоровья
Необеспечение аннулирования лицензий на осуществление хозяйственной деятельности по медицинской практике в случае ее осуществления без соответствующей государственной регистрации и учета в налоговых органах; отсутствие создания и ведения реестра аккредитованных учреждений здравоохранения	Выявлено 884 субъекта хозяйствования, которые имели лицензию в течение рассматриваемого периода, несмотря на то, что по данным ГФС Украины прекратили деятельность к 1 января 2016 г.

примечание: показатели взяты из отчета Счетной палаты о результатах аудита эффективности и обоснованности применения налоговых льгот по налогу на добавленную стоимость по операциям по поставке услуг по охране здоровья

Таблица 2. Нарушение законодательства по применению налоговых льгот по НДС на операции по поставке услуг по охране здоровья ГФС Украины и медицинскими учреждениями – плательщиками налога

Необеспечение ГФС Украины надлежащего контроля за полнотой учет и правильностью определения налогоплательщиками примененных ими налоговых льгот по НДС при осуществлении операций по поставке медицинских услуг	Объемы недопоступлений налога в государственный бюджет в связи с применением налоговых льгот по указанным операциям составили более 4,6 млрд гривен (по материалам аудита на основании данных налоговых деклараций такая сумма составляет 63 млрд гривен)
Искажение данных об объемах налоговых льгот ГФС Украины	Выявлено 78 случаев относительно 65 плательщиков, у которых суммы полученных льгот существенно отличались от декларированных сумм, полученных по НДС; 4 случая декларирования налогоплательщиками полученных льгот на сумму 10 млн гривен по другим кодам налоговых льгот
Неприменение органами ГФС Украины в течение 2017 г. штрафных санкций к налогоплательщикам за непредоставление или несвоевременное предоставление отчетов о полученных налоговых льготах	Территориальные органы ГФС Украины в 2017 г. должны были применить штрафные санкции примерно к 2640 налогоплательщикам, однако их применено лишь к 474 (18%) налогоплательщикам
Необоснованное применение физическими лицами-предпринимателями, которые не принадлежали к учреждениям здравоохранения и реабилитационным учреждениям, льгот по налогу	Выявлены три физических лица-предпринимателя, которым необоснованно применена льгота в сумме более 4,5 млн гривен
Неправомерное декларирование медицинскими учреждениями – плательщиками НДС отрицательного значения разницы между суммой налоговых обязательств и суммой налогового кредита текущего отчетного периода	Сформированы суммы НДС к возмещению (перенос налогового кредита) на следующие отчетные периоды на общую сумму 108,6 млн гривен
Неподача отчетности плательщиками в налоговые органы о полученных суммах налоговых льгот	В 2015 г. не отчитывалось около 65% плательщиков, в 2016-2017 гг. – около 50%

примечание: показатели взяты из отчета Счетной палаты о результатах аудита эффективности и обоснованности применения налоговых льгот по НДС по операциям по поставке услуг по охране здоровья

Другой особенностью уплаты НДС, согласно Кодексу, является то, что учреждение здравоохранения, поставляющее медицинские услуги (в случае отсутствия права на применение режима освобождения от обложения этим налогом), определяет налоговые обязательства по НДС с учетом договорной стоимости услуг по охране здоровья. Если операция по поставке услуги по охране здоровья освобождается от налогообложения, то учреждение здравоохранения, которое предоставляет такие услуги, не определяет налоговые обязательства по НДС, однако обязано составить и зарегистрировать налоговую накладную по такой операции в Едином реестре налоговых накладных. Указанное касается и

порядка налогообложения НДС операций по снабжению застрахованному лицу услуг по охране здоровья, оплата за которые осуществляется страховой компанией, о чем указано в индивидуальной налоговой консультации ГФС Украины 13.08.2018 № 3524/6/99-99-15-03-02-15/ИПК [3].

Однако существует множество проблем относительно применения льгот по НДС. Они стали предметом аудита эффективности и обоснованности применения налоговых льгот по НДС касательно операций по поставке услуг по охране здоровья, утвержденного решением Счетной палаты от 19.03.2019 № 6-5 (далее – Отчет) [2, с. 7]. Счетной палатой проанализированы нарушения Минздравом законодатель-

ства о здравоохранении и лицензировании за период с 2016 г. по сентябрь 2018 г., которые отображены в таблице 1.

Одной из причин указанных нарушений является несовершенное законодательство о лицензировании деятельности в сфере здравоохранения и контроле за деятельностью учреждений здравоохранения. Поэтому целесообразно пересмотреть нормы об ответственности Минздрава за ненадлежащее выполнение надзорных и контрольных функций в этой сфере в сторону их усиления.

Кроме Минздрава, контроль за применением налоговых льгот по НДС по операциям по поставке услуг по охране здоровья должны осуществлять ГФС Украины и медицинские учреждения – плательщики налога. Счетная палата в своем Отчете проанализировала состояние выполнения указанными субъектами полномочий в этой сфере. Данные представлены в таблице 2.

Отмечаются случаи, когда органы ГФС Украины во время проведения проверок неправомерно начисляют медицинским учреждениям НДС и штрафные санкции, о чем свидетельствует имеющаяся судебная практика по обжалованию результатов таких проверок. Примером может быть Постановление Одесского апелляционного административного суда от 26.07.2018 г. по делу № 815/263/18 [10].

Причинами указанных правонарушений являются несогласованные и несовершенные нормы, регулирующие вопросы применения налоговых льгот по НДС на операции по поставке медицинских услуг. В Украине не создана эффективная система контроля за соблюдением законодательства субъектами хозяйствования, которые производят, импортируют и осуществляют торговлю лекарственными средствами и медицинскими изделиями и незаконно пользуются налоговыми льготами по НДС. Не принято также нормативного акта, который бы определял алгоритм расчета сумм налоговых льгот по операциям на поставку лекарственных средств и медицинских изделий, облагаемых по ставке 7%. Проблема заключается в том, что на основании только данных налоговых деклараций осуществить точные расчеты недопоступлений от налоговых льгот невозможно, поскольку для осуществления операций, облагаемых НДС по ставке 7%, плательщиками НДС могут приобретаться товары или услуги, которые облагаются налогом как по ставке 7%, так и по ставке 20%.

Отмечаются нарушения законодательства при налогообложении НДС операций по уценке лекарственных средств и начисления налоговых обязательств по этому налогу, если такие лекарственные средства подлежат списыванию и утилизации в связи с истечением срока их годности. Поэтому следует внести изменения в п. 198.5 ст. 198 раздела V, руководствуясь положениями индивидуальной налоговой консультации ГФС Украины от 06.09.2019 № 63/6/99-00-04-07-03-15/ПК. Суть таких изменений должна заключаться в принятии нормы о том, что такие лекарственные средства приобретают статус «отходов» и товаров, которые начинают использоваться в операции, не являющейся хозяйственной деятельностью налогоплательщика. При этом у такого налогоплательщика возникает обязанность по начислению налоговых обязательств по НДС по такой операции [4].

Выводы. Проведенный анализ особенностей налогообложения операций по поставке услуг по охране здоровья свидетельствует, что они обусловлены как статусом учреждения здравоохранения как налогоплательщика, так и характером, содержанием и объемом операций по поставке услуг по охране здоровья. Ввиду существования отдельных

проблем, механизм налогообложения операций по поставке медицинских услуг в Украине нуждается в совершенствовании. С целью надлежащего регулирования налогообложения операций по поставке услуг по охране здоровья предложено пересмотреть нормы: о ставках НДС; о перечне лиц, которым предоставляются медицинские услуги учреждениями здравоохранения, освобожденными от налогообложения; об операциях по поставке лекарственных средств и медицинских изделий, облагаемых по ставке 7%. Выявлена необходимость усовершенствовать на законодательном уровне нормы лицензирования деятельности в сфере здравоохранения и контроля за деятельностью медицинских учреждений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брагинський П. Про необхідність реєстрації платником ПДВ надавачів медичних послуг. Проект USAID «Реформа ВІЛ-послуг у дії». URL: <https://healthreform.in.ua/3969-2/>. 2018.
2. Звіт про результати аудиту ефективності та обґрунтованості застосування податкових пільг з податку на додану вартість за операціями з постачання послуг з охорони здоров'я: затверджено рішенням Рахункової палати від 19.03.2019 № 6-5. Київ, 2019. URL: https://rp.gov.ua/upload-files/Activity/Collegium/2019/6-5_2019/Zvit_6-5_2019.pdf.
3. Індивідуальна податкова консультація Державної фіскальної служби України від 13.08.2018 № 3524/6/99-99-15-03-02-15/ПК. Бухгалтер 911. URL: <https://buhgalter911.com/normativnaya-baza/pisma/gfsu/schodo-podatkovogo-obliku-1044780.html>.
4. Індивідуальна податкова консультація Державної фіскальної служби України від 06.09.2019 № 63/6/99-00-04-07-03-15/ПК. Бухгалтер 911. URL: <https://buhgalter911.com/normativnaya-baza/pisma/gfsu/schodo-poryadku-opodatkovannya-1045462.html>.
5. Лист Державної фіскальної служби України від 12.09.2016 № 19610/6/99-99-15-03-02-15. URL: <http://sfs.gov.ua/baneryi/podatkovyi-konsultatsii/konsultatsii-dlya-yuridichnih-osib/69858.html>.
6. Методичні рекомендації Міністерства охорони здоров'я України з питань перетворення закладів охорони здоров'я з бюджетних установ у комунальні некомерційні підприємства від 14.02.2018 р. С. 40–44. URL: https://moz.gov.ua/uploads/0/3562-moz_metod_recomendations_automationization_2018_ua_final_web.pdf.
7. Онищенко В. Оподаткування у медзакладах після перетворення у комунальні некомерційні підприємства. Головбуху 08.10.2018. URL: <https://www.golovbukh.ua/article/7432-opodatkovannya-u-medzakladah-pslyaperetvorennya-u-komunaln-nekomertsyn-pdprimstva>.
8. Податковий кодекс України: Закон України від 02.12.2010 № 2755-VI. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2755-17>.
9. Про затвердження переліку медичних виробів, операції з постачання на митній території України та ввезення на митну територію України яких підлягають обкладенню податком на додану вартість за ставкою 7 відсотків: постановва Кабінету Міністрів України від 03.09.2014 № 410. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/410-2014-%D0%BF>.
10. Середа А. Оподаткування медичних клінік, закладів охорони здоров'я та приватних лікарів: ПДВ, прибуток, судово практика. allTax. 2019; URL: <http://alltax.ua/pres-tsentr/publikatsii/380-opodatkovannya-medichnikh-kllinik-zakladiv>

okhorono-zdorov-ya-ta-privatnikh-likariv-pdv-pributok-sudova-praktika.

11. Daniel B. Rubin, Simone R. Singh, and Gary J. Young. Tax-Exempt Hospitals and Community Benefit: New Directions in Policy and Practice. *Annu. Rev. Public Health* 2015. 36. Pp. 545–557.

12. Himmelstein DU, Woolhandler S. The Current and Projected Taxpayer Shares of US Health Costs. *Am J Public Health*. 2016. 106(3). Pp. 449–452.

13. Saltman RB. Structural effects of the information revolution on tax-funded European health systems and some potential policy responses. *Isr J Health Policy Res*. 2019 Jan 9;8(1):8.

SUMMARY

SPECIFIC FEATURES OF TAXATION IN UKRAINE FOR OPERATIONS ON THE SUPPLY OF HEALTH CARE SERVICES

¹Sarana S., ¹Fast O., ²Sydorenko V., ³Oliinyk O., ⁴Lytvyn N.

¹*Institute of Law and Public Relations of the Open International University of Human Development «Ukraine», Kyiv;*

²*Bila Tserkva Institute for Economics and Management Open International University of Human Development «Ukraine»;*

³*Mykolaiv Interregional Institute of Human Development of «University «Ukraine»;* ⁴*University of the State Fiscal Service of Ukraine, Irpin, Ukraine*

The aim of the article is to study specific features of taxation of operations for the supply of health care services in Ukraine, to identify the problems in the taxation of such operations and to determine certain solutions.

To achieve this aim, the authors have used theoretical and empirical methods of cognition, namely: methods of analysis, synthesis, generalization, systematization, as well as comparative and legal method while analyzing the effectiveness and validity of applying VAT tax advantages in the health care sector.

The authors of the article have identified and characterized specific features of taxation of operations for the supply of health care services in Ukraine. It has been indicated that these specific features are due to the different status of medical institutions as tax payers and the volume of operations for the supply of health care services by them. It has been established that

the provision of tax advantages for operations on the supply of health care services, including VAT, depends on the nature and content of health care services.

The expediency of improving the taxation mechanism operating in Ukraine for operations on the supply of health care services has been substantiated. It has been concluded that it is necessary to revise the provisions of the Tax Code of Ukraine on VAT rates; the list of persons, who are subjects of health care services by healthcare institutions exempted from taxation; on operations for the supply of medicinal products and medical devices taxable at the rate of 7%, etc.

Keywords: health care sector, health care services, taxation of operations for the supply of health care services, value added tax, tax advantages.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЕННОСТИ НАЛОГООБЛОЖЕНИЯ ОПЕРАЦИЙ ПО ОКАЗАНИЮ УСЛУГ ПО ОХРАНЕ ЗДОРОВЬЯ В УКРАИНЕ

¹Сарана С.В., ¹Фаст А.А., ²Сидоренко В.В., ³Олейник О.А., ⁴Литвин Н.А.

¹*Институт права и общественных отношений Открытого международного университета развития человека «Украина», Киев;*

²*Белоцерковский институт экономики и управления Открытого международного университета развития человека «Украина»;*

³*Николаевский межрегиональный институт развития человека университета «Украина»;* ⁴*Университет государственной фискальной службы Украины, Ирпень, Украина*

Цель исследования заключается в определении особенностей налогообложения операций по поставке медицинских услуг в Украине, выявлении проблем в налогообложении таких операций, путей их решения, а также специфики уплаты налогов отдельными категориями медицинских учреждений; установление недостатков механизма налогообложения и разработка путей их совершенствования.

Для достижения поставленной цели использованы теоретические и эмпирические методы познания, в частности: методы анализа, синтеза, обобщения, систематизации, а также сравнительно-правовой метод для анализа эффективности и обоснованности применения налоговых льгот по НДС в сфере здравоохранения.

Авторами статьи выявлены и охарактеризованы особенности налогообложения операций по поставке медицинских

услуг в Украине. Указано, что эти особенности обусловлены различным статусом медицинских учреждений в качестве плательщиков налогов и объемом операций по поставке ими медицинских услуг. Установлено, что предоставление льгот по налогообложению операций по поставке медицинских услуг, в том числе по НДС, зависит от характера и содержания медицинских услуг.

Обоснована целесообразность совершенствования действующего в Украине механизма налогообложения операций по поставке медицинских услуг. Авторами делается вывод о необходимости пересмотра положений Налогового кодекса Украины о ставках НДС; перечне лиц, которым предоставляются медицинские услуги учреждениями здравоохранения, освобожденными от налогообложения; операциях по поставке лекарственных средств и медицинских изделий, облагаемых по ставке 7%.

რეზიუმე

სამედიცინო მომსახურების მიწოდების დაბეგრვის თავისებურებანი უკრაინაში

¹ს.სარანა, ¹ა.ფასტი, ¹ვ.სიდორენკო, ¹ო.ოლეინიკი, ²ნ.დლიტვინი

¹ადამიანის განვითარების ღია საერთაშორისო უნივერსიტეტი “უკრაინა”, კიევი; ²ადამიანის განვითარების ღია საერთაშორისო უნივერსიტეტი “უკრაინა”, ეკონომიკის და მართვის ბელოცერკოვსკის ინსტიტუტი; ³ნიკოლაევის ადამიანის განვითარების ინსტიტუტი, ღია საერთაშორისო უნივერსიტეტი “უკრაინა”; ⁴უკრაინის სახელმწიფო ფისკალური სამსახურის უნივერსიტეტი, უკრაინა

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სამედიცინო მომსახურების მიწოდების დაბეგრვის თავისებურებების შესწავლა უკრაინაში.

კვლევის პროცესში გამოყენებული იყო შემეცნების თეორიული და ემპირიული მეთოდები, კერძოდ, ანალიზი, სინთეზი, განზოგადება, სისტემატიზაცია, ასევე, შედარებითი იურიდიული მეთოდები.

სტატიის ავტორების მიერ დადგენილია სამედიცინო მომსახურების მიწოდებისათვის დაბეგრვის თავისებურებანი უკრაინაში, რომლებიც განპირობებულია სამედიცინო დაწესებულებების სხვადასხვა სტატუსით. გამოვლენილია, რომ შეღავათების დადგენა დამოკიდებულია სამედიცინო მომსახურების სახეობაზე, მოცულობაზე და შინაარსზე. დასაბუთებულია არსებული დაბეგრვის სისტემის სრულყოფის აუცილებლობა.

ავტორების მიერ გამოტანილია დასკვნა უკრაინაში არსებული დაბეგრვის კოდექსის გადახედვის აუცილებლობის შესახებ და იმ პირობის დაზუსტება, რომელთა სამედიცინო მომსახურების უზრუნველყოფას ახორციელებს დაბეგრვისაგან განთავისუფლებული სამედიცინო დაწესებულებები.

КОСМЕТОЛОГИЧЕСКИЕ УСЛУГИ: СРАВНИТЕЛЬНО-ПРАВОВОЙ АНАЛИЗ

¹Чеховская И.В., ²Мичурин Е.А., ³Самсин И.Л., ⁴Избаш Е.С., ⁵Дундич Л.В.

¹Университет государственной фискальной службы Украины; ²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина; ³Хмельницкий университет управления и права им. Л. Юзькова;

⁴Одесский государственный университет внутренних дел;

⁵Одесский государственный университет внутренних дел, Херсонский факультет, Украина

В настоящее время рынок косметологических услуг стремительно развивается, охватывая почти все слои населения. Если до недавнего времени косметологическими услугами пользовалось преимущественно женское население, то сегодня такими услугами пользуются мужчины и подростки [24]. Спектр косметологических услуг быстрыми темпами развивается, с приоритетом регенеративной, лазерной, пластической косметологии [3].

В настоящее время страны ЕС являются одним из крупнейших косметологических рынков в мире, а по данным Бюро труда и статистики США прогноз роста количества клиентов в этой сфере расти и в 2016-2026 гг. этот прирост составит 10% [15]. В Украине такие статистические данные, как и данные по осложнениям, возникшим после получения косметологических услуг, отсутствуют. Украинское законодательство, регламентирующее порядок предоставления косметологических услуг «устарело» и не отвечает требованиям стремительно развивающейся отрасли. Вышеизложенное диктует необходимость разработки и внедрения документации об установлении регламентирующего порядка в предоставлении и контроле косметологических услуг во избежание распространения опасных болезней, в том числе инфекционных. Проведенное исследование маникюрных салонов и парикмахерских в Нью-Джерси (США) специ-

алистами Школы общественного здравоохранения Rutgers позволило определить потенциальные риски для клиентов, которые пользуются услугами маникюрных салонов и парикмахерских в виде аллергических реакций, дерматита, различных грибков, включая вирусы гепатита В и С. В исследовании, проведенном в 2018 году в Chemical Health & Safety обнаружена связь между заболеваниями работников маникюрных салонов и использованием на рабочем месте химических веществ [29]. Международная организация труда указывает, что 30% химических веществ, используемых поставщиками косметологических услуг, квалифицируются как токсичные [17].

Указанный факт доказывает целесообразность направления политики государства на создание безопасных условий труда для работников косметологической отрасли, минимизацию заболеваний потребителей косметологических услуг, в том числе, путем внедрения положительного международного опыта правового регулирования рынка косметологических услуг и совершенствования собственного законодательства в этой сфере.

Цель исследования - комплексный анализ и определение основных тенденций правового регулирования сферы предоставления косметологических услуг в странах ЕС, США, Канаде.

Основная задача статьи – выявить и обобщить положительный опыт правового регулирования рынка косметологических услуг и сформулировать предложения с целью их внедрения в Украине.

Материал и методы. В ходе исследования использовались теоретические (анализ, синтез, обобщение, систематизация) и эмпирические (наблюдение, классификация) методы. Проведен анализ международного законодательства в сфере урегулирования косметологических услуг по таким направлениям, как наличие законодательства, регулирующего рынок косметической продукции, образовательные (квалификационные) требования к поставщикам косметологических услуг, требования к лицензированию этой деятельности, юридическая ответственность. Систематизация и обобщение положительного международного опыта правового регулирования косметологических услуг. Применение указанных методов позволит аргументировать сделанные выводы и сформулировать направления по совершенствованию отечественного законодательства.

Результаты и их обсуждение. В течение длительного времени деятельность по предоставлению услуг в сфере косметологии приобрела значительные масштабы, что, в основном, связано со значительным спросом на косметологические услуги и увеличением числа заведений (салонов красоты), которые предоставляют услуги в сфере косметологии, начиная с нанесения обычных масок и заканчивая различными инъекциями и пластическими операциями. Однако четкий перечень косметологических услуг и стандартов их оказания в украинском законодательстве отсутствует. По сей день также не разработана юридическая природа косметологических услуг, тогда как законодательство США (штаты Канзас, Флорида, Пенсильвания) и других стран содержит четкий перечень услуг, которые может оказывать косметолог и санкции за нарушение работниками косметологических салонов своих профессиональных обязанностей [19,20,26]. Согласно положениям Закона об экспертизе и регистрации косметологов и салонов красоты штата Канзас [26] любые услуги, предоставляемые в сфере косметологии требуют от косметолога специального образования и лицензии. Для работы в сфере косметологии лицу необходимо получить лицензию в аккредитованном учреждении. Для поступления и окончания таких заведений обычно требуется более тысячи часов практики и сдача экзамена. Базовые курсы часто дополняются обучением в сфере эстетики и других специализированных отраслях.

На практике большой популярностью пользуются специализированные лицензии на предоставление косметологических услуг, в которых четко определены предоставляемые косметологами услуги. В случае изменения места жительства (переезда из одного штата в другой) владелец лицензии должен подтвердить ее путем подачи заявки на продолжение практики или сдачи дополнительных экзаменов или реализовать дополнительные часы на обучение [30].

В США врачи не занимаются предоставлением косметологических услуг, поскольку это для них экономически невыгодно. Дерматологи выполняют свои непосредственные обязанности: лечат больных с патологиями кожи и ее производных. Пластические хирурги проводят операции с учетом специфики их деятельности и осуществляют введение инъекционных моделирующих лекарственных средств. Другие направления называются прикладной эстетикой, в сфере которой работают лица, имеющие специальное (не медицинское) образование и лицензию.

Европейская школа под косметологией понимает отдельную науку, смежную с медициной, специалисты которой должны действовать на условиях сотрудничества с врачами различных специальностей, в том числе дерматологами, однако могут не быть врачами. Основное направление современной европейской косметологии – это профилактика и коррекция косметических недостатков кожи и ее производных [6].

Украинский рынок косметологических услуг условно разделен на эстетические услуги, которые салоны красоты вправе предоставлять без лицензии, и медицинские (косметические, косметологические), которые возможно предоставлять лицам с соответствующей лицензией. Исходя из этого правила, следует руководствоваться Национальным классификатором видов экономической деятельности [8] и Государственным классификатором продукции и услуг [1]. В этих нормативно-правовых документах имеются разделы 86 «Здравоохранение» и 96 «Прочие индивидуальные услуги». Класс 96.02 классификатора ДК 009: 2010 «Услуги парикмахерских и салонов красоты» включает: мытье волос, подравнивание и стрижку, окрашивание, тонирование, завивку, выпрямление волос и подобные виды услуг, предоставляемых мужчинам и женщинам; бритье, подравнивание бороды; массаж лица, маникюр, педикюр, макияж.

В Государственном классификаторе продукции и услуг имеется раздел 96.02.1 «Услуги парикмахерские и другие услуги по уходу за внешностью», в котором выделены парикмахерские услуги для женщин и девочек; парикмахерские услуги для мужчин и мальчиков; косметические, маникюрные и педикюрные услуги; услуги по уходу за внешностью, услуги поверхностного пилинга и т.д. Перечисленные процедуры украинский законодатель не относит к медицинским и считает эстетическими услугами, которые салон красоты может оказывать без лицензии.

В Национальном классификаторе видов экономической деятельности [8] в классе 86.22 выделен класс «Специализированная медицинская практика», предусматривающий медицинское консультирование и лечение в области специальной медицины врачами-специалистами и хирургами. Итак, к медицинским услугам относятся процедуры, связанные с введением веществ в полость организма различными способами (инъекции, естественные пути), предусматривающие повреждения кожного покрова и слизистой оболочки, требующие применения медицинского оборудования и инструментов. Перечень таких процедур разнообразен. К ним относятся все виды пластических операций, аппаратная косметология, мезотерапия, инъекции ботокса и силикона, эпиляция, пилинг, липосакция, гидроколлотерапия и др. Эти процедуры, согласно требованиям соответствующей документации, должны проводиться лицами с медицинским образованием и при наличии соответствующей лицензии.

Наиболее рискованным в Украине является рынок эстетических услуг, поскольку такая деятельность не подлежит лицензированию и, как правило, осуществляется субъектами, осуществляющими хозяйственную деятельность по предоставлению бытовых услуг населению без соответствующего образования. Проведено интервьюирование более 200 сотрудников косметологических учреждений различных регионов Украины, в результате установлено, что на сегодня в сфере косметологии работают все желающие независимо от профильного образования. 38% респондентов имеют медицинское образование (15% из них закончили высшие медицинские учреждения). 19% респондентов об-

разование и квалификацию провизора общего профиля или провизора-косметолога. Остальные – 37,5% респондентов – закончили технические, экономические, педагогические, авиационные, автодорожные, инженерно-строительные, физкультурные и другие высшие учебные заведения и после получения основной профессии занимаются практической косметологией, закончив соответствующие курсы. 5,5% респондентов работают в косметологических учреждениях после окончания средней школы, пройдя подготовку на курсах по косметологии. Очевидно, что подобное разнообразие образовательного уровня сотрудников косметологических учреждений негативно сказывается на их профессионализме и квалификации. Именно недостаток квалифицированного персонала является одной из основных проблем в сфере косметологии, что связано с отсутствием единых государственных образовательных стандартов подготовки кадров в этой сфере и является следствием отсутствия законодательной базы, регламентирующей деятельность косметологических учреждений.

Следует отметить, что согласно Справочнику квалификационных характеристик профессий работников, утвержденных приказом Министерства здравоохранения Украины от 29.03.2002 № 117 [2] среди профессионалов в сфере косметологии профессии «косметолог» – не имеется. Нормативно такая профессия закреплена как «провизор-косметолог». Вместе с тем, в соответствии с классификатором профессий ДК 003: 2005 [9] в Украине есть такая профессия, как «косметик» (№ 5141.2). В этом случае речь идет о специалисте, занимающимся искусственным добавлением красоты лицу, телу, поддержанием их здорового состояния, свежести.

Сегодня в косметологических учреждениях работают специалисты различных квалификационных и образовательных уровней, которые, как правило, прошли дополнительное обучение на краткосрочных курсах по косметологии. Закончив такие курсы обучения лицо получает профессию, которая является не легитимной на государственном уровне, так как в разных сертификатах, дипломах, удостоверениях, выданных после прохождения такого обучения, указываются профессии, которых нет в Классификаторе профессий Украины [9].

Действующее украинское законодательство, регламентирующее порядок предоставления косметологических услуг в Украине, не соответствует современным требованиям в области косметологии, поскольку было принято в 1982 году [10] и предусматривает предоставление лечебно-диагностических, консультативных услуг по вопросам заболеваний кожи и косметических дефектов кожи врачом дерматовенерологом косметологического кабинета и предоставление косметических процедур только медицинской сестрой, имеющей специальную подготовку по проведению косметических процедур, перечень которых четко определен в Приказе [10]. Следовательно, деятельность других лиц на рынке косметологических услуг является незаконной. Учитывая, что для предоставления косметологических услуг необходимы различные знания о действии биологических веществ и правильное определение спектра косметологических процедур в зависимости от состояния здоровья человека, особых показателей состояния кожи. логичным представляется вывод, что косметологические услуги и помощь населению может оказывать «провизор- косметолог», как лицо, имеющее диплом государственного образца, и срок образования не менее 5 лет, понимающее каким образом может повлиять тот или иной препарат на индивидуальные характеристи-

ки внешности и здоровье лица. Что касается косметика (то есть лица, закончившего краткосрочные курсы, имеющие коммерческую основу), то считаем, что такое лицо не может оказывать косметологические услуги.

Особого внимания заслуживает косметическая продукция, используемая в косметологической индустрии. В странах ЕС в 2004 г. принята Директива Basic Cosmetics [21], содержащая списки запрещенных веществ, на использование которых распространяются правовые ограничения. Директива и приложения к ней содержат информацию относительно красителей, консервантов, ультрафиолетовых фильтров, использование которых запрещено в косметических средствах.

Директивы в сфере косметологии направлены на защиту лиц, постоянно имеющих контакт с такими продуктами. Например, средства для перманентного окрашивания волос могут вызвать у парикмахеров дерматологические проблемы. В связи с этим, европейские правила предусматривают специальную маркировку с указанием мер, которые должны быть приняты при хранении и использовании продуктов, предназначенных для парикмахеров.

Косметическое регулирование в Канаде проводится посредством программы Health Canada Cosmetics. Основой для правового регулирования косметической программы является "Закон о пищевых продуктах и лекарственных средствах", а также косметические правила. Косметическая программа Health Canada Cosmetics защищает здоровье канадцев путем минимизации использования вредных веществ, используемых в косметике. Программа определяет требования к производству, маркировке, распределению и продаже косметики [28].

В Украине отсутствует специальное законодательство, направленное на регулирование рынка косметической продукции. Поэтому работники косметологической индустрии часто используют дешевую косметическую продукцию, содержащую токсические вещества [12,14].

С правовой точки зрения деятельность по предоставлению косметологических услуг является потенциально конфликтной. В связи с этим сложилась устойчивая судебная практика исков клиента к косметологу [11]. Однако отсутствие договора о предоставлении косметологических услуг затрудняет процесс привлечения виновных к ответственности [4]. Юридически предоставление косметологических услуг можно урегулировать посредством заключения договора о предоставлении услуг, нормативно закрепленного в Гражданском кодексе Украины (ст. 901) [13]. К предмету такого договора следует отнести деятельность (действие), направленную на косметологическое вмешательство, а также на эстетический результат от такой деятельности (действия). Возникает логичный вопрос: что необходимо считать эстетическим результатом? Ведь представление о красоте достаточно субъективно и не всегда результат от получаемой косметологической услуги соответствует требованиям клиента. Согласно положениям Гражданского кодекса Украины, ответственность за предоставление услуг можно нести только при наличии вины косметолога и в этой ситуации непонятно, каким образом необходимо установить причинно-следственную связь. Значимым для обеих сторон является вопрос ответственности за предоставление неэффективных и малоэффективных косметологических услуг. Однако определить уровень эффективности таких услуг невозможно, поскольку в законодательстве данный вопрос не урегулирован.

Не менее значимым для законодателя является наличие лицензии и соответствующего образования поставщиков косметологических услуг. В случае предоставления косметологических услуг без лицензии или после завершения срока ее действия, законодательство США предусматривает имущественную и административную ответственность [18,25,27]. Например, в штате Огайо (США) за занятие косметологической деятельностью без лицензии установлено наказание в виде штрафа: первое правонарушение – 200 долларов; второе правонарушение – 250 долларов; третье правонарушение – 500 долларов [25]. Украинский законодатель в ст. 164 Кодекса Украины об административных правонарушениях [5] предлагает наложение штрафа от одной до двух тысяч необлагаемых минимумов доходов граждан (от 17 000 до 34 000 грн.), т.е. от 65 до 135 долларов. За незаконную лечебную деятельность украинским законодателем предусмотрена уголовная ответственность (ст. 138 Уголовного кодекса Украины) [7]. Уголовная ответственность за незаконную лечебную деятельность предусмотрена и законодательством США [16], Канады [22], Европейских стран [23,31].

Выводы. Проведенный анализ международного опыта правового регулирования косметологических услуг свидетельствует, что в подавляющем большинстве стран есть специальное законодательство, регулирующее рынок косметической продукции и деятельность косметологических заведений. Обязательным требованием к лицам, предоставляющим косметологические услуги, является наличие специального образования и лицензии на конкретный вид косметологических услуг. За нарушение законодательства о предоставлении косметологических услуг предусмотрены конкретные санкции.

С целью усовершенствования законодательства Украины, регулирующего косметологическую индустрию, следует: а) разработать специальное законодательство, направленное на регулирование рынка косметологических услуг; б) принять государственную программу, определяющую требования к производству, маркировке, распределению и продаже косметики; в) утвердить единые государственные образовательные стандарты подготовки кадров для косметологической сферы; г) установить четкие требования и стандарты, гарантирующие безопасность предоставления косметологических услуг и способствующие минимизации негативных последствий для здоровья; д) предусмотреть конкретные санкции за нарушение законодательства о предоставлении косметологических услуг. Введение вышеуказанных мер обеспечит безопасность предоставления косметологических услуг и будет способствовать минимизации негативных последствий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Державний класифікатор продукції та послуг ДК 016:2010 [Internet]. 2019 [cited 2019 Oct 28]. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v457a609-10>.
2. Довідник кваліфікаційних характеристик професій працівників. Вип. 78 Охорона здоров'я [Internet]. [cited 2019 Oct 28]. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/va117282-02>.
3. Косметология – как неотъемлемая часть нашей жизни: что нам готовы предложить? [Internet]. 2019 [cited 2019 Oct 28]. Available from: <https://news.rambler.ru/diy/39251520-kosmetologiya-kak-neotemlemaya-chast-nashey-zhizni-cto-nam-gotovy-predlozhit/>.
4. «Косметология» в законе [Internet]. 2019 [cited 2019 Oct 28]. Available from: https://protocol.ua/ua/kosmetologichni_posluzhi_varto_chi_ni/.
5. Кодекс України про адміністративні правопорушення. Відомості Верховної Ради Української РСР. 1984, додаток до № 51, ст. 1122 [cited 2019 Oct 28]. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/80731-10>.
6. Кран О.С., Посилкіна О.В., Башура О.Г., Пересадыко І.Г. Моніторинг ринку праці в галузі практичної косметології в Україні. Управління, економіка та забезпечення якості в фармації, № 3 (5). 2009. С. 49–57.
7. Кримінальний кодекс України. Відомості Верховної Ради України (ВВР), 2001, № 25-26, ст. 131 [cited 2019 Oct 28]. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2341-14>.
8. Національний класифікатор видів економічної діяльності ДК 009:2010 [Internet]. 2019 [cited 2019 Oct 28]. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/vb457609-10>.
9. Національний класифікатор України. Класифікатор професій ДК 003:2005 [Internet]. [cited 2019 Oct 28]. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/ru/vb375609-05>.
10. О мерах по улучшению косметологической помощи населению: Приказ Министерства здравоохранения СССР от 28.12.1982 № 1290. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/v1290400-82>.
11. Питання законності надання салонами краси медичних процедур без ліцензії та відповідної медичної освіти [Internet]. 2018 [cited 2019 Oct 28]. Available from: <https://zkk-lviv.com.ua/blog/pitannya-zakonnosti-nadannya-salonami-krasi-medichnix-procedur-bez-licenzi%D1%97-ta-vidpovidno%D1%97-medichno%D1%97-osviti/>.
12. Список небезпечних речовин у кремах, зубній пасті і шампунях [Internet]. [cited 2019 Oct 28]. Available from: <https://www.unian.ua/health/country/242062-spisok-nebezpechnih-rechovin-u-kremah-zubniy-pasti-i-shampunyah.html>.
13. Цивільний кодекс України. Відомості Верховної Ради України, 2003, № 40-44, ст. 356 [cited 2019 Oct 28]. Available from: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/435-15>.
14. Шкідливі речовини, що їх містить сучасна косметика [Internet]. [cited 2019 Oct 28]. Available from: <https://www.epochtimes.com.ua/health/krasa-i-zdorovya/shkidlivirechovini-shcho-yikh-mistit-suchasna-kosmetika-114905.html>.
15. A-Z of Cosmetology and its Future in Asia and Europe. Available from: <https://dermameet.episirus.org/a-z-of-cosmetology-and-its-future-in-asia-and-europe/>.
16. A Roadmap for New Physicians Fraud & Abuse Laws. Available from: <https://oig.hhs.gov/compliance/physician-education/01laws.asp>.
17. Beauty and Its Beast Fact Sheet Unmasking the Impacts of Toxic Chemicals on Salon Workers. Available from: <https://www.womensvoices.org/safe-salons/beauty-and-its-beast/beauty-and-its-beast-fact-sheet/>.
18. Bentley v. Bureau of Professional and Occupational Affairs State Board of Cosmetology. Available from: <https://caselaw.findlaw.com/pa-commonwealth-court/1890642.html>.
19. Board of Cosmetology Chapter 477, Florida Statutes Chapter 61G5, Florida Administrative Code Sections of Chapter 455, Florida Statutes Chapter 61, Florida Administrative Code Updated on July 9, 2019. Available from: http://www.myfloridalicense.com/dbpr/pro/cosmo/documents/printable_cosmetology_lawbook.pdf.
20. Cosmetology Law Act of May 3, 1933 P.L. 242, No. 86, CL. 63. Commonwealth of Pennsylvania State Board of Cosmetology Printed in February 2015. Available from: <https://www.dos>.

pa.gov/ProfessionalLicensing/BoardsCommissions/Cosmetology/Documents/Board%20Documents/COSMETOLOGY%20LAW.pdf.

21. Cosmetics Europe: Cosmetics Directive 76/768/EEC Explanatory Brochure. Available from: https://cosmeticseurope.eu/files/4114/6400/4203/The_European_Union_Cosmetics_Directive_Explanatory_Brochure_2004.pdf.

22. Criminal Code. 1985. Available from: <https://laws-lois.justice.gc.ca/eng/acts/c-46/fulltext.html>.

23. German Criminal Code. 1998. Available from: https://www.gesetze-im-internet.de/englisch_stgb/englisch_stgb.html.

24. Kaw, Eugenia The Medicalization of Racial Features: Asian – American Women and Cosmetic Surgery The Politics of Women's Bodies: Sexuality, Appearance and Behavior. Ed. Rose Weitz. New York: Oxford University Press, 2003. pg. 184.

25. Ohio State Board of Cosmetology – Ohio Administrative Rules. Available from: <https://ohiosalonassociation.com/advocacy/rules/>

26. Statutes and Regulations relating to Cosmetology, Nail Technology, Esthetics, and Electrology. Laws Relating to the Examination and Registration of Cosmetologists and Beauty Shops. Available from: <http://www.kansas.gov/kboc/StatsandRegs.htm#65-1901>.

27. Schedule of civil penalties – cosmetologists, nail technicians, estheticians, natural hair braiders, salons. Available from: <https://www.pacode.com/secure/data/049/chapter43b/s43b.5.html>.

28. Ten important cosmetics regulations in Canada for manufacturers. Available from: <https://www.swktech.com/10-important-cosmetics-regulations-canada/>.

29. Toxic chemicals in salons, lack of education lead to adverse health effects. Two Rutgers studies find consumers are unaware of most health risks at beauty salons and that nail technician training in handling chemicals needs improvement. Rutgers University. Public Release: 14-DEC-2017. Available from: https://www.eurekalert.org/pub_releases/2017-12/ru-tci121417.php.

30. The Bad Side of Being a Cosmetologist by Karen Farnen. m Available from: <https://work.chron.com/bad-side-being-cosmetologist-22510.html>.

31. Twenty-five years of French jurisprudence in criminal medical liability. 2017. Available from: <https://journals.sagepub.com/>

SUMMARY

COSMETOLOGICAL SERVICES: COMPARATIVE AND LEGAL ANALYSIS

¹Chekhovska I., ²Michurin Ie., ³Samsin I., ⁴Izbash E., ⁵Dundych L.

¹University of the State Fiscal Service of Ukraine, Irpin; ²V. Karazin Kharkiv National University; ³Khmelnitsky University of Management and Law named after Leonid Yuzkov; ⁴Odesa State University of Internal Affairs; ⁵Odessa State University of Internal Affairs, Kherson Faculty. Ukraine

The purpose of the article is a comprehensive analysis and study of the main tendencies of legal regulation of the sphere for providing cosmetological services in various foreign countries, the identification of positive experience of legal regulation of this sphere and formation of propositions for improving Ukrainian legislation. In the course of the study, the authors have used theoretical (analysis, generalization, systematization) and em-

pirical (observation, review, classification) methods.

Conducted analysis of international experience of legal regulation of cosmetological services indicates that the vast majority of countries have special legislation regulating the market for cosmetic products and the activities of cosmetological institutions. Mandatory requirement for persons providing cosmetological services is the availability of special education and the license for a specific type of cosmetological services. Specific sanctions are provided for violation of the legislation on the provision of cosmetological services. In order to improve the legislation of Ukraine regulating the field of cosmetological services, it is necessary: to develop special legislation aimed at regulating the market of cosmetological services; to adopt the State Program, which should determine the requirements for the production, labeling, distribution and sale of cosmetics; to approve uniform state educational standards for training personnel for the cosmetological sphere; to establish clear requirements and standards that will guarantee the safety of the provision of cosmetological services and facilitate in minimization of negative consequences for public health; to provide specific sanctions for violation of the law on the provision of cosmetological services. The introduction of these measures should ensure the safety of the provision of cosmetological services and facilitate the minimization of negative consequences for public health.

Keywords: cosmetician, beautician, cosmetological service, esthetic service, cosmetic products, license.

РЕЗЮМЕ

КОСМЕТОЛОГИЧЕСКИЕ УСЛУГИ: СРАВНИТЕЛЬНО-ПРАВОВОЙ АНАЛИЗ

¹Чеховская И.В., ²Мичурин Е.А., ³Самсин И.Л., ⁴Избаш Е.С., ⁵Дундич Л.В.

¹Университет государственной фискальной службы Украины; ²Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина; ³Хмельницкий университет управления и права им. Л. Юзькова; ⁴Одесский государственный университет внутренних дел; ⁵Одесский государственный университет внутренних дел, Херсонский факультет, Украина

Целью исследования явился анализ основных тенденций правового регулирования сферы предоставления косметологических услуг в различных зарубежных странах, выявление положительного опыта в правовом регулировании и разработка рекомендаций по совершенствованию украинского законодательства. В ходе исследования использовались теоретические (анализ, обобщение, обобщение, систематизация) и эмпирические (наблюдение, обзор, классификация) методы.

Проведенный анализ международного опыта правового регулирования косметологических услуг свидетельствует, что в подавляющем большинстве стран есть специальное законодательство, регулирующее рынок косметической продукции и деятельности косметологических заведений. Обязательным требованием к лицам, предоставляющим косметологические услуги, является наличие специального образования и лицензии на конкретный вид косметологических услуг. За нарушение законодательства о предоставлении косметологических услуг предусмотрены конкретные санкции. С целью усовершенствования законодательства Украины, регулирующего сферу косметологических услуг следует: разработать специальное законодательство, на-

правленное на регулирование рынка косметологических услуг; принять государственную программу определяющую требования к производству, маркировке, распределению и продаже косметики; утвердить единые государственные образовательные стандарты подготовки кадров для косметологической сферы; установить четкие требования и стандарты, которые будут гарантировать безопасность предоставления косметологических услуг и способствовать минимизации негативных последствий для общественного здоровья; предусмотреть конкретные санкции за нарушение законодательства о предоставлении косметологических услуг. Введение этих мер должно обеспечить безопасность предоставления косметологических услуг и способствовать минимизации негативных последствий для общественного здоровья.

რეზიუმე

კოსმეტიკური მომსახურება: შედარებით-სამართლებრივი ანალიზი

¹ჩეხოსაკაია, ²ემინური, ³სამსინი, ⁴ეიზაში, ⁵დუნდინი

¹უკრაინის ფისკალური სამსახურის უნივერსიტეტი; ²კარაზინის სახ. ხარკოვის სახელმწიფო უნივერსიტეტი; ³ლიუზიკოვის სახ. ხმელნიცკის მართვის და სამართლის უნივერსიტეტი; ⁴ოდესის შინაგან საქმეთა სახელმწიფო უნივერსიტეტი; ⁵ოდესის შინაგან საქმეთა სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ხერსონის ფაკულტეტი, უკრაინა

სტატიის მიზანს წარმოადგენდა უცხო ქვეყნებში კოსმეტოლოგიის სერვისების სფეროს სამართლებრივი რეგულირების ძირითადი ტენდენციების შეფასება და სამართლებრივი რეგულირების დადებითი გამოცდილების იდენტიფიცირების საფუძველზე, უკრაინის კანონმდებლობის გაუმჯობესების რეკომენდაციების

შემუშავება. კვლევაში გამოყენებულია თეორიული (ანალიზი, განზოგადება, სისტემატიზაცია) და ემპირიული (დაკვირვება, მიმოხილვა, კლასიფიკაცია) მეთოდები.

კოსმეტოლოგიური მომსახურების სამართლებრივი რეგულირების საერთაშორისო გამოცდილების ანალიზმა გამოავლინა, რომ უმეტეს ქვეყნებში არსებობს სპეციალური კანონმდებლობა, რომელიც არეგულირებს კოსმეტოლოგიური პროდუქტების ბაზარს და კოსმეტოლოგიური დაწესებულებების საქმიანობას. პირებისთვის, რომლებიც უზრუნველყოფენ კოსმეტოლოგიურ მომსახურებას, სავალდებულოა სპეციალური განათლება და კონკრეტული ტიპის კოსმეტოლოგიური მომსახურების გაწევაზე ლიცენზია. კოსმეტოლოგიური მომსახურების მიწოდების შესახებ კანონმდებლობის დარღვევის შემთხვევაში გათვალისწინებულია კონკრეტული სანქციები. უკრაინის კანონმდებლობაში კოსმეტოლოგიის სერვისების მარეგულირებელი სფეროს გაუმჯობესების მიზნით აუცილებელია: შემუშავდეს სპეციალური კანონმდებლობა კოსმეტოლოგიური მომსახურების სფეროს რეგულირებასათვის; მიღებულ იქნას სახელმწიფო პროგრამა, რომელიც განსაზღვრავს მოთხოვნებს კოსმეტიკური საშუალებების წარმოების, მარკირების, დისტრიბუციისა და გაყიდვის შესახებ; დამტკიცდეს პერსონალის ტრენინგის ერთიანი სახელმწიფო სტანდარტები კოსმეტოლოგიის სფეროში; ჩამოყალიბდეს მკაფიო მოთხოვნები და სტანდარტები, რომლებიც უზრუნველყოფს კოსმეტიკური სერვისების მიწოდების უსაფრთხოებას და ხელს შეუწყობს ჯანმრთელობაზე უარყოფითი გავლენის შემცირებას; აუცილებელია სანქციების დაწესება კოსმეტიკური მომსახურების მიწოდების შესახებ კანონმდებლობის დარღვევისთვის. აღნიშნული ზომების დანერგვა უზრუნველყოფს კოსმეტიკური მომსახურების უსაფრთხოებას და საზოგადოებრივ ჯანმრთელობაზე ნეგატიური ეფექტების შემცირებას.

ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛИПОСОМАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ВИТАМИНА С И ВИТАМИНА Е НА НОРМАЛЬНЫЕ И ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

Саникидзе Т.В., Шекиладзе Э.Р., Енукидзе М.Г., Мачавариани М.Г., Кипиани Нина В., Чхиквишвили И.Д.

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

В течение последних 15 лет внимание ученых привлекают натуральные антиоксидантные соединения оказывающие защитное, оздоровительное воздействие на живой организм [1,2,4,7,8,10,13]. Несмотря на высокую эффективность антиоксидантных соединений, их низкая концентрация, слабая растворимость в воде, плохая абсорбция и быстрый метаболизм не способны обеспечить проявления системных терапевтических эффектов в организме [20]. С целью решения этой проблемы и создания новых эффективных фармакологических препаратов используются различные пути стабилизации антиоксидантных соединений с помощью оболочки циклодекстрина [3], простых эмульсий и наночастиц [25] или липосом [21].

С целью оценки возможности применения липосом для стабилизации различных антиоксидантных соединений, нами исследовано влияние липосом на эффективность известных антиоксидантов - гидрофильного витамина С и липофильного витамина Е, в модельных системах нормальных эпителиальных клеток MDCK и опухолевых клеток Jurkat (лейкемия трансформированных лимфоцитов).

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

Jurkat клетки размножались в биоактивной среде PMRI 1640 (GIBSO), инактивированной эмбриональной телячьей сывороткой (Sigma), содержащей L-глутамин (4mM), пенициллин (100 ед/мл) и стрептомицин (100ед/мл) при температуре 37°C во влажной среде, содержащей 5% CO₂.

Клетки MDCK размножались при температуре 37°C с 5% CO₂, в среде Eagle DMEM (Mediatech, Herndon, VA), разбавленной 5% эмбриональной телячьей сывороткой (FBS) с пенициллином (100 ед/мл) и стрептомицином (100 ед/мл).

Эксперименты проводились при концентрации 0,3 – 0,6 x 10⁶ клеток в 1 мл среды.

С целью моделирования окислительного стресса перекись водорода (H₂O₂) (Sigma) добавляли в инкубационную среду клеток Jurkat в дозе 25 μM и 50 μM [1,2], а клеток MDCK в дозе 400 μM и 800 μM [17] (окислительный стресс низкой и высокой интенсивности) и инкубировали в течение 24 часов. Контрольная группа была представлена интактными клетками Jurkat и MDCK. В среду инкубации клеток добавляли витамины С и Е в дозе 20 μl, а также DPPC и DPPA липосомы, содержащие витамины С и Е и без них. Пролиферативную активность клеток определяли с помощью МТТ теста.

Липосомы препарировали путем интенсивного смешивания DPPC и DPPA липидов (3 мг) с 20 мл витаминов С и Е и 2 мл дистиллированной воды в роторном испарителе при температуре 50°C [19]; спустя 2 минуты после интенсивного смешивания получали однородную липосомную суспензию.

Определение пролиферативной активности клеток (МТТ тест). Суспензию клеток (2x10⁶ клеток/мл) после инкубации в различных условиях центрифугировали при 1500 G в течение 5 минут. Раствор 3-(4,5-диметилтиазол-2)-2,5-дифенил тетразолиумбромид (МТТ) (Sigma) добавляли к осажденным клеткам (30 μl к 100 μl суспензии); 2,5мг МТТ растворяли в 300 μl буфера (140 mM NaCl, 5mM HEPES, pH 7,4) и инкубировали в течение 4 часов при 37°C в среде, содержащей 5% CO₂. После инкубации осадок осторожно добавляли к раствору 100 μl диметил сульфоксида (DMSO). Процентное содержание активных пролиферирующих клеток рассчитывали по формуле:

$$K = A_{\text{опыт}} / A_{\text{контроль}}$$

где K – коэффициент пролиферации, A_{опыт} – интенсивность спектрофотометрической абсорбции исследуемого образца при длине волны 570 нм, A_{контроль} – интенсивность абсорбции контрольного раствора. Соответственно, показатель K₁ = 1 - K позволяет рассчитать процентное содержание клеток с низкой пролиферативной активностью (апоптотные клетки).

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

Результаты и их обсуждение. На фигурах 1, 2 представлены показатели жизнеспособности Jurkat и MDCK клеток, инкубированных в течение 24 часов с витаминами С, Е и комплексом витаминов С + Е в липосомах DPPC и DPPA и без них. Из результатов исследования следует, что витамины С и Е оказывают слабый токсический эффект на интактные клетки Jurkat, что проявлялось снижением жизнеспособности этих клеток на 12% и 14%, соответственно, однако жизнеспособность интактных клеток MDCK существенно не изменяли. Комплекс витаминов (С + Е) не влиял на жизнеспособность интактных клеток Jurkat и MDCK.

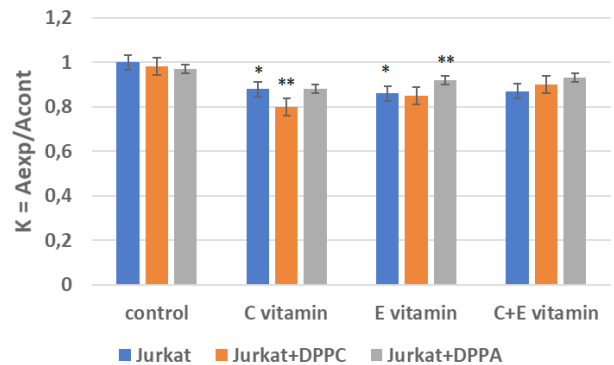


Рис. 1. Показатели жизнеспособности клеток Jurkat, инкубируемых с витамином С, Е и комплексом витаминов С+Е, с липосомами DPPC и DPPA и без них

* - статистически достоверный эффект витаминов, P<0.05; ** - статистически достоверный эффект липосом, P<0.05

Липосомы DPPC и DPPA сами по себе не влияли на жизнеспособность интактных клеток Jurkat и MDCK; в комплексе с витаминами липосомы DPPC не изменяли слабого токсического действия витамина Е, однако на 8% усиливали токсический эффект витамина С на интактные клетки Jurkat, однако липосома DPPA анигилировала токсический эффект витаминов Е на интактные клетки Jurkat. Липосомы DPPC и DPPA в комплексе витаминов (С+Е) не влияли на жизнеспособность интактных клеток Jurkat; Липосомы DPPC и DPPA в комплексе с витамином С и Е, а также витаминами (С + Е) не влияли на жизнеспособность интактных клеток MDCK.

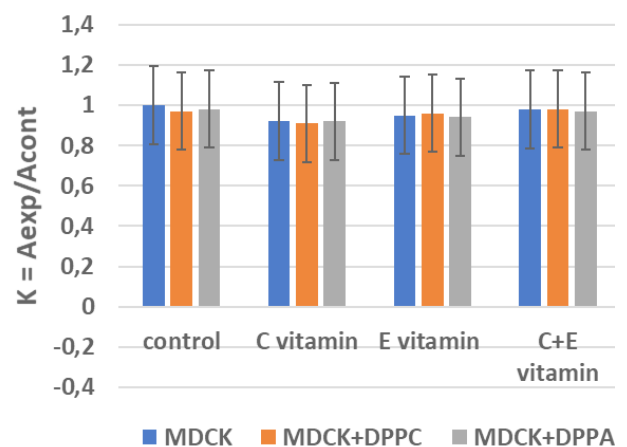


Рис. 2. Показатели жизнеспособности клеток MDCK, инкубируемых с витамином С, Е и комплексом витаминов С+Е (с липосомами DPPC и DPPA и без них)

На рис. 3 представлены показатели жизнеспособности клеток Jurkat и MDCK, инкубированных в течение 24 часов в условиях окислительного стресса низкой (H₂O₂ - 25 μM и 400 μM, соответственно) и высокой интенсивности (H₂O₂ - 50 μM и 800 μM, соответственно) в присутствия липосом DPPC и DPPA и без них.

Из результатов исследования следует, что жизнеспособность клеток Jurkat, инкубированных в условиях окислительного стресса низкой интенсивности, снизилась на 30%, а при высокой интенсивности - на 75% в сравнении с контрольным уровнем. Жизнеспособность клеток MDCK, инкубированных в условиях окислительного стресса низкой

интенсивности, снизилась на 25%, а высокой интенсивности - на 59% в сравнении с контрольным уровнем. Липосомы DPPA и DPPC существенно не влияли на эти эффекты (рис. 3А, В).

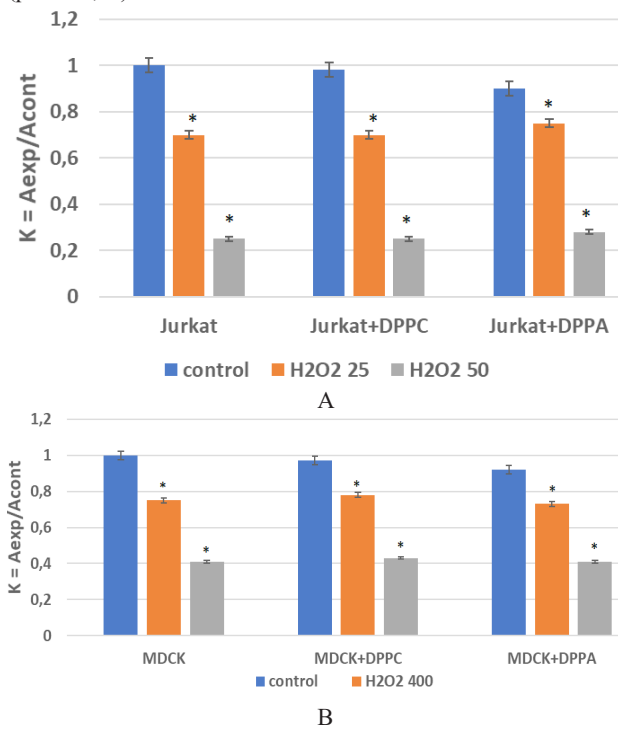


Рис. 3. Показатели жизнеспособности клеток Jurkat и MDCK, инкубируемых в условиях слабого и интенсивного окислительного стресса в присутствии липосом DPPC и DPPA и без них

* - статистически достоверный эффект окислительного стресса, $P < 0.05$

На рис. 4, 5 представлены показатели жизнеспособности клеток Jurkat и MDCK, инкубируемых в условиях низкой интенсивности (H_2O_2 - 25 μM и 400 μM , соответственно) и высокой интенсивности (H_2O_2 - 50 μM и 800 μM , соответственно) окислительного стресса в присутствии витаминов С, Е, комплекса витаминов (С + Е) в липосомах DPPC и DPPA и без них.

Из рис. 4 следует, что витамин С снижает жизнеспособность клеток Jurkat, инкубируемых в условиях окислительного стресса низкой (на 8%) и высокой интенсивности (на 5%); витамин С не изменяет жизнеспособности клеток MDCK, инкубируемых в условиях окислительного стресса. Витамин Е уменьшал жизнеспособность клеток Jurkat инкубируемых в условиях окислительного стресса низкой и высокой интенсивности на 10%, но статически достоверно не изменял жизнеспособность клеток MDCK, инкубируемых в условиях окислительного стресса низкой и высокой интенсивности.

Липосома DPPC не изменяла токсический эффект витамина Е, однако усиливала токсический эффект витамин С (на 5%), а липосома DPPA анигилировала токсический эффект С и Е витаминов на клетки Jurkat; липосомы DPPC и DPPA не изменяли эффекта витамин С и Е на клетки MDCK, инкубируемых в условиях окислительного стресса низкой и высокой интенсивности. Комбинация витаминов (С + Е) повышала жизнеспособность клеток Jurkat, инкубируемых в условиях окислительного стресса низкой и высокой интен-

сивности, на 10% и 8%, соответственно. Липосомы DPPC усиливали, а липосомы DPPA снижали протекторный эффект комплекса витаминов (С + Е) эффект на клетки Jurkat (фигура 4). Комбинация витаминов (С+Е) повышала жизнеспособность клеток MDCK, инкубируемых в условиях окислительного стресса низкой и высокой интенсивности, на 17% и 10%, соответственно. Липосомы DPPC не изменяли, а липосомы DPPA снижали протекторный эффект комплекса витаминов (С+Е) на клетки MDCK, инкубируемых в условиях окислительного стресса низкой интенсивности, на 7% и не меняли эффекта комплекса витаминов (С+Е) на клетки MDCK, инкубируемых в условиях окислительного стресса высокой интенсивности (рис. 5).

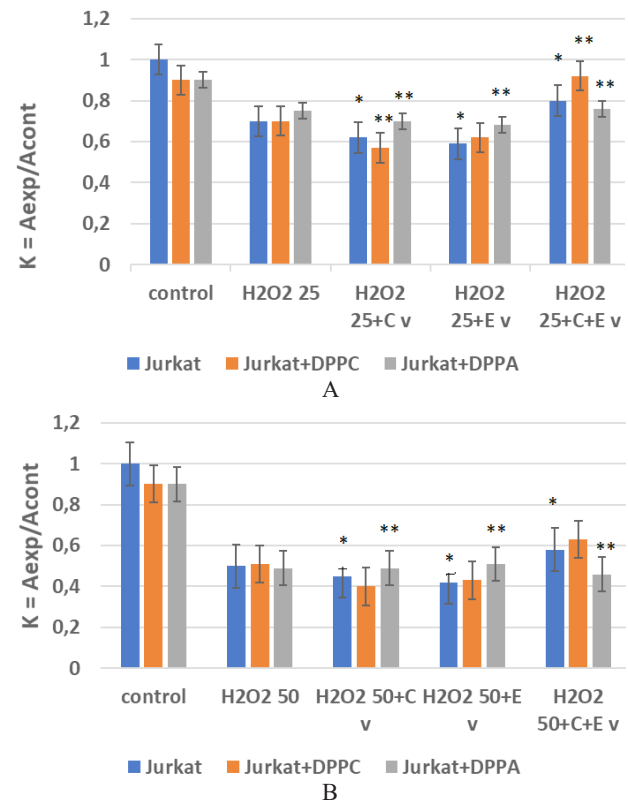


Рис. 4. Показатели жизнеспособности клеток Jurkat и MDCK, инкубируемых в условиях окислительного стресса, с витамином С, Е и комплексом (Е+С) в присутствии липосом DPPC и DPPA и без них, $P < 0.05$

* - статистически достоверный эффект витаминов, $P < 0.05$; ** - статистически достоверный эффект липосом, $P < 0.05$

Биологические эффекты витаминов С и Е определяются их антиоксидантными свойствами. Витамин С (аскорбиновая кислота) является донором электронов для ряда важных ферментов и, таким образом, играет значимую роль во многих биохимических процессах, влияет на экспрессию многих генов, участвующих в регуляции роста опухоли, энергетического обмена [18]. Витамин С в фармакологических концентрациях *in vivo* генерирует аскорбатный радикал и перекись водорода (H_2O_2) во внеклеточную жидкость [5,6], последний диффундирует в окружающие клетки и проявляет селективную цитотоксичность - убивает опухолевые клетки [5]. Цитотоксический эффект витамина С зависит от его концентрации и времени экспозиции [6], а также активности собственной антиоксидантной системы клеток. Селективный цитотоксический эффект аскорбата на опухолевые клетки

обусловлен особенно высокой чувствительностью последних к окислительному стрессу ввиду низкой активности внутриклеточной антиоксидантной системы [22,23].

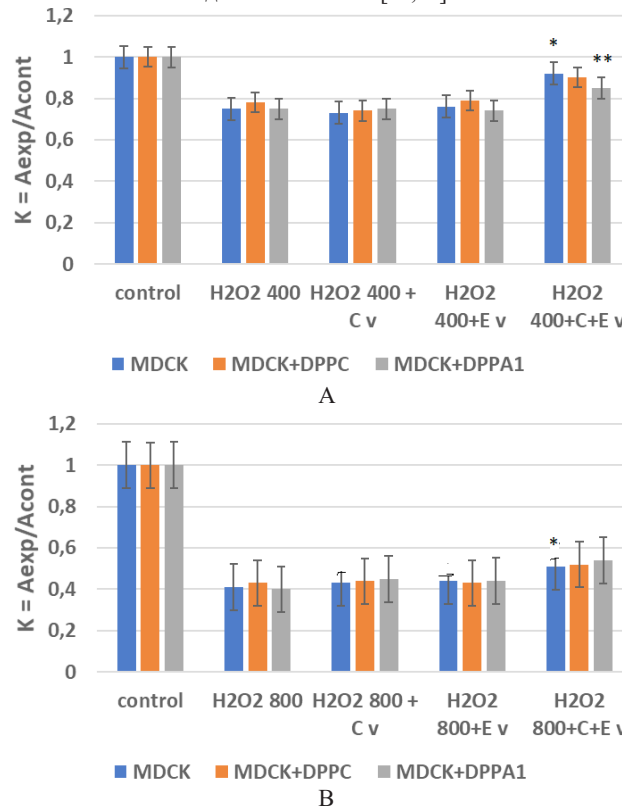


Рис. 5. Показатели жизнеспособности клеток MDCK с витамином С, Е и комплексом (Е+С), инкубированных в условиях окислительного стресса, в присутствии липосом DPPC и DPPA и без них

* - статистически достоверный эффект витаминов, $P < 0.05$; ** - статистически достоверный эффект липосом, $P < 0.05$

Витамин Е (α -токоферол) - жирорастворимый антиоксидант, который функционирует в липидной среде и устраняет перекисные радикалы кислорода и липидов. Его антиоксидантные свойства играют значимую роль в антиоксидантной защите клеточных мембран. В то же время в результате антиоксидантной активности витамина Е возможно образование токофероксильных свободных радикалов [9], которые усиливают процессы свободнорадикального окисления [24] и снижают жизнеспособность клеток. Токоферильные радикалы обратимо регенерируют в токоферол при участии витамина С, являющегося донором электронов [12, 26]. Таким образом, витамин С способствует усилению антиоксидантной активности витамина Е.

Результаты исследования показали, что жизнеспособность клеток Jurkat, обладающих слабой антиоксидантной системой, снижается при воздействии витаминов С и Е, обладающих слабым прооксидантным эффектом, однако синергическое действие этих витаминов (С+Е) аннулирует этот слабый токсический эффект. Интактные клетки MDCK, обладающие высоко активной антиоксидантной системой, оказались нечувствительными по отношению к слабым прооксидантным эффектам витаминов С и Е. Эти данные подтверждаются высокой чувствительностью клеток Jurkat к перекиси водорода в сравнении с нормальными эпители-

альными клетками MDCK, клетки MDCK нуждаются в 15 раз более высоких дозах пероксида водорода в сравнении с клетками Jurkat для снижения жизнеспособности на 25-30%. Соответственно, токсические эффекты витаминов С и Е по отдельности усиливали подавляющее воздействие окислительного стресса на жизнеспособность опухолевых клеток Jurkat, однако не влияли на нормально пролиферирующие клетки MDCK.

Синергический антиоксидантный эффект витаминов (С + Е) в условиях сильной эндогенной системы антиоксидантной защиты клеток MDCK резко увеличивает жизнеспособность этих клеток в условиях окислительного стресса различной интенсивности, в то время как в случае клеток Jurkat ввиду низкой активности эндогенной антиоксидантной системы этот синергический эффект менее эффективен.

Эффект витаминов С, Е и (С+Е), в комплексе с DPPC и DPPA липосомами на клетки Jurkat и MDCK обусловлен растворением или интеграцией этих липосом с гидрофобными участками клеточной мембраны, а затем высвобождением витаминов из липосом.

Липосомы 1,2-пальмитоил-фосфатидной кислоты (DPPA) и дипальмитоилфосфатидилхолина (DPPC) имеют сходную структурную организацию - оба типа липидов создают стандартные двухслойные липосомы с сильным гидрофобным взаимодействием между липидными хвостиками, водородными-электростатическими связями и гидрофильными липидными головками. Однако между ними существуют значительные различия: липосомы DPPC имеют мультиламелярную структуру, тогда как липосомы DPPA характеризуется мономелярной структурой; поверхностный заряд липосом DPPA в водной среде отрицательный (-P-COO⁻), в то время как холиновый остаток липидной головки DPPC содержит как отрицательные (-P-COO⁻), так и положительные (N⁺) домены [13,16,17].

Соответственно, положительные (N⁺) домены липосом DPPC легко взаимодействуют с отрицательно заряженными (Z-поверхностный потенциал) клеточными мембранами. Принимая во внимание, что поверхностный заряд мембраны опухолевых клеток Jurkat относительно более отрицателен в сравнении с зарядом поверхности мембран нормальных эпителиальных клеток MDCK, ясно, что липосомы DPPC легко взаимодействуют с Jurkat клетками, чем с MDCK. Действительно, DPPC-липосомы увеличивали активность комплекса витаминов (С+Е) на клетки Jurkat, инкубированные в условиях окислительного стресса, однако не влияли на эффективность этого комплекса в клетках MDCK, инкубированных при различных режимах окислительного стресса. Липосомы DPPC не меняли слабого токсического действия гидрофобного витамина Е, который способен самостоятельно дифундировать в мембрану, но способствовали проникновению в клетки липофильного витамина С и, тем самым, усиливали его токсический эффект на интактные клетки Jurkat, тогда как липосомы DPPA, в силу своего отрицательного заряда, препятствовали проникновению витамина Е в мембраны интактных клеток Jurkat и таким образом аннулировали его токсическое действие.

Отрицательный заряд липосом DPPA способствует ослаблению токсических эффектов витаминов на клетки: DPPA липосомы аннулировали токсический эффект витаминов С и Е на интактные и инкубированные в условиях окислительного стресса клетки Jurkat, но не оказывала

воздействия на их эффективность по отношению к клеткам MDCK. В то же время MDCK снижала антиоксидантный эффект витаминного комплекса (C+E) на инкубируемые в условиях окислительного стресса клетки Jurkat и MDCK; необходимо отметить, что отрицательный эффект DPPA липосомы особенно сильно проявлялся на клетках Jurkat. Вышеприведенные данные следует объяснить наличием особенно высокого отрицательного заряда на поверхности мембран клеток Jurkat и высокой активностью эндогенной ферментной антиоксидантной системы клеток MDCK.

На основании результатов исследования следует заключить, что исследованные липосомы способны модулировать эффекты С и Е витаминов на нормальные и опухолевые клетки. Эти данные можно использовать при исследовании возможной селективной регуляции активности различных гидрофобных и гидрофильных антиоксидантов на нормальные и опухолевые клетки, что особенно важно при создании антиопухолевых препаратов и эффективных радиопротекторов, обеспечивающих защиту здоровых тканей от радиационного поражения во время радиотерапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arts, I.C. A review of the epidemiological evidence on tea, flavonoids, and lung cancer. *J. Nutr.* 2008, 138(8):1561S-1566S.
2. Asensi, M.; Ortega, A.; Mena, S.; Feddi, F.; Estrela, J.M. Natural polyphenols in cancer therapy. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2011, 48, 197–216.
3. Barras, A.; Mezzetti, A.; Richard, A.; Lazzaroni, S.; Roux, S.; Melnyk, P.; Betbeder, D.; Monfiliette-Dupont, N. Formulation and characterization of polyphenol-loaded lipid nanocapsules. *Int. J. Pharm.* 2009, 379, 270–277.
4. Brad A. Sutherland, Rosanna M.A. Rahman, Ian Appleton. Mechanisms of action of green tea catechins, with a focus on ischemia-induced neurodegeneration. *Journal of Nutritional Biochemistry* 17 (2006) 291 – 306.
5. Chen Q, Espey MG, Krishna MC, et al. Pharmacologic ascorbic acid concentrations selectively kill cancer cells: Action as a pro-drug to deliver hydrogen peroxide to tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:13604–9.
6. Chen Q, Espey MG, Sun Y, et al. Ascorbate in pharmacologic concentrations selectively generates ascorbate radical and hydrogen peroxide in extracellular fluid in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:8749–54.
7. Chkhikvishvili I, Sanikidze T, Gogia N, Enukidze M, Machavariani M, Kipiani N, Vinokur Y, Rodov V. Constituents of French Marigold (*Tagetes patula* L.) Flowers Protect Jurkat T-Cells against Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:4216285.
8. Chkhikvishvili I, Sanikidze T, Gogia N, Mchedlishvili T, Enukidze M, Machavariani M, Vinokur Y, Rodov V. Rosmarinic acid-rich extracts of summer savory (*Satureja hortensis* L.) protect Jurkat T cells against oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:456253
9. Feron O, Kelly RA. The caveolar paradox: suppressing, inducing, and terminating eNOS signaling. *Circ Res.* 2001; 88(2):129-31.
10. Gates, M.A.; Tworoger, S.S.; Hecht, J.L.; de Vivo, I.; Rosner, B.; Hankinson, S.E. A prospective study of dietary flavonoid intake and incidence of epithelial ovarian cancer. *Int. J. Cancer* 2007, 121, 2225–2232.
11. Gvilava I, Ormotsadze G, Chkhikvishvili I, Giorgobiani M, Kipiani NV, Sanikidze T. Radioprotective activity of poly-methoxy-lated flavonoids of citrus extract. *Georgian Med News.* 2018 Dec;(285):119-124.
12. Hosseinimehr SJ, Mahmoudzadeh A, Ahmadi A, Mohamadifar S, Akhlaghpour S. Radioprotective effects of hesperidin against genotoxicity induced by gamma-irradiation in human lymphocytes. *Mutagenesis.* 2009 24(3):233-5.
13. Liposomes a practical approach. Edited by R R C New, Published in the United States by Oxford University Press, New York, 1992.
14. Lursmanashvili L, Gulua L, Turmanidze T, Enukidze M, Machavariani M, Sanikidze T. Biological activity of green tea extracts. *Georgian Med News.* 2017;(263):88-93.
15. Maminaishvili T, Chkhikvishvili I, Enukidze M, Machavariani M, Kipiani NV, Sanikidze T. Selective efficacy of georgian legume extracts on jurkat and mdck cells. *Georgian Med News.* 2019 Mar;(288):158-162
16. Mannock DA, Lewis RNAH, McElhane RN. Comparative calorimetric and spectroscopic studies of the effects of lanosterol and cholesterol on the thermotropic phase behavior and organization of dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer membranes. *Biophys J* 2006; 91: 3327–40.
17. Mannock DA, Lewis RNAH, McElhane RN. A calorimetric and spectroscopic comparison of the effects of ergosterol and cholesterol on the thermotropic phase behavior and organization of dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer membranes. *Biochim Biophys Acta – Biomembranes* 2010; 1798:376–88.
18. Mark L. Heaney, Jeffrey R. Gardav Nic, Jeffrey R. Gardner, Nic Golde, David A. Scheinberg, Emily A. Smith, Owen A. O'Connor. Vitamin C antagonizes the cytotoxic effects of anti-neoplastic drugs. *Cancer Res.* 2008; 68 (19): 8031–8038.
19. Mdzinarashvili T., Khvedelidze M., Shekiladze E., Machaidze R. (2016) Novel technology for the fast production of complex nanoliposomes. *Journal of Biological Physics and Chemistry*, 16/4: 172-176.
20. Mulholland, P.J.; Ferry, D.R.; Anderson, D.; Hussain, S.A.; Young, A.M.; Cook, J.E.; Hodgkin, E.; Seymour, L.W.; Kerr, D.J. Pre-clinical and clinical study of QC12, a water-soluble, pro-drug of quercetin. *Ann. Oncol.* 2001, 12, 245–248.
21. Nathalie Mignet, Johanne Seguin and Guy G. Chabot. Bio-availability of Polyphenol Liposomes: A Challenge Ahead *Pharmaceutics* 2013, 5, 457-471.
22. Oberley TD, Oberley LW. Antioxidant enzyme levels in cancer. *Histol Histopathol* 1997; 12: 525–535.
23. Sun Y, Oberley LW, Elwell JH, Sierra-Rivera E. Antioxidant enzyme activities in normal and transformed mouse liver cells. *Int J Cancer* 1989; 44: 1028–1033.
24. van Tits LJ, de Waart F, Hak-Lemmers HL, van Heijst P, de Graaf J, Demacker PN, Stalenhoef AF. Effects of alpha-tocopherol on superoxide production and plasma intercellular adhesion molecule-1 and antibodies to oxidized LDL in chronic smokers. *Free Radic Biol Med.* 2001; 30(10): 1122-9.
25. Yuan, Z.P.; Chen, L.J.; Fan, L.Y.; Tang, M.H.; Yang, G.L.; Yang, H.S.; Du, X.B.; Wang, G.Q.; Yao, W.X.; Zhao, Q.M.; et al. Liposomal quercetin efficiently suppresses growth of solid tumors in murine models. *Clin. Cancer Res.* 2006, 12, 3193–31997.
26. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. Hosseinimehr SJ, Mahmoudzadeh A, Ahmadi A, Mohamadifar S, Akhlaghpour S. Radioprotective effects of hesperidin against genotoxicity induced by gamma-irradiation in human lymphocytes. *Mutagenesis.* 2009 May;24(3):233-5.

SUMMARY

IMPACT OF LIPOSOMAL VITAMIN C AND VITAMIN E COMPLEX ON NORMAL AND TUMOR CELLS

Sanikidze T., Shekiladze E., Enukidze M., Machavariani M., Kipiani Nina V., Chkhikvishvili I.

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

In order to assess the possibility of using liposomes to stabilize various antioxidant compounds, we investigated the effect of liposomes (1,2-palmitoyl-phosphatidic acid (DPPA) and dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC)) on the effectiveness of antioxidants, hydrophilic vitamin C and lipophilic vitamin E, in model systems of normal epithelial MDCK cells and tumor Jurkat T cells. The effect of vitamins C, E and (C + E) in combination with DPPC and DPPA liposomes on Jurkat and MDCK cells depends on the dissolution or integration of these liposomes with hydrophobic sections of the cellular membrane, as well as the subsequent release of vitamins from liposomes. Based on the results of the study, it can be concluded that the studied liposomes can modulate the effects of C and E vitamins on normal and tumor cells. These data can be used to study the possible selective regulation of the activity of various hydrophobic and hydrophilic antioxidants on normal and tumor cells, which is especially important for creating antitumor drugs, as well as effective radioprotectors that protect healthy tissues from radiation damage during radiotherapy.

Key words: liposomes, Vitamins C and E, normal and tumor cells.

РЕЗЮМЕ

ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛИПОСОМАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ВИТАМИНА С И ВИТАМИНА Е НА НОРМАЛЬНЫЕ И ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

Саникидзе Т.В., Шекиладзе Э.Р., Енукидзе М.Г., Мачавариани М.Г., Кипиани Нина В., Чхиквишвили И.Д.

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

Цель исследования – оценка возможности применения липосом для стабилизации различных антиоксидантных соединений.

Исследовано влияние липосом 1,2-пальмитоил-фосфатидной кислоты (DPPA) и дипальмитоилфосфатидилхолина (DPPC) на эффективность антиоксидантов гидрофильного витамина С и липофильного витамина Е, в модельных системах нормальных эпителиальных клеток MDCK и опухо-

левых клеток Jurkat. Эффект витаминов С, Е и (С+Е), в комплексе с DPPC и DPPA липосомами на клетки Jurkat и MDCK обусловлен растворением или интеграцией этих липосом с гидрофобными участками клеточной мембраны, а также последующим высвобождением витаминов из липосом. На основании результатов исследования следует заключить, что исследованные липосомы способны модулировать эффекты С и Е витаминов на нормальные и опухолевые клетки. Эти данные можно использовать при исследовании возможной селективной регуляции активности различных гидрофобных и гидрофильных антиоксидантов на нормальные и опухолевые клетки, что особенно важно при создании антиопухолевых препаратов, а также эффективных радиопротекторов, обеспечивающих защиту здоровых тканей от радиационного поражения во время радиотерапии.

რეზიუმე

С და Е ვიტამინების ლიპოსომებთან კომპლექსის სელექციური ეფექტი ნორმალურ და სიმსივნურ უჯრედებზე

თ.სანიკიძე, ე.შევილაძე, მ.ენუკიძე, მ.მაცავარიანი, ნინა ვ. კიპიანი, ი.ჩხიკვიშვილი

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ვ. ბახუტაშვილის სახ. სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი; ი. ჯავახიშვილის სახ. თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო

სხვადასხვა ანტიოქსიდანტური ნაერთების სტაბილიზაციის მიზნით ლიპოსომების გამოყენების შესაძლებლობის შესაფასებლად გამოვკვლეულია ლიპოსომების 1,2-პალმიტოლ-ფოსფატური მჟავას (DPPA) და დიპალმიტოლ-ფოსფატიდილქოლინის (DPPC) ეფექტურობა ანტიოქსიდანტების, ჰიდროფილური ვიტამინი C-სა და ლიპოფილური ვიტამინი E-ს ეფექტურობაზე ნორმალური ეპითელური MDCK უჯრედების და სიმსივნური უჯრედების სისტემებზე. DPPC და DPPA ლიპოსომებთან ვიტამინების C, E და (C+E) ვიტამინების ეფექტი Jurkat და MDCK უჯრედებზე განპირობებულია ამ ლიპოსომების ხსნადობით/ ინტეგრაციით უჯრედული მემბრანის ჰიდროფობულ უბნებში და ვიტამინების კომპლექსიდან შემდგომი განთავისუფლების უნარით. კვლევის შედეგების საფუძველზე გამოტანილია დასკვნა, რომ შესწავლილ ლიპოსომებს შეუძლიათ C და E ვიტამინების ნორმალურ და სიმსივნურ უჯრედებზე ზემოქმედებების მოდულირება. ეს მონაცემები მიზანშეწონილია გამოყენებულ იქნას ნორმალურ და სიმსივნურ უჯრედებზე სხვადასხვა ჰიდროფობური და ჰიდროფილური ანტიოქსიდანტების აქტივობის შესაძლო სელექციური რეგულირების შესასწავლად, რაც განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ანტისიმსივნური მედიკამენტების და ეფექტური რადიოპროტექტორების შექმნისას, რომლებიც დაიცავს ჯანმრთელ ქსოვილებს რადიაციული დაზიანებისგან რადიოთერაპიის დროს.

* * *