

# GEORGIAN MEDICAL NEWS

---

ISSN 1512-0112

No 10 (235) Октябрь 2014

---

ТБИЛИСИ - NEW YORK



ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Медицинские новости Грузии  
საქართველოს სამედიცინო სიახლენი

# GEORGIAN MEDICAL NEWS

No 10 (235) 2014

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, VINITI Russian Academy of Sciences. The full text content is available through EBSCO databases.

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

Журнал индексируется в MEDLINE, отражён в базе данных SCOPUS 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, ინგლისურ და გერმანულ ენებზე ქვეყნდება ექსპერიმენტული, თეორიული და პრაქტიკული ხასიათის ორიგინალური სამეცნიერო სტატიები მედიცინის, ბიოლოგიისა და ფარმაციის სფეროში, მიმოსილვითი ხასიათის სტატიები, რეცენზიები.

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

## **МЕДИЦИНСКИЕ НОВОСТИ ГРУЗИИ**

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

### **НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР**

Лаури Манагадзе

### **ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР**

Нино Микаберидзе

### **НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ**

**Лаури Манагадзе - председатель Научно-редакционного совета**

Архимандрит Адам - Вахтанг Ахаладзе, Амиран Антадзе, Нелли Антелава,  
Лео Бокерия, Отар Герзмава, Лиана Гогиашвили, Нодар Гогебашвили, Николай Гонгадзе,  
Ирина Квачадзе, Нана Квирквелия, Зураб Кеванишвили, Палико Кинтраиа, Теймураз Лежава,  
Джанлуиджи Мелотти, Караман Пагава, Николай Пирцхалаишвили, Мамука Пирцхалаишвили,  
Вадим Саакадзе, Вальтер Стакл, Фридон Тодуа, Кеннет Уолкер, Рамаз Хецуриани,  
Рудольф Хохенфеллнер, Кахабер Челидзе, Тинатин Чиковани, Арчил Чхотуа, Рамаз Шенгелия

### **НАУЧНО-РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ**

**Зураб Вадачкориа - председатель Научно-редакционной коллегии**

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

Website:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

© 2001. Ассоциация деловой прессы Грузии

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

## **GEORGIAN MEDICAL NEWS**

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

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

### **SCIENTIFIC EDITOR**

Lauri Managadze

### **EDITOR IN CHIEF**

Nino Mikaberidze

### **SCIENTIFIC EDITORIAL COUNCIL**

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

Archimandrite Adam - Vakhtang Akhaladze, Amiran Antadze, Nelly Antelava, Leo Bokeria, Kakhaber Chelidze, Tinatin Chikovani, Archil Chkhotua, Otar Gerzmava, Liana Gogiashvili, Nodar Gogebashvili, Nicholas Gongadze, Rudolf Hohenfellner, Zurab Kevanishvili, Ramaz Khetsuriani, Paliko Kintraia, Irina Kvachadze, Nana Kvirkevelia, Teymuraz Lezhava, Gianluigi Melotti, Kharaman Pagava, Nicholas Pirtskhalaishvili, Mamuka Pirtskhalaishvili, Vadim Saakadze, Ramaz Shengelia, Walter Stackl, Pridon Todua, Kenneth Walker

### **SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD**

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

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

### **CONTACT ADDRESS IN TBILISI**

GMN Editorial Board  
7 Asatiani Street, 5<sup>th</sup> Floor  
Tbilisi, Georgia 0177

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

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

D. & N. COM., INC.  
111 Great Neck Road  
Suite # 208, Great Neck,  
NY 11021, USA

Phone: (516) 487-9898  
Fax: (516) 487-9889

### **WEBSITE**

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

## К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ!

При направлении статьи в редакцию необходимо соблюдать следующие правила:

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

2. Размер статьи должен быть не менее шести и не более пятнадцати 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. 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.

5. 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.

6. Фамилии отечественных авторов приводятся в оригинальной транскрипции.

7. При оформлении и направлении статей в журнал МНГ просим авторов соблюдать правила, изложенные в «Единых требованиях к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы», принятых Международным комитетом редакторов медицинских журналов - <http://www.spinesurgery.ru/files/publish.pdf> и [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html) В конце каждой оригинальной статьи приводится библиографический список. В список литературы включаются все материалы, на которые имеются ссылки в тексте. Список составляется в алфавитном порядке и нумеруется. Библиографическое описание литературы составляется на языке текста документа. В списке литературы сначала приводятся работы, написанные знаками грузинского алфавита, затем кириллицей и латиницей. Ссылки на цитируемые работы в тексте статьи даются в квадратных скобках в виде номера, соответствующему номеру данной работы в списке литературы.

8. 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.

9. 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.

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

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

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

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

## REQUIREMENTS

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

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

2. Size of the article, including index and resume in English, Russian and Georgian languages must be at least 6 pages and not exceed the limit of 15 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. 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.

5. 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).

6. 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.

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

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

8. 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.

9. 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.

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

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 ინგლისურ ენოვან ტექსტებში - **Times New Roman (Кириллица)**, ხოლო ქართულ ენოვან ტექსტში საჭიროა გამოვიყენოთ **AcadNusx**. შრიფტის ზომა – 12. სტატიას თან უნდა ახლდეს CD სტატიით.

2. სტატიის მოცულობა არ უნდა შეადგენდეს 6 გვერდზე ნაკლებსა და 15 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. ცხრილები საჭიროა წარმოადგინოთ ნაბეჭდი სახით. ყველა ციფრული, შემაჯამებელი და პროცენტული მონაცემები უნდა შეესაბამებოდეს ტექსტში მოყვანილს.

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

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

7. 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 ფხილებში უნდა მიუთითოთ ავტორის შესაბამისი N ლიტერატურის სიის მიხედვით.

8. 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.

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

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

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

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

აღნიშნული წესების დარღვევის შემთხვევაში სტატიები არ განიხილება.

Содержание:

<b>Феохтистов В.А., Шакеев К.Т., Ахметова С.Б., Жанасова М.М., Беркут М.В.</b> МЕТОД ЛОКАЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ СИНДРОМЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ .....	7
<b>Chikvaidze N., Kristesashvili J., Gegechkori M.</b> PECULIARITIES OF SEXUAL DEVELOPMENT AND REPRODUCTIVE FUNCTION IN YOUNG WOMEN WITH CHILDHOOD ONSET WEIGHT PROBLEMS .....	11
<b>Дзнелашвили Н.О., Касрадзе Д.Г., Таварткиладзе А.Г.</b> ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА И КОНЦЕНТРАЦИЯ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА И МЕЛАТОНИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ЭНДОМЕТРИАЛЬНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЕ.....	17
<b>Тулетаева С.Т., Аширбекова Ж.Ж., Манапова Д.Б., Алмурат С.С., Харченко В.В.</b> ЗАБОЛЕВАНИЯ ПАРОДОНТА У ДЕТЕЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА .....	25
<b>Шустеров Ю.А.</b> ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНТЕРЛАМЕЛЛЯРНОЙ РЕФРАКЦИОННОЙ ТОННЕЛЬНОЙ КЕРАТОПЛАСТИКИ В КОРРЕКЦИИ БЛИЗОРУКОСТИ И АСТИГМАТИЗМА .....	29
<b>Pakharenko L.</b> EFFECT OF ESTROGEN RECEPTOR GENE ESR1 POLYMORPHISM ON DEVELOPMENT OF PREMENSTRUAL SYNDROME .....	37
<b>Yıldırım Ç., Yüksel Ö.N., Ürkmez A., Özbay N., Verit A.</b> A RARELY SEEN CASE AMONG RETROPERITONEAL MASS LESIONS: PARAGANGLIOMA.....	41
<b>Цискаришвили Н.В., Кацитадзе А.Г., Цискаришвили Н.И., Читанава Л.А.</b> ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ ВИТИЛИГО И СТРЕССОМ В АНАМНЕЗЕ .....	45
<b>Ищейкин К.Е., Потяженко М.М., Люлька Н.А., Соколюк Н.Л., Хайменова Г.С.</b> СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ТЕРАПИИ КОМОРБИДНЫХ СОСТОЯНИЙ .....	49
<b>Берианидзе К.М., Кацитадзе А.Г., Джалагания Н.Г., Саникидзе Т.В.</b> РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО И ГОРМОНАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА В МЕХАНИЗМАХ СТАРЕНИЯ КОЖИ .....	54
<b>Калматаева Ж.А., Бекботаев Е.К., Скаков А.Б., Бримжанова М.Д., Омарова А.Э.</b> ОПЫТ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА ЭКСПЕРТНОЙ ОЦЕНКИ В ИССЛЕДОВАНИИ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ .....	58
<b>Чумакова Ю.Г., Вишневская А.А., Какабадзе А.З., Каралашвили Л.Г., Какабадзе З.Ш.</b> АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОДИФИЦИРОВАННОЙ МОДЕЛИ ЛИГАТУР-ИНДУЦИРОВАННОГО ПАРОДОНТИТА У КРЫС .....	63
<b>Николаишвили М.И., Гогуа М.Г., Франчуки К.Р., Тупинашвили Т.Н., Зурабашвили Д.З.</b> ВЛИЯНИЕ МАСЛА КОСТОЧЕК ВИНОГРАДА И КОРИАНДРА НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ .....	69

<b>Tsertsvadze T., Karchava M., Sharvadze L., Gatsrelia L., Dolmazashvili E.</b> DISCREPANCY BETWEEN HCV STRUCTURAL AND NON STRUCTURAL GENES IN GEORGIAN GENOTYPE TWO PATIENTS .....	74
<b>Abzianidze E., Kvaratskhelia E., Tkemaladze T., Kankava K., Gurtskaia G., Tsagareli M.</b> EPIGENETIC REGULATION OF ACUTE INFLAMMATORY PAIN .....	78
<b>Khachatryan R.</b> EVALUATION AND IMPLEMENTATION OF QUALITY STANDARDS TO ENSURE RELEVANT MEDICAL CARE IN THE SYSTEM OF MILITARY MEDICAL SERVICES OF ARMENIA .....	82
<b>Gogichadze M., Nemsadze M., Lortkipanidze N., Khachaturovy E., Oniani N.</b> REFLECTION OF TOLERANCE TO ALCOHOL IN THE STRUCTURE OF THE SLEEP WAKEFULNESS CYCLE .....	87

НАУКА

МЕТОД ЛОКАЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ  
ПРИ СИНДРОМЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Феоктистов В.А., Шакеев К.Т., Ахметова С.Б., Жанасова М.М., Беркут М.В.

*Карагандинский государственный медицинский университет, кафедра хирургических болезней №1, Казахстан*

В настоящее время отмечается неуклонный рост численности больных сахарным диабетом (СД) в промышленно развитых странах, в том числе и в Казахстане. Рост заболеваемости за 2000-2012 гг. составил с 0,72 до 1,17 на 100 тыс. населения, что свидетельствует об увеличении в 1,6 раз показателя распространенности СД, причем около 50% больных приходится на наиболее активный и трудоспособный возраст [4]. Показатель распространенности СД среди трудоспособного населения во всем мире позволяет судить о диабете, как о всемирной неинфекционной эпидемии, ведущей к росту гнойно-некротических осложнений (ГНО) нижних конечностей, которые являются причиной инвалидности и летальности при синдроме диабетической стопы. Синдром диабетической стопы (СдС), согласно определению ВОЗ - это инфекция, язва и/или деструкция глубоких тканей, связанная с неврологическими нарушениями и снижением магистрального кровотока различной степени тяжести в артериях нижних конечностей [1,7].

С учетом особенностей патогенеза во многих клиниках подход к местному лечению СдС подразумевает хирургическую обработку язвенного дефекта, механическое или химическое удаление некротической ткани и фибринозного налета, обработку краев раны и удаление гиперкератозов, вскрытие и дренирование гнойных затеков («карманов») с использованием специальных перевязочных материалов. Регулярная местная обработка нейропатических язв включает удаление краевого гиперкератоза, мешающего развитию краевой эпителизации и смыканию краев раны [3,10].

На сегодняшний день популярность постепенно завоевывает новая теория адекватной подготовки раневого ложа “Wound Bed Preparation” [2,6,8,9], которая является современной стратегией обработки основания раны с целью перевода хронической раны в острую, а затем удаления как некротического компонента, так и фенотипически измененных клеток краев и основания раны и продуцируемого ими экссудата. Необходимость подобной агрессивной обработки вызвана наличием в ране некротических тканей и фибриновой пленки, которые потенцируют инфекционные осложнения и фенотипическую трансформацию, ведущую к образованию биопленочных сообществ и нарушению процессов регенерации.

Целью данного исследования явилось оценка эффективности местного лечения гнойно-некротических осложнений при синдроме диабетической стопы с использованием различных методик.

**Материал и методы.** Наблюдались 83 больных гнойно-некротическим поражением стоп II-III стадии по классификации Wagner, которые находились в клинике хирургических болезней №1 Карагандинского государственного медицинского университета с января 2010 по декабрь 2013 года. На фоне известных методов хирургического лечения синдрома диабетической стопы и энзимотерапии в исследовании использован препарат гидрогель мирамистиновый (Miramistin, гидрогелевые пластины мирамистина 0,05%, производства РУП «Белмедпрепараты», Беларусь) совместно с физиотерапевтическими методами лечения.

Эпидемиологическое соотношение женщин (67,5%) и мужчин (32,5%) в представленной выборке составило 3:1. Все больные страдали СД типа 2, из них 25 (30%) были инсулинозависимыми. Средний возраст пациентов колебался в пределах  $56 \pm 3,9$  лет. Среди исследуемой группы больных выделены клинические формы: нейропатическая стопа - у 8 (9,64%) больных, нейроишемическая - у 26 (31,33%), ишемическая - у 49 (59,04%) больных.

Следуя протоколам лечения, базирующимся на теории “Wound Bed Preparation”, в качестве компонентов местного лечения выбраны различные средства. В группе А (29 больных, 35%) использовался гидрогель мирамистиновый, как современное аппликационное лекарственное средство, в группе В (27 больных, 32,5%) препарат клостридиопептидазы в качестве местной энзимотерапии, а в группе С (27 больных, 32,5%) для сравнения использовалась стандартная терапия гидрофильными мазями, промывание ран растворами антисептиков и физиотерапевтическое лечение. Больные во всех трех сравниваемых группах были сопоставимы по полу, возрасту и длительности течения СД.

Принцип использования в основной группе А гидрогеля мирамистинового заключался в следующем: после первичной хирургической обработки и гигиены раны производили аппликацию препарата непосредственно на раневую поверхность. Гидрогель тщательно моде-

лировался в соответствии с размерами поверхности раны и фиксировался марлевым бинтом, применялся в I и II фазах раневого процесса. перевязки выполнялись ежедневно. Лечение длилось от 10 до 16 суток в зависимости от размеров раневой поверхности и особенностей течения раневого процесса (в среднем, 10-12 дней).

В группе В использовался препарат клостридиопептидазы, содержащий в 1 г мази 0,6 ЕД активного ингредиента. Перед применением мази дно раны увлажнялось антисептическим раствором фурациллина путем прикладывания влажной повязки. Слой мази наносился непосредственно на слегка увлажненную область раны 1-2 раза в день.

Оценка эффективности местного лечения больных ГНО СдС производилась ежедневно посредством клинического наблюдения и динамического протоколирования. Подобная схема действий позволяет анализировать влияние исследуемого препарата на течение раневого процесса и объективно оценить состояние раны на различных этапах лечения. Для математического анализа лечебной эффективности выраженность проявлений раневого процесса оценивалась в баллах: 0 - признак отсутствует, 1 - слабо выражен, 2 - умеренно выражен, 3 - признак сильно выражен. Достоверность различий сравниваемых показателей оценивали, применяя критерий Стьюдента-Фишера (р). Контроль раневого процесса осуществлялся путем исследования мазков-отпечатков по методу М.В. Покровской, М.С. Макарова в модификации Д.М. Штейнберга [6].

Неотъемлемым элементом, дополняющим хирургическое лечение, являлся комплекс консервативных мероприятий, включающих в себя компенсацию углеводного обмена путем коррекции гликемии, целенаправленную антибактериальную терапию, ангиоактивные препараты и антикоагулянты.

**Результаты и их обсуждение.** В клинических условиях определена лечебная эффективность местного лечения гнойно-некротических осложнений при синдроме диабетической стопы, достоверность в пределах 95% (таблица 1). Сравнивая показатели группы А, в которой использован гидрогель мирамистинный, установлено,

что данное аппликационное лекарственное средство обладает рядом положительных качеств. Препарат удобен в применении, обладает высокой эластичностью, что позволяет моделировать его на поверхности раны. Безусловным преимуществом «гидрохирургического» метода обработки ран является малая травматизация здоровых тканей. Динамика раневого процесса в трех группах была сопоставима. Однако развитие грануляций в основной группе происходило достоверно быстрее, что ускорило начало эпителизации с 15 до 10 дней и как следствие, сократило длительность стационарного этапа лечения.

Сравнение параметрических критериев - нормализация локальной температуры, сдвиг в лейкоцитарной формуле выявило, что их динамика в группах В и С сопоставима и происходила на 4-6 сутки стационарного лечения. Нормализация температуры после начала лечения в основной группе происходила на сутки раньше (на  $3,3 \pm 0,8$  сутки), чем в группе сравнения (на  $5,5 \pm 0,6$  сутки).

Результаты исследования показали уменьшение воспалительных изменений в области гнойных ран в группе С в 2,43 раза быстрее, чем в группе В, что, по всей вероятности, связано с развитием контактного дерматита и экземы при использовании энзимотерапии. Кроме того, применение в группе С современных гидрофильных мазей имеет патогенетическое обоснование, так как они обладают противовоспалительным, противомикробным, анестезирующим, регенерирующим действиями, что позволяет увеличить скорость возникновения зоны эпителизации, сопоставимой с группой А -  $1,83 \pm 0,15$  и  $1,82 \pm 0,98$  баллов - в группе контроля. В последующем это привело к сокращению длительности лечения с 15 до 13,5 дней. Этим же и объясняется скорость регрессии воспалительных изменений в группе сравнения, где уже на 3 сутки клинически отмечается постепенное уменьшение отека вокруг язвы. Следует отметить, что отек купировался в 1,2 раза быстрее в основной и контрольной группах ( $p < 0,01$ ), чем в группе применения энзимопрепарата. Аналогичная ситуация отмечена в отношении гиперемии - в контрольной группе она имела место на протяжении  $3,9 \pm 0,2$  суток ( $p < 0,01$ ), а в группе В продолжалась до  $4,94 \pm 0,2$  суток ( $p < 0,01$ ).

Таблица 1. Динамика заживления раны у больных СДС II-III стадии по Wagner

Показатели	Группа А (n=29)		Группа В (n=27)		Группа С (n=27)		р
	до	после	до	после	до	после	
Вид грануляций	$0,36 \pm 0,15$	$0,91 \pm 0,40$	$0,3 \pm 0,36$	$0,76 \pm 0,2$	$0,36 \pm 0,33$	$0,5 \pm 0,47$	$< 0,05$
Зона эпителизации	$0,44 \pm 0,36$	$1,83 \pm 0,15$	$0,34 \pm 0,5$	$1,56 \pm 0,1$	$0,33 \pm 0,15$	$1,82 \pm 0,98$	$< 0,05$
Раневая контракция	$0,3 \pm 0,85$	$0,96 \pm 0,96$	$0,15 \pm 0,8$	$0,92 \pm 1,42$	$0,18 \pm 0,69$	$0,81 \pm 0,66$	$< 0,01$
Лейкоцитарная формула	$0,52 \pm 0,17$	$0,78 \pm 1,6$	$0,47 \pm 0,9$	$0,76 \pm 1,3$	$0,44 \pm 1,32$	$0,6 \pm 0,98$	$< 0,01$

В процессе лечения для объективной оценки результатов изучали цитограммы раневых отпечатков. Используемая методика Покровской выявила 4 из 6 типов цитологических картин по Штейнбергу. В группе А цитограммы на 2-4 сутки характеризовались подавляющим преобладанием нейтрофилов -  $76,4 \pm 0,72\%$  с высоким уровнем клеточной деструкции -  $49,18 \pm 0,5\%$ , малой долей макрофагов -  $4,2 \pm 0,4\%$  и фибробластов -  $3,8 \pm 0,2\%$ . Все это свидетельствует о затянувшемся регенераторном процессе на фоне сахарного диабета (рис. 1). На 6-8 сутки в гистологических препаратах у больных, получавших местное лечение гидрогелем мирамистинным, отмечено уменьшение количества лейкоцитов, что указывает на затихание воспалительного процесса (рис. 3). Появились фибробласты и капилляры наряду с макрофагами, лимфоцитами и тучными клетками. В более поздние сроки отмечается разрастание мелких кровеносных сосудов с высоким содержанием фибробластов и коллагеновых волокон. Одновременно с развитием грануляционной ткани идет эпителизация дефекта кожи.

Полный переход на репаративный процесс в группе В и С состоялся на 10-12 сутки лечения, что проявлялось в снижении количества полиморфноядерных нейтрофилов с  $89,4 \pm 0,4\%$  до  $58,6,4 \pm 0,36\%$ , увеличении макрофагов – с  $4,2 \pm 0,18\%$  до  $14,3 \pm 0,2\%$ , фибробластов – с  $1,44 \pm 0,85\%$  до  $6,4 \pm 0,3\%$ . (рис. 2, 4).

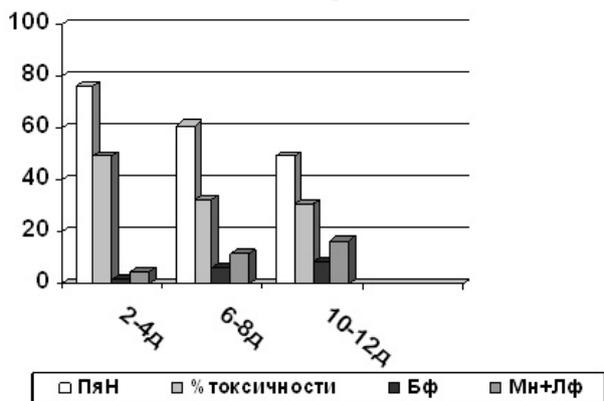


Рис. 1. Количественный учет клеточной инфильтрации раневого отпечатка группы А

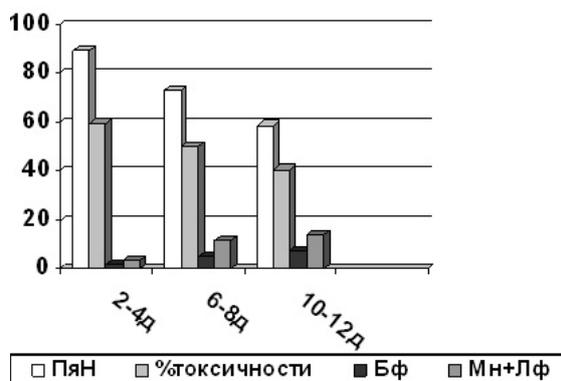


Рис. 2. Количественный учет клеточной инфильтрации раневого отпечатка группы В

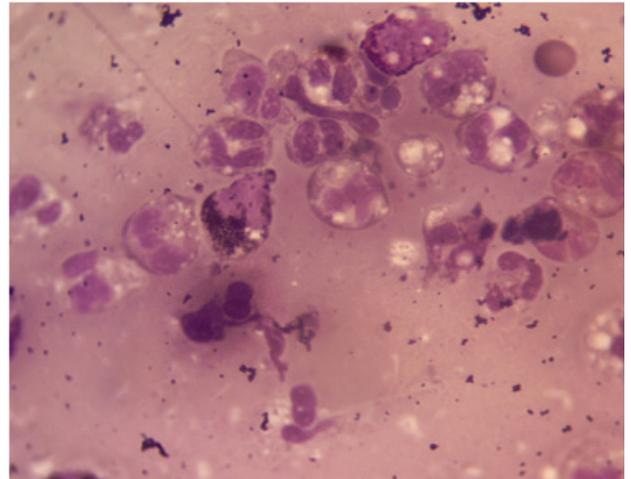


Рис. 3. Микропрепарат раневого отпечатка, забранного у больного группы А на 6 сутки стационарного лечения. Окраска по Романовскому-Гимзе. Иммерсионная микроскопия, 100x10

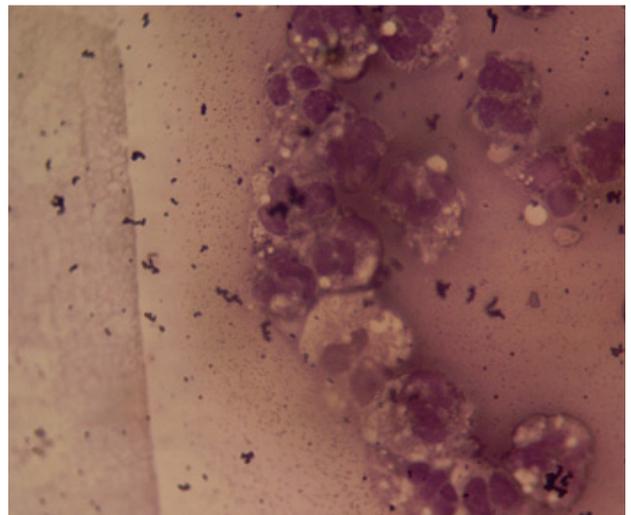


Рис. 4. Конгломерат незрелых мононуклеарных элементов. Отпечаток взят на 10 сутки в группе В. Окраска по Романовскому-Гимзе. Иммерсионная микроскопия, 100x10

Исследуя эффективность методик на разных фазах раневого процесса установлено, что гидрогель способствует очищению ран в 2,03 раза эффективнее в первой фазе развития грануляций ( $0,91 \pm 0,40$ ) и способствует более интенсивной регенерации во второй фазе, что позволяет эффективно и в более короткие сроки подготовить гнойные раны к наложению вторичных швов и аутооттрансплантационному закрытию раневых дефектов.

#### Заключение.

В настоящее время с учетом особенностей патогенеза в клинике разработан единый подход к лечению синдрома диабетической стопы. В основу терапии язвенных дефектов нижних конечностей положены следующие принципы: метаболический контроль, коррекция гли-

кемии, адекватная схема эмпирической антибактериальной терапии, и ключевой момент - обработка дна раны, способствующая переводу хронической раны в состояние острой и для активации эндогенных процессов регенерации тканей.

При использовании предложенного препарата удалось добиться более интенсивного очищения ран, уменьшения выраженности интоксикационного и болевого синдромов, сокращения длительности стационарного лечения с 28-30 дней до 18-19.

Обработка дна раны лекарственными средствами на основе гидрогелевых полимерных матриц на примере гидрогеля мирамистинового обладает более высокой лечебной эффективностью по сравнению с локальной энзимотерапией; особенно высока эффективность при противопоказаниях применения других способов хирургической коррекции.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бубнова Н.А., Супрун К.С., Шатиль М.А., Будылёв А.С. Лечение синдрома диабетической стопы в условиях много-

профильного стационара. Вестник Санкт-Петербургского университета 2008; 11(4): 119-124.

2. Оболенский В.Н. Синдром диабетической стопы в клинической практике. РМЖ 2010; 18(2): 45-54.

3. Черняк В.А., Мишалов В.Г., Коваль Б.М., Сопко А.И. Современные способы профилактики и лечения синдрома диабетической стопы. Украинский журнал гематологии та трансфузиологии 2012; -4(15): 60-68.

4. Статистический сборник. Здоровье населения РК и деятельность организаций здравоохранения в 2011 году. Астана: 2012.

5. Шляпников С.А. Хирургические инфекции мягких тканей - старая проблема в новом свете. Инфекции в хирургии 2007; 1: 4-22.

6. Штейнберг Д.М. Метод цитогамм в изучении регенерации явля заживающих ран. Труды госпитальной хирургической клиники. Л.: 1948; 124-133.

7. Boulton A.J., Vileikyte L. The diabetic foot: the scope of the problem. J.Fam.Pract. 2000; 49: 3-8.

8. Dowsett C., Ayello E. TIME principles of chronic wound bed preparation and treatment. Br J Nurs 2004; 13(Suppl 15): 16-23.

9. European Wound Management Association Position Document: Identifying Criteria for Wound Infection. MEP Ltd, London: 2005.

10. Melissa F. Green, Zarrintaj Aliabadi, Bruan T. Green Diabetic foot: Evaluation and management. South. Med. J. 2006; 95(1): 95-101.

#### SUMMARY

### LOCAL TREATMENT OF PURULENT-NECROTIC COMPLICATIONS OF DIABETIC FOOT SYNDROME

Feoktistov V., Shakeyev K., Akhmetova S., Zhanassova M., Berkut M.

*Karaganda State Medical University, Department of surgical diseases №1, Republic of Kazakhstan*

Diabetic foot syndrome is the most frequent and severe complication of diabetes. At present, problem has not been fully resolved, which may lead to the development of more effective ways of correction of purulent complications.

The study investigates the efficacy of Hydrogel bandage (Miramistin) combined with physiotherapeutic methods in the treatment of purulent-necrotic lesions of foot. Eighty-three patients with purulent-necrotic lesions of foot were treated at the Clinic of Surgical Diseases №1.

The proposed method of treatment demonstrated a greater efficacy than currently available treatments: better cleaning of wounds, reduction of the severity of intoxication and pain, decrease of the duration of inpatient treatment from 28-30 days to 18-19.

Hydrogel bandage (Miramistin) is the most efficient drug in prevention and treatment of purulent and infectious complications.

**Keywords:** diabetic foot syndrome, treatment, Miramistin.

#### РЕЗЮМЕ

### МЕТОД ЛОКАЛЬНОГО ЛЕЧЕНИЯ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ СИНДРОМЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Феоктистов В.А., Шакеев К.Т., Ахметова С.Б., Жанасова М.М., Беркут М.В.

*Карагандинский государственный медицинский университет, кафедра хирургических болезней №1, Казахстан*

Синдром диабетической стопы является наиболее частым и тяжелым осложнением сахарного диабета. Для

лечения этого синдрома применяется комплексная терапия, однако, данная проблема полностью не решена, что

диктует необходимость разработки более эффективных способов коррекции гнойных осложнений.

Объектом исследования явились 83 больных гнойно-некротическим поражением стопы, которые находились в клинике хирургических болезней №1. На фоне известных методов хирургического лечения синдрома диабетической стопы и энзимотерапии в данном исследовании совместно с физиотерапевтическими методами лечения использован препарат клостридиопептидазы (гидрогель мирамистинный).

Применение клостридиопептидазы обеспечило более интенсивное очищение ран, уменьшение выраженности интоксикационного и болевого синдромов, сократило длительность стационарного лечения с 28-30 до 18-19 дней.

При развитии гнойно-инфекционных осложнений наиболее эффективным препаратом является гидрогель мирамистинный, особенно высока эффективность при противопоказаниях применения других способов хирургической коррекции.

### რეზიუმე

ჩირქოვან-ნეკროზული გართულებების ლოკალური მკურნალობის მეთოდი  
დიაბეტური ტერფის სინდრომის დროს

ვ. ფეოქტისტოვი, კ. შაკევი, ს. ახმეტოვა, მ. ჟანასოვა, მ. ბერკუტი

ყარაგანდის სახელმწიფო სამედიცინო ინჟინერსიტეტი,  
ქირურგიული სნეულებეთა №1 კათედრა, ყაზახეთი

დიაბეტური ტერფის სინდრომი შაქრიანი დიაბეტის ყველაზე ხშირი და მძიმე გართულებაა. მის მკურნალობაში გამოიყენება კომპლექსური თერაპია, მაგრამ ეს პრობლემა სადღეისოდ არ არის გადაჭრილი, რაც განსაზღვრავს ჩირქოვანი გართულებების კორექციის უფრო ეფექტური ხერხების ძიების აუცილებლობას.

გამოკვლევის ობიექტს წარმოადგენდა 83 ავადმყოფი ტერფის ჩირქოვან-ნეკროზული დაზიანებით, რომელთაც მკურნალობა უტარდებოდა ქირურგიული დაავადებების №1 კლინიკაში.

დიაბეტური ტერფის სინდრომის ქირურგიული მკურნალობის ცნობილი მეთოდების და ენზიმოთერაპიის ფონზე, მკურნალობის ფიზიოთერაპევტულ მეთოდებთან ერთად, გამოყენებული იყო კლოსტრიდიოპეპტიდაზას პრეპარატი (მირამისტინის ჰიდროგელი).

პრეპარატის გამოყენებით მიღწეული იქნა ჭრილობების უფრო ინტენსიური გასუფთავება, ინტოქსიკაციური და ტკივილის სინდრომების გამოფლენის შემცირება, სტაციონარული მკურნალობის ხანგრძლივობა შემცირდა 28-30-დან 18-19 დღემდე.

## PECULIARITIES OF SEXUAL DEVELOPMENT AND REPRODUCTIVE FUNCTION IN YOUNG WOMEN WITH CHILDHOOD ONSET WEIGHT PROBLEMS

Chikvaidze N., Kristesashvili J., Gegechkori M.

*I. Zhordania Institute of Human Reproduction, Tbilisi, Georgia*

Body fat has a regulatory role in reproductive system [2]. Except for endocrine glands (adrenal cortex and gonads), sex steroids are produced by fat cells [14]. Large amounts of fat cells produce respectively large amounts of estrogens (causes the organism to react as if in case of contraception). The lack of fat tissue causes lack of estrogens and thus disruption of menstrual cycle and ovulation [16,18,19]. So, extremes of body mass adversely affect reproductive function, starting from pubertal development, menstrual function and fertility [13].

Age of menarche varies internationally. Across well-nourished populations in developed countries, median age at menarche is between 12 and 13 years [3]. The critical weight hypothesis states that the onset and regularity of menstrual function necessitate maintaining weight above a critical level, therefore above the critical amount of body fat [19]. Higher gain in BMI during childhood is related to an earlier onset of puberty and menarche [5,10,22]. So the age of menarche tends to be lower in obese and higher in underweight compared to girls with normal weight,

which may have implications for subsequent reproductive problems. For example, evidence exists that severity of dysmenorrheal symptoms positively correlates with early menarche [20,25].

Among a wide range health risks, obesity causes gynecological-endocrine problems such as, hyperinsulinemia, insulinresistance, hyperandrogenism, anovulation, polycystic ovary syndrome (PCOS), infertility and in case of achieving pregnancy – following obstetric risks [19]. In case of pregnancy, the risk of spontaneous abortion is increased in both pre-pregnant overweight and underweight women [11,21].

Rapid weight loss, especially due to stressful situations, eating disorders and excess physical activity, leads to hypothalamic amenorrhea (hypogonadotropic hypogonadism), ovulation problems, exhaustion of follicles and thus infertility [19,23,24].

Most evidence regarding the association of BMI and reproductive health problems refer to rapid weight loss or rapid weight gain or that associated to eating disorders [12,17,19,24]. But there are not enough and consistent data proving whether elevated risks are related to being overweight or underweight in childhood.

So it was interesting to investigate the relationship between childhood BMI and subsequent reproductive problems in female patients with current BMI problems.

**Material and methods.** The study was conducted at I. Zhordania Institute of Human Reproduction, between the periods of September 2012 – April 2014.

103 females (age range 12-30 years), who addressed I. Zhordania Institute of Human Reproduction, with different reproductive problems (menstrual disorders, acne, excess body hair etc), were recruited prior to the commencement of their treatment. The inclusion criteria were: age – 2

years after menarche up to 30 years; body mass index (BMI) <18.5 or ≥25 kg/m<sup>2</sup>; childhood thinness or childhood obesity. The exclusion criteria were: any type of chronic disease, eating disorders, hormonal therapy or contraception six months prior to the study.

The females were distributed into two groups. The mean age of patients did not differ between the groups of underweight (n=48, mean age - 20.1 years, p<.05) and overweight (n=55, mean age - 20.9, P<.05) patients.

Full clinical examination including measurement of height, weight and BMI (weight divided by square of height – kg/m<sup>2</sup>); waist-to-hip ratio and gynecological ultrasound (Volusson S 6) was held. Age of body weight changes, assessment of hirsutism (modified Ferriman and Gallwey score >8), acne (mild to severe), stretch marks (white or colorful striae) and pigmentation (acanthosis nigricans), menstrual disturbances or fertility problems were recorded. Sexual development was assessed by the Tanner scale.

PCOS was diagnosed according to the Rotterdam 2003 criteria. The other diagnoses were established according to the respective clinical-hormonal-instrumental data.

Statistical analysis was held by IBM SPSS 20. A P value <.05 was considered significant, with confidence interval 95%. Comparisons of two independent groups were made using the Student t test, Chi-square or F-Test. Correlation analysis was held by Pearson correlation.

**Results and their discussion.** All 103 patients had BMI problems since childhood. However 33.3% of underweight and 63.6% of overweight patients mentioned deterioration of their respective BMI since the period of menarche. The mean BMI totaled 17.15 k/m<sup>2</sup> (SD 0.91) (Range 15-18.49k/m<sup>2</sup>) in the group of underweight patients and 31.30 k/m<sup>2</sup> (SD 5.6) (Range 25-47k/m<sup>2</sup>) in overweight patients. Distribution of the patients according to BMI is given in the Table 1.

Table 1. Distribution of patients according to BMI in study groups (%)

BMI k/m <sup>2</sup>	Underweight n(%)	BMI k/m <sup>2</sup>	Overweight n(%)	p value
<16	6 (12.5%)	25-29.9	27 (49.1%)	.000
16-16.99	8 (16.7%)	30-34.9	15 (27.3%)	
17-18.49	34 (70.8%)	35-39.9	7 (12.7%)	
18.5-24.99	0	>40	6 (10.9%)	
Total n	48 (100%)	Total n	55 (100%)	

note: BMI Classification according to WHO 2004; p-value <.05 considered significant

Table 2. Body fat distribution in the study groups (%)

Type of body fat distribution	BMI <18.5	BMI ≥25	p value
Equal	32 (66.7%)	9 (16.4 %)	.000
Apple shape	1 (2.1%)	41 (74.5%)	
Pear shape	15 (31.3%)	5 (9.1%)	
Total	48 (100%)	55 (100%)	

note: p-value <.05 considered significant

Table 3. Distribution of patients according to menstrual patterns in study groups (%)

Menstrual Function	BMI <18.5	BMI ≥25	p value
Regular Cycle	5 (10.4%)	11 (20%)	.34
I Amenorrhea	6 (12.5%)	2 (3.6%)	
II Amenorrhea	7 (14.6%)	8 (14.5%)	
Oligomenorrhea	20 (41.7%)	23 (41.8%)	
Dysmenorrhea	3 (6.3%)	4 (7.3%)	
Menorrhagia	2 (4.2%)	5 (9.1%)	
Menometrorrhagia	5 (10.4%)	2 (3.6%)	
Total	48 (100%)	55 (100%)	

note: p-value <.05 considered significant

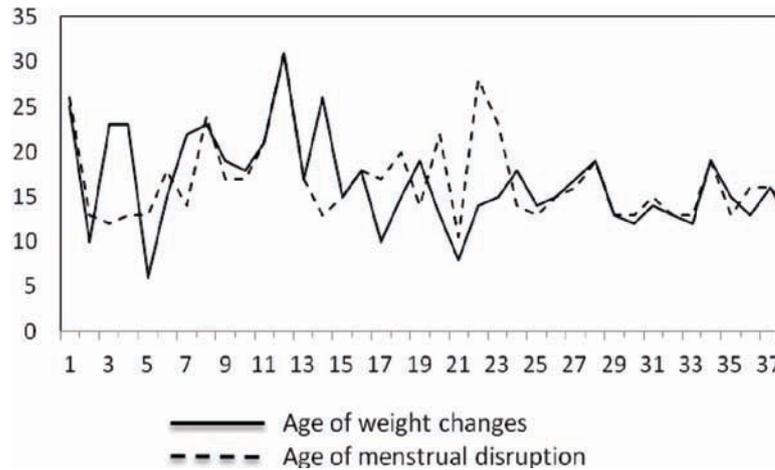


Fig. Comparison of the ages of weight changes and the ages of menstrual disruption

74.5% of overweight and obese patients had upper body fat distribution – apple shape (waist-to-hip ratio > 0.8), whilst underweight patients had mostly equal (66.7%) or lower body fat distribution (31.3%) (p=.000) (Table 2).

There was no statistically significant difference (P=.885) in the study groups in terms of the mean age of menarche, which totaled - 12.95 y (SD 1.48) in the group of overweight and obese patients and - 12.91 y (SD 1.63) in the group of underweight females. Regular menstrual cycle since the onset of menarche was detected in 5 (10.4%) underweight patients and 11 (20%) overweight patients. The rest of the patients had different types of menstrual disorders, with no statistically significant distribution between the study groups (Table 3).

The correlation was established between the onset of menstrual disruption and progression of changes in body mass (R=.448, p=.005) (Fig.).

Hirsutism, stretch marks and acanthosis nigricans (hyperpigmentation) were exhibited significantly more frequently in the patients with high BMI (p<.05), whilst distribution of acne was almost the same in the study groups (p>.05).

In the group of low BMI patients non-classical congenital adrenal hyperplasia (NCAH) and ovarian dysfunction turned out to be most frequent of all the diagnoses, whilst in the group of high BMI patients PCOS and metabolic

syndrome prevailed. 46 patients had PCOS, but metabolic disorders, insulin resistance (HOMA-IR>2.77) and obesity (BMI>30 k/m<sup>2</sup>) were particularly expressed in 25 patients (Table 4).

A small minority of patients were sexually active: 9 (18.7%) patients in low BMI group and 19 (34.5%) patients in high BMI group. Infertility was observed in 4 (8.4%) underweight and 16 (29.1%) overweight patients (p<.05).

Existing evidence proving the adverse effects of extreme BMI on reproduction, mostly refers to current BMI, rapid weight changes and stressful situations such as excessive physical activities and eating disorders [12,17,23,19,24]. In our study groups we included patients with childhood thinness or childhood obesity. It is very interesting, that according to the results of our study, the age of menarche does not differ between the patients with childhood extreme BMI; that does not support existing evidence, proving that the onset of menarche takes place earlier in the overweight and later in underweight females [5,7,10,22]. Evidence exists that when training starts before menarche, the latter can be delayed by as much as 3 years and the subsequent incidence of menstrual irregularity is higher [15]. It was quite interesting that we could not find a significant difference regarding the menstrual disorders between the study groups, although the tendency of amenorrhea and menometrorrhagia was revealed in low BMI patients.

Table 4. Distribution of patients according to the diagnosis in the study groups (%)

Diagnosis	BMI <18.5	BMI ≥25	p value
PCOS	3 (6.3%)	21 (38.2%)	.000
Metabolic Syndrome & PCOS	0%	25 (45.5%)	
NCAH	14 (29.2%)	0%	
Ovarian Dysfunction	10 (20.8%)	2 (3.6%)	
Hyperprolactinemia	6 (12.5%)	5 (9.1%)	
Dysmenorrhea	4 (8.3%)	0%	
Eugonadotropic Amenorrhea	5 (10.4%)	1 (1.8%)	
Premature Ovarian Failure	1 (2.1%)	0%	
Mullerian Agenesis	1 (2.1%)	0%	
Gonadal Dysgenesis	1 (2.1%)	0%	
Endometriosis	2 (4.2%)	1 (1.8%)	
Ovarian Follicular Cyst	1 (2.1%)	0%	
Total	48 (100%)	55 (100%)	

note: p-value <.05 considered significant

Excess training, undernourishment and low BMI adversely affects on reproductive function and thus fertility [24]. Even a moderate weight loss of 10-15% under ideal body weight can result in menstrual irregularity [1,8]. Exercise induced amenorrhea is mostly attributed to hypothalamic amenorrhea [23]. Hypogonadotropic hypogonadism, which is characteristic to rapid weight loss associated with stressful situations, eating disorders or excessive training, was not detected in our patients who were underweight from childhood.

The correlation was established between the onset of menstrual disruption and progression of BMI changes, what coincides with the existing evidence, but it is worth mentioning that our patients were underweight or overweight from childhood and some of them just ‘deteriorated’ their BMI since/after menarche. However existing evidence mostly focuses on rapid excessive weight gain or weight loss.

Diagnoses of investigated patients turned out to be consistent with typical BMI changes. It is known that PCOS is characteristic to patients with high BMI [12,24]. Evidence exist that childhood obesity impacts the development of adolescent PCOS. It is also known that NCAH is not connected to high BMI [4,9]. Females with late onset form of CAH have normal external genitalia and present later, during childhood or early adolescence, with precocious puberty or as young adults with other signs of hyperandrogenism, such as acne, hirsutism, and menstrual irregularity, very much like those with PCOS [19]. To some extent this can explain the fact that there was no difference in terms of onset of menarche between the study groups.

So the results of our study shows that the characteristics of reproductive disorders, age of menarche, menstrual patterns are to some extent different in patients who have childhood BMI problems, compared to those who demonstrate substantial weight changes associated with stress, eating disorders and exercise [12,24]. Further research should be held to collect a broader range of data (recruit more

patients), considering the onset and type of BMI changes, in order to assess the fertility and pregnancy outcome risks and work out special treatment protocols.

In conclusion, according to the results of our study the age of menarche and different menstrual disorders does not significantly differ in underweight and overweight or obese patients since childhood, although the progression of BMI changes correlates with the onset of menstrual disruptions. So peculiarities of sexual development and menstrual function in young females with childhood thinness & obesity are related to their reproductive disorders, childhood BMI and progression of BMI changes.

## REFERENCES

1. Богданова Е.А. Детская и подростковая гинекология. М.: Медицинское информационное агенство: 2000.
2. Akhter N., Jebunnaheer S. Evaluation of Female Infertility. J Medicine 2012; 12: 200-209.
3. American Academy of Pediatrics, Committee on Adolescence, American College of Obstetricians and Gynecologists, Committee on Adolescent Health Care. Menstruation in Girls and Adolescents: Using the Menstrual Cycle as a Vital Sign. Pediatrics 2006; 118: 2245-2250.
4. Anderson AD, Solorzano CM, McCartney CR. Childhood obesity and its impact on the development of adolescent PCOS. Semin Reprod Med 2014; 3: 202-13.
5. Apter D, Hermanson E. Update on female pubertal development. Curr Opin Obstet Gynecol. 2002; 14:475-481.
6. Arrais R.F., Dib S.A. The hypothalamus-pituitary-ovary axis and type1 diabetes mellitus: a mini review. Human Reproduction 2006; 21: 327-337.
7. Berek J.S., Adashi E.Y. Novak’s Gynecology. 12<sup>th</sup> edition. Baltimore: Williams&Wilkins; 2002.
8. Corrine K Welt. Absent or irregular periods. UpToDate <http://www.uptodate.com/contents/absent-or-irregular-periods-beyond-the-basics>
9. Fanta M1, Cibula D, Vrbíková J. Prevalence of nonclassic adrenal hyperplasia (NCAH) in hyperandrogenic women. Gynecol Endocrinol. 2008; 24(3):154-7.
10. He Q, Karlberg J. BMI in childhood and its association with height gain, timing of puberty and final height. Pediatr Res. 2001;49:244-251.

11. Helgstrand S., Andersen A-M.N. Maternal underweight and the risk of spontaneous abortion. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 2005; 84: 1197-1201.
12. Hirschberg A.L. Sex hormones, appetite and eating behaviour in women. *Maturitas* 2012; 71: 248-256.
13. Lake JK, Power C, Cole TJ. Women's reproductive health: the role of body mass index in early and adult life. *International Journal of Obesity* 1997; 21: 432-438.
14. Nelson LR, Bulun SE. Estrogen production and action. *J Am Acad Dermatol* 2001; 45 (3 Suppl): 116-24.
15. Palaniappan LP, Carnethon MR, Fortmann SP. Heterogeneity in the relationship between ethnicity, BMI, and fasting insulin. *Diabetes Care* 2002; 25:1351.
16. Reid RL, van Vugt DA. Weight-related changes in reproductive function. *Fertil Steril*. 1987; 48: 905-913.
17. Rich-Edwards J.W., Spiegelman D., Garland M., Hertzmark E., Hunter D.J., Colditz G.A., Willet W.C., Wand H., Jo Ann E. Manson. Physical Activity, Body Mass Index and Ovulatory Disorder Infertility. *Epidemiology* 2002; 12: 184-190.
18. Sloboda D.M., Hickey M., Hart R. Reproduction in females: the role of the early life environment. *Human Reproduction* 2010; 2: 210-227.
19. Speroff L, Mark A. Fritz, *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. 8<sup>th</sup> Ed. Philadelphia; Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business; 2011.
20. Sundell G, Milsom I, Andersch B. Factors influencing the prevalence of severity of dysmenorrhea in young women. *Br J Obstet Gynaecol* 1990; 97: 588-594.
21. Wang J.X., Davies M.J., Norman R.J. Obesity increases the risk of spontaneous abortion during infertility treatment. *Obesity Research* 2002; 10: 6.
22. Wang Y. Is obesity associated with early sexual maturation? A comparison of the association in American boys versus girls. *Pediatrics*. 2002;110:903-910.
23. Warren MP. Health Issues for Women Athletes: Exercise-Induced Amenorrhea. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999; 84: 1892-1896.
24. Wendy Chang. *Body Fat, Exercise & Fertility*. Southern California Reproductive Center. 2014.
25. Zeev Harel. *Dysmenorrhea in Adolescents and Young Adults: Etiology and Management*. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*. 2006; 19: 6: 363-371.

## SUMMARY

### PECULIARITIES OF SEXUAL DEVELOPMENT AND REPRODUCTIVE FUNCTION IN YOUNG WOMEN WITH CHILDHOOD ONSET WEIGHT PROBLEMS

Chikvaidze N., Kristesashvili J., Gegechkori M.

*I. Zhordania Institute of Human Reproduction, Tbilisi, Georgia*

The risks of reproductive problems are higher in underweight and overweight or obese women, especially in case of rapid weight gain or loss. But evidence is inconsistent especially in relation to the effect of age of body weight changes. The aim of the study was detection of peculiarities of sexual development and reproductive function in underweight and overweight/obese females with childhood thinness or childhood obesity.

103 young females (48 – with low BMI, 55 – with high BMI) with different reproductive problems were examined prospectively. In all investigated patients full clinical examination was held, including body mass index (BMI), type of body fat distribution (waist-to-hip ratio), age of body weight changes, assessment of hirsutism, acne, stretch marks and hyperpigmentation, menstrual disturbances and fertility problems were recorded and gynecological ultrasound was performed.

There was no difference established according to the age of menarche and types of menstrual disturbances between the groups of low BMI and high BMI females ( $p > .05$ ). The correlation was established between the onset of menstrual disruption and progression of changes in body mass ( $R = .448$ ,  $p = .005$ ). Hirsutism, stretch marks and acanthosis nigricans (hyperpigmentation) were exhibited significantly more frequently in the patients with high BMI ( $p < .05$ ), whilst distribution of acne was almost the same in the study groups ( $p > .05$ ). 74.5% of overweight and obese patients had upper body fat distribution (waist-to-hip ratio  $> 0.8$ ), whilst underweight patients had mostly equal (66.7%) or lower body fat distribution (31.3%) ( $p = .000$ ). Polycystic ovarian syndrome (PCOS) and metabolic syndrome (MS) was the most frequent in overweight and obese patients, whilst non-classical congenital adrenal hyperplasia (NCAH) and ovarian dysfunction prevailed in the underweight females ( $p < .05$ ). Infertility was mostly observed in patients with high BMI ( $p < .05$ ).

In conclusion, the peculiarities of sexual development and menstrual function in young females with childhood thinness and obesity are related to their reproductive disorders, childhood BMI and progression of BMI changes.

**Keywords:** body mass index, body weight changes, childhood obesity. Thinness, reproductive health.

## РЕЗЮМЕ

### ОСБЕННОСТИ ПОЛОВОГО РАЗВИТИЯ И РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ МОЛОДЫХ ЖЕНЩИН, ИМЕЮЩИХ ПРОБЛЕМЫ ВЕСА С ДЕТСКОГО ВОЗРАСТА

Чикваидзе Н.П., Кристесашвили Дж.И., Гегечкори М.Т.

*Научно-исследовательский институт репродукции человека им. И. Жордания, Тбилиси, Грузия*

Целью исследования явилось определение особенностей полового развития и репродуктивной функции у женщин, имеющих недостаточный или избыточный вес/ожирение с детского возраста.

103 молодые пациентки (48 - с низким индексом массы тела - ИМТ, 55 - с высоким ИМТ) с различными репродуктивными проблемами были проспективно исследованы. Проведено полное клиническое обследование пациенток, включая определение ИМТ, типа распределения жира (отношение объема талии к объему бедер), возраста изменения веса тела, характера нарушения менструального цикла, наличия гирсутизма, акне, стрий и гиперпигментации, изучение рисков фертильности и гинекологическое УЗИ. В результате проведенных исследований, различий по возрасту менархе и типов менструальных нарушений между группами женщин с низким и высоким ИМТ не выявлено ( $p > .05$ ). Однако, установлена позитивная корреляция между началом нарушений менструального цикла и прогрессированием изменений ИМТ ( $R = .448, p = .005$ ). Гирсутизм, стрии и *acanthosis nigricans* (гиперпигментация) значительно чаще встречались у пациенток с высоким ИМТ ( $p < .05$ ), в то время как по частоте встречаемости акне различий по исследуемым группам не выявлено ( $p > .05$ ). 74,5% пациенток с избыточным весом или ожирением имели абдоминальное ожирение (показатель отношения объема талии к объему бедер  $> 0,8$ ), в то время как недостаточный вес пациенток коррелировал, в основном, с равномерно распределенным (66,7%) или гиноидным ожирением (31,3%) ( $p = .000$ ). Синдром поликистозных яичников и метаболический синдром чаще встречались у пациенток с избыточным весом и ожирением, а неклассическая форма врожденной гиперплазии коры надпочечников и дисфункции яичников по частоте преобладали у женщин с недостаточным весом ( $p < .05$ ). Бесплодие, в основном, наблюдалось у пациенток с высоким ИМТ ( $p < .05$ ).

Таким образом, особенности полового развития и менструальной функции у молодых женщин, имевших недостаточный вес и ожирение с детского возраста, связаны с определенными типами репродуктивных расстройств у них и прогрессированием изменений ИМТ.

### რეზიუმე

სქესობრივი განვითარებისა და რეპროდუქციული ფუნქციის თავისებურებები ბავშვობიდან სიგამხდრისა და სიმსუქნის მქონე ახალგაზრდა ქალებში

ბ. ჩიკვაიძე, ჯ. ქრისტესაშვილი, მ. გუგუჭკორი

ი. ჟორდანიას სახ. ადამიანის რეპროდუქციის ინსტიტუტი, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანი იყო სქესობრივი განვითარებისა და რეპროდუქციული ფუნქციის

თავისებურებების დადგენა სხეულის მასის დეფიციტისა და სიჭარბის/სიმსუქნის მქონე მდედრობითი სქესის პაციენტებში, რომელთაც სიგამხდრე ან სიმსუქნე აღენიშნებოდათ ბავშვობის პერიოდიდან.

სხვადასხვა რეპროდუქციული პრობლემის მქონე 103 ქალს (48 – დაბალი სხეულის მასის ინდექსით - სმი, 55 – მაღალი სმი-ით) ჩატარდა სრული კლინიკური გამოკვლევა, მათ შორის: სმი, სხეულის ცხიმოვანი მასის გადანაწილების (თქო-წელის გარშემოწერილობის ფარდობა), მასის ცვლილების ასაკის, ჰირსუტიზმის, აკნეს, სტრიებისა და ჰიპერპიგმენტაციის, მენსტრუალური დარღვევებისა და ფერტილობის პრობლემების შეფასება.

მენარხეს ასაკისა და მენსტრუალური დარღვევების ტიპების მიხედვით, დაბალი სმი-ს და მაღალი სმი-ს ჯგუფებს შორის სტატისტიკურად სანდო სხვაობა არ დადგინდა ( $p > .05$ ). გამოვლინდა დადებითი კორელაცია მენსტრუალური ციკლის დარღვევას და სმი-ს ცვლილებების პროგრესირებას შორის ( $R = .448, p = .005$ ). ჰირსუტიზმის, სტრიებისა და შავი აკანტოზის სიხშირე (ჰიპერპიგმენტაცია) მნიშვნელოვნად სჭარბობდა მაღალი სმი-ის მქონე პაციენტებში ( $p < .05$ ), ხოლო აკნეს სიხშირე თითქმის თანაბრად განაწილდა საკვლევ ჯგუფებში ( $p > .05$ ).

პაციენტთა 74.5%-ს აღენიშნებოდა სხეულის ცხიმოვანი საფარველის აბდომინური ხასიათის გადანაწილება (თქო-წელის გარშემოწერილობის ფარდობა  $> 0,8$ ), ხოლო სხეულის მასის დეფიციტის მქონე პაციენტებში აღინიშნებოდა თანაბარი (66.7%) ან გინოიდური (31.3%) ტიპის გადანაწილება ( $p = .000$ ). საკვერცხეების პოლიკისტოზის სინდრომი და მეტაბოლური სინდრომი ყველაზე ხშირი დიაგნოზები იყო სხეულის მასის სიჭარბის ან სიმსუქნის მქონე პაციენტებში, ხოლო ადრენო-გენიტალური სინდრომის არაკლასიკური ფორმა და ოვარიული დისფუნქცია პრევალირებდა მასის დეფიციტის მქონე პაციენტებში ( $p < .05$ ). ინფერტილობა ძირითადად გამოვლინდა მასის სიჭარბის მქონე პაციენტებში ( $p < .05$ ).

ამრიგად, სქესობრივი განვითარებისა და მენსტრუალური ფუნქციის თავისებურებები ბავშვობიდან სიგამხდრის ან სიმსუქნის მქონე ახალგაზრდა ქალებში უკავშირდება მათი რეპროდუქციული დარღვევების სახეობას და ბავშვობის სმი-ის ცვლილების პროგრესირებას.

## ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА И КОНЦЕНТРАЦИЯ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА И МЕЛАТОНИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ЭНДОМЕТРИАЛЬНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЕ

Дзнелашвили Н.О., Касрадзе Д.Г., Таварткиладзе А.Г.

*Медицинский университет им. Д. Твилдиани, департамент патологии человека. Тбилиси, Грузия*

В научной литературе данные об экспрессии рецептора эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR) в эндометриальных карциномах и содержании эпидермального фактора роста (epidermal growth factor, EGF) в сыворотке крови больных противоречивы. Согласно данным некоторых авторов, в эндометриальных карциномах экспрессия EGFR проявляется в 43-71% [13,17]; в том числе выраженная экспрессия – в 22%. По мнению Niikura H. et al. [12], экспрессия EGFR проявляется в 67,5%, тогда как в норме отмечается в 58,3%. Выявляемость EGFR в пролиферирующем эндометрии, т.е. в норме, больше чем в неопластическом эндометрии [8,11,12]. Более того, в эндометриальных карциномах имеет место так называемая нисходящая регуляция экспрессии EGFR [11], т.е. в злокачественной опухоли EGFR проявляется реже, чем при пограничном состоянии, доброкачественной опухоли или в норме [7,18]. Экспрессия EGFR не связана со степенью злокачественности опухоли [11,13], гистологическим типом опухоли, инвазией [11,17], уровнем половых стероидных гормонов, наличием рецепторов эстрогенов и прогестерона, стадией [8] или клиническим исходом болезни [11].

Существуют также данные о том, что экспрессия EGFR в эндометриальных карциномах практически такая же как и в норме – в пролиферативной фазе менструального цикла [9], а иногда и в гиперплазированном эндометрии [3,4]. Выявленная экспрессия EGFR коррелирует с гистологически низкой дифференцировкой опухоли [6,10,16,17].

Что касается уровня EGF в плазме крови, то, по мнению J. Tomaszewski et al. [19], его средние показатели при эндометриальных карциномах повышены по сравнению с нормой; наиболее высокое содержание EGF в плазме крови наблюдается при эндометриальных карциномах со средней степенью дифференциации, тогда как низкие уровни плазменного EGF наблюдаются при карциномах с низкой степенью дифференциации. По данным некоторых авторов [8], EGF не коррелирует со степенью злокачественности, стадией опухоли и продолжительностью жизни больного. Интерес представляет также роль и значение мелатонина (универсального антипролиферативного и антинеопластического гормона) в

эндометриальных карциномах [5,15]; однако такие данные в научной литературе не обнаружены.

Целью исследования явилось изучение экспрессии рецептора эпидермального фактора роста в эндометриальных аденокарциномах, определение уровня эпидермального фактора роста и мелатонина в крови указанных больных и оценка полученных результатов.

**Материал и методы.** Для выявления экспрессии EGFR проведено иммуногистохимическое исследование операционного материала (опухоль тела матки) 21 пациентки с гистопатологическим диагнозом эндометриальной карциномы (эндометриальной аденокарциномы) с высокой и средней степенью дифференциации.

С целью определения экспрессии EGFR в эндометриальных аденокарциномах проведено иммуногистохимическое исследование: использованы парафиновые срезы, первичным антителом послужил anti-EGFR (Novocastra; Leica biosystems Newcastle Ltd, UK), применена система пероксидаза-антипероксидаза, детекция иммунореактивности проводилась при помощи диаминобензидина; интенсивность окраски EGFR оценивалась по Niikura H. et al. [12]: ++ - интенсивная окраска, + - умеренная окраска, +/- - слабая окраска; численные результаты выражали в процентах; распространенность EGFR устанавливалась в соответствии с наличием позитивной EGFR-иммунореактивности в структурах карциномы – в каждом исследуемом случае просматривались 3 поля зрения (каждое поле включало 500-700 клеток), полученные результаты выражались в процентах; для сравнения использовали принятый нормативный стандарт по Niikura H. et al. [12]: в нормальном эндометрии экспрессия EGFR слабая и выявлена в 58,3%, а EGFR-иммунореактивность позитивна как в железистом эпителии, так и в стромальных клетках. Для определения содержания EGF в плазме у пациенток забирали образцы крови; уровень EGF в сыворотке крови определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии – HPLC (High Performance Liquid Chromatography), результаты выражались в единицах нг/мл; плазменное содержание EGF в норме <0,35 нг/мл. Для определения содержания мелатонина в плазме у пациенток также забирали образцы крови;

уровень мелатонина в сыворотке крови определяли при помощи иммуноферментного анализа – методом ELISA (IBL – international – реагентом), результаты выражались в единицах пг/мл; плазменное содержание мелатонина в норме >20,0 пг/мл.

Полученные численные данные статистически обрабатывались с использованием компьютерной программы SPSS-12-ANOVA. Статистический анализ данных проводился также посредством системы IBM SPSS Statistics, версия 20.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследования выявили, что в 21 (100%) случае эндометриальной аденокарциномы наблюдалась сильная экспрессия EGFR (таблица). В таблице приводятся данные пациенток с эндометриальной аденокарциномой: возраст, инвазия карциномы в слои тела матки, степень злокачественности опухоли (G), стадия болезни (T), распространение на лимфатические узлы (N), распространение на отдаленные органы (M), экспрессия EGFR в ткани опухоли (++), уровень EGF в плазме крови (в единицах нг/мл), содержание мелатонина в сыворотке крови (в единицах пг/мл).

Полученные в исследовании данные совпадают с результатами других авторов [12-14].

Проведенный корреляционный анализ показал, что при эндометриальной аденокарциноме наблюдается относительно слабая положительная корреляция между экспрессией EGFR в ткани опухоли и уровнем EGF в плазме крови - коэффициент корреляции Пирсона.

При эндометриальной аденокарциноме наблюдается сильная отрицательная корреляция между экспрессией EGFR в ткани опухоли и уровнем мелатонина в сыворотке крови: коэффициент корреляции Пирсона -0,818, а непараметрический коэффициент корреляции Спирмена -0,790.

При эндометриальной аденокарциноме между уровнями EGF и мелатонина в плазме крови наблюдается отрицательная корреляция: коэффициент корреляции Пирсона -0,533, а непараметрический коэффициент корреляции Спирмена -0,473.

Результаты проведенного исследования показали, что у больных с эндометриальной аденокарциномой уровень EGF в плазме крови, в среднем, составил 3,11 нг/мл. По данным ранее выполненных работ [1], у пациенток с простой гиперплазией эндометрия (без атипии) средний показатель уровня EGF в плазме крови составил 0,58 нг/мл, тогда как у пациенток с комплексной гиперплазией эндометрия (без атипии) уровень EGF в плазме крови составил, в среднем, 1,75 нг/мл ( $p < 0,01$ ). Проведенный статистический анализ выявил,

что средний показатель уровня EGF в плазме крови пациенток с простой гиперплазией эндометрия (без атипии) значительно ниже такового у пациенток с эндометриальной аденокарциномой (значение Т-критерия (pT) - 0,018, значение непараметрического критерия Манна-Уитни (p(U) - 0,141); средний показатель уровня EGF в плазме крови пациенток с комплексной гиперплазией эндометрия (без атипии) ниже такового у пациенток с эндометриальной аденокарциномой (pT - 0,00014, p(U) - 0,00005). Таким образом, данные, полученные в результате исследования, совпадают с таковыми авторов, по мнению которых, при карциномах средний показатель уровня EGF в плазме крови намного выше его значения в норме; а самый высокий уровень содержания EGF в плазме крови наблюдается при карциномах средней дифференциации [19]. Данные проведенного исследования выявили, что при среднедифференцированных аденокарциномах средний показатель содержания EGF в плазме крови выше (3,37 нг/мл), чем при высокодифференцированных аденокарциномах (2,70 нг/мл); последний показатель в сравнении с предыдущим ниже на 19,38% ( $p < 0,05$ ).

Из результатов проведенного исследования также следует, что уровень мелатонина в сыворотке крови у пациенток с эндометриальной аденокарциномой, в среднем, составляет 5,17 пг/мл. Согласно ранее опубликованным данным [2], уровень мелатонина в плазме крови пациенток с простой гиперплазией эндометрия (без атипии), в среднем, равен 20,81 пг/мл, а у пациенток с комплексной гиперплазией эндометрия (без атипии) средний уровень плазменного мелатонина составляет 14,73 пг/мл ( $p < 0,01$ ). Проведенный статистический анализ показал, что средний уровень мелатонина в плазме крови пациенток с простой гиперплазией эндометрия (без атипии) выше такового у пациенток с эндометриальной аденокарциномой (pT - 0,00000003, p(U) - 0,0000002).

Средний уровень мелатонина в плазме крови пациенток с комплексной гиперплазией эндометрия (без атипии) также значительно выше того же показателя у пациенток с эндометриальной аденокарциномой (pT - 0,000000007, p(U) - 0,0000034).

В таблице показано, что среди исследуемых пациенток с эндометриальной аденокарциномой у 11 (52,4%) ( $p < 0,005$ ) уровень EGF в плазме крови находится в том же диапазоне, что при эндометриальных простых/комплексных гиперплазиях и варьирует в пределах 0,2-2,0 нг/мл [1]. В 9 случаях из 11 отмечается крайнее понижение уровня мелатонина в сыворотке крови по сравнению с нормой и составляет 1,9-8,1 нг/мл (таблица), что не наблюдалось при гиперплазиях эндометрия в предыдущих исследованиях [2] и позволяет предположить, что одновременно наблюдаемые сильная экспрессия EGFR в ткани опухоли и крайне низкий показатель

Таблица. Экспрессия EGFR в тканях и содержание EGF и мелатонина в плазме крови пациенток с аденокарциномой

Пациентки с эндометриальной аденокарциномой	Возраст пациенток, инвазия карциномы в слой маточной стенки G, T, N, M	Экспрессия EGFR в ткани опухоли у пациенток с эндометриальной аденокарциномой	Содержание EGF в плазме крови у пациенток с эндометриальной аденокарциномой (норма <0,35 нг/мл)	Содержание мелатонина в плазме крови у пациенток с эндометриальной аденокарциномой (норма >20,0 пг/мл)
№1	Возраст: 54 года; Инвазия: все три слоя стенки матки; G2 T3 N2 M0	++	3,4**	11,1 <sup>##</sup>
№2	Возраст: 60 лет; Инвазия: все три слоя стенки матки; G2 T2 N2 M1 (печень)	++	1,2*	2,5 <sup>#</sup>
№3	Возраст: 49 лет; Инвазия: все три слоя стенки матки; G2 T3 N2 M1 (печень)	++	5,5**	1,2 <sup>##</sup>
№4	Возраст: 75 лет; Инвазия: слизистый слой стенки матки; G2 T1 N0 M0	++	7,0**	4,09 <sup>##</sup>
№5	Возраст: 44 года; Инвазия: слизистые и мышечные слои стенки матки; G2 T3 N0 M0	++	1,2*	7,3 <sup>#</sup>
№6	Возраст: 70 лет; Инвазия: все три слоя стенки матки; G2 T3 N2 M0	++	1,3*	8,1 <sup>#</sup>
№7	Возраст: 44 года; Инвазия: слизистые и мышечные слои стенки матки; G2 T2 N0 M0	++	0,5*	3,2 <sup>#</sup>
№8	Возраст: 47 лет; Инвазия: слизистый слой стенки матки; G2 T1 N1 M0	++	7,7**	2,1 <sup>##</sup>
№9	Возраст: 56 лет; Инвазия: слизистые и мышечные слои стенки матки; G2 T3 N0 M0	++	0,8*	1,9 <sup>#</sup>
№10	Возраст: 44 года; Инвазия: все три слоя стенки матки; G2 T3 N2 M1 (оба легких)	++	2,0*	5,3 <sup>#</sup>

№11	Возраст: 63 года; Инвазия: слизистые и мышечные слои стенки матки; G1 T3 N0 M0	++	1,9*	12,1
№12	Возраст: 67 лет; Инвазия: слизистый слой стенки матки; G1 T2 N0 M0	++	3,4**	7,8##
№13	Возраст: 74 года; Инвазия: слизистые и мышечные слои стенки матки; G2 T3 N1 M0	++	7,0**	2,8##
№14	Возраст: 59 лет; Инвазия: все три слоя стенки матки; G1 T3 N2 M1 (печень)	++	5,5**	0,24##
№15	Возраст: 68 лет; Инвазия: слизистые и мышечные слои стенки матки; G1 T1 N0 M0	++	4,0**	2,6##
№16	Возраст: 60 лет; Инвазия: слизистые и мышечные слои стенки матки; G2 T3 N0 M0	++	0,9*	7,1#
№17	Возраст: 42 года; Инвазия: слизистые и мышечные слои стенки матки; G1 T3 N0 M0	++	1,2*	11,8
№18	Возраст: 50 лет; Инвазия: слизистый слой стенки матки; G1 T2 N0 M0	++	5,0**	3,2##
№19	Возраст: 65 лет; Инвазия: слизистые и мышечные слои стенки матки; G1 T1 N0 M0	++	0,2*	4,25#
№20	Возраст: 51 год; Инвазия: все три слоя стенки матки; G2 T3 N2 M1 (печень и оба легких)	++	5,3**	2,1##
№21	Возраст: 77 лет; Инвазия: слизистые и мышечные слои стенки матки; G1 T2 N0 M0	++	0,4*	7,7#

\* - уровень EGF в плазме крови в пределах 0,2-2,0 нг/мл;

\*\* - уровень EGF в плазме крови в пределах 3,4-7,7 нг/мл;

# - уровень мелатонина в сыворотке крови в пределах 1,9-8,1 нг/мл;

## - уровень мелатонина в сыворотке крови в пределах 0,24-11,1 нг/мл;

уровня мелатонина в сыворотке крови в большей мере свидетельствуют о канцерогенности процесса, чем повышение содержания EGF в плазме крови.

Среди вышеуказанных 11 случаев особый интерес представляют 2 случая, где уровень плазменного EGF в пределах нормы (0,2-0,4 нг/мл), в то время как содержание плазменного мелатонина составляет 4,5 пг/мл и 7,7 пг/мл, соответственно, т.е. содержание плазменного мелатонина находится в диапазоне, характерном для эндометриальных аденокарцином, что не встречается при эндометриальных гиперплазиях [2]. J. Tomaszewski et al. [19] сообщают, что самый высокий уровень содержания EGF в плазме крови наблюдается при карциномах средней дифференциации; по мнению тех же авторов, низкое содержание EGF в плазме крови наблюдается при карциномах низкой дифференциации. Считаем необходимым особо подчеркнуть, что вышеприведенные оба случая представляют аденокарциному высокой дифференциации с инвазией в мышечную оболочку стенки матки (не охватывая все три слоя матки). В первом случае стадия болезни – I, во втором – II. Ни в одном случае ближние или отдаленные метастазы не обнаружены. Предполагаем, что содержание EGF в плазме крови еще не повысилось до того уровня, когда опухоль становится агрессивной. Выше было отмечено, что одновременно наблюдаемые сильная экспрессия EGFR в ткани опухоли и крайне низкий показатель уровня мелатонина в крови в большей степени свидетельствуют о канцерогенности процесса, чем повышение содержания плазменного EGF. Исходя из изложенного, трудно согласиться с утверждением, что низкое содержание EGF в плазме крови наблюдается при низкодифференцированных карциномах [19].

В 10 (47,6%;  $p < 0,1$ ) случаях (в таблица) содержание EGF в плазме крови крайне высокое и составляет 3,4-7,7 нг/мл, а содержание мелатонина - 0,24-11,1 пг/мл; крайне низкое содержание мелатонина в сыворотке крови наблюдается в 9 случаях, что не выявлено в предыдущей работе [2], т.е. показатель мелатонина значительно понижен, однако не до крайних значений и “не способствует” возрастанию уровня EGF в плазме крови, который составляет 3,4 нг/мл, подчеркивая значение EGF в канцерогенных процессах. Наши предположения подтверждаются следующим: в изученных нами случаях, когда показатели плазменного EGF находятся в диапазоне, характерном для эндометриальных гиперплазий, средний уровень плазменного мелатонина составляет 6,47 пг/мл, а показатели плазменного EGF соответствуют диапазону, характерному эндометриальным аденокарциномам, средний уровень плазменного мелатонина составляет 3,73 пг/мл. Это означает, что последний показатель на 42,35% ( $p < 0,05$ ) ниже предыдущего. Вышеизложенное указывает на то, что с точки зрения патогенез, повышение содержания EGF в плазме крови и понижение уровня мелатонина

в сыворотке крови имеют большое значение для последующего прогноза при эндометриальных карциномах. Результаты проведенного нами исследования не согласуются с данными Fuller A.F. et al. [8], о том, что “EGF не коррелирует со степенью злокачественности неоплазии, стадией болезни и продолжительностью жизни пациента”.

Что касается 11 случаев карцином, когда показатели уровня плазменного EGF соответствуют диапазону, характерному для эндометриальной гиперплазии, данные больных были следующими:

- высокая/средняя дифференцировка – 4/7 случаев, соответственно;
- стадия: T1 – 1 случай, T2 – 3 случая, T3 – 7 случаев;
- распространение в лимфатические узлы – 3 случая;
- распространение в отдаленные органы – 2 случая (таблица).

В 10 случаях, когда показатели уровня плазменного EGF находятся в пределах диапазона, характерного для эндометриальных аденокарцином, данные больных были следующими:

- высокая/средняя дифференцировка – 4/6 случаев, соответственно;
- стадия: T1 – 4 случая, T2 – 1 случай, T3 – 5 случаев;
- распространение в лимфатические узлы – 7 случаев;
- распространение в отдаленные органы – 3 случая (таблица).

Состояние 10 пациенток, у которых диапазон значений плазменного EGF характерен только для эндометриальных аденокарцином (в отличие от диапазона значений плазменного EGF 11 больных, наблюдаемого при эндометриальных гиперплазиях), по всей вероятности, ухудшится, т.к. при приблизительно равных условиях (сильная экспрессия EGFR в ткани опухоли и чрезвычайное и крайнее понижение в сыворотке крови уровня антипролиферативного/противоопухолевого мелатонина) именно высокое содержание в плазме крови пролиферативного EGF свидетельствует о неблагоприятном прогнозе.

Анализ данных проведенного исследования выявил:

1. В эндометриальных аденокарциномах (высокой и средней дифференциации) сильная экспрессия EGFR проявляется в 100% случаев.
2. При эндометриальных аденокарциномах относительно слабая положительная корреляция наблюдается между экспрессией EGFR и уровнем EGF в плазме крови, тогда как сильная отрицательная корреляция наблюдается между экспрессией EGFR и содержанием мелатонина в сыворотке крови. При этом, существует отрицательная корреляция между уровнями EGF и мелатонина в плазме крови пациенток.
3. Средний показатель уровня EGF в плазме крови паци-

ენტок с простой гиперплазией эндометрия (без атипии) значительно ниже по сравнению с таковым пациенток с эндометриальной аденокарциномой, а при комплексной гиперплазии эндометрия (без атипии) средний показатель уровня EGF в плазме крови несколько ниже такового пациенток с эндометриальной аденокарциномой. При эндометриальных аденокарциномах средней дифференциации средний показатель уровня EGF в плазме крови выше такового при эндометриальных аденокарциномах высокой дифференциации.

4. Средний уровень мелатонина в плазме крови пациенток с простой/комплексной гиперплазией эндометрия (без атипии) значительно выше по сравнению с таковым у пациенток с эндометриальной аденокарциномой.

5. При эндометриальных аденокарциномах (высокой/средней дифференциации) по мере резкого возрастания среднего уровня EGF в плазме крови, соответственно резко снижается средний уровень мелатонина в сыворотке крови.

6. При приблизительно равных условиях (сильная экспрессия EGFR в ткани опухоли и крайнее понижение уровня антипролиферативного/антинеопластического мелатонина в сыворотке крови) высокие значения содержания пролиферативного EGF в плазме крови свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе.

## ЛИТЕРАТУРА

1. ნ. ძნელაშვილი, ა. თავართქილაძე, დ. კასრადე, რ. ხუციშვილი. ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის კონცენტრაციის თავისებურებანი ადამიანის სისხლის შრატში ენდომეტრიუმის მარტივი და კომპლექსური ჰიპერპლაზიის დროს. საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის მაცნე 2013; 5-6: 269-274.

2. ნ. ძნელაშვილი, ა. თავართქილაძე, დ. კასრადე, რ. ხუციშვილი. მელატონინის კონცენტრაციის თავისებურებანი ადამიანის სისხლის შრატში ენდომეტრიუმის მარტივი და კომპლექსური ჰიპერპლაზიის დროს. საქართველოს მეცნიერებათა ეროვნული აკადემიის მაცნე 2013; 5-6: 275-280.

3. Дзнелашвили Н.О., Касрадзе Д.Г., Таварткиладзе А.Г. и др. Экспрессия рецептора эпидермального фактора роста и концентрация мелатонина в сыворотке крови при простой и комплексной гиперплазии эндометрия. Georgian Medical News 2013; 223(10): 91-95.

4. Дзнелашвили Н.О., Касрадзе Д.Г., Таварткиладзе А.Г., Джинчвеладзе Д.Н. Экспрессия рецептора эпидермального фактора роста и концентрация эпидермального фактора роста в сыворотке крови при простой и комплексной гиперплазии эндометрия. Georgian Medical News 2014; 226 (1): 59-65.

5. Кветной И.М. Вездесущие гормоны. М.: "Молодая Гвардия"; 1988: 190.

6. Brmeling G., Zimmer V., Sauerbrei W. et al. Epidermal growth factor receptor (EGF-R) and various prognostic factors in human endometria carcinoma. Int J Gynecol Cancer 1992; 2(1): 66-74.

7. Ejskjaer K., Sorensen B.S., Poulsen S.S. et al. Expression of the epidermal growth factor system in eutopic endometrium from women with endometriosis differs from that in endometrium from healthy women. Gynecol Obstet Invest. 2009; 67(2): 118-126.

8. Fuller A.F., Seiden M.V., Young R.H. Uterine Cancer. PMPH-USA: 2004; 230.

9. Gershtein E.S., Bocharova L.B., Ermilova V.D. et al. Epidermal growth factor receptors and their ligands in endometrial carcinoma: correlation with clinico-morphological factors and steroid receptors. Vopr Onkol. 2000; 46(2): 180-186.

10. Llorens M.A., Bermejo M.J., Salcedo M.C. et al. Epidermal growth factor receptors in human breast and endometrial carcinoma. J Steroid Biochem. 1989; 34(1-6): 505-509.

11. Miturski R., Semczuk A., Postawski K. et al. Epidermal growth factor receptor immunostaining and epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase activity in proliferative and neoplastic human endometrium. Tumour Biol. 2000; 21(6): 358-366.

12. Niikura H., Sasano H., Kaga K. et al. Expression of epidermal growth factor family proteins and epidermal growth factor receptor in human endometrium. Human Pathology 1996; 27(3): 282-289.

13. Nyholm H.C., Nielsen A.L., Ottesen B. Expression of epidermal growth factor receptors in human endometrial carcinoma. Gynecol Pathol. 1993; 12( 3): 241-245.

14. Oza A.M., Eisenhauer E.A., Elit L. et al. Phase II Study of Erlotinib in Recurrent or Metastatic Endometrial Cancer: NCIC IND-148. J Clin Oncol. 2008; 26(26): 4319-4325.

15. Pierpaoli W., Regelson W., Colman C. Melatonin miracle. New York, London, Toronto, Sydney, Tokyo, Singapore: "Pocket Books"; 2011: 314.

16. Scambia G., Benedetti Panici P., Battaglia F. et al. Significance of epidermal growth factor in advanced ovarian cancer. J Clin Oncol. 1992; 10(4): 529-535.

17. Scambia G., Benedetti Panici P., Ferrandina G. et al. Significance of epidermal growth factor receptor expression in primary human endometrial cancer. Int J Cancer. 1994; 56(1): 26-30.

18. Steffensen K.D., Waldstrom M., Andersen R.F. et al. Protein levels and gene expressions of the epidermal growth factor receptors, HER1, HER2, HER3 and HER4 in benign and malignant ovarian tumors. Int J Oncol. 2008; 33(1): 195-204.

19. Tomaszewski J., Miturski R., Kotarski J. Concentration of epidermal growth factor (EGF) in serum of women with endometrial cancer. Ginekol Pol. 1996; 67(5): 248-253.

## SUMMARY

### EXPRESSION OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR AND CONCENTRATIONS OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR AND MELATONIN IN ENDOMETRIAL CARCINOMA

**Dznelashvili N., Kasradze D., Tavartkiladze A.**

*D. Tvildiani Medical University, Department of Human Pathology, Tbilisi, Georgia*

The aim of the research was to study the Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) expression, measure Epidermal Growth Factor (EGF) and melatonin concentrations in patients with endometrial carcinomas. In order to reveal EGFR expression, immunohistochemical examination of morphologic material (tumor of the uterine body, histopathological diagnosis: endometrial carcinoma) from 21 patients was performed. The EGF blood plasma levels were measured using the method of

high performance liquid chromatography (HPLC). The blood serum levels of melatonin were measured by the method of immunofluorescence analysis ELISA (IBL International reagent). The resultant numerical data were processed statistically using the computer program SPSS-12-ANOVA. A statistical analysis was also performed using the system IBM SPSS Statistics, version 20.

The investigation revealed:

1. In endometrial adenocarcinomas (high-grade, low-grade) the expression of EGFR is detected in 100%.
2. In endometrial adenocarcinomas a relatively weak positive correlation between EGFR expression and melatonin blood serum levels is observed. With that, there is a negative correlation between the blood levels of EGF and melatonin.
3. The average index of EGF blood plasma level in simple endometrial hyperplasia (atypia-free) is significantly lower than that of the patients with endometrial adenocarcinoma, while in complex endometrial hyperplasia (atypia-free) the average index of EGF blood plasma level is slightly lower than in endometrial carcinoma. With

low-grade endometrial carcinomas, the average index of EGF blood plasma level is higher compared to that of the patients with high-grade endometrial adenocarcinomas.

4. The average level of blood plasma melatonin in patients with simple/complex endometrial hyperplasia (atypia-free) is significantly higher than in high-grade endometrial adenocarcinoma.

5. In endometrial adenocarcinoma (high-grade, low-grade), a drastic increase in average levels of blood plasma EGF is observed with a correspondingly sharp lowering in average blood serum melatonin levels.

6. Under about equal conditions (strong expression of EGFR in the tumorous tissue and sharp/extremely sharp decrease in the levels of anti-proliferative/anti-neoplastic melatonin in blood serum) high values of proliferative EGF content in blood plasma are indicative of poor diagnosis.

**Keywords:** Epidermal Growth Factor Receptor, Epidermal Growth Factor, Melatonin, Endometrial Hyperplasia, Endometrial Adenocarcinoma.

## РЕЗЮМЕ

### ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРА ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА И КОНЦЕНТРАЦИЯ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА И МЕЛАТОНИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ЭНДОМЕТРИАЛЬНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЕ

Дзнелашвили Н.О., Касрадзе Д.Г., Таварткиладзе А.Г.

*Медицинский университет им. Д. Твильдиани, департамент патологии человека. Тбилиси, Грузия*

Целью исследования явилось изучение экспрессии рецептора эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFR) в эндометриальных аденокарциномах, определение уровня эпидермального фактора роста (epidermal growth factor, EGF) и мелатонина в крови больных и сравнительная оценка полученных результатов.

Для выявления экспрессии EGFR проведено иммуногистохимическое исследование операционного материала (опухоль тела матки, гистопатологический диагноз: эндометриальная аденокарцинома) 21 пациентки. Уровень EGF в плазме крови определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии – HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Уровень мелатонина в сыворотке крови определяли при помощи иммуноферментного анализа – методом ELISA (IBL – international – реагентом).

Установлено, что:

1. В эндометриальных аденокарциномах (высокой и средней дифференциации) сильная экспрессия EGFR проявляется в 100% случаев.
2. При эндометриальных аденокарциномах относи-

тельно слабая положительная корреляция наблюдается между экспрессией EGFR и уровнем EGF в плазме крови, тогда как сильная отрицательная корреляция наблюдается между экспрессией EGFR и содержанием мелатонина в сыворотке крови. При этом, существует отрицательная корреляция между уровнями EGF и мелатонина в плазме крови пациенток.

3. Средний показатель уровня EGF в плазме крови пациенток с простой гиперплазией эндометрия (без атипии) значительно ниже по сравнению с таковым пациенток с эндометриальной аденокарциномой, а при комплексной гиперплазии эндометрия (без атипии) средний показатель уровня EGF в плазме крови несколько ниже такового пациенток с эндометриальной аденокарциномой. При эндометриальных аденокарциномах средней дифференциации средний показатель уровня EGF в плазме крови выше такового при эндометриальных аденокарциномах высокой дифференциации.

4. Средний уровень мелатонина в плазме крови пациенток с простой/комплексной гиперплазией эндометрия (без атипии) значительно выше по сравнению с таковым у пациенток с эндометриальной аденокарциномой.

5. При эндометриальных аденокарциномах (высокой/средней дифференциации) по мере резкого возрастания среднего уровня EGF в плазме крови, соответственно резко снижается средний уровень мелатонина в сыворотке крови.

6. При приблизительно равных условиях (сильная экспрессия EGFR в ткани опухоли и крайнее понижение уровня антипролиферативного/антинеопластического мелатонина в сыворотке крови) высокие значения содержания пролиферативного EGF в плазме крови свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе.

### რეზიუმე

ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის რეცეპტორის ექსპრესია და ეპიდერმული ზრდის ფაქტორისა და მელატონინის შემცველობა სისხლის შრატში ენდომეტრიული ადენოკარცინომის დროს

ბ. ძნელაშვილი, დ. კასრაძე, ა. თავართქილაძე

დ. ტვილდიანის სახელობის სამედიცინო უნივერსიტეტი, პათოლოგიის დეპარტამენტი, თბილისი, საქართველო

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა ენდომეტრიულ ადენოკარცინომაში ეპიდერმული ზრდის ფაქტორის რეცეპტორის (epidermal growth factor receptor, EGFR) ექსპრესიის შესწავლა, პაციენტების სისხლის შრატში ეპიდერმული ზრდის ფაქტორისა (epidermal growth factor, EGF) და მელატონინის დონეების განსაზღვრა და მიღებული შედეგების შედარებითი ანალიზი. EGFR-ის ექსპრესიის გამოსავლენად ჩატარდა 21 პაციენტის ოპერაციული მასალის (საშეილოსნოს ტანის კიბო, პისტოპათოლოგიური დიაგნოზი: ენდომეტრიული ადენოკარცინომა) იმუნოჰისტოქიმიური გამოკვლევა. სისხლის შრატში EGF-ის შემცველობა განისაზღვრა მაღალეფექტური სითხური ქრომატოგრაფიის მეთოდით; სისხლის შრატში მელატონინის შემცველობა - იმუნოფერმენტული ანალიზის მეშვეობით.

მიღებული რიცხობრივი მონაცემები დამუშავდა სტატისტიკურად კომპიუტერული პროგრამის – SPSS-12-ANOVA-ს და სტატისტიკის პროგრამული სისტემა SPSS ვერსია 20-ის გამოყენებით.

ჩატარებული კვლევის შედეგად დადგენილია:

1. მაღალი და საშუალო დიფერენციაციის ენდომეტრიულ ადენოკარცინომებში EGFR ვლინდება ძლიერი ექსპრესიით 100%-ში;
2. ენდომეტრიული ადენოკარცინომის დროს EGFR-ის ექსპრესიასა და სისხლის პლაზმაში EGF-ის დონეს შორის არსებობს შედარებით სუსტი დადებითი კორელაცია, ხოლო EGFR-ის ექსპრესიასა და სისხლის შრატში მელატონინის შემცველობას შორის - ძლიერი უარყოფითი კორელაცია; ამასთან, პაციენტების სისხლის პლაზმაში EGF-ისა და მელატონინის დონეებს შორის უარყოფითი კორელაციაა;
3. ენდომეტრიუმის მარტივი ჰიპერპლაზიით (ატიპიის გარეშე) დაავადებული პაციენტების სისხლის პლაზმაში EGF-ის საშუალო დონე მნიშვნელოვნად დაბალია ენდომეტრიული ადენოკარცინომით დაავადებული პაციენტების იმავე მაჩვენებელთან შედარებით, ხოლო ენდომეტრიუმის კომპლექსური ჰიპერპლაზიით (ატიპიის გარეშე) დაავადებული პაციენტების სისხლის პლაზმაში EGF-ის საშუალო დონე რამდენადმე დაბალია ენდომეტრიული ადენოკარცინომით დაავადებული პაციენტების იმავე მაჩვენებელთან შედარებით; საშუალო დიფერენციაციის ენდომეტრიულ ადენოკარცინომებში EGF-ის საშუალო მაჩვენებელი პლაზმაში უფრო მაღალია, ვიდრე მაღალდიფერენცირებულ ენდომეტრიულ ადენოკარცინომებში;
4. ენდომეტრიუმის მარტივი/კომპლექსური ჰიპერპლაზიით (ატიპიის გარეშე) დაავადებული პაციენტების სისხლის პლაზმაში მელატონინის საშუალო დონე მნიშვნელოვნად მაღალია ენდომეტრიული ადენოკარცინომით დაავადებული პაციენტების იმავე მაჩვენებელთან შედარებით;
5. ენდომეტრიული ადენოკარცინომების (მაღალი/საშუალო დიფერენციაციის ადენოკარცინომების) დროს სისხლის პლაზმაში EGF-ის საშუალო მაჩვენებლების მკვეთრი ზრდის შესაბამისად, მკვეთრად მცირდება მელატონინის საშუალო მაჩვენებელი სისხლის შრატში.
6. დაახლოებით ერთნაირ პირობებში, ანუ როცა პაციენტებში გამოხატულია EGFR-ის ძლიერი ექსპრესია სიმსივნის ქსოვილში და ანტიპროლიფერაციული/ანტიკანცეროგენეზული მელატონინის უაღრესი/უკიდურესი კლება სისხლის შრატში, სწორედ პროლიფერაციული პლაზმური EGF-ის მაღალი შემცველობა მიუთითებს არაკეთილსაიმედო პროგნოზზე.

## ЗАБОЛЕВАНИЯ ПАРОДОНТА У ДЕТЕЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

Тулеутаева С.Т., Аширбекова Ж.Ж., Манапова Д.Б., Алмурат С.С., Харченко В.В.

*Карагандинский государственный медицинский университет, кафедра стоматологии детского возраста;  
Областная детская клиническая больница, Казахстан*

Сахарный диабет - широко распространенное заболевание. В настоящее время в мире насчитывается от 160 до 245 млн. больных сахарным диабетом, что составляет 2-4% от всего населения планеты [4]. По данным Министерства здравоохранения Казахстана, в Республике диабетом страдает более 157 000 человек, из них сахарным диабетом второго типа - 92%, первого типа - 8%: оба ведут к тяжелым последствиям. Многие авторы отмечают тенденцию к “омолаживанию” сахарного диабета, т.к. ежегодно увеличивается число детей и особенно подростков 15-17 лет с этим диагнозом [2]. Заболевания полости рта на фоне сахарного диабета (кариес, гингивит, пародонтит, кандидозный стоматит, ангулярный хейлит) по данным литературы [3], наблюдаются у 87,9% больных.

При сахарном диабете происходят изменения в тканях полости рта, зависящие не только от возраста, но и от длительности заболевания, степени метаболического контроля и наличия диабетических осложнений.

При заболеваниях пародонта на формирование клинической картины последовательно влияют микроорганизмы зубного налета, нарушение микроциркуляторного гемостаза, дисбаланс системы перекисного окисления липидов, нарушение регионарной гемодинамики.

Актуальность данного исследования обусловлена необходимостью совершенствования стоматологической помощи детям с учетом особенностей проявления соматической патологии - сахарного диабета. Быстрый рост и развитие детского организма во многом влияют на специфику поражения и диктуют необходимость своевременной лечебно-профилактической помощи.

Болезни пародонта являются одной из актуальных проблем современной стоматологии. По данным ВОЗ, воспалительными заболеваниями пародонта (ВЗП) в настоящее время страдает 70-90% взрослого населения земного шара. У больных сахарным диабетом практически в 100% случаев выявляется хронический генерализованный пародонтит (ХГП) различной степени тяжести. Сахарный диабет влияет на быстрое прогрессирование заболеваний пародонта, отмечается более тяжелый характер заболевания со значительным замедлением регенеративных и репаративных процессов [1]. К классическим хроническим специфическим осложнениям сахарного диабета относят поражения

глаз, почек, нижних конечностей, центральной и периферической нервной системы, поражения органов, связанные с микроангиопатией, макроангиопатией и поражениями нервных стволов. Поражения полости рта при диабете, включая гингивит и пародонтит, в официальный ряд осложнений диабета не входят, однако поражение тканей пародонта достаточно часто является первым признаком развивающейся соматической патологии. Ситуация влечет за собой разделение ответственности между стоматологами и диабетологами (не в пользу пациента), отсутствие исследований по вопросам специфической профилактики и лечения поражений полости рта при диабете. Симптомы и причины своеобразного развития пародонтита при диабете заключаются во взаимоотношающемся течении обоих заболеваний.

Целью данного исследования явилось изучение распространенности и интенсивности заболеваний пародонта у детей с сахарным диабетом 1 типа для повышения эффективности лечения.

**Материал и методы.** Обследовано 78 пациентов, находящихся на стационарном лечении в Областной детской клинической больнице Карагандинской области. Среди них у 40 детей диагностирован сахарный диабет 1 типа, из них 15 (37,5%) мальчиков и 25 (62,5%) девочек в возрасте 7-17 лет. Обследование проводилось с согласия детей и их законных представителей.

40 пациентов с сахарным диабетом 1 типа были разделены на три подгруппы: у детей первой группы сахар в крови составлял менее 10 ммоль/л, у второй группы – от 10 ммоль/л до 20 ммоль/л, в третьей группе – более 20 ммоль/л. Пациентам определяли уровень гигиены полости рта посредством упрощенного индекса гигиены полости рта (ОИ-С по Green, Wermillion, 1964), индекс нуждаемости в лечении болезней пародонта (СРITN по ВОЗ, 1982), папиллярно-маргинальный-альвеолярный индекс (РМА по Parma, 1960).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с применением программы IBM SPSS Statistics 22.

**Результаты и их обсуждение.** По результатам лабораторных исследований установлено, что у 40 детей с сахарным диабетом 1 типа уровень сахара в крови составил  $M=15,21$   $SD=6,34$  ( $p=0,159$ ) при норме 3,3-5,5 ммоль/л. У 9 (22,5%) детей обнаружен ацетон в моче, который в норме не должен определяться. Гликозили-

### Гликемический профиль

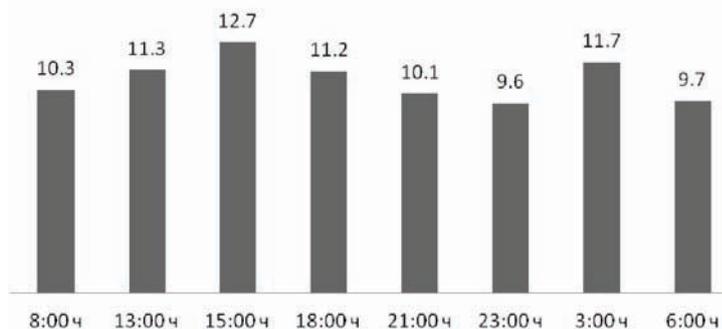


Диаграмма 1. Средний показатели сахара в крови за сутки (ммоль/л)

рованный гемоглобин составил  $M=12,08\%$   $SD=4,52$  ( $p=0,113$ ), при норме 3,0-6,0%. Гликозилированный гемоглобин образуется в результате реакции между гемоглобином А, содержащемся в эритроцитах, и глюкозой сыворотки крови. Повышение концентрации глюкозы в крови значительно увеличивает ее поступление в клетки за счет инсулиннезависимых механизмов. В результате глюкоза поступает в ткани в избытке и вследствие гликозилируются белки, одним из которых является гемоглобин. В результате определения гликемического профиля устанавливали, насколько назначенная терапия позволяет компенсировать сахарный диабет. Для сахарного диабета I типа уровень глюкозы считается компенсированным, если ее концентрация натощак и в течение суток не превышает 10 ммоль/л. У обследованных детей уровень сахара, в среднем, в шести заборах крови из восьми превышал допустимую границу (диаграмма 1). Данный показатель в нашем случае указывает на отсутствие достаточного терапевтического эффекта проводимой терапии. Индекс гигиены ОНІ-S у 40 детей с сахарным диабетом I типа составил  $M=1,94$ ,  $SD=0,39$  ( $p=0,009$ ), что характеризует уровень гигиены полости рта как неудовлетворительный. Показатель индекса РМА составил  $M=62,86\%$ ;  $SD=15,20$  ( $p=0,380$ ), что указывает на тяжелую степень гингивита, среднее значение СРІТN -  $M=2,28$ ;  $SD=0,47$  ( $p=0,012$ ), что оценивается как необходимость проведения профессиональной гигиены и устранения факторов, способствующих задержке зубного налета, кроме того, пациенты нуждаются в обучении гигиене полости рта (таблица 1).

Первая группа с сахаром в крови менее 10 ммоль/л состояла из 12 детей, вторая группа с сахаром в крови в пределах от 10 ммоль/л до 20 ммоль/л включала 19 детей и третья группа с сахаром в крови более 20 ммоль/л - 9 детей.

У детей первой группы уровень сахара в крови составил  $M=8,45$ ;  $SD=1,19$  ( $p=0,099$ ). У 2 детей в моче на момент поступления в стационар определялся ацетон «++». Гликозилированный гемоглобин у детей первой группы составлял  $M=9,74\%$ ;  $SD=3,44$  ( $p=0,287$ ), что превышает показатели нормы. В первой группе клинически определялись кровоточивость десен, которая отмечалась редко или при чистке зубов; наличие над- и поддесневых зубных камней, воспаление десны (преимущественно воспаление десневых сосочков). Показатель индекса СРІТN составил  $M=2,08$ ;  $SD=0,33$  ( $p=0,028$ ), что оценивается как необходимость проведения профессиональной чистки зубов с удалением зубного камня. Уровень гигиены полости рта (ОНІ-S), составивший  $M=1,76$ ;  $SD=0,23$  ( $p=0,019$ ), характеризуется как неудовлетворительный. РМА индекс, в среднем, составил  $M=59,89\%$ ;  $SD=18,11$  ( $p=0,509$ ), что указывает на среднюю степень гингивита.

Во второй группе уровень сахар в крови составил  $M=15,23$ ;  $SD=2,91$  ( $p=0,153$ ). У 4 детей в моче определяется ацетон, из них у троих на момент поступления в моче ацетон «+++», у одного ребенка ацетон «++++». Гликозилированный гемоглобин у данной группы значительно превышал показатель нормы (3-6%), составляя  $M=11,17$ ;  $SD=2,61$  ( $p=0,137$ ), что превышает показатели первой группы. Наблюдались клинические изменения в виде кровоточивости десен, которая проявляется самопроизвольно; наличие над- и поддесневых зубных камней; патологических карманов глубиной до 4 мм, а также небольшое повышение индекса СРІТN до  $M=2,34$ ;  $SD=0,54$  ( $p=0,028$ ), что ставит перед необходимостью гигиены полости рта и кюретажа с целью уменьшения воспаления и снижения глубины кармана. Индекс ОНІ-S неудовлетворительный, незначительно увеличен и составил  $M=1,98$ ;  $SD=0,43$  ( $p=0,023$ ).

Таблица 1. Показатели стоматологического статуса

Название	M	SD
ОНІ-S	1,94	0,39
РМА	62,86%	15,20
СРІТN	2,28	0,47

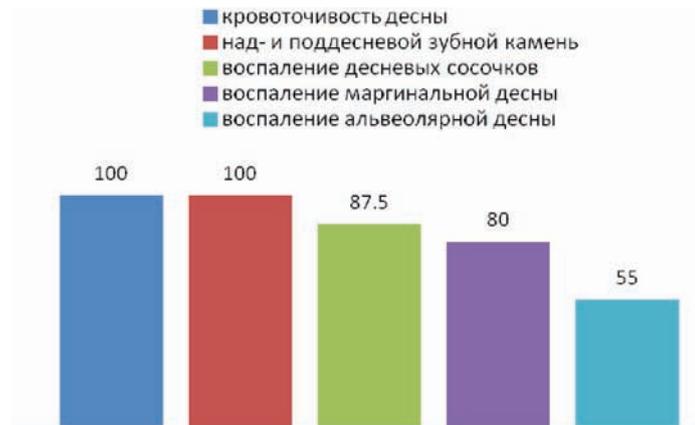


Диаграмма 2. Наиболее часто регистрируемые признаки патологии пародонта (%)

РМА индекс во второй группе составил  $M=61,58\%$ ;  $SD=14,83$  ( $p=0,781$ ), что указывает на тяжелую степень гингивита.

У детей в третьей группы уровень сахара в крови составлял  $M=24,19$ ;  $SD=3,62$  ( $p=0,402$ ). У 3 детей в моче ацетон положительный, из них у одного ребенка в моче ацетон «+», у второго ребенка ацетон «++» и у третьего ацетон «++++». Гликозилированный гемоглобин у группы составил  $M=15,47$ ;  $SD=5,61$  ( $p=0,623$ ), что максимально превышает показатели нормы в отличие от предыдущих групп. Клинически определялись кровоточивость десен, появляющаяся самопроизвольно; воспаление маргинальной и альвеолярной десен; наличие над- и поддесневых зубных камней; у одного больного наблюдалось оголение шейки зуба. Индекс CPITN в третьей группе был самый высокий и составил  $M=2,46$ ;  $SD=0,37$  ( $p=0,033$ ), что диктует необходимость проведения профессиональной гигиены, удаления зубного камня и в обучении гигиене полости рта. В данной группе индекс OHI-S увеличен по сравнению с предыдущими группами и составил  $M=2,07$ ;  $SD=0,33$  ( $p=0,037$ ), что характеризует уровень гигиены полости рта как неудовлетворительный. РМА индекс в данной группе превышал показатели других групп, составляя  $M=68,33\%$ ;  $SD=7,87$  ( $p=0,874$ ), что указывает на тяжелую степень гингивита.

У обследованных детей с сахарным диабетом 1 типа наблюдались патологические изменения со стороны тканей пародонта в 100% случаев. Наиболее часто регистрировались кровоточивость десны по Кетчке при чистке зубов (100%), случаи самопроизвольного кровотечения (25%). У детей с сахарным диабетом 1 типа преобладал наддесневой камень (95%), поддесневой наблюдался в 12,5% случаях. Воспаление десневых сосочков, куполообразное изменение их формы зарегистрировано у 87,5% детей, воспаление маргинальной (80%) и альвеолярной десен (55%) (диаграмма 2).

В последнее время сформировалась концепция, согласно которой полость рта рассматривается как сбалансированная биологическая система, а заболевания пародонта - в большинстве случаев как результат нарушения равновесия между бактериальным симбиозом и тканями полости рта.

Индивидуальный анализ состояния тканей пародонта у наблюдаемых больных с сахарным диабетом 1 типа показал, что с увеличением сахара в крови у больных наблюдается прогрессирующие изменения со стороны тканей пародонта.

Часто впервые диагноз сахарного диабета устанавливает стоматолог, так как у многих больных пародонтитом нередко диагностируется его начальная стадия.

#### Выводы:

1. Распространенность заболеваний пародонта у детей с сахарным диабетом 1 типа характеризуется как высокая и составляет 100%.
2. Высокий уровень гигиены полости рта наблюдается у детей третьей группы с уровнем сахара в крови более 20 ммоль/л, составляя  $M=2,07$ ;  $SD=0,33$ , что на 0,31 баллов превышает показатели первой группы.
3. Индекс РМА в третьей группе превышает показатели других групп и равен  $M=68,33\%$ ;  $SD=7,87$ , а в первой и во второй группах составил  $M=59,89\%$ ;  $SD=18,11$  и  $M=61,58\%$ ;  $SD=14,83$ , соответственно.
4. Индекс CPITN в первой группе составил  $M=2,08$ ;  $SD=0,33$ , во второй -  $M=2,34$ ;  $SD=0,54$ , индекс CPITN в третьей группе самый высокий -  $M=2,46$ ;  $SD=0,37$ .
5. Индивидуальный анализ состояния тканей пародонта у наблюдаемых больных сахарным диабетом 1 типа выявил, что с увеличением сахара в крови у больных наблюдаются прогрессирующие изменения со стороны тканей пародонта.
6. Дети с сахарным диабетом, независимо от выраженности патологического процесса в пародонте, должны

состоять на учете у врача-стоматолога. Необходимо проведение комплекса мероприятий, направленных на улучшение гигиены полости рта, удаление над- и поддесневых камней. Лечебно-профилактические мероприятия стоматологом следует проводить с учетом основного соматического заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева О.А. Влияние сахарного диабета на состояние пародонта и полости рта. Медицинская газета 2002; 74: 38-42.

2. Барер Г.М., Григорян К.Р. Пародонтит у больных сахарным диабетом первого типа (Обзор литературы). Пародонтология 2006; 2(39): 6-10.

3. da Cruz G.A., de Toledo S., Sallum E.A. et. al. Clinical and laboratory evaluations of non-surgical periodontal treatment in subjects with diabetes mellitus. Journal of Periodontology 2008; 79(7): 1150-1157.

4. Venza M., Visalli M., Cucinotta M. et. al. Salivary histamine level as a predictor of periodontal disease in type 2 diabetic and non-diabetic subjects. Journal of Periodontology 2006; 9: 1564-1571.

## SUMMARY

### PERIODONTAL DISEASE IN CHILDREN WITH DIABETES MELLITUS TYPE 1

Tuleutaeva S., Ashirbekova Z., Manapova D., Almurat S., Kharchenko V.

*Karaganda State Medical University, Kazakhstan*

The aim of the article was to study the occurrence of periodontal diseases in children with type I diabetes mellitus. The examination of 78 children revealed periodontal diseases in 40 children with type I diabetes. OHI-S, CPITN, PMA indices were determined. Pathological changes in periodontal tissues were revealed in 100% of cases. The following were identified: gingival hemorrhage (100%), over- and under-gingival dental tartar (100%), inflammation of gingival papilla (87,5%) marginal (80%) and alveolar gin-

giva (55%). Spread of periodontal disease among children with I type diabetes is characterized as high and is equal to 100%. Degree of periodontal sickness is evaluated as average and is  $M=2,28$ ;  $SD=0,47$  according to CPITN index. Treatment and preventive measures should be carried out taking into account major somatic disease.

**Keywords:** I type diabetes, periodontal disease, prevention.

## РЕЗЮМЕ

### ЗАБОЛЕВАНИЯ ПАРОДОНТА У ДЕТЕЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

Тулєутаєва С.Т., Аширбекова Ж.Ж., Манапова Д.Б., Алмурат С.С., Харченко В.В.

*Карагандинский государственный медицинский университет, кафедра стоматологии детского возраста; Областная детская клиническая больница, Казахстан*

Цель исследования - изучить распространенность и интенсивность заболеваний пародонта у детей с сахарным диабетом 1 типа для повышения эффективности лечения.

Обследованы 78 пациентов, находящихся на стационарном лечении, из них 40 детей с сахарным диабетом 1 типа. Изучены уровень гигиены полости рта посредством упрощенного индекса гигиены полости рта (ОHI-S по Green, Wermillion, 1964), индекс нуждаемости в лечении болезней пародонта (CPITN по ВОЗ, 1982), папиллярно-маргинальный-альвеолярный индекс (РМА по Parma, 1960). У обследованных детей наблюдались патологические изменения тканей пародонта в 100% случаев. Выявлена кровоточивость десен (100%), наличие над- и поддесневых зубных камней (100%), воспаление десневых сосочков (87,5%), маргинальной (80%) и альвеолярной десен (55%).

В результате проведенного исследования установлено, что показатель распространенности заболеваний пародонта у детей с сахарным диабетом 1 типа высокий и составляет 100%; интенсивность заболеваний пародонта оценивается как средняя, составляя  $M=2,28$ ;  $SD=0,47$  по индексу CPITN. Лечебно-профилактические мероприятия стоматологом следует проводить с учетом основного соматического заболевания.

## რეზიუმე

პარადონტის დაავადებები შაქრიანი დიაბეტი ტიპი I-ით დაავადებულ ბავშვებში

ს. ტულეუტაევა, ჟ. აშირბეკოვა, დ. მანაპოვა,  
ს. აღმურატ, ვ. ხარჩენკო

ყარაგანდის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ბავშვთა სტომატოლოგიის კათედრა; ოლქის კლინიკური ბავშვთა საავადმყოფო, ყაზახეთი

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა სტაციონარულ მკურნალობაზე მყოფი შაქრიანი დიაბეტი ტიპი I-ით ბავშვებში პარადონტის დაავადებათა გავრცელების და ინტენსივობის შეფასება.

ჩატარდა 78 პაციენტის, მათ შორის შაქრიანი

დიაბეტი ტიპი I-ით დაავადებული 40 ბავშვის გამოკვლევა. დადგინდა ინდექსები OHI-S, CPITN, PMA. გამოკვლეულ ბავშვებში 100%-ში აღინიშნებოდა პარადონტის ქსოვილების ცვლილებები. გამოვლენილი იქნა: ღრძილის სისხლდენადობა (100%), ღრძილზედა და ღრძილქვედა კბილის ქვების არსებობა (100%), ღრძილის კერტების (87,5%), მარგინალური (80%) და ალვეოლური (55%) ღრძილების ანთება.

ამრიგად, შაქრიანი დიაბეტი ტიპი I-ით დაავადებულ ბავშვებში პარადონტის დაავადებათა გავრცელება მაღალია (100%), პარადონტის დაავადებათა საშუალო ინტენსივობით -  $M=2,28$ ;  $S=0,47$ , CPITN ინდექსით. მიზანშეწონილია, რომ სტომატოლოგიის მიერ სამკურნალო-პროფილაქტიკური ღონისძიებები ჩატარდეს უნდა იყოს გათვალისწინებული ძირითადი სომატური დაავადება.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНТЕРЛАМЕЛЛЯРНОЙ РЕФРАКЦИОННОЙ ТОННЕЛЬНОЙ КЕРАТОПЛАСТИКИ В КОРРЕКЦИИ БЛИЗОРУКОСТИ И АСТИГМАТИЗМА

Шустеров Ю.А.

*Карагандинский государственный медицинский университет, Республика Казахстан*

Актуальной проблемой офтальмологии продолжает оставаться коррекция миопии высокой степени, анизометропии и астигматизма, так как эти патологии часто приводят к утрате трудоспособности, ограничению профессионального выбора и, наконец, к слепоте и инвалидности. Определенное распространение в последние годы получили различные модификации тоннельной кератопластики [3,4,6,11,12,14-16,19,21,28].

Лечение осложненной близорукости, сопровождающейся патологией макулярной области, также представляет значительные трудности, так как патологический процесс поражает наиболее важную в функциональном отношении область глазного дна, дающую наивысший визуальный эффект. В то же время, у таких больных в ряде случаев сохраняется функция парамакулярной области сетчатки, которая при определенных условиях (смещении в эту область главного фокуса глаза) дает достаточно высокий визуальный результат. Известно, что парамакулярная область в радиусе  $10^\circ$  от желтого пятна обеспечивает остроту зрения порядка 0,4-1,0. Изучена возможность коррекции подобного рода патологии при помощи кераторефракционной хирургии [22].

© GMN

На рациональность применения молодых и эмбриональных тканей при кератопластике указывает ряд авторов [1,2,7,8,13,20,23].

Такие пересадки получили название «брефопластических» (brephos- плод, plastic-формирую). Эти ткани имеют более низкую степень дифференциации, способность к росту и высокую пластичность. Их менее выраженная реакция тканевой несовместимости объясняется меньшей антигенной активностью, чем ткани взрослых. Сдерживающим фактором проведения операций, сопровождающихся пересадкой стромы, является необходимость использования донорской роговицы, что всегда связано с трудностями решения ряда моральных, правовых и финансовых вопросов [22].

Поэтому, в конце 70-х годов XX века начались исследования по созданию искусственной роговицы глаза. Этому способствовало появление разнообразных синтетических материалов с высокой влаго- и газопроницаемостью (особенно гидрогелей). В результате тридцатилетнего кропотливого труда учёным удалось создать, близкие по свойствам к естественным, полимерные аналоги роговицы [24-26].

Этот вид операций получил название кератопластики эксплантатом. Искусственная роговица глаза (кератопротез), в отличие от донорской роговицы не содержит вирусов и бактерий. Для распространения подобных операций проведено недостаточно клинических испытаний, тем не менее, учёные надеются, что в скором времени кератопротезы помогут восстановить зрение. Исследования последних лет показали высокую биосовместимость и низкую антигенность коллагенов из чешуи пресноводных рыб. Благодаря этому новый вид скаффолда рекомендован в качестве альтернативного источника функционального материала при регенерации роговицы [27]. Однако, спорными остаются ряд вопросов о наиболее оптимальной технике операций, зависимости и методах расчета рефракционного эффекта, глубине погружения эксплантата, оптимальных размерах искусственной линзы и ее гидрофильности.

Целью данного исследования явилась оценка эффективности применения вариантов рефракционной интерламеллярной тоннельной кератопластики.

**Материал и методы.** Анализируется 25-летний опыт применения вариантов тоннельной кератопластики. Разработано 6 модификаций тоннельной кератопластики.

Принцип циркулярной тоннельной кератопластики (ЦТК) – для коррекции сферической миопии (рис. 1А) заключается в следующем: в циркулярный тоннель роговицы с окружностью заданного диаметра вводился лентовидный имплантат заданного поперечного сечения. В результате чего происходило прогибание передних слоёв роговицы вместе с имплантатом, а следовательно, уплощение оптического центра и уменьшение его преломляющей силы. Варьируя диаметр окружности тоннеля и толщиной поперечного

сечения имплантата, изменяем рефракцию роговицы на заданную величину.

Для коррекции простого и сложного миопического астигматизма разработана дугообразная секторальная тоннельная кератопластика (ДСТК) (рис. 1В) [17]. В два противоположных, находящихся на заданном расстоянии от оптического центра, дугообразных (секторальных) тоннеля роговицы, расположенных в меридиане наибольшей преломляющей силы, вводили лентовидные имплантаты определенного поперечного сечения. В результате чего происходило прогибание передних слоев роговицы над имплантатом, а следовательно, уплощение оптического центра в корригируемом меридиане и уменьшение преломляющей силы. Варьируя длиной имплантата, его поперечным сечением, расположением тоннелей от оптического центра роговицы можно менять рефракцию роговицы в заданном меридиане на определенную величину.

Предварительно метод ДСТК изучен в экспериментах на изолированных трупных и свиных глазах. Выявлено, что степень и зона изменения преломляющей силы в значительной мере зависят от длины эксплантатов - при длине эксплантата равной 1/8 окружности преломляющая сила роговицы уменьшалась лишь в корригируемом меридиане, а перпендикулярный меридиан оставался интактным, что создает предпосылки для коррекции простого миопического астигматизма. При удлинении эксплантатов до 1/6 окружности ослабевал и перпендикулярный меридиан. На этом основывался принцип применения ДСТК при коррекции сложного миопического астигматизма. И наконец, при достижении эксплантатами 1/4 длины окружности, рефракция менялась в обоих меридианах на одинаковую величину, так же как и при циркулярной тоннельной кератопластике с использованием кольцевого имплантата. Таким образом, предоставляется возможность корригировать сферическую миопию.

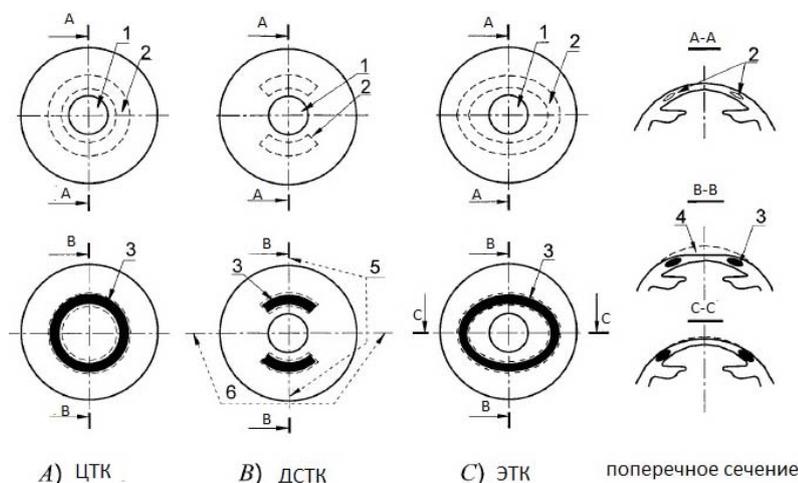


Рис. 1. Варианты тоннельной кератопластики. А) Циркулярная тоннельная кератопластика (ЦТК), В) Дугообразная секторальная тоннельная кератопластика (ДСТК), С) эллипсоидная тоннельная кератопластика (ЭТК)

Для коррекции сложного миопического астигматизма предложена эллипсоидная тоннельная кератопластика (ЭТК) (рис. 1С) [18]. Межслойный тоннель роговицы формировали в форме эллипса таким образом, что наибольший его диаметр приходился на меридиан наименьшей преломляющей силы, а на меридиан наибольшей преломляющей силы - наименьший диаметр эллипса. После введения по всей длине тоннеля двух дугообразных эксплантатов определенного поперечного сечения происходило прогибание передних слоев роговицы, уплощение оптического центра и уменьшение его преломляющей силы. Причем наибольшее уплощение, а следовательно и наибольшее уменьшение преломляющей силы роговицы, приходилось на зону наименьшего диаметра эллипса. Варьируя размерами эллипса и поперечным сечением эксплантатов можно менять рефракцию роговицы в корригируемых меридианах на заданную величину. Эта операция позволяла корригировать сложный миопический астигматизм.

Кроме того, предложены 2 варианта тоннельной кератопластики для коррекции осложненной миопии (с патологией макулярной области), в основу которых положено получение призматического эффекта: полулунная тоннельная кератопластика (ПТК) [9] и тоннельная кератопластика со смещением кольца (ТКСК) [10].

При ПТК формировали межслойный тоннель роговицы в виде полулунии с последующим введением по всей длине тоннеля имплантата определенного поперечного сечения. В результате происходило прогибание перед-

них слоев роговицы над имплантатом, уплощение оптического центра с одновременным смещением главного фокуса от оптической оси (в парамакулярную область) за счет призматического эффекта. Варьируя радиусом полулунии и поперечным сечением имплантата, можно менять рефракцию роговицы на заданную величину с одновременным смещением главного фокуса на определенное количество градусов (рис. 2).

Для прогнозирования рефракционного эффекта и смещения главного фокуса от оптической оси предложена формула, позволяющая по оптическим характеристикам роговицы, толщине имплантата, расстоянию тоннеля от оптического центра вычислить степень ослабления рефракции и смещения главного фокуса.

Сущность ТКСК заключалась в следующем: определяли зону парамакулярной области, обеспечивающую наилучшую остроту зрения; через радиальные насадки роговицы формировали циркулярный тоннель, смещенный относительно оптического центра (а следовательно, и зрачка) в сторону противоположной зоны парамакулярной области, обеспечивающей наивысший визуальный эффект. После введения по всей длине циркулярного тоннеля имплантата, происходило прогибание передних слоев роговицы над имплантатом и ее уплощение в области, ограниченной циркулярным имплантатом. Вследствие чего напротив зрачка, в оптической зоне, децентрированное уплощение роговицы формировало призму, которая смещала главный фокус от оптической оси в выбранную парамакулярную область (рис. 3).

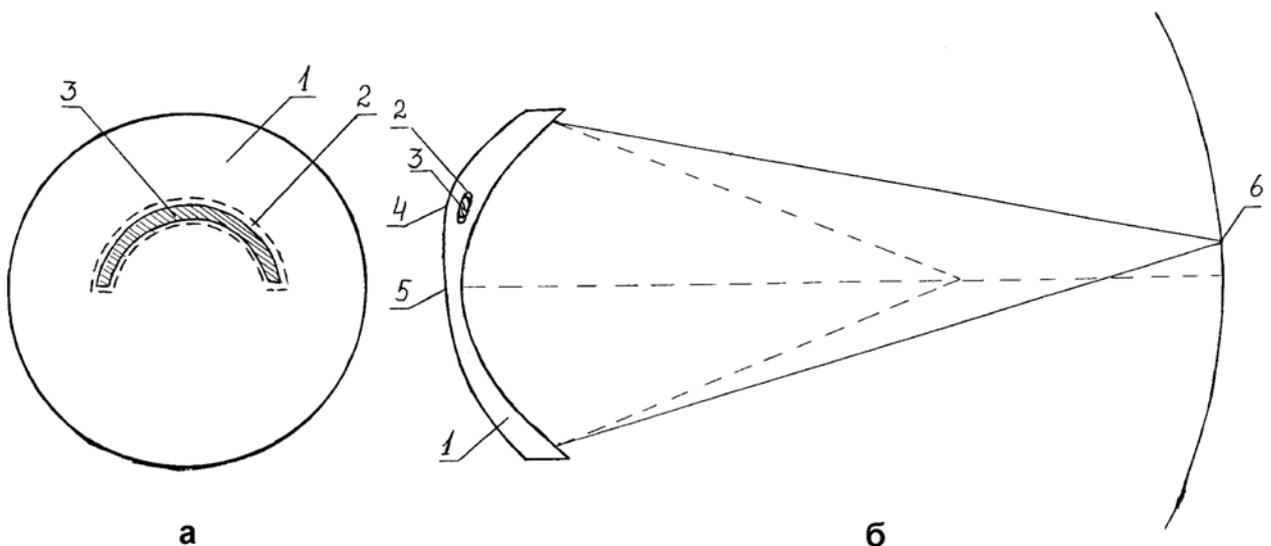


Рис.2. Схема операции полулунной тоннельной кератопластики  
а - прямая проекция; б - боковая проекция.

1 - роговица; 2 - межслойный полулунный тоннель роговицы; 3 - полулунный имплантат;  
4 - прогибание передних слоев роговицы над имплантатом; 5 - уплощение оптического центра;  
6 - смещение главного фокуса

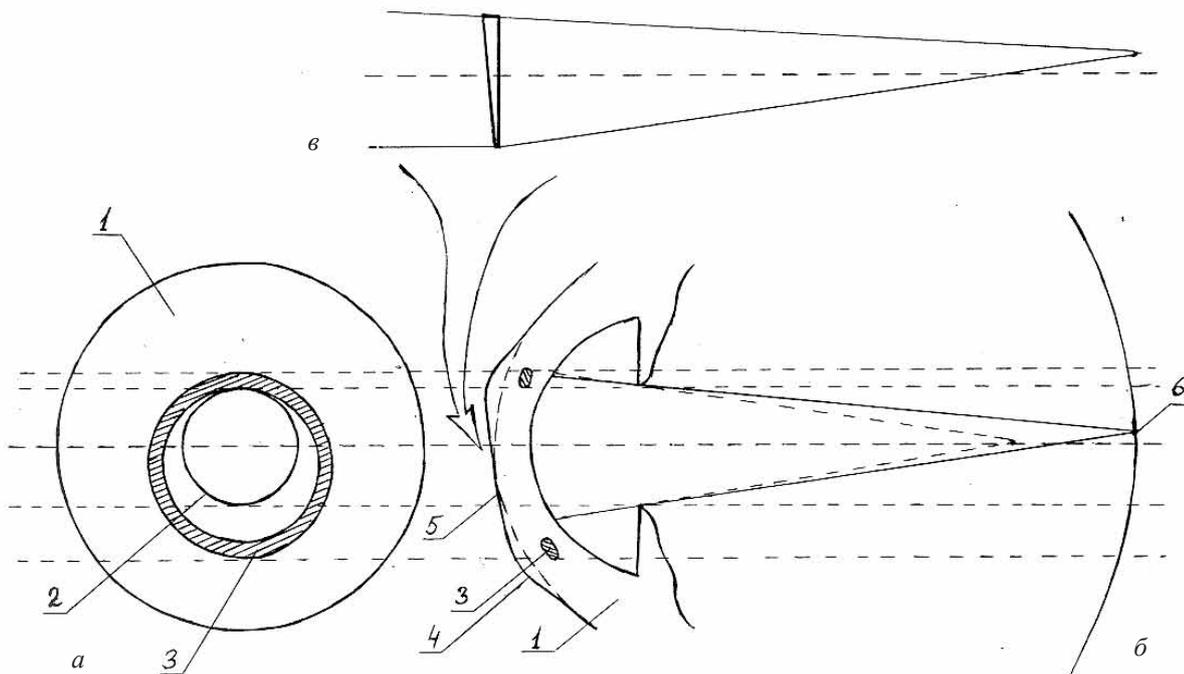


Рис. 3. Схема операции тоннельной кератопластики со смещением кольца  
а – прямая проекция; б – боковая проекция; в – условное изображение механизма действия операции  
1 – роговица; 2 – зрачок; 3 – циркулярный имплантат в строме роговицы, смещенный относительно  
оптического центра; 4 – прогибание передних слоев роговицы над имплантатом;  
5 – уплотнение оптического центра; 6 – смещение главного фокуса

И наконец, для коррекции очень высоких степеней близорукости (18,0 дптр. и выше) предложена двухэтапная операция рефракционной тоннельной (циркулярной) кератопластики. Принцип ее заключается в следующем: проводится первый этап операции в виде стандартной циркулярной тоннельной кератопластики. При условии наличия остаточной миопии, спустя 3-6 месяцев проводится второй этап, который заключается в имплантации поверх уже существующего дополнительного имплантата. При этом имплантаты располагаются друг над другом [20].

Осложнения, имевшие место у предыдущих исследователей, при проведении рефракционной кератопластики эксплантатами, объясняются, на наш взгляд, применением синтетических линз больших размеров, занимавших всю оптическую и параоптическую зоны роговицы, что естественно нарушает ее трофику. Выгодным отличием вариантов тоннельной кератопластики является то, что размеры эксплантатов столь незначительны по сравнению со всей роговицей, что они не вызывают нарушения ее питания.

В клинике проведено 310 операций, из них в 158 случаях в качестве пересадочного материала использована донорская роговица, в 63 случаях – брeфороговица (роговица плода) и в 89 случаях – гидрогелевый синтетический имплантат, модифицированный в низкотем-

пературной газоразрядной плазме. Из указанного числа оперативных вмешательств, на 86 глазах операции тоннельной кератопластики проведены больным, которым ранее было отказано в проведении эксимерлазерной коррекции в связи с наличием «тонкой», «плоской» и «выпуклой» роговицы.

Для выявления зависимости и динамики рефракционного эффекта и определения биосовместимости имплантатов предварительно проведены опыты на лабораторных животных с последующим патоморфологическим исследованием.

Одновременно, для проведения операций и получения имплантатов предложен оригинальный набор инструментов и технических устройств, позволивший уменьшить травматичность оперативных вмешательств.

В клинике в качестве пересадочного материала использованы как донорская и брeфороговица, так и плазменномодифицированные гидрогелевые (полигидроксизетилметакрилат с 38% и 70% влагосодержанием) эксплантаты.

Донорским материалом для операций рефракционной тоннельной брeфопластики роговицы служили роговицы глаз плодов человека в возрасте от 21 до 32 недель.

Материал был получен от мертворожденных плодов в случае отказа забрать плод.

Забор и трансплантация указанного материала производились в соответствии с законодательством Республики Казахстан. Учитывая большой временной промежуток (25 лет наблюдения) мы руководствовались следующими правовыми актами: ЗАКОН РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН «ОБ ОХРАНЕ ЗДОРОВЬЯ НАРОДА» от 10 января 1992 года с изменениями от 31 марта 1993 года (Глава 3. Донорство); ЗАКОН РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН «ОБ ОХРАНЕ ЗДОРОВЬЯ НАРОДА» от 19 мая 1997 года (Глава IV. Донорство); ЗАКОН РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН «ОБ ОХРАНЕ ЗДОРОВЬЯ ГРАЖДАН» от 07 июля 2006 года, Глава 6. Регулирование отдельных отношений в медицинской деятельности, Статья 36. Изъятие тканей и (или) органов (части органов) для трансплантации; Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 19 сентября 2006 года №415 «Об утверждении Правил изъятия, консервации, проведения трансплантации тканей и (или) органов (части органов) от человека к человеку, от трупа к человеку и от животного к человеку»; КОДЕКС РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН «О ЗДОРОВЬЕ НАРОДА И СИСТЕМЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ» от 18 сентября 2009 года № 193-IV, Глава 27. Трансплантация тканей и (или) органов (части органов); Приказ Министра здравоохранения Республики Казахстан от 30 октября 2009 года № 623 «Об утверждении Правил изъятия, консервации, проведения трансплантации тканей и (или) органов (части органов) от человека к человеку и от животных к человеку».

Возраст плода определялся с учётом анамнеза, акушерских данных и весоростовых показателей плода. Энуклеацию глаз плода производили стерильно не позднее чем спустя 6 часов после извлечения плода, который хранился при температуре +4 - +5 градусов по Цельсию.

Для улучшения биологической совместимости и снижения токсичности синтетических материалов нами разработан способ обработки в низкотемпературной газоразрядной плазме [5,28]. Плазма создавалась высокочастотным емкостным разрядом при давлении 0,5 Торр с использованием генератора частотой 13,56 мгц. Такая плазма являлась низкотемпературной и характеризовалась температурой нейтрального газа, а также наличием ультрафиолетового излучения, высокоэнергетических нейтральных и заряженных частиц. Под действием этих элементов происходили изменения химического состава и структуры поверхности: изменялась адгезия клеток и биосовместимость полимерных материалов, формировались барьерные пленки на поверхности материалов для

уменьшения диффузии больших молекул внутрь материала или наружу, создавались активные центры на поверхности полимерных материалов для дальнейшего закрепления биомолекул. Плазменное воздействие приводило к очистке поверхности, ее стерилизации, образованию межмолекулярных сшивок в поверхностном слое полимера. Данный фрагмент работы выполнен совместно с Центром плазменных технологий Московского физико-технического института.

**Результаты и их обсуждение.** В первые дни послеоперационного периода отмечались умеренное раздражение глаза, блефароспазм, небольшой отек век, светобоязнь и слезотечение, которые в большинстве случаев проходили спустя 5-14 дней. Реакция была несколько выраженнее при использовании эксплантатов большей толщины.

Максимальный рефракционный эффект ЦТК приходился на первые две недели после операции, с окончательной стабилизацией рефракции спустя 2-3 месяца и регрессией достигнутого эффекта на 10-12%. Достигнут рефракционный эффект от 5,5 до 20,0 дптр. При очень высоких (более 20,0 дптр) степенях корригируемой близорукости некоррекция в ряде случаев составила до 3,5 дптр. Следует отметить, что рефракционный эффект ЦТК эксплантатом был выше, в среднем, на 10%, чем при использовании донорской роговицы, при одинаковом поперечном сечении используемых пересадочных материалов. На наш взгляд, это связано с тем, что синтетический материал, в отличие от донорской роговицы, не уплощался и сохранял свою форму. В то же время, при сравнении рефракционного эффекта имплантатов из донорской роговицы и бретоимплантатов каких-либо значительных различий в величине рефракционного эффекта не выявлено.

В 75% случаев некорригированная острота зрения была равна или же превышала остроту зрения до операции с максимально возможной коррекцией. Ни у одного из пациентов снижения дооперационного уровня корригированной остроты зрения не наблюдалось.

Применение операций для коррекции астигматизма - ДСТК и ЭТК показало, что максимальный рефракционный эффект приходился на первые две недели после операции. При этом его величина в сильном меридиане колебалась при ДСТК от 5,5 до 16,0 дптр, при ЭТК - от 8,0 до 17,0 дптр. В слабом меридиане рефракционный эффект составил при ДСТК - от 0 до 14,0 дптр (в зависимости от толщины и длины эксплантатов), при ЭТК - от 6,0 до 14,0 дптр (в зависимости от толщины эксплантата и диаметра эллипса).

При проведении операций для коррекции осложнённой миопии (с призматическим эффектом) максимальное изменение рефракции также приходилось на первые две недели после операции. Окончательная стабилизация рефракции происходила на 2-3 месяце, при этом регрессия достигнутого эффекта составила 10-12%. Достигнут рефракционный эффект от 6,5 до 15,5 дптр. У всех больных достигнута более высокая некорригированная острота зрения по сравнению с остротой зрения до операции с максимально переносимой коррекцией.

Таким образом, клиническая апробация доказала, что:

- предложенные варианты тоннельной кератопластики являются эффективными способами коррекции высокой миопии, анизометропии, простого и сложного миопического астигматизма;
- операции отличаются от существующих способов меньшей травматичностью в связи с отсутствием манипуляций на оптическом центре, так как в зону операции вовлекается лишь парацентральная часть роговицы, в то время как, ее оптический центр и периферия остаются интактными;
- операции могут быть применены при «тонкой» роговице, а также при «плоской» и «выпуклой» роговице, когда эксимерлазерные операции не показаны;
- варианты тоннельной кератопластики, в основу которых положен призматический эффект, являются эффективными способами коррекции осложненной близорукости, сопровождающейся патологией макулярной области и их можно рассматривать как совершенно новое, приоритетное направление в кераторефракционной хирургии;
- применение брeфороговицы снижает зависимость офтальмохирурга от донорского материала;
- доказана эффективность предложенных плазменномодифицированных гидрогелевых имплантатов, что создает неисчерпаемый источник пересаженного материала;
- модификация в газообразной плазме представляется перспективным способом улучшения биосовместимости синтетических материалов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Беляев В.С., Веретенникова В.В. Некоторые вопросы рефракционной брeфопластики роговицы. Вестник офтальмологии 1970; 2: 28-33.
2. Беляев В.С. Операции на роговой оболочке и склере. М.: Медицина; 1992: 144.
3. Беляев В.С., Душин Н.В., Гончар П.А. Межслойная кольцевая кератопластика в коррекции миопии высокой степени. Вестн. офтальмологии 1995; 3: 7-10.
4. Беляев В.С., Душин Н.В., Гончар П.А. и др. Отдаленные результаты хирургической коррекции близорукости высокой степени методом тоннельной кератопластики. Вестник офтальмологии 2000; 116(6): 7-9.
5. Брагин В.Е., Быканов А.Н., Елисеева Е.В., Шустеров Ю.А. Синтетическая роговичная линза и способ ее изготовления. Патент РФ 2077873, опубл.: Бюл. 1997; 12: 6.
6. Двали М.Л., Цинцадзе Н.А., Сирбиладзе Б.В., Гибрадзе К.А. Имплантация интрастромальных роговичных сегментов при кератоконусе. Офтальмология 2006; 2: 5-8.
7. Керимов К.Т. Ожоги глаз: патогенез и лечение. М.: Издательство РАМН; 2005: 464.
8. Мошуренко В.В. Рефракционная тоннельная брeфопластика роговицы. Автореф. дисс... канд. мед. наук. Алматы: 2005; 25.
9. Мустафина Ж.Г., Мамбетов Е.К., Шустеров Ю.А., Елисеева Е.В. Способ рефракционной кератопластики. Предварительный патент РК 7031, опубл.: Бюл. 1999; 2: 3.
10. Мустафина Ж.Г., Мамбетов Е.К., Шустеров Ю.А. Способ хирургической коррекции близорукости. Предварительный патент РК 7279, опубл.: Бюл. 1999; 3: 4.
11. Сидоренко Е.И., Хурай А.Р. Хирургическая коррекция миопической анизометропии высокой степени у детей методом интрастромальной тоннельной кольцевой кератопластики. М.: 2007.
12. Темиров Н.Э., Корхов А.П. Рефракционная кольцевидная тоннельная кератопластика в коррекции миопии высокой степени. Вестн. офтальмологии 1991; 3: 23-32.
13. Фомина И.А. Применение фетальных клеток эпителия и кератобластов роговицы человека в эксперименте. Автореф. дисс... канд. мед. наук. М.: 2002; 22.
14. Фролов М.А. Межслойная кератопластика в коррекции миопии и миопического астигматизма. Автореф. дисс... канд. мед. наук. М.: 1992; 25.
15. Хурай А.К. Интрастромальная тоннельная кератопластика в коррекции миопической анизометропии у детей. 14.01.07 - глазные болезни. Автореф. дисс... канд. мед. наук. М.: 2013; 26.
16. Шустеров Ю.А. Рефракционная циркулярная кератопластика в коррекции миопии. Автореф. дисс. ...канд.мед.наук: 14.00.08. Автореф. дисс... канд. мед. наук. М.: 1990; 25.
17. Шустеров Ю.А., Ульданов Г.А., Робман Л.Д., Ульданов В.Г. Способ коррекции простого миопического астигматизма. А.с. 1771730 СССР, опубл.: Бюл. 1992; N 40.
18. Шустеров Ю.А., Робман Л.Д. Способ лечения миопического астигматизма. Патент 2051656 РФ, опубл.: Бюл. 1996; 1: 3.
19. Шустеров Ю.А., Мамбетов Е.К. Рефракционная интерламеллярная тоннельная кератопластика эксплантатом в коррекции миопии и миопического астигматизма. Офтальмологический журнал 2000; 4: 4-10.
20. Шустеров Ю.А., Машуренко В.В. Рефракционная брeфопластика в коррекции миопии и миопического астигматизма. Близорукость, нарушение рефракции, аккомодации и глазодвигательного аппарата: Труды международного симпозиума. М.: 2001; 150.
21. Шустеров Ю.А., Мошуренко В.В. Способ коррекции высокой близорукости. Предварительный патент РК 14870, опубл.: Бюл. 2004; 10: 2.
22. Шустеров Ю.А. Отдельные результаты интерламеллярной рефракционной кератопластики: 25-летний опыт применения. Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии – 2012: Сб. науч. статей. ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза». М.: 2012; 311-316.
23. Barseghian L.H., Margarian V.K.H., Karapetian L.A., Danielian K.V., Alexanian N.K. Brepophasty in case of diseases of anterior eye segment. Minerva Oftalmologica 1998; 40(3):163-6.
24. Doillon C.J., Watsky M.A., Hakim M., Wang J., Munger R.,

Laycock N., Osborne R., Griffith M. A collagen-based scaffold for a tissue engineered human cornea: physical and physiological properties. *Intl. J. Artif. Organs* 2003; 26:764-773.

25. Griffith M, Osborne R. Functional human corneal equivalents constructed from cell lines. *Science* 1999; 286: 2169-2172.

26. Li F., Carlsson D.J., Lohmann C.P., Suuronen E.J., Vascotto S., Kobuch K., Sheardown H., Munger M., Griffith M. Cellular and nerve regeneration within a biosynthetic extracellular matrix: corneal implantation. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 2003;100: 15346-15351.

27. Lin CC, Ritch R, Lin SM, Wu Q, Lai HJ, Lu YL, Chang YC, Lin FH. A new fish-scale derived scaffold for corneal regeneration. *European Cells Materials* 2010;19:50-57.

28. Shusterov YA, Bragin VE, Bykanov AN, Eliseeva EV. Refractive tunnel keratoplasty with synthetic implants modified by a gas-discharge plasma. *Artif Organs*. 2001; 25(12):983-93.

## SUMMARY

### EFFICIENCY OF INTERLAMELLAR REFRACTIVE TUNNEL KERATOPLASTY IN MYOPIA AND ASTIGMATISM CORRECTION

**Shusterov Y.**

*Karaganda State Medical University, Republic of Kazakhstan*

Correction of high degree myopia, anisometropia and astigmatism continues to remain one of actual problems of ophthalmology.

The purpose of the present work - the analysis of results of application of refractive interlamellar tunnel keratoplasty variants.

We develop 6 updatings tunnel keratoplasty. In total in clinic 310 operations from which in 158 cases as a transfer material used a donor cornea, in 63 cases – brephocornea (a fruit cornea) and in 89 cases – hydrogel synthetic implant, modified in low-temperature to gas-discharge plasma are spent. From the specified number of operative interventions, on 86 eyes of operation tunnel keratoplasty have been spent at those patients by whom earlier it has been given up in carrying out eximerlaser corrections, in connection with presence of a “thin”, “flat” and “convex” cornea.

Maximum refractive effect fell first two weeks after operation. Definitive stabilisation of a refraction occurred on 2-3 month, thus regress of the reached effect made an order of 10-12 %. It is reached refractive effect from 5,5 to 20,0 D. Undercorrection in some cases made to 3,5 D, that spoke very high myopia (more than 20,0 D) degrees. It has been noticed, that refractive effect of operations with implants was above (on the average on 10 %), than at use of a donor cornea, at identical cross-section section of used transfer materials. It spoke that the synthetic material, unlike a donor cornea, kept the form. At all patients substantial increase of visual acuities has been

received, and in 75 % it was equal or exceeded visual acuity before operation with the greatest possible correction.

Thus, clinical approbation has proved, that the variants of tunnel keratoplasty, are effective ways of high myopia, anisometropia and astigmatism correction. Updating in gaseous plasma is represented in the perspective way of improvement of biocompatibility of synthetic materials.

**Keywords:** Cornea, myopia, astigmatism, refractive keratoplasty, gas-discharge plasma, synthetic implants, biocompatibility.

## РЕЗЮМЕ

### ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНТЕРЛАМЕЛЛЯРНОЙ РЕФРАКЦИОННОЙ ТОННЕЛЬНОЙ КЕРАТОПЛАСТИКИ В КОРРЕКЦИИ БЛИЗОРУКОСТИ И АСТИГМАТИЗМА

**Шустеров Ю.А.**

*Карагандинский государственный медицинский университет, Республика Казахстан*

Коррекция миопии высокой степени, анизометропии и астигматизма продолжает оставаться одной из актуальных проблем офтальмологии.

Целью данного исследования явилась оценка эффективности применения вариантов рефракционной интерламеллярной тоннельной кератопластики.

Разработано 6 модификаций тоннельной кератопластики. Проведено 310 операций, из них в 158 случаях в качестве пересадочного материала использовали донорскую роговицу, в 63 случаях – брeфороговицу (роговицу плода) и в 89 случаях – гидрогелевый синтетический имплантат, модифицированный в низкотемпературной газоразрядной плазме. Из указанного числа оперативных вмешательств на 86 глазах операции тоннельной кератопластики были проведены больным, которым ранее было отказано в проведении эксимерлазерной коррекции, в связи с наличием «тонкой», «плоской» и «выпуклой» роговицы.

Максимальный рефракционный эффект приходился на первые две недели после операции. Окончательная стабилизация рефракции происходила на 2-3 месяце, при этом регрессия достигнутого эффекта составила 10-12%. Достигнут рефракционный эффект от 5,5 до 20,0 дптр. Недокоррекция в ряде случаев составила до 3,5 дптр, что объясняется очень высокими (более 20,0 дптр) степенями корригируемой близорукости. Установлено, что рефракционный эффект операций имплантатом выше (в среднем, на 10%), чем при использовании донорской роговицы, при одинаковом

поперечном сечении используемых пересадочных материалов, так как синтетический материал, в отличие от донорской роговицы, не уплощается и сохраняет свою форму. У всех больных получено значительное повышение некорригированной остроты зрения - в 75% она была равна или же превышала остроту зрения до операции с максимально возможной коррекцией.

Таким образом, клиническая апробация доказала, что предложенные автором варианты тоннельной кератопластики являются эффективными способами коррекции высокой миопии, анизометропии, простого и сложного миопического астигматизма. Модификация в газообразной плазме представляется перспективным способом улучшения биосовместимости синтетических материалов.

## რეზიუმე

ინტრალამელური რეფრაქციული არხოვანი კერატოპლასტიკის გამოყენების ეფექტურობა

ი. შუსტეროვი

ყარაგანდის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, ყაზახეთი

მაღალი ხარისხის მიოპიის, ანიზომეტროპიის და ასტიგმატიზმის კორექცია წარმოადგენს ერთ-ერთ აქტუალურ პრობლემას ოფტალმოლოგიაში. წინამდებარე ნაშრომის მიზანია ინტრალამელური რეფრაქციული არხოვანი კერატოპლასტიკის გამოყენების ვარიანტების ეფექტურობის შეფასება.

შემუშავებულ იქნა არხოვანი კერატოპლასტიკის 6 მოდიფიკაცია. კლინიკაში ჩატარებულია 310 ოპერაცია, რომელთაგან 158 შემთხვევაში გადასანერგ მასალად გამოყენებული იყო დონორის რქოვანა, 63 შემთხვევაში - ბრეფორქოვანა, 89 შემთხვევაში - დაბალტემპერატურიან გაზამმუხტველ პლაზმაში მოდიფიცირებული პიდროგელიანი სინთეტიკური იმპლანტატი. ოპერაციული ჩარევის აღნიშნული რაოდენობიდან 86 თვალზე არხოვანი კერატოპლასტიკის ოპერაცია გაუკეთდა ავადმყოფებს, რომლებსაც უარი ეთქვათ ექსიმერ-ლაზერული კორექციის ჩატარებაზე „თხელი“, „ბრტყელი“ და „ამონექტილი“ რქოვანას გამო.

მაქსიმალური რეფრაქციული ეფექტი აღინიშნა პირველ ორ კვირაში ოპერაციის შემდეგ. რეფრაქცია საბოლოოდ სტაბილიზდებოდა მე-2-3 თვეს, ამასთან, მიღწეული ეფექტის რეგრესია შეადგენდა

10-12%. მიღწეული რეფრაქციული ეფექტი 5,5-დან 20,0-მდე დპტრ. რიგ შემთხვევაში არასრული კორექცია შეადგენდა 3,5 დპტრ, რაც აიხსნება საკორექციო ახლომხედველობის მაღალი ხარისხით (20,0 დპტრ). აღინიშნა, რომ ექსპლანტატივით ოპერაციების რეფრაქციული ეფექტი იყო უფრო მაღალი (საშუალოდ, 10%-ით), ვიდრე დონორი-რქოვანას გამოყენების შემთხვევაში გამოსაყენებელი გადასანერგი მასალების ერთნაირი განივი კვეთის დროს. ეს აიხსნებოდა იმით, რომ სინთეტიკური მასალა, დონორის რქოვანასგან განსხვავებით, არ ბრტყელდებოდა და ინარჩუნებდა ფორმას. ყველა ავადმყოფთან მიღწეული იქნა არაკორიგირებული მხედველობის სიმახვილის მნიშვნელოვანი მატება - 75%-ში ტოლი იყო ან აღემატებოდა მაქსიმალურად შესაძლო კორექციით ოპერაციამდე მხედველობის სიმახვილეს.

კლინიკურმა აპრობაციამ დაამტკიცა, რომ შემოთავაზებული არხოვანი კერატოპლასტიკის ვარიანტები მაღალი მიოპიის, ანიზომეტროპიის, მარტივი და რთული მიოპიური ასტიგმატიზმის კორექციის ეფექტური საშუალებებია. მოდიფიკაცია აირისებრ პლაზმაში წარმოადგენს სინთეტიკური მასალების ბიოშეთავსებადობის გაუმჯობესების პერსპექტიულ საშუალებას.

## EFFECT OF ESTROGEN RECEPTOR GENE ESR1 POLYMORPHISM ON DEVELOPMENT OF PREMENSTRUAL SYNDROME

Pakharenko L.

*SHEE "Ivano-Frankivsk National Medical University", Ivano-Frankivsk, Ukraine*

Premenstrual syndrome (PMS) - is a functional disorder of the central nervous system under the influence of adverse exogenous or endogenous factors on the background of the acquired or congenital lability of hypothalamic-pituitary-ovarian system [5]. Symptoms of psychological, endocrine, vegetative, metabolic nature arise in luteal phase of menstrual cycle and significantly disturb usual life of a woman.

Hormonal aspects of PMS are convincing. One of the first theories of development of this disease is the theory hyperestrogenemy. Estrogens exert their effects on cells by binding with  $\alpha$  or  $\beta$  receptors. These receptors are encoded by genes ESR1 and ESR2. Expression of these genes is located not only female in genital tissues, but also in cells of the prostate, heart, lungs, kidneys, etc. [4]. There are only some reports about of ESR gene polymorphism in the development of gynecological pathology. This is possibly due to the relatively recent tendency of research and development of new technologies in medicine. There is a close relationship of A/G polymorphism of ESR1 with endometriosis and infertility on its background and ESR2 gene polymorphism is not associated with development of this disease [11]. In women with infertility and low response to ovarian stimulation genotype AG gene ESR1 was found most frequently [3]. ESR1 gene polymorphism may be associated with the development of dysmenorrhea [12], migraine [7,9], and the regulation of behavior and mood of women [8, 10].

The aim of this study was to investigate the frequency of polymorphic variants of A-351G gene estrogen receptor ESR1 in patients with various forms of PMS.

**Material and methods.** The study included 200 women with premenstrual syndrome, which formed basic group. The control group consisted of 50 healthy women without diagnosis of PMS. Verification of diagnosis and severity of disease (mild and severe) was performed according to Order of Ministry of Health of Ukraine № 676 from 31. 12. 2004 [5]. Diagnosis of PMS was exhibited by presence of cyclical manifestations of the disease in luteal phase of menstrual cycle on the basis of history-taking and results of patient's self-observation diary for 2-3 menstrual cycles (R. Moos Menstrual Distress Questionnaire). Form of PMS (edematous, neuropsychical, cephalgic, crisis) was determined in accordance with V. P. Smetnik's classification [6]. Clinical examination was carried out on the basis of Ivano-Frankivsk clinical maternity hospital (Ivano-Frankivsk, Ukraine).

The criteria for inclusion of patients in research were: the reproductive age (18-44 years), regular menstrual cycles, presence of PMS, written consent of the patient. Exclusion criteria: women who had at the time of the study pregnancy or lactation, disorders of menstrual cycle, focal lesions of breast, dysfunctional uterine bleeding of unknown etiology, acute inflammation of pelvic organs, tumors of uterus and ovaries of unknown etiology, endometrial hyperplasia, genital endometriosis, severe somatic pathology in the history, organic pathology of the central nervous system, mental illness, hormonal tumors, diabetes, adrenal diseases, malignant tumors in the present or in anamnesis, premenstrual dysphoric disorder, women who took psychotropic medications or hormonal therapy within the last 3 months.

The average age of women in control and basic groups was not statistically different and was respectively  $28.82 \pm 0.76$  and  $30.13 \pm 0.36$  years ( $p=0.08$ ). Age of menarche corresponded in two groups -  $12.94 \pm 0.13$  and  $12.86 \pm 0.06$  years and had no differences depending on the form of PMS ( $p>0.05$ ). We found that the average age of onset of this disease was  $23.79 \pm 0.29$  years. 45 (90.0%) women in control group had a history of gynecological diseases, 31 (62.0%) women of them had two or more diseases. In basic group we noticed a similar trend, the figures were, respectively, 198 (99.0%) and 136 women (68.0%). A significant percentage of gynecological pathology occupied chronic inflammation of uterine appendages (68.0% and 59.0%, respectively), as well as inflammation of the lower genital tract (44.0% and 54.5%). 26.0% of women in both groups had menstrual disorders in anamnesis. Only 22 women (44.0%) in control group had a history of pregnancy, which was 1.59 times lower than in basic group (140 women - 70.0%;  $\chi^2=10.74$ ,  $p=0.001$ , OR=2.96, 95% CI 1.57-5.60,  $p<0.001$ ). Noteworthy is the fact that women with PMS had more labors - 64.5% versus 38.0% in control group ( $\chi^2=10.56$ ,  $p=0.001$ , OR=2.96, 95% CI 1.56-5.62,  $p<0.001$ ).

Given that the most common forms of PMS are edematous and neuropsychical, we performed molecular genetic analysis of ESR1 gene polymorphism in 50 women of basic group, 25 of them had edematous form of disease, 25 - neuropsychical, 25 - mild, 25 - severe. Also 25 women of control group were examined.

A-351G polymorphism of the gene ESR1 estrogen was determined in the research laboratory, Department of Medical Genetics, Shupyk National Medical Academy

of Postgraduate Education (Kyiv). Material for the study was peripheral blood, which was collected into tubes with EDTA in amount of 2.7 ml, then DNA was isolated using a commercial set «DNA-sorb-B» (Institute of Epidemiology of the Ministry of Health of Russian Federation). After the polymerase chain reaction with the reagents of the company Fermentas (Lithuania) in thermocycler «FlexCycler» (Analytik, Jena, Germany) restriction fragment length polymorphism was analyzed. The amplification products of A-351G gene ESR1 fragments were splitted using restriction endonuclease PvuII. Then, electrophoresis of resulting fragments in 2% agarose gel with the addition of ethidium bromide and visualization by computer system Vitran were performed.

For statistical analysis of the results we used the criterion  $\chi^2$ , odds ratio (OR), confidence interval (CI).

**Results and their discussion.** We found no statistically significant differences in the distribution of allele and genotype frequencies of A-351G polymorphic estrogen receptor gene ESR1 between women of control and basic groups (see fig. 1). The frequency of heterozygous genotype AG was similar in both groups, but among healthy women met at 1.50 times more than in patients with PMS and reached 60.0% and 40.0%, respectively ( $\chi^2=1.93$ ,  $p=0.16$ ,  $OR=0.44$ , 95% CI 0.17-1.18,  $p=0.10$ ).

In women with edematous, neuropsychical and mild forms of disease AG genotype was predominant (Table 1).

However, we found that 24.0% of women with severe PMS found significantly lower in 2.50 times frequency of AG genotype compared with healthy women ( $\chi^2=5.25$ ,  $p=0.02$ ,  $OR=0.21$ , 95% CI 0.06-0.71,  $p=0.01$ , Table 2).

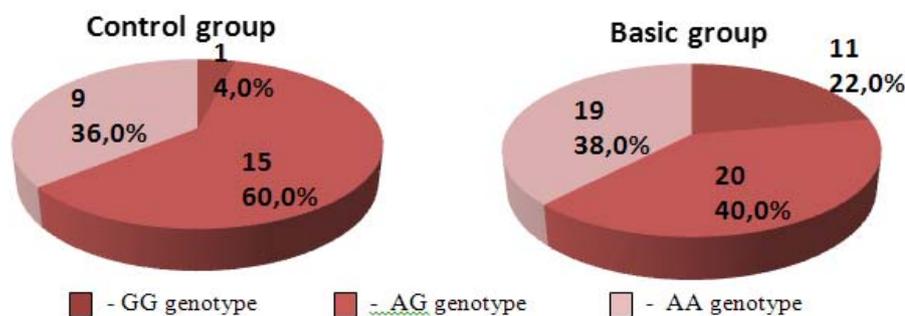


Fig. The frequency of polymorphic variants of A-351G estrogen receptor gene ESR1 among examined women

Table 1. The frequency of A-351G polymorphism of the estrogen receptor gene ESR1 in women with different forms of PMS

Groups	n	GG genotype		AG genotype		AA genotype	
		abs.	%	abs.	%	abs.	%
Control group	25	1	4.0	15	60.0	9	36.0
Edematous form of PMS	25	7	28.0	9	36.0	9	36.0
Neuropsychical form of PMS	25	4	16.0	11	44.0	10	40.0
Mild form of PMS	25	3	12.0	14	56.0	8	32.0
Severe form of PMS	25	8	32.0	6	24.0	11	44.0
Basic group, total	50	11	22.0	20	40.0	19	38.0

Table 2. The frequency of genotypes of estrogen receptor gene ESR1 among examined women, depending on form of PMS compared with control group

Groups	n	GG genotype			AG genotype			AA genotype		
		%	$\chi^2$	p	%	$\chi^2$	p	%	$\chi^2$	p
Control group	25	4.0			60.0			36.0		
Edematous form of PMS	25	28.0	3.72	0.05	36.0	2.00	0.16	36.0	0.09	0.77
Neuropsychical form of PMS	25	16.0	0.89	0.35	44.0	0.72	0.39	40.0	0.00	1.00
Mild form of PMS	25	12.0	0.27	0.60	56.0	0.00	1.00	32.0	0.00	1.00
Severe form of PMS	25	32.0	4.87	0.03	24.0	5.25	0.01	44.0	0.08	0.77
Basic group, total	50	22.0	2.79	0.09	40.0	1.93	0.16	38.0	0.01	0.93

note. p - probability of the difference of indicator relative to control group

Table 3. Genotypes A-351G polymorphism of estrogen receptor gene ESR1 as risk markers of PMS

Forms of PMS	Mark	GG genotype	AG genotype	AA genotype
Edematous form of PMS	OR	9.33	0.37	1.00
	CI	1.05-82.78	0.12-1.18	0.31-3.17
	p	0.04	0.09	1.00
Neuropsychical form of PMS	OR	4.57	0.52	1.18
	CI	0.47-44.17	0.17-1.61	0.38-3.72
	p	0.19	0.26	0.77
Mild form of PMS	OR	3.27	0.85	0.84
	CI	0.32-33.84	0.27-2.61	0.26-2.70
	p	0.32	0.77	0.77
Severe form of PMS	OR	11.29	0.21	1.39
	CI	1.29-98.89	0.06-0.71	0.45-4.35
	p	0.03	0.01	0.56
Basic group, total	OR	6.77	0.44	1.09
	CI	0.82-55.79	0.17-1.18	0.40-2.95
	p	0.07	0.10	0.87

In women of basic group GG genotype was determined at 5.50 times more than of control one (22.0% and 4.0%, respectively), but the differences did not reach statistical significance ( $\chi^2=2.79$ ,  $p=0.09$ , OR=6.77, 95% CI 0.82-55.79,  $p=0.07$ ). Mark OR of the distribution of GG genotype in women with PMS compared with healthy women greater than 1, namely 6.77, may indicate a possible association of AG polymorphism in the development of the disease (Table 3).

Women with edematous form of PMS had significantly higher in 7.0 times frequency of GG genotype (28.0%) than in control group ( $\chi^2=3.72$ ,  $p=0.05$ ). A frequency of GG genotype in women with severe PMS was significantly higher in the 8.0 times compared with healthy women, and accounted for 32.0% ( $\chi^2=4.87$ ,  $p=0.03$ ). The odds ratio of groups with edematous and severe forms of PMS compared with control group is high (OR=9.33-11.29,  $p=0.03-0.04$ ), and points to the link of GG genotype with the occurrence of a certain form of the disease.

Thus, GG genotype may be regarded as a marker for increased risk of PMS, namely, its severe and edematous forms.

The frequency of the homozygous AA genotype was similar in the two groups of patients (38.0% of women with PMS and 36.0% of healthy women) and did not differ significantly depending on the clinical form and course of the disease.

G allele was determined in 31 (62.0%) women with PMS and 16 (64.0%) healthy women, A allele - in 49 (98.0%) and 24 (96.0%) persons, respectively. Distribution of G allele in women with various forms of PMS was approximately the same: in patients with edematous form it was determined in 16 (64.0%) women, neuropsychical - 15 (60.0%), mild - 17 (68.8%), severe - 14 (56.0%). A allele

was found in 18 (72.0%) women with edematous form of PMS, 21 (84.0%) - neuropsychical, 22 (88.0%) - mild, 17 (68.0%) - severe. Statistically significant differences between groups were not observed.

Estrogen receptor gene ESR1 polymorphism as a factor of development of PMS is studied poorly. N.V. Aganezova indicates approximately the same distribution of genotypes A/G gene ESR between women with PMS and without this pathology, which corresponds to the results of our study. The author confirms that for women with PMS and genotype GG are characterized by mood swings, as well as such phenomena as affective lability, tendency to asthenic, hypochondriacal, anancastic features [1]. Therefore, this genotype she considers as "a marker which indirectly predisposes originality emotional and personal characteristics of women with PMS" [2].

**Conclusion.** A polymorphic variant of A-351G gene estrogen receptor ESR1 can be regarded as a marker for the development of PMS. Pathological variant GG genotype was significantly associated with the presence of edematous and severe forms of the disease.

## REFERENCES

1. Аганезова Н.В. Роль наследственных и гормональных факторов в развитии предменструального синдрома. Журнал акушерства и женских болезней 2011; LX (Выпуск 1): 12-20.
2. Аганезова Н.В., Морозова Е.Б., Чухловин А.Б., Корчагина З.В. Ассоциации проявлений предменструального синдрома в психозональной сфере с генным полиморфизмом гена рецептора эстрогенов ER-1. Журнал акушерства и женских болезней 2011; LX (Выпуск 2): 14-20.
3. Запорожан В.М., Борис О.М. Зв'язок низького рівня відповіді на стимуляцію овуляції у пацієнок з синдромом полікістозних яєчників із функціональним генетичним поліморфізмом. Медико-соціальні проблеми сім'ї 2011; 3: 35-39.

4. Лівшиць Г.Б., Кучеренко А.М., Подлесна С.С., Кравченко С.А., Лівшиць Л.А. Аналіз алельного поліморфізму гена ESR1 серед населення України. Цитология и генетика 2012; 4: 31-39.
5. Наказ № 676 МОЗ України від 31. 12. 2004 «Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги».
6. Сметник В. П., Тумилович Л. Г. Неоперативная гинекология: Руководство для врачей. Книга 1. СПб.: СОТИС; 1995: 129-138.
7. Joshi G., Pradhan S., Mittal B. Role of the oestrogen receptor (ESR1 PvuII and ESR1 325 C>G) and progesterone receptor (PROGINS) polymorphisms in genetic susceptibility to migraine in a North Indian population. Cephalalgia 2010; 30 (3): 311-20.
8. Miller A., Vo H., Huo L., Roca C., Schmidt P.J., Rubinow D.R. Estrogen receptor alpha (ESR-1) associations with psychological traits in women with PMDD and controls. J Psychiatr Res. 2010; 44 (12): 788-94
9. Schürks M., Rist P.M., Kurth T. Sex hormone receptor gene polymorphisms and migraine: a systematic review and meta-analysis. Cephalalgia 2010; 30(11): 1306-28.
10. Sundermann E.E., Maki P.M., Bishop J.R. A review of estrogen receptor alpha gene (ESR1) polymorphisms, mood, and cognition. Menopause 2010; 17(4): 874-86.
11. Wang W., Li Y., Maitituoheti M., Yang R., Wu Z., Wang T. et al. Association of an oestrogen receptor gene polymorphism in Chinese Han women with endometriosis and endometriosis-related infertility. Reprod Biomed Online 2013; 26 (1): 93-8.
12. Woo H.Y., Kim K.H., Lim S.W. Estrogen receptor 1, glutathione S-transferase P1, glutathione S-transferase M1, and glutathione S-transferase T1 genes with dysmenorrhea in Korean female adolescents. Korean J Lab Med 2010; 30 (1):76-83.

## SUMMARY

### EFFECT OF ESTROGEN RECEPTOR GENE ESR1 POLYMORPHISM ON DEVELOPMENT OF PREMENSTRUAL SYNDROME

**Pakharenko L.**

*SHEE "Ivano-Frankivsk National Medical University", Ivano-Frankivsk, Ukraine*

To identify risks of development of any disease is a priority of modern medicine. The aim of this study was to investigate the frequency of polymorphic variants of A-351G gene estrogen receptor ESR1 in patients with various forms of PMS. Molecular genetic analysis of ESR1 gene polymorphism in 50 women with PMS (25 women of them had edematous form of disease, 25 - neuropsychical, 25 – mild, 25 - severe form) was carried out. 25 women without diagnosis of PMS were examined as controls. The study A-351G polymorphism estrogen gene ESR1 showed no statistically significant differences in the frequency of distribution of genotypes and alleles between women with PMS and without this pathology. However, the frequency of GG genotype in women with severe PMS was significantly higher in 8.0 times compared with healthy women ( $\chi^2=4.87$ ,  $p=0.03$ ) and in women with edematous form of PMS – in 7.0 times ( $\chi^2=3.72$ ,  $p=0.05$ ). Thus, a polymorphic variant of A-351G gene ESR1 estrogen can be considered

as a marker of PMS. Pathological variant GG genotype was significantly associated with the presence of edematous and severe forms of the disease.

**Keywords:** premenstrual syndrome, estrogen receptor gene ESR1, polymorphism.

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА РЕЦЕПТОРА ЭСТРОГЕНА ESR1 НА РЕАЛИЗАЦИЮ РАЗВИТИЯ ПРЕДМЕНСТРУАЛЬНОГО СИНДРОМА

**Пахаренко Л.В.**

*ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет», Ивано-Франковск, Украина*

Определение рисков развития болезни является приоритетным направлением современной медицины. Целью данного исследования явилось изучение частоты полиморфных вариантов А-351G гена рецептора эстрогена ESR1 у больных различными формами предменструального синдрома (ПМС). Проведен молекулярно-генетический анализ полиморфизма гена ESR1 у 50 женщин с ПМС, из них у 25 женщин с отечной и 25 – с нейropsychической формами, 25 женщин имели легкую, 25 – тяжелую форму заболевания. Обследованы также 25 женщин без диагноза ПМС. В результате исследования А-351G полиморфного локуса гена эстрогена ESR1 статистически значимых различий в распределении частот генотипов и аллелей между женщинами с ПМС и без этой патологии не выявлено. Однако, частота генотипа GG у женщин с тяжелой формой ПМС была достоверно выше - в 8,0 раз в сравнении со здоровыми женщинами ( $\chi^2=4,87$ ,  $p=0,03$ ), у женщин с отечной формой ПМС – в 7,0 раз ( $\chi^2=3,72$ ,  $p=0,05$ ). Таким образом, полиморфный вариант А-351G гена эстрогена ESR1 можно рассматривать в качестве маркера развития ПМС. Патологический вариант GG генотипа достоверно ассоциируется с наличием отечной и тяжелой форм заболевания.

რეზიუმე

ESR1 ესტროგენის რეცეპტორის გენის პოლიმორფიზმის გავლენა მენსტრუაციისწინა სინდრომის განვითარების რეალიზაციაზე

ლ. პახარენკო

სუსდ „ივანო-ფრანკოვსკის ეროვნულ სამედიცინო უნივერსიტეტი“, ივანო-ფრანკოვსკი, უკრაინა

დაავადების განვითარების რისკის განსაზღვრა თანამედროვე მედიცინის პრიორიტეტული მიმართულებაა. გამოკვლევის მიზანს წარმოად-

გენს ESR1 ესტროგენის რეცეპტორის A-351G გენის პოლიმორფული ვარიანტების სიხშირის შესწავლა მენსტრუაციისწინა სინდრომის (მწს) სხვადასხვა ფორმით დაავადებულ ავადმყოფებში. მწს-ით დაავადებულ 50 ქალს ჩაუტარდა ESR1 გენის მოლეკულარულ-გენეტიკური ანალიზი, მათ შორის 25 ქალს – მწს-ის შეშუპებული ფორმით, 25 – ნეიროფსიქიკური ფორმით, მათ შორის დაავადების მსუბუქი ფორმით დაავადებული იყო 25 ქალი, მძიმე ფორმით – 25 ქალი; გამოკვლეული იყო აგრეთვე მწს დიაგნოზის არმქონე 25 ქალი.

ESR1 ესტროგენის გენის პოლიმორფული ლოკუსის A-351G გამოკვლევის შედეგად სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი სხვაობა გენოტიპების და

ალელების სიხშირის განაწილებაში იმ ქალთა შორის, ვინც დაავადებულია მწს-ით და მათ შორის, ვისაც ეს პათოლოგია არა აქვს არ გამოვლინდა. GG გენოტიპის სიხშირე მწს-ის მძიმე ფორმით დაავადებულ ქალებში იყო სარწმუნოდ 8,0 ჯერ ჯანრმთელ ქალებთან შედარებით ( $\chi^2=4,87$ ,  $p=0,03$ ), ხოლო მწს-ის შეშუპებული ფორმით დაავადებულ ქალებში – 7,0 ჯერ ( $\chi^2=3,72$ ,  $p=0,05$ ) უფრო მეტი. ამგვარად, ESR1 ესტროგენის გენის პოლიმორფული ვარიანტი A-351G შეიძლება განხილული იყოს როგორც მწს-ის განვითარების მარკერი. GG გენოტიპის პათოლოგიური ვარიანტი სარწმუნოდ ასოცირდება დაავადების შეშუპებულ და მძიმე ფორმების არსებობასთან.

## A RARELY SEEN CASE AMONG RETROPERITONEAL MASS LESIONS: PARAGANGLIOMA

<sup>1</sup>Yildirim Ç., <sup>1</sup>Yüksel Ö.H., <sup>1</sup>Ürkmez A., <sup>2</sup>Özbay N., <sup>1</sup>Verit A.

<sup>1</sup>Fatih Sultan Mehmet Research and Training Hospital, Department of Urology,  
<sup>2</sup>Department of Pathology, Istanbul, Turkey

Pheochromocytomas are rarely seen catecholamine-secreting neuroendocrine tumors which originate from chromaffin cells of the sympathetic nervous system in the adrenal medulla [1]. Pheochromocytomas with extraadrenal location are called paragangliomas. Pheochromocytomas, and paragangliomas are very rarely seen tumors with an incidence lower than 1/300.000 [7].

**Case report.** A-29-year-old male patient who had been followed up with the diagnosis of hypertension for nearly 15 years presented to our outpatient clinic with an incidental solid mass lesion measuring nearly 3 cm in diameter in the right adrenal loge detected on ultrasonograms obtained during routine controls. The patient who hadn't any complaint then, had undergone simple nephrectomy 14 years ago with an indication of atrophic kidney. He hadn't any comorbidity or any other previous surgery. Preoperative physical examination could not reveal any abnormality. Preoperative parathormone (PTH) value was above normal range [81.8 pg/ml (15-68.3 pg/ml)]. Other laboratory values were unremarkable. Laboratory parameters to detect any pathology related to the adrenal lesion including measurements of blood cortisol, dihydroxyepiandrosterone sulphate (DHEASO<sub>4</sub>), and also vanillylmandelic acid, and metanephrine in 24-hour urine were not significantly higher than normal values. Radiological evaluation of pancreas, and parathyroid glands did not reveal any pathology associated

with potential adrenal lesions, and related syndromes.

On contrast-enhanced upper abdominal magnetic resonance images (MRI) of the lesion in question, a heterogenous mass lesion measuring 27 x 25 mm, indented into vena cava inferior (VCI) from posterior and located in the retrocaval space in the vicinity of body, and cauda of the right adrenal gland was observed (Fig. 1).

With an initial diagnosis of retroperitoneal mass, we performed open surgical exploration. During the perioperative period, a cystic capsular lesion nearly 3 cm in diameter at the level of the adrenal gland, and located on the right posteromedial aspect of VCI was seen. The mass lesion was not adhered to the adrenal tissue, however on the medial aspect it was fixed to VCI. The mass lesion was extirpated with meticulous dissections. The patient did not develop any complication during the postoperative period, and discharged on the postoperative 5. day with surgical cure.

Macroscopically, a fragile, moderately solid, pale brown mass with patchy areas of bleeding with dimensions of 2.5x2x1.5 cm was observed. Microscopic examination revealed a lesion surrounded by a thick fibrotic capsule, and a tumor tissue resembling debris shedded from a cystic area (Fig. 2).

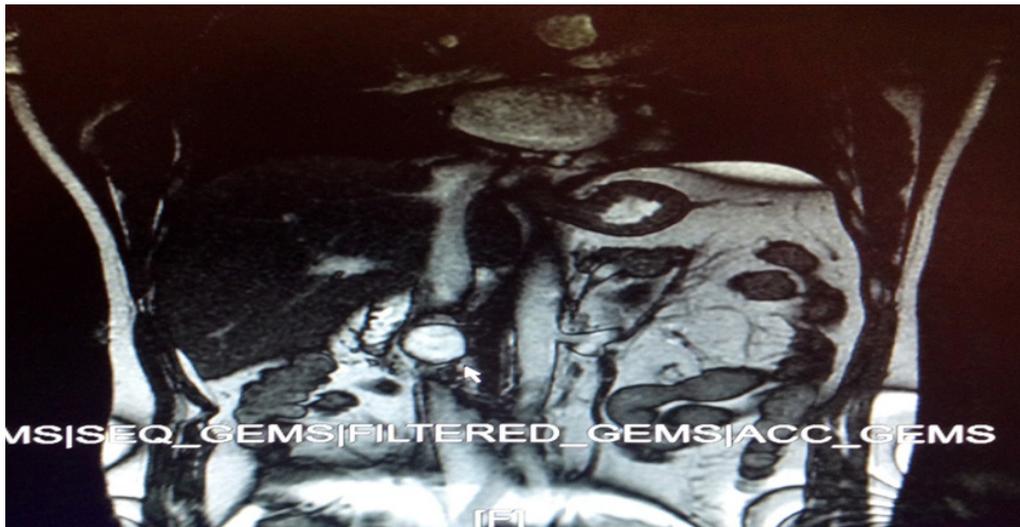


Fig. 1. MRI appearance of the retroperitoneal mass

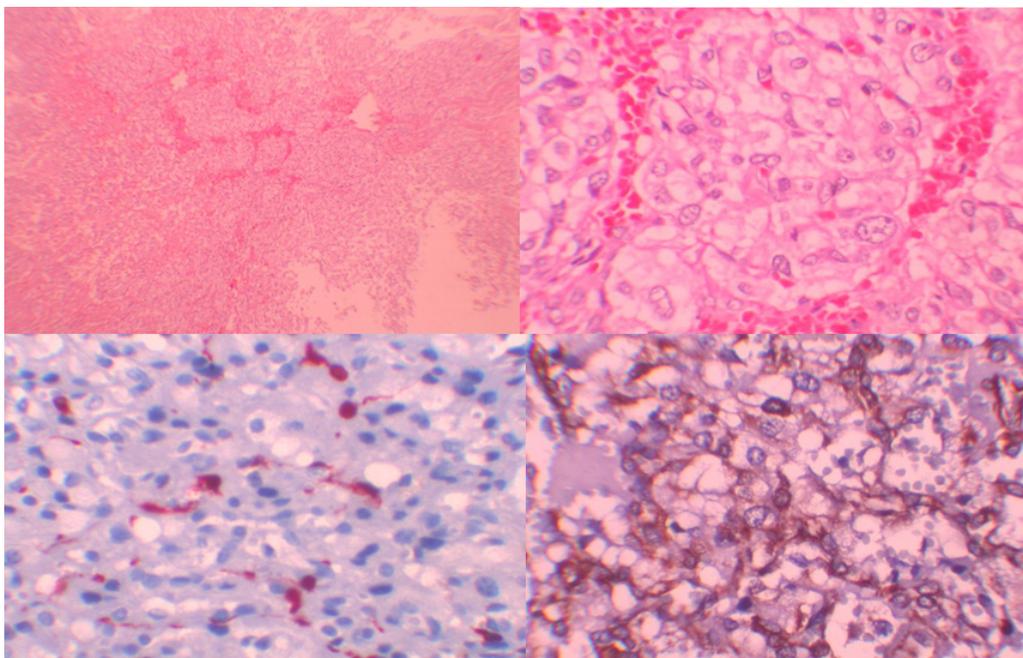


Fig. 2. Histopathological appearance of the excised mass

Immunohistochemical analysis revealed EMA/CEA/CK7/HMWCK/LMWCK/CD10/MUC1/MUC2 negativity in the mass lesion. vimentin, and CD31 positivity in vascular structures, S100 positivity in sustentacular cells, lower KI67 proliferation index, diffuse, and strong positivity for chromogranin/synaptophysin, and focal positivity for NSE. With these immunohistochemical findings, the case was reported as pheochromocytoma/paraganglioma.

**Results and their discussion.** Sympathetic nervous system, and adrenal medulla develop as a single unit up to the 13. gestational week. From that time on, they separate from each other because of migration of neural cells. Pheochromocytoma is seen in the adrenal medulla, while paraganglioma can be found on these pathways of migration.

Majority (80-85%) of pheochromocytomas, and paragangliomas originate from chromaffin cells, while 15-20% of them stem from parasympathetic, and sympathetic ganglions [8].

Clinical signs are due to increased catecholamine release. The most frequently encountered symptoms are nonspecific manifestations as hypertension, headache, excessive sweating, and palpitation. Persistent or paroxysmal episodes of hypertension can be seen. Conventionally, metastatic (10%), bilateral (10%), extra-adrenal (10%), and familial (10%) types of pheochromocytomas can be observed. Hypertension is not seen in 10% of the cases (so-called rule of ten) [2].

Pheochromocytoma or paraganglioma is seen in three important genetic syndromes including von Hippel–Lindau (VHL) syndrome, multiple endocrine neoplasia type 2 (MEN2), neurofibromatosis type 1 (NF1) [5].

The essential step in the treatment of pheochromocytoma is surgical excision. Besides, following establishment of pheochromocytoma in patients with MEN2, family members of these patients should be screened for the presence of MEN2.

During perioperative period of the surgical interventions performed for neuroendocrine tumors (i.e. pheochromocytomas, and paragangliomas) hypertension, and cardiac dysrhythmias due to catecholamine discharge can be seen. In our case, hypertensive episodes, and ventricular extrasystoles were seen intraoperatively while the mass was dissected away from VCI. However, following extraction of the mass the patient remained in a stable condition till the end of the operation.

In less than 1% of the hypertensive patients, the causative factor is pheochromocytoma. However because of curability of the disease when it is diagnosed at an early stage, and its fatal course if its diagnosis is overlooked, the diagnosis of pheochromocytoma should be confirmed definitively.

Paragangliomas which are considered to be non-functional from clinical perspective demonstrate malignant behaviours. Metastatic foci of paragangliomas are encountered in the lungs, liver, bones, lymph nodes, and kidneys. In some cases, neurological signs dependent on the primary compressive effect of the tumor can be seen. In our case, preoperatively any presumptively metastatic lesion was not detected. During the postoperative period, clinical, and radiological investigations of these patients (especially for costal and vertebral metastases) as for potential metastatic involvement are recommended. Even after 5 years after adrenalectomy, metastatic lesions can be encountered [4]. In our case, in reevaluations performed after definitive establishment of the diagnosis, any abnormal radiological signs suggesting a metastatic lesion were not detected.

In the assessments of malignant potential of the disease, size of the tumor, presence of invasion, pathological lymph node(s), and metastasis are important criteria. Besides irregular contours, heterogeneity, and hyperdensities increase the probability of malignancy [9].

A consensus approving surgical removal of the tumor as the only effective treatment modality of pheochromocytoma has been entertained [3]. Chemotherapy and radiotherapy have been applied for patients who could not tolerate curative surgery [6]. In our case, we didn't encounter any metastatic lesion, and during the postoperative period the patient was referred to the clinics of endocrinology, and oncology for medical follow-up. In the differential diag-

nosis of retroperitoneal mass lesions, pheochromocytoma/paraganglioma should not be forgotten. Besides, for malignant tumors chemoradiotherapy, and for benign functional tumors medical treatment should be applied.

## REFERENCES

1. Blake MA, Kalra MK, Maher MM. Pheochromocytoma; an imaging chameleon. *Radiographics* 2004; 24:87-99.
2. Bucher P, Mathe Z, Buhler L, et al. Paraganglioma of the ampulla of Vater: a potentially malignant neoplasm. *Scand J Gastroenterol.* 2004; 39:291-295.
3. Chen H, Sippel RS, O'Dorissio MS, et al. The North American Neuroendocrine Tumor Society consensus guideline for the diagnosis and management of neuroendocrine tumors. *Pancreas* 2010; 39:775-783.
4. Goldstein RE, O'Neill JA, Holcomb GW III, et al. Clinical experience over 48 years with pheochromocytoma. *Ann Surg.* 1999; 229:755-764.
5. Lefebvre M., Foulkes W.D. Pheochromocytoma and paraganglioma syndromes: genetics and management update. *Curr Oncol.* 2014; 21:8-17.
6. McBride JF, Atwell TD, Charboneau WJ. et al. Minimally invasive treatment of metastatic pheochromocytoma and paraganglioma: efficacy and safety of radiofrequency ablation and cryoablation therapy. *J Vasc. Interv. Radiol.* 2011; 22:1263-1270.
7. Opocher G, Schiavi F. Genetics of pheochromocytomas and paragangliomas. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2010; 24:943-956.
8. Pasini B, Stratakis CA. SDH mutations in tumorigenesis and inherited endocrine tumours: lesson from the pheochromocytoma-paraganglioma syndromes. *J Intern Med.* 2009; 266:19-42.
9. Strong VE; Kennedy T, Al-Ahmadie H, et al. Prognostic indicators of malignancy in adrenal pheochromocytomas: clinical, histopathologic and cell cycle/apoptosis gene expression analysis. *Surgery* 2008; 143:759-768.

## SUMMARY

### A RARELY SEEN CASE AMONG RETROPERITONEAL MASS LESIONS: PARAGANGLIOMA

<sup>1</sup>Yildirim Ç., <sup>1</sup>Yüksel Ö.H., <sup>1</sup>Ürkmez A., <sup>2</sup>Özbay N., <sup>1</sup>Verit A.

<sup>1</sup>Fatih Sultan Mehmet Research and Training Hospital, Department of Urology, <sup>2</sup>Department of Pathology, Istanbul, Turkey

Pheochromocytomas are rarely seen catecholamine-secreting neuroendocrine tumors. Diagnosis, treatment, and prognosis of this rarely seen condition have been discussed. In this study, a retroperitoneal paraganglioma with a diameter of 27 mm was detected in a 29-years old nephrectomized male patient. In our case, in reevaluations performed after definitive establishment of the diagnosis, any abnormal radiological signs suggesting a metastatic lesion were not detected. During the postoperative period the patient was referred to the clinics of endocrinology, and oncology for medical follow-up. In the differential diag-

nosis of retroperitoneal mass lesions, pheochromocytoma/ paraganglioma should not be forgotten. Besides, for malignant tumors chemoradiotherapy, and for benign functional tumors medical treatment should be applied.

**Keywords:** Pheochromocytoma, paraganglioma, retroperitoneal mass.

## РЕЗЮМЕ

### РЕДКИЙ СЛУЧАЙ РЕТРОПЕРИТОНИАЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ: ПАРАГАНГЛИОМА

<sup>1</sup>Илддырым Ч., <sup>1</sup>Юксел О.Х., <sup>1</sup>Уркмез А., <sup>2</sup>Озбай Н., <sup>1</sup>Верит А.

*<sup>1</sup>Исследовательский и учебный госпиталь им. Св. Султана Мехмета, департамент урологии; <sup>2</sup>департамент патологии, Стамбул, Турция*

Феохромоцитомы - редконаблюдаемые катехол-секретируемые нейроэндокринные опухоли. В статье обсуждаются диагностика, лечение и прогнозирование этого редкого заболевания. Описан случай ретроперитонеальной параганглиомы диаметром 27 мм, наблюдаемый у 29-летнего нефрэктомизированного пациента. В данном конкретном случае, при повторном обследовании, после установления точного диагноза, каких-либо аномальных радиологических признаков, позволяющих предположить метастазические опухоли, не выявлено. В постоперационном периоде пациент был прикреплен к эндокринологической и онкологической клиникам для последующего медицинского наблюдения. Результаты исследования позволили сделать вывод о необходимости дифференциации ретропериотениальных новообразований, феохромоцитомы/ параганглиомы. При злокачественных опухолях авторы рекомендуют химиотерапию, а при доброкачественных функциональных опухолях – лекарственное лечение.

## რეზიუმე

რეტროპერიტონული სიმსივნეების იშვიათი შემთხვევა: პარაგანგლიომა

<sup>1</sup>ჩ. ილდირიმი, <sup>1</sup>ო. იუქსელი, <sup>1</sup>ა. ურკეზი, <sup>2</sup>ნ. ოზბაი, <sup>1</sup>ა. ვერიტი

<sup>1</sup>წმ. სულთან მეხმეთის სახ. კვლევითი და სასწავლო ჰოსპიტალი, უროლოგიის დეპარტამენტი; <sup>2</sup>პათოლოგიის დეპარტამენტი, სტამბული, თურქეთი

ფეოხრომოციტომები – საკმაოდ იშვიათი კატეხოლისგამომყოფი ნეიროენდოკრინული სიმსივნეებია. სტატიაში განხილულია აღნიშნული სიმსივნეების დიაგნოსტიკის, მკურნალობის და პროგნოზირების საკითხები.

აღწერილია 29 წლის ასაკის თირკმლების ოპერაციაგადატანილი ავადმყოფის 27 მმ-ის სიდიდის რეტროპერიტონული პარაგანგლიომის შემთხვევა. აღწერილ შემთხვევაში, განმეორებითი გასინჯვის დროს (უკვე დადგენილი დიაგნოზის შემდეგ) რაიმე ანომალური რადიოლოგიური ნიშნები, რომლებიც მიუთითებს საგარაუდო მეტასტაზების განვითარებაზე, არ აღმოჩნდა. ოპერაციის შემდგომ პერიოდში დაკვირვებისათვის პაციენტი მიმაგრებული იყო ენდოკრინოლოგიურ და ონკოლოგიურ განყოფილებებზე.

გამოკვლევების შედეგები მიუთითებს რეტროპერიტონული სიმსივნეების და ფეოხრომოციტომა/პარაგანგლიომას დიფერენციაციის აუცილებლობაზე. ავთვისებიანი სიმსივნეების შემთხვევაში ავტორები მიზანშეწონილად თვლიან ხემოთერაპიის, ხოლო კეთილთვისებიანი ფუნქციური სიმსივნეების დროს – მედიკამენტურ მკურნალობას.

## ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ ВИТИЛИГО И СТРЕССОМ В АНАМНЕЗЕ

Цискаришвили Н.В., Кацитадзе А.Г., Цискаришвили Н.И., Читанава Л.А.

*Тбилисский государственный медицинский университет, департамент дерматовенерологии;  
«Ассоциация ВИТИЛИГО Грузии», Тбилиси, Грузия*

Несмотря на определенный прогресс, достигнутый за последние годы в изучении витилиго, многие вопросы патогенеза и лечения этого дерматоза по сей день остаются нерешенными. Аутоиммунный генез заболевания в настоящее время признается одним из наиболее значимых [7-9]. Появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что в основе аутоиммунной патологии лежат расстройства иммунной регуляции, обусловленные нарушением продукции цитокинов [1,2]. Однако в подавляющем большинстве работ различные цитокины изучали у пациентов с витилиго без учета особенностей анамнеза дерматоза [3-6,10]. Цитокины – это особые вещества, выделяемые различными типами клеток, способные регулировать межклеточные взаимодействия, стимулировать или подавлять их рост и дифференциацию, функциональную активность клеток, а также обеспечивать согласованность действия иммунной, эндокринной и нервной систем. Вещества, выделяемые лимфоцитами, называют лимфокинами. Лимфокины являются биологически активными веществами, с помощью которых осуществляется координация и регуляция функций клеток, участвующих в иммунном ответе. Вещества, выделяемые, в основном, Т-лимфоцитами, называются интерлейкинами. Цитокины активны в очень малой концентрации. Их биологический эффект на клетки реализуется через взаимодействие со специфическим рецепторным комплексом, локализованным на клеточной цитоплазматической мембране. Образование и секреция цитокинов происходят быстро и строго регулируются. Цитокины регулируют развитие местных защитных реакций в тканях с участием различных типов клеток крови, соединительной ткани и эндотелия [1,2]. Гиперпродукция цитокинов ведет к развитию воспалительной реакции и может стать причиной развития ряда патологических состояний. В рамках иммунной системы цитокины осуществляют взаимосвязь между специфическими защитными реакциями и специфическим иммунитетом, действуя в обоих направлениях, обеспечивают согласованность действия иммунной, эндокринной, нервной, кровяной и других систем в нормальных условиях и в ответ на патологические воздействия и служат для их вовлечения в организацию и регуляцию защитных реакций. Все цитокины, а их в настоящее время известно около 200, по структурным особенностям и биологическому действию делятся на несколько групп:

- провоспалительные цитокины, обеспечивающие мобилизацию воспалительного ответа (интерлейкины - ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, фактор некроза опухоли - ФНО, ИФН- $\gamma$ );
- противовоспалительные цитокины, ограничивающие развитие воспаления (ИЛ-4, ИЛ-10, трансформирующий ростовой фактор- $\beta$ );
- цитокины - регуляторы клеточного и гуморального иммунитета (естественный или специфический);
- цитокины, обладающие собственными эффекторными функциями (противовирусные, цитотоксические);
- цитокины - ростовые факторы, контролирующие пролиферацию и дифференцировку предшественников функционально активных иммунокомпетентных клеток.

Источником продукции ИЛ-2 являются преимущественно Т-хелперы (CD4+)ТН1. Цитокин впервые обнаружен в поликлонально стимулированной культуре Т-лимфоцитов и ввиду способности усиления пролиферации Т-клеток назван фактором роста Т-клеток. ИЛ-2 действует на активированные В-клетки, вызывает их дифференциацию и секрецию ими антител, активировывает НК (естественные киллеры), которые как активированные лимфокинами киллеры (lymphokine activated killer - LAK) проявляют специфичность по отношению к клеткам-мишеням. Цитокин состоит из 3 полипептидных цепей IL – 2R $\alpha$ , IL – 2R  $\beta$ , IL -2R $\gamma$ , посредством  $\beta$  – цепи происходит стабилизация молекулы IL -2,  $\alpha$  – цепь обеспечивает связывание с лигандом.

ИЛ-6 – гликопротеид с молекулярной массой 19-24 кДа, относится к наиболее известным и до последнего времени, как считалось, хорошо изученным воспалительным цитокином. Источником его продукции являются макрофаги, активированные Т- и В-лимфоциты, а также клетки, не имеющие прямого отношения к иммунной системе (фибробласты, кератиноциты, хондроциты, клетки, стромы эндометрия, фолликулярно-звездчатые клетки гипофиза, эндотелиальные клетки). По многообразию клеточных источников продукции и мишеней биологического действия ИЛ-6 является одним из наиболее активных цитокинов, участвующих в реализации иммунного ответа и воспалительной реакции. Биологическая роль ИЛ-6, в первую очередь, заключается в индукции восстановительных механизмов и активации иммунной защиты (активация и дифференцировка Т-клеток, вызревание В-клеток, синтез С-реактивного

белка в печени, усиление гемопоэза). Он оказывает существенное влияние на многие органы и системы организма. Под влиянием ИЛ-6 повышается экспрессия молекул адгезии на эндотелиальных клетках, что активизирует их взаимодействие с лимфоцитами.

Спектр биологической активности цитокинов в значительной степени перекрывается: один и тот же процесс может стимулироваться в клетке более чем одним цитокином. Многие цитокины являются плейотропными - проявляют более чем один эффект. Во многих случаях в действиях цитокинов наблюдается синергизм. Цитокины - антигеннеспецифические факторы, поэтому специфическая диагностика инфекционных, аутоиммунных и аллергических заболеваний посредством определения уровня цитокинов невозможна, но определение их концентрации в крови дает информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, тяжести воспалительного процесса, его переходе на системный уровень, позволяет сделать прогноз заболевания. Исследованию уровня цитокинов при витилиго посвящены работы отечественных и зарубежных авторов [1,2,4-6]. Однако в большинстве случаев различные цитокины у пациентов с витилиго изучали без учета формы и стадии заболевания и особенностей анамнеза дерматоза [1,2].

Целью данного исследования явилось изучение содержания провоспалительных цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-6) в сыворотке крови у пациентов с витилиго.

**Материал и методы.** Уровень цитокинов в сыворотке крови определяли у 50 больных витилиго (20 мужчин и 30 женщин в возрасте от 18 до 65 лет). Пациенты с учетом анамнеза были разделены на две группы - 27 больных со стрессовым анамнезом и 23 больных, где началу заболевания не предшествовал стресс. Пациенты обеих групп были однородны как по форме (согласно

классификации Т. Фицпатрика) так и стадиям дерматоза. В группе больных со стрессовым анамнезом у 15 пациентов диагностировали генерализованную, у 12 - локализованную форму витилиго. В группе больных, где началу заболевания не предшествовал стресс, у 12 наблюдалась генерализованная, у 11 - локализованная форма витилиго. Распределение больных по стадиям заболевания у больных с стрессовым анамнезом и в группе пациентов, где началу витилиго не предшествовал стресс было следующим: 10 - с прогрессирующей стадией заболевания и 15 - стационарной и, 11 и 12, соответственно, в двух случаях стадию заболевания установить не удалось. Сопутствующих аутоиммунных заболеваний (тиреоидит Хашимото, сахарный диабет, злокачественная анемия), а также воспалительных заболеваний кожи у наблюдаемых больных витилиго не отмечено. В течение последних 2 месяцев обследуемые больные не получали какой-либо терапии. Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц, схожих по полу и возрасту с обследуемыми больными. Содержание изучаемых цитокинов в сыворотке крови у пациентов с витилиго проводили методом иммуноферментного анализа с использованием соответствующих моноклональных антител.

Для анализа статистических различий использовали программы IBM SPSS Statistics v. 22 и t-критерий Стьюдента. Различие  $p < 0,05$  считалось статистически значимым.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследования представлены в таблицах 1 и 2.

Содержание ИЛ-2 в сыворотке крови у пациентов с витилиго, у которых стресс не предшествовал дерматозу, статистически значимо превышало таковое у здоровых лиц ( $25,5 \pm 7,6$  против  $10,5 \pm 3,6$  пг/мл;  $p < 0,05$ ). Концентрация ИЛ-2 у пациентов с витилиго со стрессовым анамнезом была значительно ниже аналогичных показателей у здоровых лиц ( $3,5 \pm 1,5$  против  $10,5 \pm 3,6$

Таблица 1. Содержание (в пг/мл) провоспалительных цитокинов у пациентов с различной формой и стадией витилиго со стрессовым анамнезом

Цитокин	Здоровые лица (n=20)	Витилиго (n=50)	Генерализованная форма (n=15)	Локализованная форма (n=12)	Прогрессирующая стадия (n=12)	Стационарная стадия (n=15)
ИЛ-2	$10,5 \pm 3,6$	$3,5 \pm 1,5^*$	$3,3 \pm 1,4$	$3,4 \pm 1,3^*$	$3,2 \pm 1,6$	$3,3 \pm 1,5$
ИЛ-6	$9,4 \pm 3,5$	$3,6 \pm 1,2^*$	$3,1 \pm 1,1^{**}$	$3,7 \pm 1,5$	$3,2 \pm 1,3^*$	$3,8 \pm 1,4$

примечание \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,001$

Таблица 2. Содержание (в пг/мл) провоспалительных цитокинов у пациентов, у которых стресс не предшествовал развитию витилиго

Цитокин	Здоровые лица (n=20)	Витилиго (n=50)	Генерализованная форма (n=12)	Локализованная форма (n=11)	Прогрессирующая стадия (n=11)	Стационарная стадия (n=12)
ИЛ-2	$10,5 \pm 3,6$	$25,5 \pm 7,6$	$26,7 \pm 7,9^*$	$24,3 \pm 6,7$	$26,4 \pm 6,5$	$24,5 \pm 6,3^*$
ИЛ-6	$9,4 \pm 3,5$	$37,5 \pm 9,5$	$38,4 \pm 8,2^{**}$	$35,7 \pm 7,6^*$	$37,4 \pm 7,1^{**}$	$36,8 \pm 8,5$

примечание \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,001$

пг/мл;  $p < 0,05$ ). Возможно, увеличение концентрации ИЛ-2 вызывает повышение количества НК, способствуя меланоцитарной цитотоксичности. Изменение содержания ИЛ-6 в сыворотке крови у пациентов с витилиго носило аналогичный ИЛ-2 характер. Причем наиболее значимым этот показатель был у больных с генерализованной формой и прогрессирующей стадией заболевания. Полученные нами данные по повышению концентрации ИЛ-6 у больных без стрессового анамнеза согласуются с результатами исследований О.А. Бабешко и соавт. [1]. Считается, что ИЛ-6 может вызывать экспрессию фактора межклеточной адгезии 1 на меланоциты, что запускает соединение лейкоцитов и меланоцитов и приводит к иммунологической цитотоксичности, а также поликлональной активации В-клеток, увеличивая выработку антител и вызывая повреждение меланоцитов при витилиго. Как показали результаты проведенных нами исследований, которые учитывали особенности анамнеза, у больных со стрессовым анамнезом четко прослеживается тенденция понижения концентрации провоспалительных цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-6). Для полной оценки полученных нами результатов по понижению содержания цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-6) у больных витилиго со стрессовым анамнезом, что позволит сделать конкретные выводы и наметить пути лечения больных данной патологией необходимо дальнейшее продолжение исследований.

Работа выполнена при поддержке VRF (Vitiligo Research Foundation).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бабешко О.А., Ломоносов К.М., Гилядова Н.И. Роль цитокинов в патогенезе витилиго Российский журнал кожных и венерических болезней 2012;3: 37-41.
2. Волнухин В.А., Прошутинская Д.В., Вавилов А.М. и др. Иммунофенотипическая характеристика клеточного инфильтрата в коже больных витилиго. Вестн дерматол и венерол 2008; 3: 37-43
3. Antiga E., Caproni M., Del Bianco E. Analysis of TGF  $\alpha$  and IL 10 serum levels in patient lupus erythematoses and vitiligo. JEADV 2009; suppl 7: 227.
4. Behm B., Babilas P., Landthaler M., Schreml S. Cytokines and growth factor in wound healing. JEADV 2012; 7: 812-821.
5. Franczuk A., Szepietowski J.C., Nowolska A. Serum concentrations of interleukin-2 soluble receptor (IL-2 sR) in patients with vitiligo: relationship with type and extent of the disease Acta Dermatovenereol Croat. 2004; 12: 71-6.
6. Galadari I. Serum levels of the soluble interleukin-2 receptor in vitiligo patients in UAE. Eur Ann Allergy Clin Immunol 2005; 37(3):109-11.
7. van Geel N., Speeckaert M., Brochez L., Lambert J., Speeckaert R. Clinical profile of generalized vitiligo patients with associated autoimmune/autoinflammatory diseases. JEADV 2012; 7: 741-747.
8. Moretti S., Arunachalam M. et al. Autoimmune markers in vitiligo patients appear correlated with obsession and phobia. JEADV 2012; 7: 861-868.
9. Rezaei N., Gavalas N.G., Weetman A.P., Kemp E.H. Autoimmunity as an aetiological factor in vitiligo. JEADV 2007; 7: 865-877.
10. Singh S., Singh U., Pandey S.S. Serum concentration of IL-6, IL-2, TNF  $-\alpha$  and IFN  $-\gamma$  in vitiligo patients. Indian Journal of Dermatology 2012;1: 12-14.

## SUMMARY

### PECULIARITIES OF CYTOKINE STATUS IN PATIENTS WITH VITILIGO AND STRESS IN ANAMNESIS

**Tsiskarishvili N.V., Katsitadze A., Tsiskarishvili N.I., Chitanava L.**

*Tbilisi State Medical University, Department of Dermatology and Venerology; "Georgian Association of VITILIGO", Tbilisi, Georgia*

The aim of our study was to investigate the content of some proinflammatory cytokines (IL-2, IL-6) in the serum of patients with vitiligo and stress in anamnesis.

Cytokine levels in serum were measured in 50 patients with vitiligo (20 men and 30 women aged from 18 to 65 years old.) All the patients were divided according to anamnesis (27 patients with stress in anamnesis and 23 patients, where the onset of the disease was not preceded by stress).

Patients of both groups were similar in terms of shape (according to T. Fitzpatrick classification) and in terms of the dermatosis stages. Concomitant autoimmune or inflammatory diseases of the skin in our vitiligo patients were not observed.

The cytokines in the blood serum of vitiligo patients were determined by ELISA using the corresponding monoclonal antibodies. Student's t-test was used for evaluation of statistical significance of received results ( $p < 0,05$  was considered as a statistically significant).

Content of IL-2 in the serum of patients with vitiligo, in which stress was not preceded dermatosis, was significantly higher than that in healthy individuals ( $25,5 \pm 7,6$  vs  $10,5 \pm 3,6$  pg/ml,  $p < 0,05$ ). But the same parameter in patients with stress in anamnesis was significantly lower than those in healthy individuals ( $3,5 \pm 1,5$  vs  $10,5 \pm 3,6$  pg/l,  $p < 0,05$ ).

Changes in the content of IL-6 in the serum of vitiligo patients was a similar to changes in IL-2 content, and the most significant this indicator was in patients with generalized and progressive stage of the disease.

Data on increased concentrations of IL-6 agree with the majority of studies conducted earlier.

For a complete analysis of our results on the reduction of the cytokines (IL-2, IL-6) content in patients with a stress in anamnesis, that will allow to identify the most effective ways to treat patients with this pathology (including their cytokine status), further research is necessary.

**Keywords:** proinflammatory cytokines, serum, stress, vitiligo.

## РЕЗЮМЕ

### ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ ВИТИЛИГО И СТРЕССОМ В АНАМНЕЗЕ

Цискаришвили Н.В., Кацитадзе А.Г., Цискаришвили Н.И., Читанова Л.А.

*Тбилисский государственный медицинский университет, департамент дерматовенерологии; «Ассоциация ВИТИЛИГО Грузии», Тбилиси, Грузия*

Несмотря на определенный прогресс, достигнутый за последние годы в изучении витилиго, многие вопросы патогенеза и лечения этого дерматоза по сей день остаются нерешенными. Аутоиммунный генез заболевания в настоящее время признается одним из наиболее значимых. Появляется все больше данных, свидетельствующих о том, что в основе аутоиммунной патологии лежат расстройства иммунной регуляции, обусловленные нарушением продукции цитокинов. Однако в подавляющем большинстве работ различные цитокины изучали у пациентов с витилиго без учета особенностей анамнеза дерматоза.

Целью исследования явилось изучение содержания провоспалительных цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-6) в сыворотке крови у пациентов витилиго.

Определение содержания цитокинов ИЛ-2, ИЛ-6 в сыворотке крови у больных витилиго проводили методом иммуноферментного анализа с использованием соответствующих моноклональных антител. Результаты проведенных исследований, выявили, что у больных со стрессовым анамнезом четко прослеживается тенденция понижения концентрации провоспалительных цитокинов

(ИЛ-2, ИЛ-6). Для полного анализа полученных результатов, которые позволят сделать конкретные выводы и наметить пути лечения больных с данной патологией необходимо дальнейшее продолжение исследований.

## რეზიუმე

ციტოკინური სტატუსის თავისებურებანი სტრესული ანამნეზის ვიტელიგოს პაციენტებში

ნ.ვ. ცისკარიშვილი, ა. კაციტაძე,  
ნ.ი. ცისკარიშვილი, ლ. ჭითანავა

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, დერმატოვენეროლოგიის დეპარტამენტი; “საქართველოს ვიტელიგოს ასოციაცია”, თბილისი, საქართველო

უკანასკნელ წლებში მიღწეული გარკვეული პროგრესის მიუხედავად, ვიტელიგოს პათოგენეზის და მკურნალობის მრავალი საკითხი საკამათოა და მოითხოვს შესწავლას. სადღეისოდ დაავადების აუტოიმუნური გენეზი ყველაზე პრიორიტეტულია. მრავალი ავტორის მონაცემების თანახმად, აუტოიმუნურ პათოლოგიას საფუძვლად უდევს არასრული იმუნური რეგულაცია დაკავშირებული ციტოკინების პროდუქციის დარღვევასთან. სხვადასხვა ავტორის მიერ ციტოკინები ვიტელიგოს დროს შესწავლილია ზოგადად დერმატოზის ანამნეზის გათვალისწინების გარეშე. კვლევის მიზანს შეადგენდა პროანთებითი ციტოკინების განსაზღვრა ვიტელიგოს მქონე პაციენტების სისხლის შრატში.

ავტორებმა იმუნოფერმენტული მეთოდით (შესაბამისი მონოკლონური ანტისხეულების გამოყენებით) შესწავლილია სტრესული ანამნეზის მქონე პაციენტებში ზოგიერთი პროანთებითი ციტოკინი (IL-2, IL-6). მიღებული შედეგების თანახმად, ვიტელიგოს სტრესული ანამნეზის მქონე პაციენტებში შეიმჩნევა ტენდენცია აღნიშნული ციტოკინების კონცენტრაციის შემცირებისაკენ. მიღებული შედეგების სრული ანალიზი და კონკრეტული დასკვნის გამოტანა, რომელიც ხელს შეუწყობს მკურნალობის ახალი მეთოდის შემუშავებას, მოითხოვს კვლევის შემდგომ გაგრძელებას.

## СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ТЕРАПИИ КОМОРБИДНЫХ СОСТОЯНИЙ

Ищейкин К.Е., Потяженко М.М., Люлька Н.А., Соколюк Н.Л., Хайменова Г.С.

*ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», кафедра внутренних болезней  
и медицины неотложных состояний с дерматовенерологией, Полтава, Украина*

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) и хроническое obstructивное заболевание легких (ХОЗЛ) - лидирующие причины смертности во всем мире. По прогнозам, к 2020 г. I место среди причин смертности в мире по-прежнему остается за ИБС, а ХОЗЛ переместится на III место [3]. На сегодняшний день, ИБС и ХОЗЛ представляют значимую социальную проблему; в клинической практике число больных средней и старшей возрастных групп с сочетанием этих заболеваний составляет 60% [2], что обусловлено высокой распространенностью этих патологий у лиц среднего и пожилого возраста и таким весомым фактором риска как курение. Существует прямая корреляционная зависимость между курением и развитием хронических заболеваний органов дыхания и атеросклерозом коронарных артерий. Значимым фактором риска развития и прогрессирования острой коронарной патологии является обострение ХОЗЛ, что, по всей вероятности, связано с усилением гипоксемии и метаболических нарушений [6]. У больных ХОЗЛ, независимо от наличия или отсутствия ИБС, ухудшение бронхиальной проходимости способствует увеличению частоты сердечных сокращений (ЧСС), повышению эктопической активности миокарда, а при сочетании ХОЗЛ и ИБС усиливаются имеющиеся ишемические изменения в миокарде.

При наличии заболеваний бронхолегочной системы, вследствие дыхательной гипоксемии, активируется перекисное окисление липидов (ПОЛ), что лежит в основе развития атеросклероза. За счет ПОЛ страдает эндотелий не только сосудов, но и бронхиального дерева. За счет ПОЛ выполняется множество значимых метаболических процессов, в том числе обмен белков, жиров и углеводов, на фоне воспалительного процесса интенсивнее активируются протеолитические ферменты и индуцируются цитокинами реакции. Как следствие этих процессов происходит повышение выброса провоспалительных цитокинов (С-протеина, ФНО-альфа, ИЛ-1, 6, 8), активация системного воспалительного ответа и дезорганизация основного вещества соединительной ткани, о чем свидетельствуют повышенные уровни гликозаминогликанов, гиалуронидазы, фруктосодержащих ферментов [5]. На фоне окислительного стресса происходит стимуляция надпочечников с выбросом в кровь адреналина и, как следствие, вазоконстрикция, увеличение объема циркулирующей крови (ОЦК), общего периферического сопротивления сосудов (ПСС) и повышение артериального давления, что в результате активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС)

суммарно ведет к развитию ИБС. При патологии легких в условиях системного воспаления, в тканях индуцируются процессы атеросклероза. На фоне длительно протекающего патологического процесса в легких с перестройкой бронхиального дерева по типу фиброза, развития эмфиземы, постепенно формируется гипертензия малого круга кровообращения, с гипертрофией правого желудочка (легочное сердце). Дыхательная гипоксия, увеличенные пред- и постнагрузки (основа ИБС) также способствуют гипертрофии и формированию соединительнотканного кардиосклероза левого желудочка с отягощением течения ХОЗЛ и ИБС. Снижение насосной функции сердца способствует тканевой гипоперфузии с гипоксией смешанного генеза (дыхательная, циркуляторная, гистотоксическая). Так замыкается порочный круг реакций, ведущих к активации провоспалительных процессов иммунной системы [1].

Эндотелий является сложной метаболической системой и активно функционирующим органом регуляции сосудистого тонуса и других физиологических процессов. Расслабление сосудов происходит вследствие высвобождения эндотелиального фактора релаксации (ЭФР). Открытием в изучении эндотелия стало определение химической природы ЭФР – оксида азота (NO). Большинство вазорегулирующих веществ действует на сосудистую стенку посредством универсального механизма – синтеза эндотелием NO, который образуется с помощью фермента NO-синтазы из L-аргинина. NO ингибирует экспрессию провоспалительных медиаторов сосудистой стенки; участвует в подавлении адгезии и агрегации тромбоцитов путем повышения в них уровня цГМФ. Таким образом, NO обладает рядом положительных эффектов (вазодилатация, снижение клеточной пролиферации, уменьшение активации и адгезии лейкоцитов к эндотелию, подавление стимуляторов пролиферации и миграции миоцитов сосудистой стенки), использование которых может быть полезным в лечении больных как ХОЗЛ, так и ИБС. Оксид азота является одним из важнейших медиаторов дыхательной системы, способствует контролю за агрегационной способностью элементов крови и регуляции сократительной способности миокарда [7,8].

L-аргинин (тивортин) – аминокислота, которая относится к классу условно незаменимых аминокислот и является активным и разносторонним клеточным регулятором жизненно важных функций организма. L-аргинин является субстратом для NO-синтазы –

фермента, катализирующего синтез оксида азота в эндотелиоцитах и обеспечивающего вазодилатацию. Эта незаменимая аминокислота – регулятор сосудистого тонуса, который уменьшает адгезию лейкоцитов и тромбоцитов, предотвращает образование и развитие атеросклеротической бляшки, положительно влияет на состояние больных хронической гипоксией на фоне обструктивного заболевания легких, снижает показатели легочной гемодинамики, оказывает антигипоксическое, цитопротекторное, антиоксидантное, антирадикальное, мембраностабилизирующее и мембранодеполяризующее действие, повышает дезинтоксикационную активность [4].

Целью исследования явилось определение частоты сочетания ишемической болезни сердца и хронического обструктивного заболевания легких, их взаимовлияние на тяжесть течения коморбидной патологии; разработка стратегии лечения и изучение клинической эффективности применения L-аргинина (тивортин) на показатели гемодинамики.

**Материал и методы.** С целью определения частоты и распространенности ИБС у больных ХОЗЛ проанализированы истории болезни лиц, лечившихся по поводу ХОЗЛ в специализированном пульмонологическом отделении Полтавской областной клинической больницы им. Н.В. Склифосовского за период с января 2013 по февраль 2014 года. За указанный период выявлено 184 больных с сочетанными заболеваниями сердца и органов дыхания, из них мужчин 127 (69,0%), женщин – 57 (31,0%). В структуре всех больных, лечившихся за анализируемый период, это составляет 25,9%. Средний возраст мужчин составил  $75 \pm 6,8$  лет, женщин –  $68,0 \pm 9,6$ .

Установлено, что существует достаточно значительная прослойка больных, а именно 25,9%, с сочетанной патологией органов дыхания и сердечно-сосудистой системы, по поводу которой эти больные не наблюдались и не лечились.

В дальнейшем на базе пульмонологического отделения Полтавской областной клинической больницы обследовано 97 пациентов (84 мужчин и 13 женщин) с сочетанием ХОЗЛ и ИБС: второй функциональный класс стабильная стенокардия (ФК II ст.), которые по-

ступили в связи с обострением респираторной патологии. Пациенты имели клинически инструментально подтвержденную среднюю степень тяжести ХОЗЛ и стабильную стенокардию напряжения ФК II ст. Диагноз ХОЗЛ выставлялся в соответствии с рекомендациями Global Initiative for Chronic Obstructive Pulmonary Disease (GOLD 2007, 2011) на основании клинических признаков (кашель, одышка), данных анамнеза, общего клинического обследования, рентгенографии органов грудной полости, определения параметров функции внешнего дыхания (ФВД), в первую очередь, показателей объема форсированного выдоха за 1 сек. (ОФВ<sub>1</sub>), форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), максимальной объемной скорости 25-75 (МОС 25-75), а также их обратимости после ингаляции 400 мкг салбутамола; спирометрия проводилась в начале лечения и спустя 10-12 дней.

Диагноз стабильной стенокардии II ФК верифицирован на основании данных анамнеза и инструментальных методов исследования - электрокардиограммы (ЭКГ), ЭхоКГ, холтеровского мониторирования ЭКГ, 6-минутного теста.

Больные разделены на 2 группы. Пациенты I группы (n=51) получали только базисную терапию (β<sub>2</sub>-агонисты, антихолинергические препараты, метилксантин, ингаляционные глюкокортикостероиды, ингибиторы фосфодиэстеразы-4 - ФДЭ 4, рофлумиласт), соответствующую протокольному формуляру для данной категории больных. Больным II группы (n=46), наряду с базисной терапией, назначали L-аргинин (тивортин, «Юрия-Фарм», Киев, Украина) в виде 4,2% раствора 100 мл внутривенно 1 раз в сутки в течение 6 дней с последующим переходом на раствор для приема внутрь по 5-10 мл 3 раза в сутки в течение 4 недель. Клиническая характеристика больных представлена в таблице 1.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием как параметрических, так и непараметрических показателей в исследуемых группах. Вероятность погрешности разницы рассчитывалась с использованием t-критерия Стьюдента для параметрических данных, для непараметрических – Хи-квадрата.

Таблица 1. Клиническая характеристика больных (M±m)

Показатель	I группа (n=51)	II группа (n=46)
возраст, лет	56,2±4,7	58,8±6,2
мужчины/женщины	44/7	46/4
курение, пачко-лет, ср.	33,3±10,5	31,2±11,2
продолжительность ХОЗЛ, лет	12,1±5,5	11,0±5,0
продолжительность ИБС, лет	10,3±5,3	10,7±5,4

Таблица 2. Результаты исследования основных показателей функции внешнего дыхания и толерантности к нагрузке до и после лечения

Показатель	I группа (n=51)		II группа (n=46)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
ОФВ <sub>1</sub> (%)	52,1±1,7	63,2±3,1 *	53,8±1,9	71,3±2,8 **
ОФВ <sub>1</sub> /ФЖЕЛ (%)	48,9±2,4	66,7±3,6 *	49,1±1,9	69,1±3,1 **
6 MWD (м)	239,3±26,1	321,4±28,1 **	261,3±21,3	345,4±24,2 *

примечание: \* -  $p < 0,5$ ; \*\* -  $p < 0,001$

**Результаты и их обсуждение.** В результате проведенного лечения выявлена положительная динамика регресса клинических проявлений обострения ХОЗЛ в обеих исследуемых группах спустя 10-12 дней от начала терапии. Однако, во II группе такие симптомы как одышка и кашель отмечались значительно реже, чем в I группе ( $p < 0,05$ ). 35 (68,6%) пациентов I и 30 (67,4%) II группы при поступлении в стационар указывали на ограничение физической активности. После лечения подобных жалоб в обеих группах было значительно меньше. Однако, достоверных различий до и после лечения не выявлено.

Основной характеристикой ХОЗЛ является ограничение воздушного потока, обусловленное малообратимой обструкцией дыхательных путей, нарастающей с продолжительностью заболевания. Эффективность предложенной терапии в сравнительном аспекте оценивали по динамике интегральных показателей ОФВ<sub>1</sub>, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ. Так, на 10 день лечения ОФВ<sub>1</sub> и ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ у пациентов, дополнительно получавших L-аргинин, были достоверно выше в сравнении с I группой (таблица 2).

Существенные изменения выявлены в показателях кардиогемодинамики. На фоне лечения средняя частота сердечных сокращений (ЧСС) в обеих группах существенно уменьшилась. Так, у больных, получавших протокольную терапию, ЧСС снизилась на 19,7% за 1 мин., тогда как у больных, получавших дополнительно L-аргинин – на 12,0% за 1 мин. (26,8%,  $p < 0,001$ ). Значительно снизились также средние величины систолического артериального давления (САД) и диастолического АД (ДАД) в обеих группах. У больных II группы САД снизилось с 160,0±4,21 до 132,0±3,1 мм рт. ст. ( $p < 0,05$ ). Анализ показателей гемодинамики свидетельствует об улучшении сократительной способности миокарда левого желудочка сердца. Так, включение в лечебный комплекс L-аргинина способствовало существенному росту фракции выброса (ФВ) - на 8,2% ( $p < 0,05$ ), тогда как у больных, получавших только протокольную терапию, ФВ возросла на 1,3%. Следует отметить, что конечно-диастолический индекс, который у пациентов был ниже, чем в первой группе ( $p < 0,05$ ), под влиянием лечения несколько увеличился. Такие же закономерности между группами наблюдали по ударному индексу. Периферическое сосудистое сопротивление существен-

но понизилось во II группе (с 46,3±0,77 до 34,2±0,89;  $p < 0,05$ ) в сравнении с первой группой (с 43,5±0,8 до 37,7±0,82;  $p < 0,05$ ).

За период исследования побочных явлений у больных, принимающих L-аргинин (тивортин), не выявлено.

После проведенных исследований и анализа полученных данных на основе использования L-аргинина (тивортин, «Юрия-Фарм», Киев, Украина) выдан патент на полезную модель №70261 u201110610, 11.06.2012, Бюл. №11.

**Выводы.**

1. Включение L-аргинина в комплексное лечение больных с обострением ХОЗЛ и сопутствующей ИБС повышает эффективность терапии респираторной патологии, способствует улучшению кардиогемодинамических показателей; статистически значимому улучшению клинико-инструментальных показателей, что обусловлено антигипоксическим, антиагрегантным, мембраностабилизирующим, цитопротекторным, антиоксидантным, антирадикальным и вазодилататорным действием, дезинтоксикационной активностью L-аргинина, что способствует повышению эффективности лечения.

Авторы рекомендуют L-аргинин (тивортин «Юрия-Фарм», Киев, Украина) для лечения обострений ХОЗЛ у больных сопутствующей ИБС.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Авдеев С.Н., Баймаканова Г.Е. Сердечно-сосудистые заболевания у больных ХОЗЛ: проблемы выбора лекарственных препаратов. Пульмонология и аллергология 2008; 2: 3-7.
2. Бова А.А., Лапицкий Д.В. ХОЗЛ и ИБС: подходы к лечению сочетанной патологии. Клиническая медицина 2009; 2: 8-12.
3. Верткин А.Л., Ховасова Н.А. Коморбидность – новая патология. Технологии ее профилактики и лечения. Архив внутренней медицины 2013; 4: 12.
4. Люлька Н.А., Скрипник И.М., Потяженко Н.Н., Дубровинская Т.В., Соколюк Н.Л., Гопко А.Ф. Патент 70261, Украина, МПК А61К31/00. Способ комплексного лечения больных хроническим обструктивным заболеванием легких в сочетании со стабильной стенокардией. Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава. №u201110610; публ. 11.06.2012. Бюл. №11.

5. Цветкова А.А., Абидов А.М. Роль макрофагов и цитокинов в формировании воспаления и прогрессирования хронической обструктивной болезни легких. Российские медицинские вести 2010; 3: 21-25.  
6. Чучалин А.Г. Хроническая обструктивная болезнь легких: Практик. рук-во для врачей. Второе изд. М.: 2004 .

7. Forbes SC, Bell GJ. The acute effects of a low and high dose of oral L-arginine. Appl Physiol Nutr Metab. 2011; 3: 405-411.  
8. Perez-Vizcaino F., Duarte J., Andriantsitohaina R. Endothelial function and cardiovascular disease: effects of quercetin and wine polyphenols. Free Radic. Res. 2006; 40: 1054-1065.

## SUMMARY

### MODERN TENDENCIES IN CO-MORBID CONDITIONS

**Ischeykin K., Potyazhenko M., Lyulka N., Sokolyuk N., Khaymenova G.**

*«Ukrainian Medical Dental Academy», Chair of Internal Diseases  
and Urgent Medical Conditions with Dermatology and Venerology, Poltava, Ukraine*

The present manuscript reviews frequency of the concomitance of Ischaemic Heart Disease (IHD) with Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). The conclusion has been drawn, that quite a large group of patients (25.9%) suffers from pulmonary pathology concomitant with disorders of cardio-coronary system.

97 patients (84 male and 13 female) with concomitant IHD and COPD (steady cardiac angina FK II st.) have been admitted with acute pulmonary condition, and examined at the Department of Pulmonology at N.V. Sklifosovskiy Regional Teaching Hospital in Poltava. The patients were divided into 2 groups: patients in Group I (n=51) were receiving the basic therapy, according to the case management protocol for this type of disorders ( $\beta$ 2-agonists, anticholinergic drugs, methylxantines, inhaler glucocorticoids, phosphodiesterase-4 inhibitors). Patients in the Group II (n=46), in addition to the basic protocol treatment were prescribed 4.2% L-Arginine (Tivortin) venous infusion therapy (100 ml QD for 6 days) with consequent change onto PO administration of 5-10 ml of the solution TID for 4 weeks. As a result,

positive dynamics of regressing of clinical signs of COPD was apparent in both Groups after 10-12 days of the treatment. Clinical parameters, pulmonary, cardiac and indurance functions in patients of the Group II, who in addition to the basic treatment, were receiving L-Arginine were much better improved ( $p>0.05$ ) than in Group I.

The conducted study has allowed us to draw a conclusion, that including L-Arginine in the treatment protocol of COPD with concomitant IHD improves cardiohaemodynamics and allows for the better efficacy of respiratory pathology therapy. Addition of L-Arginine (Tivortin, «Yuriya-Farm», Kiev) to the complex therapy of COPD with concomitant IHD results in statistically significant improvement of clinical and instrumental test results, due to the drug's intihypoxic, antiagregational, membrane-stabilizing, antioxydant and vasodilating effect.

**Keywords:** chronic obstructive pulmonary diseases, combined with coronary heart disease, L - arginine (Tivortin).

## РЕЗЮМЕ

### СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ТЕРАПИИ КОМОРБИДНЫХ СОСТОЯНИЙ

**Ищейкин К.Е., Потяженко М.М., Люлька Н.А.,  
Соколюк Н.Л., Хайменова Г.С.**

*ВГУЗУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», кафедра внутренних болезней  
и медицины неотложных состояний с дерматовенерологией, Полтава, Украина*

В статье обсуждается частота сочетания ишемической болезни сердца (ИБС) и хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ); сделан вывод, что существует достаточно значительная категория больных (25,9%) с сочетанной патологией органов дыхания и сердечно-сосудистой системы.

На базе пульмонологического отделения Полтавской областной клинической больницы им. Н.В. Склифосовского обследовано 97 пациентов (84 мужчин и 13 женщин) с сочетанием ХОЗЛ и ИБС (стабильная стенокардия FK II ст.), которые поступили в связи с обостре-

нием респираторной патологии. Больные разделены на 2 группы: пациенты I группы (n=51) получали только базисную терапию ( $\beta$ 2-агонисты, антихолинэргические препараты, метилксантинны, ингаляционные глюкокортикостероиды, ингибиторы фосфодиэстеразы-4), соответствующую протокольному формуляру для данной категории больных. Пациентам II группы (n=46), кроме базисной терапии, дополнительно назначали L-аргинин (тивортин) в виде 4,2% раствора 100 мл внутривенно 1 раз в сутки в течение 6 дней с последующим переходом на раствор для приема внутрь по 5-10 мл 3 раза в сутки в течение 4 недель.

В результате проведенного лечения выявлена положительная динамика регресса клинических проявлений обострения ХОЗЛ в обеих исследуемых группах спустя 10-12 дней терапии. Однако, во второй группе обследуемых, получавших на фоне базисной терапии L-аргинин, клинические показатели, функции внешнего дыхания, толерантности к нагрузке и кардиогемодинамики значительно улучшились в сравнении с I группой ( $p < 0,05$ ).

Сделан вывод, что включение L-аргинина в комплексное лечение больных с обострением ХОЗЛ и сопутствующей ИБС повышает эффективность терапии

респираторной патологии и улучшает кардиогемодинамику. Добавление L-аргинина в комплексную терапию больных ХОЗЛ в сочетании с ИБС приводит к статистически значимому улучшению клинико-инструментальных показателей, что обусловлено антигипоксическим, антиагрегантным, мембраностабилизирующим, цитопротекторным, антиоксидантным, антирадикальным и вазодилаторным действием, дезинтоксикационной активностью L-аргинина, способствует повышению эффективности лечения. Авторы рекомендуют L-аргинин (тивортин «Юрия-Фарм», Киев, Украина) для лечения обострений ХОЗЛ у больных сопутствующей ИБС.

### რეზიუმე

კომორბიდული მდგომარეობების თერაპიის თანამედროვე ტენდენციები

კ. იშვიკინი, მ. პოტიაჟენკო, ნ. ლიულკა, ნ. სოკოლიუკი, გ. ხაიმენოვა

უკრაინის სამედიცინო სტომატოლოგიური აკადემია, შინაგანი სნეულებათა, გადაუდებელი მდგომარეობების და დერმატოვენეროლოგის კათედრა, პოლტავა, უკრაინა

სტატიაში განხილულია გულის, სისხლ-ძარღვთა სისტემის და ფილტვების ქრონიკული ობსტრუქციული დაავადების (ფქოდ) ავადმყოფების მკურნალობა და მისი შედეგები.

ნ. სკლიფოსოვსკის სახ. პოლტავის კლინიკური საავადმყოფოს პულმონური განყოფილების ბაზაზე გამოკვლეულია 97 ავადმყოფი (84 მამაკაცი და 13 ქალი) გულის იშემიური დაავადებით (გიდ, სტაბილური სტენოკარდია II ფუნქციური კლასი) და თანმხლები ფქოდ-ით. ავადმყოფები გაყოფილი იყო 2 ჯგუფად: I ჯგუფის პაციენტები ( $n=51$ ) დებულობდნენ მხოლოდ ბაზისურ თერაპიას ( $\beta$ 2-ანტაგონისტები, ანტიჰოლენერგიული პრეპარატები, მეთილქსანტინები, საინგალაციო გლუკოკორტიკოსტეროიდები, ფოსფორილესტერაზა-4-ის ინჰიბიტორები). II ჯგუფის პაციენტებს ( $n=46$ ) ბაზისურ თერაპიასთან ერთად დანიშნული ჰქონდათ L-არგინინის 4,2% ხსნარი დოზით 100 მლ, ვენაში შეყვანით ერთჯერადად დღე/ღამეში, 6 დღის განმავლობაში, შემდგომში მკურნალობა გრძელდებოდა L-არგინინის 5-10 მლ ხსნარით პერორალურად 3-ჯერ დღე/ღამეში 4 კვირის განმავლობაში.

ჩატარებული თერაპიის 10-12 დღის შემდეგ ორივე საკვლევ ჯგუფში გამოვლინდა დადებითი დინამიკა ფქოდ-ის კლინიკური გამოვლინებების რეგრესის სახით.

გამოტანილია დასკვნა, რომ L-არგინინის ჩართვა ფქოდ-ის გართულებით და თანმხლები გიდ-ით ავადმყოფების კომპლექსურ მკურნალობაში ეფექტურია და აუმჯობესებს კარდიოლინამიკას. ამავე დროს, უზრუნველყოფს კლინიკურ-ინსტრუმენტული მანკვებლების სტატისტიკურად სარწმუნო გაუმჯობესებას, რაც განპირობებულია L-არგინინის ანტიჰიპოქსური, ანტიაგრეგანტული მემბრანომასტაბილიზებელი, ციტოპროტექტული, ანტიოქსიდანტური, ანტირადიკალური და ვაზოდilatორული მოქმედებით, ასევე, L-არგინინის დეზინტოქსიკაციური აქტიურობით.

სტატიის ავტორები რეკომენდაციას უწევენ L-არგინინს ფქოდ-ით და თანმხლები გიდ-ით ავადმყოფების მკურნალობისათვის.

## РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО И ГОРМОНАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА В МЕХАНИЗМАХ СТАРЕНИЯ КОЖИ

Берианидзе К.М., Кацитадзе А.Г., Джалагания Н.Г., Саникидзе Т.В.

*Тбилисский государственный медицинский университет,  
департамент кожных и венерических болезней, Грузия*

Кожа отражает общее состояние организма, изменения функционирования различных органов и тканей, в том числе связанные со старением организма [2,5,6,9]. В процессе старения организма участвуют многочисленные внутренние (генетические, гормональные, иммунные, окислительно-восстановительные) [4,5,13,14], внешние и случайные факторы [7], способствующие нарушению структуры кожи и ухудшению ее функциональной активности. Старение кожи – сложный физиологический процесс, имеющий значимое биологическое и социальное значение. Однако, несмотря на многочисленные исследования, посвященные изучению этиологии и патогенеза старения кожи, и значительные успехи, достигнутые в области профилактики возрастных изменений в ее структуре [8,10], эта проблема по сей день остается неразрешимой и требует проведения исследований, направленных на установление молекулярных механизмов, лежащих в основе необратимых изменений структуры и функций кожи.

Целью данного исследования явилось установление роли гормонального метаболизма окислительных процессов в патогенезе старения кожи в разные периоды (репродуктивный, менопаузальный) жизни женщин.

**Материал и методы.** Исследовано 30 женщин в периоде менопаузы, в возрасте 40-55 лет (менопауза подтверждалась 12-месячной аменореей (Women Health, 2006)) и 30 женщин репродуктивного периода, в возрасте 25-35 лет (по классификации Глогау I и II группы, соответственно).

Женщины с различными повреждениями кожи лица, вызванными механическими, термическими факторами, инфекционными агентами, страдающие заболева-

ниями печени, псориазом, имеющие предрасположенность к нарушению пигментации (пигментные пятна), канцерогенезу были исключены из исследования.

Качественную оценку кожи лица проводили посредством диагностического аппарата «ARAMO SG» (Австрия). Определялись следующие параметры: влажность, жирность, эластичность.

У исследуемых женщин в венозной крови определяли содержание гормонов: эстрадиола (Э), тестостерона (Т), фолликулостимулирующего гормона (FSH); методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) редокс-параметры - реактивные соединения кислорода ( $O_2^-$ ) и липидов (LOO); спектрофотометрическим методом - активность антиоксидантных ферментов: каталазы, супероксиддисмутазы - СОД, глутатион редуктазы – ГР.

Статистический анализ полученных результатов проводили посредством программного пакета SPSS (версия 20.0). Разница между величинами параметров оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента, статистическая достоверность определялась по значению показателя  $p < 0,05$ . Для выявления разницы между параметрами проводили корреляционный анализ.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследования представлены в таблицах 1-3.

К клиническим показателям старения кожи относятся сухость, снижение эластичности и тургора, образование морщин, доброкачественных структурных изменений (кератозов, ангиом). Показатели параметров кожи исследуемых пациенток представлены в таблице 1; показатели содержания гормонов в крови пациенток - в таблице 2.

Таблица 1. Показатели параметров кожи у исследуемых пациенток

Параметры	Показатели	
	репродуктивный период (25-35 лет)	период менопаузы (40-55 лет)
пигментация	12	12, 9±8,5
увлажнение	47±1,0	48,0±5,6
тип кожи	слегка сухая	сухая, умеренно сухая
упругость	55±5,5	40,0±1,3*
эластичность	умеренная	незначительно понижена
поры	0,4±0,23%	1,0%*

\*- статистически достоверные возрастные изменения ( $p < 0,05$ )

Таблица 2. Показатели содержания гормонов в крови пациенток

Параметры	Показатели		
	репродуктивный период (25-35 лет)	период менопаузы (40-55 лет)	норма
Тестостерон	0,3±0,1 нг/мл	0,8±0,2 нг/мл*	01-1,2 нг/мл
Эстрадиол	61,4±5,2 нг/мл	46,2±15,9 нг/мл	15-60 нг/мл (менопауза) 30-120 нг/мл (фолликулярная фаза)
FSH	12,2±4,2	43±5,4*	35-151 мед/мл (менопауза) 3-12 мед/мл (фолликулярная фаза)

\*- статистически достоверные возрастные изменения ( $p < 0,05$ )

Таблица 3. Редокс-показатели крови пациенток

Параметры	Показатели	
	репродуктивный период (25-35 лет)	период менопаузы (40-55 лет)
Каталаза (1/1ггемоглобин)	14,3±5,3	17,1±4,7
СОД (1/1ггемоглобин)	3,4±1,3	3,14±0,8
ГР (1/1ггемоглобин)	4,5±3,4	5,88±4,4
LOO <sup>•</sup> (мм/мг)	0	0±0,064
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (мм/мг)	0	0

Согласно данным таблицы 1, у женщин в период менопаузы выявлены статистически достоверное снижение эластичности кожи и увеличение количества пор по сравнению с женщинами репродуктивного периода. Как следует из данных таблицы 2, изменения качества кожи происходят на фоне статистически достоверного увеличения содержания тестостерона и фолликулостимулирующего гормона в крови по сравнению с аналогичными параметрами у женщин репродуктивного периода; содержание эстрадиола у женщин менопаузального периода имеет тенденцию к уменьшению. Следует отметить, что показатели гормонального обмена у женщин исследуемых групп находятся в границах нормы, соответствующей возрасту.

Редокс-показатели крови пациенток приведены в таблице 3. Показатели редокс-параметров крови статистически значительно не отличались у женщин репродуктивного и менопаузального периодов (таблица 3), наблюдалась статистически недостоверная тенденция повышения активности каталазы и ГР у женщин менопаузального периода, что указывает на интенсификацию окислительных процессов в этой возрастной группе.

В литературе существуют многочисленные данные о значимой роли окислительного стресса в процессе старения кожи. Соответственно, все эндогенные и экзогенные факторы, способные оказать влияние на состояние редокс-гомеостаза организма, активно участвуют в процессе старения кожи. С этой точки зрения большой интерес представляют возрастные

изменения гормонального статуса в женском организме, в частности, характерное для менопаузального периода снижение содержания эстрогенов в крови женщин. В силу непосредственной антиоксидантной активности эстрогенов и их способности участвовать в регуляции активности и интенсивности экспрессии различных ферментных комплексов, эти гормоны активно влияют на интенсивность метаболических процессов в организме женщины, определяют уровень функциональной активности различных органов и систем, в том числе и кожи [6,11,14].

Согласно результатам наших исследований в крови большинства исследуемых пациенток менопаузального периода наблюдается компенсируемая регуляция гормонального баланса, что проявляется лишь незначительным снижением содержания эстрадиола на фоне статистически достоверного увеличения уровня фолликулостимулирующего гормона и тестостерона в крови пациенток. При этом, несмотря на то, что активность антиоксидантных ферментов в крови пациенток обеих групп статистически достоверно не отличалась, выявлена статистически достоверная отрицательная корреляция между содержанием эстрогенов и активностью СОД ( $r = -0.413$ ,  $p = 0.0017$ ) и положительная корреляция между содержанием эстрогенов и активностью ГР ( $r = 0.565$ ,  $p = 0.002$ ) в крови. Снижение уровня эстрадиола в крови коррелировало с появлением пигментных пятен и снижением влажности и эластичности кожи.

Нарушения гормонального статуса и активности антиоксидантной системы организма женщины,

вызванные влиянием возрастных изменений метаболизма или влиянием различных экзо- и эндогенных факторов, способствуют интенсификации окислительного стресса, что, в первую очередь, проявляется нарушением структуры кожи, снижением эластичности и появлением морщин [1,3,13].

На основании проведенных исследований можно заключить, что изменения гормонального и окислительного баланса в организме играют значимую роль в процессе старения кожи.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Bastianetto S, Dumont Y, Duranton A, Vercauteren F, Breton L, Quirion R. Protective action of resveratrol in human skin: possible involvement of specific receptor binding sites. *PLoS One*. 2010; 5(9):e12935.
2. Gilchrist BA, Krutmann J. *Skin aging*. Heidelberg: Springer; 2006: 198.
3. Kastle M, Grune T. Protein oxidative modification in the aging organism and the role of the ubiquitin proteasomal system. *Curr Pharm Des*. 2011; 17(36):4007-22.
4. Kim B, Choi J, Park K, Youn S. Sebum, acne, skin elasticity, and gender difference - which is the major influencing factor for facial pores? *Skin Res Technol*. 2011; 187-192

5. Makrantonaki E, Zouboulis CC. Molecular mechanisms of skin aging: state of the art. *Ann N Y Acad Sci*. 2007; 1119:40-50.
6. Makrantonaki E, Vogel K, Fimmel S, Oeff M, Seltmann H, Zouboulis CC. Interplay of IGF-I and 17beta-estradiol at age-specific levels in human sebocytes and fibroblasts in vitro. *Exp Gerontol*. 2008; 43(10):939-46.
7. Puizina-Ivi. N. *Skin Aging*. Acta Dermatoven APA 2008; 17(2): 47-54.
8. Ratz-Lyko A, Arct J, Pytkowska K. Methods for evaluation of cosmetic antioxidant capacity. *Skin Res Technol*. 2011; 50-60.
9. Robert L, Labat-Robert J, Robert AM. Physiology of skin aging. *Clin Plast Surg*. 2012; 115-117.
10. Silverberg JI, Jagdeo J, Patel M, Siegel D, Brody N. Green tea extract protects human skin fibroblasts from reactive oxygen species induced necrosis. *J Drugs Dermatol*. 2011; 300-325.
11. Shu YY, Maibach HI. Estrogen and skin: therapeutic options. *Am J Clin Dermatol*. 2011; 12(5):297-311.
12. Velarde Michael C., James M. Flynn I, Nicholas U. Day, Simon Melov, and Judith Campisi. Mitochondrial oxidative stress caused by Sod2 deficiency promotes cellular senescence and aging phenotypes in the skin. *AGING VOE* 2004; 1: 3-12.
13. Verdier-Sévrain S. Effect of estrogens on skin aging and the potential role of selective estrogen receptor modulators. *Climacteric*. 2007; 10(4):289-97.
14. Yan W, Zhao Z, Zhang L, Wang D, Yan L, Yin N, Wu D, Zhang F. Identification of estrogen-associated intrinsic aging genes in Chinese Han female skin by cDNA microarray technology. *Biomed Environ Sci*. 2011; 24(4):364-73.

## SUMMARY

### ROLE OF REDOX- AND HORMONAL METABOLISM IN THE MECHANISMS OF SKIN AGING

**Berianidze K., Katsitadze A., Jalaghania N., Sanikidze T.**

*Tbilisi State Medical University, Department of Skin and Venereal Diseases, Tbilisi, Georgia*

The aim of the study was to investigate the role of redox balance in the pathogenesis of skin aging in menopausal women. 30 menopausal women aged 40 to 55 years and 30 reproductive women aged 25 to 35 years were studied. Qualitative assessment of the skin (moisture, fat, elasticity) was performed; in the venous blood hormonal metabolism indicators: estradiole - E, testosterone - T, follicle stimulating hormone - FSH and redox parameters - oxygen and lipid free radical content (EPR method), antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase (SOD) and glutathionreductase (GR)) activity (spectroscopic method) were studied.

According results of the study, in menopausal women statistically significant loss of skin elasticity and increase the number of pores was revealed in comparison to the reproductive women. These changes occur against the background of statistically significant increase of the blood testosterone and FSH content; estradiol in women menopausal period has tendency to decrease. Redox indicators of blood did not differ

statistically significant in women of reproductive and menopausal period, although there was a tendency to increase the activity of catalase and GR in menopausal women period, indicating on the intensification of oxidative processes in this age group.

Statistically significant negative correlation between blood estradiole content and SOD's activity ( $r=-0.413$ ,  $p=0.0017$ ) and positive correlation between blood estradiole content and GR activity ( $r=0.565$ ,  $p=0.002$ ) was revealed. Decrease in the estradiol concentration and disbalance in redox-system in the women's blood correlates with the rate of pigmented spots growth and decrease of the skin moisture.

It is concluded that in mechanisms of skin aging of menopausal women estrogen-depending alterations in redox-balance places important role.

**Keywords:** redox balance, skin aging, menopausal women.

## РЕЗЮМЕ

### РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО И ГОРМОНАЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА В МЕХАНИЗМАХ СТАРЕНИЯ КОЖИ

Берианидзе К.М., Кацитадзе А.Г., Джалагания Н.Г., Саникидзе Т.В.

*Тбилисский государственный медицинский университет, департамент кожных и венерических болезней, Грузия*

Целью исследования явилось установления роли окислительных процессов в патогенезе старения кожи в разные периоды (репродуктивный, менопаузальный) жизни женщин.

Исследовано 30 женщин в период менопаузы в возрасте 40-55 лет и 30 женщин репродуктивного периода в возрасте 25-35 лет. Качественную оценку кожи лица проводили посредством диагностического аппарата "ARAMO SG"; определялись влажность, жирность и эластичность кожи. У исследуемых женщин в венозной крови определяли содержание гормонов (эстрадиол, тестостерон, фолликулостимулирующий гормон), редокс-параметры (реактивные соединения кислорода, липидов) - методом электронного парамагнитного резонанса; активность антиоксидантных ферментов (каталаза, супероксиддисмутаза (СОД), глутатион редуктаза (ГР) - спектрофотометрическим методом. Согласно результатам исследования, у женщин в период менопаузы выявлены статистически достоверное снижение эластичности кожи и увеличение количества пор по сравнению с женщинами репродуктивного периода. Эти изменения протекают на фоне статистически достоверного увеличения содержания тестостерона и фолликулостимулирующего гормона в крови по сравнению с аналогичными параметрами женщин репродуктивного возраста; содержание эстрадиола у женщин менопаузального периода имело тенденцию к уменьшению. Показатели редокс-параметров крови статистически значимо не отличались у женщин репродуктивного и менопаузального периода, хотя наблюдалась тенденция повышения активности каталазы и ГР у женщин менопаузального периода, что указывает на интенсификацию окислительных процессов в этой возрастной группе. Выявлена статистически достоверная отрицательная корреляция между содержанием эстрогенов и активностью СОД ( $r=-0,413$ ,  $p=0,0017$ ) и статистически достоверная положительная корреляция между содержанием эстрогенов и активностью ГР ( $r=0,565$ ,  $p=0,002$ ) в крови пациенток обеих возрастных групп. Снижение уровня эстрадиола в крови коррелировало с появлением пигментных пятен и снижением влажности и эластичности кожи.

Сделано заключение о значимой роли изменения гормонального и окислительного баланса в процессе старения кожи.

## რეზიუმე

რედოქს-ბალანსისა და ჰორმონული მექანიზმების როლი კანის დაბერების პროცესში

ქ. ბერიანიძე, ა. კაციტაძე, ნ. ჯალაღანია, თ. სანიკიძე

თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, საქართველო

კვლევის მიზანს შეადგენდა ორგანიზმის რედოქს-ბალანსის როლის განსაზღვრა კანის დაბერების პათოგენეზში მენოპაუზის პერიოდის ქალებში.

შესწავლილია მენოპაუზის პერიოდის 15 ქალი 40-55 წლამდე. ჩატარდა კანის მდგომარეობის სარისხობრივი შეფასება (ტენიანობა, ცხიმოვანობა, ელასტიკურობა); ვენურ სისხლში განისაზღვრა ჰორმონული ცვლის მაჩვენებლები (ესტრადიოლი, ტესტოსტერონი, ფოლიკულო მასტიმულირებელი ჰორმონი), რედოქს-პარამეტრები (ჟანგბადის და ლიპიდების თავისუფალი რადიკალების შემცველობა) - ეპრ-მეთოდით, ანტიოქსიდანტური ფერმენტები (კატალაზა, სუპეროქსიდდისმუტაზა - სოდ და გლუტათიონრედუქტაზა - გრ) - სპექტროსკოპული მეთოდით.

კვლევის შედეგების თანახმად, მენოპაუზის პერიოდის ქალებში გამოვლინდა კანის ელასტიკურობის შემცირება და ფორების რაოდენობის ზრდა, რეპროდუქციული ასაკის ქალებთან შედარებით. ეს ცვლილებები ვითარდება სისხლში ტესტო-სტერონის და ფოლიკულმასტიმულირებელი ჰორმონის შემცველობის სტატისტიკურად სარწმუნო მომატების ფონზე. არ გამოვლინდა ესტრადიოლის შემცველობისა და სისხლის რედოქს-ბალანსის ამსახველი სტატისტიკურად სარწმუნო ცვლილებები. რეპროდუქციული და მენოპაუზის პერიოდის ქალებში გამოვლინდა სტატისტიკურად სარწმუნო უარყოფითი კორელაცია სისხლში ესტრადოლის შემცველობასა და სოდ-ის აქტივობას ( $r=-0,413$ ,  $p=0,0017$ ) შორის, ხოლო დადებითი კორელაცია სისხლში ესტრადიოლის შემცველობასა და გრ-ის აქტივობას ( $r=0,565$ ,  $p=0,002$ ) შორის. ქალების სისხლში ესტრადიოლის შემცველობის დაქვეითება, დაანტიოქსიდანტური სისტემის დისბალანსი კორელირებდა პიგმენტური ლაქების მაჩვენებლის ზრდასთან და ტენიანობის მაჩვენებლის დაქვეითებასთან.

ამრიგად, მენოპაუზის პერიოდის ქალების კანის დაბერების მექანიზმებში მნიშვნელოვანია ესტროგენდამოკიდებული რედოქს-დისბალანსის განვითარების და რედოქს-აქტიური მოლეკულების არაკონტროლირებადი წარმოქმნის როლი.

## ОПЫТ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА ЭКСПЕРТНОЙ ОЦЕНКИ В ИССЛЕДОВАНИИ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ

Калматаева Ж.А., Бекботаев Е.К., Скаков А.Б., Бримжанова М.Д., Омарова А.Э.

*Высшая школа общественного здравоохранения, Алматы, Казахстан*

Качество медицинской помощи является ключевой проблемой здравоохранения Республики Казахстан (РК). Аведис Донабедиан писал: «Ведущая роль и главная ответственность (за качество медицинской помощи) принадлежит медицинским работникам, ежедневно оказывающим помощь пациентам. Поэтому именно они лучше, чем кто бы то ни было, должны видеть кратчайший путь к обеспечению высокой эффективности, действенности и целесообразности медицинского обслуживания. Им достаточно лишь по-новому взглянуть на взаимодействие врач - пациент: они без труда поймут, что именно им принадлежит важная роль главных защитников благополучия и интересов пациентов - каждого и всех вместе. Правда, возможно это при одном условии: они осознают, что управление качеством медицинской помощи составляет их первостепенную, важнейшую обязанность, что качество медицинской помощи составляет моральный фундамент, который должен быть основой их профессиональной деятельности, и без которого они неизбежно обречены на профессиональную неудачу... Качество медицинской помощи... принадлежит всем нам, и каждый из нас обязан сыграть яркую и, бесспорно, необходимую роль в защите, укреплении и повышении этого качества» [3,8].

В последние годы в РК реализуется новое понимание инвалидности и социальной поддержки инвалидов. Если прежде приоритетным был вопрос о своевременной выплате социальных пособий, то сегодня эта задача расширена и включает в себя всестороннюю реабилитацию и интеграцию инвалидов в общество [4]. В связи с этим, в РК разработан и реализуется «Национальный план действий на долгосрочную перспективу по обеспечению прав и улучшению качества жизни инвалидов в Республике Казахстан на 2012-2018 годы».

Одним из значимых и необходимых мероприятий по улучшению качества жизни (КЖ) детей-инвалидов и детей, страдающих инвалидизирующей патологией, является мониторинг субъективного мнения самих детей и их родителей/опекунов. В 2011-2013 гг. проводилось исследование КЖ детей дошкольного возраста, страдающих инвалидизирующей патологией, в Алматинской и Кызылординской областях РК. В ходе данного исследования респондентами был озвучен ряд проблем, которые, по их мнению, оказывают наибольшее негативное влияние на КЖ детей данной категории. Для получения более достоверной и конкретизированной информации о значимости озвученных

проблем проведена экспертная оценка методом Дельфи. Методы экспертных оценок - это методы организации работы со специалистами-экспертами и обработки мнений экспертов, выраженных в количественной или качественной форме, с целью подготовки информации для принятия решений [3,9].

Цель исследования - оценка возможности и целесообразности применения экспертной оценки методом Дельфи в современных условиях здравоохранения Республики Казахстан.

**Материал и методы.** Метод Дельфи представляет собой опрос экспертов в несколько этапов, с последовательной пошаговой обработкой результатов каждого этапа, информирование экспертов об этих результатах и повторение опроса с целью выявления наиболее эффективного массива информации. Эксперты в процессе опроса не контактируют друг с другом, что исключает возможность «навязывания» своего мнения одним или несколькими наиболее авторитетными специалистами [7,9]. Основным инструментом экспертного опроса является специально разработанная анкета для специалистов по данной проблеме.

В качестве экспертов были отобраны действующие, компетентные по данной проблеме врачи и организаторы здравоохранения, работающие в организациях регионального и республиканского уровня. Вся переписка с экспертами велась посредством электронной почты. Порядок проведения экспертного опроса был следующим:

1. Подбор экспертов и формирование экспертных групп.
2. Формирование вопросов и составление анкет.
3. Формирование правил определения суммарных оценок на основе оценок отдельных экспертов.
4. Обработка и анализ экспертных оценок.

**Результаты и их обсуждение.** При проведении I этапа экспертной оценки учтены рекомендации известных социологов. В частности, В.И. Добренев и А.И. Кравченко указывают, что при отборе потенциальных экспертов, часто первоначальный список включает всех, кто работает в данной области, а затем идет отбор узкого круга лиц, обладающих знаниями и опытом по данной проблематике [2]. Ф.Э. Шереги утверждает, что на первом этапе отбора в качестве критериев целесообразно использовать два признака: род занятий и стаж

работы по интересующему профилю. При этом первый список экспертов может быть весьма широким, однако в последующем его целесообразно «сузить» [6].

На основании вышеизложенного, проведен отбор 34 экспертов регионального и республиканского уровня с присвоением идентификационного номера от №1 до №34. Из общего числа экспертов, количество специалистов со стажем работы до 10 лет составило 8, от 10 до 20 лет – 3 и свыше 20 лет – 23 специалиста. Причем ученую степень по специальности имели 9 экспертов, из них 4 доктора медицинских наук, 4 кандидата медицинских наук и PhD – 1 эксперт. Из общего числа экспертов, выполняли свою профессиональную деятельность на республиканском уровне – 14, на региональном – 20.

В ходе проведения отбора оценена профессиональная квалификация специалистов, их компетентность с учетом соответствия квалификационным характеристикам. Так, число экспертов с высшей категорией составило 20, с первой – 6, второй – 1 и у 7 экспертов не было квалификационной категории по данной специальности. В зависимости от занимаемой должности претенденты распределились следующим образом: врачи-специалисты – 14, заведующие отделением – 11, научные сотрудники – 5 и руководители медицинских организаций или их заместители – 4 эксперта.

При отборе претендентов для формирования экспертной группы учитывались такие требования как: компетентность в исследуемой области, участие в аналогичных экспертизах, общий стаж и стаж работы в данной области, квалификационная категория, ученая степень и др.

Использован прием последовательного исключения нескольких участников экспертизы к следующему этапу экспертной оценки, а именно: претендентов без квалификационной категории и со второй категорией – 8 и со стажем работы по изучаемой специальности менее 10 лет – 4.

С учетом вышеуказанных условий, с целью формирования группы экспертов с требуемой квалификацией ко II этапу допущены 22 специалиста с идентификационными номерами 2, 3, 6, 7, 9, 10, 11, 14, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 33 и 34.

После исключения на I этапе претендентов со стажем работы менее 10 лет, количество экспертов со стажем работы от 10 до 20 лет составило 12, свыше 20 лет – 10; с ученой степенью доктора медицинских наук – 5, кандидата медицинских наук – 4 и PhD – 1 эксперт. После исключения претендентов без квалификационной категории и специалистов со второй категорией, в экспертной группе осталось 20 специалистов с высшей категорией и 2 – с первой.

Кроме того, определен показатель самооценки эксперта. Для каждого вопроса, по которому эксперту необходимо выразить свое мнение, в таблице экспертных оценок предусмотрена шкала самооценки, в которой эксперту самому предлагается проставить себе балл от 0 до 4,0 в зависимости от собственного мнения о своей компетентности по данной проблеме. Данное численное значение из заранее определенного диапазона показывает насколько объективным или весомым считает свое мнение эксперт.

На II этапе исследования разработана анкета, в которую были включены 25 вопросов, которые наиболее часто поднимались родителями/опекунами детей дошкольного возраста с хроническими инвалидизирующими заболеваниями (бронхиальная астма, муковисцидоз, целиакия, гистиоцитоз, апластические анемии, гемофилия, обструктивные уропатии, врожденные пороки развития органов дыхания, пищеварения, сердечно-сосудистой, мочеполовой, костно-суставной и центральной нервной систем, ретинопатия недоношенных) в ходе проведенного социологического исследования качества жизни. Вопросы были сгруппированы по 5 блокам: касающихся первичной медико-социальной помощи, доступности специализированной, высокоспециализированной медицинской помощи, реабилитационной, социальной помощи и квалификации медицинских работников.

Оценки выставлялись по 5-балльной шкале по убыванию: 5 баллов – данный фактор представляет большую проблему для детей дошкольного возраста с хроническими инвалидизирующими заболеваниями и их родителей/опекунов, 4 балла – данный фактор представляет значимую проблему, 3 балла – имеет среднее значение, 2 балла – малозначим, 1 балл – незначим.

При формировании вопросов для анкеты были соблюдены условия, наиболее благоприятствующие получению объективного мнения. К таким условиям относятся: удобство работы с анкетами, логическое соответствие вопросов структуре объекта опроса; приемлемые временные сроки на ответы по вопросам анкеты, сохранение анонимности ответов и т.д. Для сбора экспертной информации составлены специальные документы: письмо-приглашение для участия в исследовании и информация по анкете для экспертов.

III этап заключался в формировании правил определения суммарных оценок на основе оценок отдельных экспертов. По данным литературы [1,2], в зависимости от специфики экспертного опроса, объекта исследования и используемой методики обработки экспертных данных оценки могут иметь различную шкалу измерения: от 0 до 1, от 0 до 10 и от 0 до 100. Принципиальной разницы в данных шкалах нет, выбор той или иной из них во многом определяется удобством получения и обработки оценок.

Таблица. Ответы экспертов на вопросы повторного анкетирования

п/п	Наименование вопроса	Идентификационный номер эксперта														общий балл
		3	6	7	9	10	20	21	22	26	27	28	29	30	33	
1. Первичная медико-санитарная помощь (ПМСП)																
1	Качество ПМСП	4	4	5	4	4	5	5	4	1	1	3	1	4	2	47
2	Нехватка, отсутствие профильных специалистов на уровне городских организаций ПМСП	4	4	4	4	4	5	5	4	2	1	3	1	2	5	48
2. Доступность специализированной и высокоспециализированной медицинской помощи (СМП, ВСМП)																
3	Отдаленность организаций, оказывающих СМП, ВСМП (для сельских жителей)	4	4	2	4	5	5	5	3	2	2	2	1	2	4	45
4	Значительное количество обследований на догоспитальном этапе оказания медицинской помощи	4	3	1	3	3	4	4	5	4	3	3	1	3	3	44
3. Доступность качественной реабилитационной помощи детям с хроническими инвалидизирующими заболеваниями																
5	Отдаленность организаций, предоставляющих реабилитационную помощь (для сельских жителей)	4	5	5	3	5	5	5	5	2	2	2	1	2	4	50
4. Социальная помощь																
6	Преимущество в работе МСЭК и организаций ПМСП в вопросах реабилитации инвалидов	4	3	1	4	3	5	5	5	1	2	3	1	3	2	42
7	Санаторно-курортное лечение для детей с хроническими инвалидизирующими заболеваниями	4	5	5	4	5	5	5	5	2	3	3	3	3	3	55
8	Недостаточный размер пособия по инвалидности	4	5	5	5	5	5	5	5	5	3	4	3	5	5	64
9	Нехватка спец. дошкольных и школьных учреждений (дет. сады, школы, интернаты и др.)	4	5	3	5	5	5	5	5	4	4	4	3	4	4	60
10	Нехватка кадров в спец. дошкольных и школьных учреждениях (дет. сады, школы, интернаты и др.)	3	4	3	4	4	5	5	5	5	4	4	3	3	4	56
11	Недостаточность адресной соц. помощи от местных органов самоуправления (материальная, информационная помощь, соц. такси, льготы на пользование общ. транспортом и т.д.)	4	4	5	4	4	5	5	5	2	3	4	3	4	5	57

В исследовании, суммарная оценка на основе мнений экспертов составила от 0 – минимальная, до 100 – максимальная шкала.

IV этап заключался в обработке и анализе экспертных оценок. Статистическая обработка материала проводилась на компьютере с использованием программы MS Excel.

Пересмотр и возможность изменения своих прежних оценок на основе ознакомления с мнениями других экспертов стимулируют опрашиваемых к учету факторов, которые они на первых порах склонны были опустить как незначительные. С этой целью был проведен повторный опрос экспертов. В анкету для повторной оценки вошли 13 вопросов, которые, по мнению экспертов, при первичном опросе имели наибольшую значимость.

К основным недостаткам метода Дельфи можно отнести большие затраты времени на многотуровую экспертизу. Так, в процессе экспертного опроса некоторые эксперты стремились как можно быстрее ответить на все вопросы. Данный подход приводил к поверхностному анализу проблемы. Кроме того, длительность по времени процедуры часто приводит к нестабильности состава экспертной группы, вплоть до отказа от участия в экспертизе. В результате, ответы на повторный опрос были получены только от 14 экспертов.

В таблице представлены данные ответов экспертов при повторном опросе и общая суммарная оценка значимости проблем для качества жизни детей дошкольного возраста с хроническими инвалидизирующими заболеваниями [5].

По результатам проведенного экспертного опроса по методу Дельфи, из 25 проблем, озвученных респондентами на начальном этапе исследования, после 2 анонимных опросов отобрано 8 наиболее значимых, по мнению экспертов (50 и более баллов), 7 из них относятся к вопросам социальной помощи детям с хроническими инвалидизирующими заболеваниями и одна - доступности качественной реабилитационной помощи.

Полученные данные сходны с результатами, полученными сотрудниками Лейденского университета (Нидерланды), которые в 2013 году проводили исследование с целью определения ключевых областей КЖ. Опрос проводился методом Дельфи среди пяти групп заинтересованных сторон (пациенты, семьи пациентов, врачи, ученые и представители широкой общественности) в три этапа. В результате исследования во всех пяти группах респондентов именно социальная составляющая КЖ была признана как наиболее важная [10].

При применении экспертного опроса методом Дельфи выявлены некоторые трудности: вследствие больших временных затрат привлеченные к опросу эксперты часто теряют интерес к экспертизе, выявлено стремление ускорить опрос, что приводит к поверхностному анализу проблем. Наряду с этим данный метод имеет некоторые преимущества по сравнению с методами, основанными на обычной статистической обработке результатов индивидуальных опросов и обеспечивает, на наш взгляд, более объективное изучение проблемы, поскольку дает возможность анонимного ознакомления

с мнением других экспертов и изменения своих первоначальных оценок. В данном исследовании экспертная оценка помогла из большого массива проблем очертить круг задач, требующих приоритетного решения. Немаловажно, что в данном процессе были задействованы лишь наиболее компетентные в этом вопросе стороны: родители/опекуны детей с инвалидизирующей патологией и специалисты практического и общественного здравоохранения, вплотную занимающиеся данной проблемой.

Таким образом, на основании проведенного исследования считаем целесообразным использование метода экспертной оценки с привлечением широкого круга независимых экспертов при комплексной разработке и утверждении стандартов медицинской и социальной реабилитации пациентов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Голубков Е.П. Маркетинговые исследования: теория, методология и практика. М.: 1998; 416.
2. Добренев В.И., Кравченко А.И. Методы социологического исследования. М: 2004; 768.
3. Дьяченко В.Г. Качество в современной медицине. Хабаровск: 2007; 384.
4. Калматаева Ж.А., Бекботаев Е.К., Каусова Г.К. Медицинская и социальная реабилитация детей с инвалидизирующей патологией на примере Алматинской и Кызылординской областей: учебно-методическое пособие. Алматы: 2014; 36.
5. Калматаева Ж.А., Бекботаев Е.К., Скаков А.Б., Омарова А.Э. Экспертная оценка влияния медико-социальных факторов на качество жизни детей. Медицина (Алматы) 2013; 10: 2-5.
6. Шереги Ф.Э., Горшкова М.К. Основы прикладной социологии. М: 1996; 184.
7. Boulkedid R., Abdoul H., Loustau M. et al. Using and reporting the Delphi method for selecting healthcare quality indicators: a systematic review. PloS One. 2011; 6: e20476.
8. Donabedian A. Quality and cost: Choices and responsibilities. J. Occup. Med. 1990; 32: 1167-1172.
9. Hsu C., Sandford B. A. The Delphi Technique: Making Sense of Consensus. Practical Assessment Research & Evaluation. 2007; 12(10).
10. Pietersma S., de Vries M., van den Akker-van Marle M.E. Qual. Life Res. 2014; 23(5):1543-56.

## SUMMARY

### EXPERIENCE OF PRACTICAL APPLICATION OF THE METHOD OF EXPERT ASSESSMENT IN THE STUDY OF QUALITY OF LIFE

**Kalmatayeva Zh., Bekbotayev E., Skakov A., Brimzhanova M., Omarova A.**

*Kazakhstan School of Public Health, Almaty, Kazakhstan*

The article investigates the experience of practical implementation of expert assessment method for

the evaluation of life quality of preschool children with different disabilities. The trial is carried out in four stages and two anonymous surveys. Based on the evaluation the most important eight problems are selected by experts. Seven problems related to social assistance of children with chronic disabilities and one problem related to availability of occupa-

tional therapy. It is recommended to use the results of expert evaluation in integrated development and establishment of standards of medical and social rehabilitation of patients.

**Keywords:** disabled children, quality of life assessment.

## РЕЗЮМЕ

### ОПЫТ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА ЭКСПЕРТНОЙ ОЦЕНКИ В ИССЛЕДОВАНИИ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ

Калматаева Ж.А., Бекботаев Е.К., Скаков А.Б., Бримжанова М.Д., Омарова А.Э.

*Высшая школа общественного здравоохранения, Алматы, Казахстан*

В статье представлен опыт практического применения метода экспертной оценки при исследовании качества жизни детей дошкольного возраста с хроническими инвалидизирующими заболеваниями. Исследование проводилось в четыре этапа, с включением двух анонимных опросов. На основании результатов экспертной оценки, из двадцати пяти представленных на начальном этапе проблем было отобрано восемь наиболее значи-

мых, по мнению экспертов, требующих приоритетного решения. При этом семь из них относятся к вопросам социальной помощи детям с хроническими инвалидизирующими заболеваниями и одна - доступности качественной реабилитационной помощи. Результаты экспертной оценки рекомендуются использовать при комплексной разработке и утверждении стандартов медицинской и социальной реабилитации пациентов.

## რეზიუმე

საექსპერტო შეფასების მეთოდის პრაქტიკული გამოყენების გამოცდილება ცხოვრების ხარისხის გამოკვლევაში

ჟ. კალმატაევა, ე. ბეკბოტაევი, ა. სკაკოვი, მ. ბრიმჯანოვა, ა. ომაროვა

საზოგადოებრივი ჯანდაცვის უმაღლესი სკოლა, ალმატი, ყაზახეთი

სტატიაში წარმოდგენილია საექსპერტო შეფასების მეთოდის პრაქტიკული გამოყენების გამოცდილება ქრონიკული მაინვალიდიზირებელი დაავადებების მქონე სკოლამდელი ასაკის ბავშვთა ცხოვრების ხარისხის გამოკვლევაში. გამოკვლევა ჩატარდა ოთხ ეტაპად ორი ანონიმური გამოკითხვის ჩათვლით. საექსპერტო შეფასების შედეგების საფუძველზე, საწყის ეტაპზე წარმოდგენილი ოცდახუთი პრობლემიდან შერჩეულ იქნა ექსპერტების აზრით რვა მეტად მნიშვნელოვანი,

რომლებიც საჭიროებს პრიორიტეტულ გადაწყვეტას. აქედან შვიდი მათგანი მიეკუთვნება ქრონიკული მაინვალიდიზირებელი დაავადებების მქონე ბავშვთა სოციალური დახმარების საკითხებს, ხოლო ერთი – ხელმისაწვდომ ხარისხიან სარეაბილიტაციო დახმარებას. საექსპერტო შეფასების შედეგების მოხმარება რეკომენდებულია პაციენტების სამედიცინო და სოციალური რეაბილიტაციის სტანდარტების კომპლექსურ დამუშავებისა და დამტკიცებისას.

## АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОДИФИЦИРОВАННОЙ МОДЕЛИ ЛИГАТУР-ИНДУЦИРОВАННОГО ПАРОДОНТИТА У КРЫС

<sup>1</sup>Чумакова Ю.Г., <sup>1,2</sup>Вишневецкая А.А., <sup>3,4</sup>Какабадзе А.З., <sup>3,4</sup>Каралашвили Л.Г., <sup>3</sup>Какабадзе З.Ш.

<sup>1</sup>Государственное учреждение «Институт стоматологии Национальной академии медицинских наук Украины», Одесса; <sup>2</sup>Одесский национальный медицинский университет МЗ Украины; <sup>3</sup>Тбилисский государственный медицинский университет; <sup>4</sup>Государственный Университет им. Ильи, Тбилиси, Грузия

В структуре стоматологических заболеваний болезни пародонта занимают одно из ведущих мест и по социально-экономической значимости относятся к наиболее актуальным проблемам стоматологии. Это связано с массовой распространенностью заболеваний пародонта среди населения, их негативным влиянием на организм в целом и последствиями, приводящими к потере зубов и нарушению функции зубочелюстной системы [4,6]. Генерализованный пародонтит является наиболее распространенным и тяжелым среди заболеваний пародонта и представляет собой дистрофически-воспалительный процесс, возникающий в тканях пародонта вследствие сочетанного воздействия различных общих и местных экзогенных и эндогенных факторов [1].

Для определения ведущих этиологических факторов, патогенетических механизмов и разработки эффективных методов профилактики и лечения пародонтита проводят моделирование экспериментальной патологии у лабораторных животных. На сегодняшний день предложено множество экспериментальных моделей дистрофически-воспалительных (пародонтита) и дистрофических (пародонтоза) заболеваний пародонта [7,11,13]. Обращает на себя внимание тот факт, что в каждом конкретном случае экспериментальная модель патологического процесса в тканях пародонта создавалась для отражения тех патогенетических механизмов, которые авторы модели считали решающими, на основании чего строилась предполагаемая концепция развития заболевания. В этой связи многие модели практически не воспроизводимы ввиду методической сложности выполнения (выбор экспериментальных животных, условия опыта) и интерпретации полученных результатов, что не позволяет широко использовать их в экспериментальных исследованиях. Поэтому возникла необходимость в разработке новой модели пародонтита, которая будет легко воспроизводима у крыс, патогенетически обоснована и удобна для апробации новых средств и методов лечения данной патологии. Нами предложена модифицированная «лигатурная» модель, суть которой состоит в создании ретенционного пункта для микробной биопленки, инициирующей воспаление и деструкцию тканей пародонта.

Целью настоящего исследования явилась сравнительная оценка известной «перекисной» и модифицированной нами «лигатурной» моделей пародонтита у крыс.

### Материал и методы.

#### Методика экспериментов

Проведены 2 серии экспериментальных исследований на 36 белых лабораторных крысах линии Вистар обоего пола массой 220-300 г. В первой серии («перекисная» модель - 20 животных) крысы были разделены на 2 эквивалентные группы (n=10). Животным первой группы (интактные крысы) ежедневно, в течение 45 дней, вводили в рацион обычное рафинированное подсолнечное масло из расчета 5% от массы корма. Животным второй группы аналогичным образом вводили в рацион перекисленное подсолнечное масло, обладающее прооксидантными свойствами. Максимальный срок наблюдения за животными в этой серии опытов составил 45 дней. Во второй серии («лигатурная» модель) 16 животных были разделены на 2 эквивалентные группы (n=8). Первую группу составили интактные крысы, которым никаких вмешательств не проводили. Крысам II группы под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг), согласно протоколу Комитета биоэтики животных, моделировали лигатур-индуцированный пародонтит путем наложения лигатуры на центральный резец верхней челюсти, фиксируя кончики нити фотополлимерным пломбирочным материалом (Charisma, фирма производитель Heraeus-Kulser, Германия). Все животные находились на стандартном пищевом рационе вивария. Максимальный срок наблюдения за животными в этой серии опытов составил 14 дней. Все животные содержались при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище. Животных выводили из эксперимента под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца с одновременным забором крови. Выделяли и резецировали фрагменты челюстей с зубами, а также биоптаты десны для дальнейших биохимических и морфометрических исследований.

#### Метод получения окисленного масла

Для получения окисленного масла рафинированное подсолнечное масло прогревали 40 мин. при температуре 130-150°C, продувая воздух в присутствии катализатора – 0,1% сульфата меди (CuSO<sub>4</sub>); перекисное число рафинированного масла – 0,3; перекисленного – 2,6 (в г йода). Полученное масло хранили при комнатной температуре в темной стеклянной таре [2].

*Лабораторные исследования*

Биохимическими методами в сыворотке крови и в надосадочной жидкости гомогенатов десны определяли активность эластазы, содержание малонового диальдегида (МДА) и активность каталазы. Морфометрическим методом определяли степень атрофии альвеолярного отростка нижней челюсти крыс.

**Результаты и их обсуждение.** Проведенные исследования показали, что обе модели пародонтита воспроизводят системные и местные нарушения, происходящие в организме и в тканях пародонта при развитии пародонтита у крыс, аналогичные таковым при пародонтите у человека. Это подтверждается наличием выраженного воспаления тканей пародонта, о чем свидетельствуют результаты клинического осмотра и биохимических исследований сыворотки крови и биоптатов десны (таблицы 1, 2), а также деструкция альвеолярной кости (таблица 3). Так, ежедневный осмотр полости рта крыс показал, что при введении в рацион питания перекисленного масла только к концу второй недели от начала эксперимента у животных появились признаки воспаления десны – слабая гиперемия и отечность, а клинические симптомы пародонтита, проявляющиеся гиперплазией десны, кровоточивостью, оголением шеек зубов и их подвижностью, выявлены только спустя 5-6 недель. В то же время, моделирование лигатур-индуцированного пародонтита вызывает появление выраженных клинических симптомов воспаления тканей пародонта уже на третьи сутки, а именно, гиперемию, отечность, кровоточивость десны в области резцов. Еще спустя 3-5 дней видимое воспаление десны отмечается и в области моляров, т.е. происходит генерализация дистрофически-воспалительного процесса в тканях пародонта.

Клинические симптомы воспаления тканей пародонта являются результатом значительных метаболических нарушений в десне крыс, о чем свидетель-

ствуют биохимические показатели, представленные в таблице 1. У животных с «перекисным» и лигатур-индуцированным пародонтитом по сравнению с интактными крысами установлен достоверный рост эластазной активности ( $p < 0,001$  и  $p < 0,005$ , соответственно), что свидетельствует о высокой активности нейтрофилов, которые в огромном количестве инфильтрируют ткани пародонта при развитии воспаления. На обеих моделях происходит достоверное повышение содержания МДА, более выраженное при лигатур-индуцированном пародонтите ( $p < 0,001$ ), что указывает на интенсификацию процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тканях. При этом у крыс с «лигатурным» пародонтитом отмечается также снижение активности антиоксидантного фермента каталазы ( $p < 0,05$ ) как следствие недостаточности физиологической антиоксидантной системы (АОС) (таблица 1).

Установлено, что при моделировании пародонтита у крыс происходит изменение биохимических показателей и в сыворотке крови (таблица 2). Независимо от способа моделирования повышается активность эластазы ( $p < 0,005$ ). У крыс с «перекисным» пародонтитом по сравнению с интактными крысами отмечается достоверный рост уровня МДА ( $p < 0,001$ ). У крыс с лигатур-индуцированным пародонтитом не происходит повышения содержания МДА в сыворотке крови, но при этом снижается активность каталазы ( $p < 0,005$ ).

Наиболее объективным признаком наличия пародонтита у крыс считают прогрессирующую убыль альвеолярной кости, которая определяется по степени обнажения корней моляров. У животных с «перекисным» и лигатур-индуцированным пародонтитом по сравнению с интактными крысами установлено достоверное увеличение показателя степени атрофии альвеолярного отростка челюстей ( $p < 0,001$ ) (таблица 3).

Таблица 1. Биохимические показатели в десне крыс при моделировании пародонтита ( $M \pm m$ )

Исследуемые группы	Эластаза, мккат/г	Каталаза, мккат/г	МДА, мкмоль/г
<b>«Перекисная» модель</b>			
интактные крысы, n=10	0,043±0,002	7,42±0,19	12,1±0,6
модель пародонтита, n=10	0,060±0,002 $p < 0,001$	7,25±0,43	14,7±0,8 $p < 0,05$
<b>«Лигатурная» модель</b>			
интактные крысы, n=8	0,031±0,001	9,63±0,50	15,8±1,1
модель пародонтита, n=8	0,042±0,003 $p < 0,005$	7,13±0,82 $p < 0,05$	23,5±0,8 $p < 0,001$

Таблица 2. Биохимические показатели в сыворотке крови крыс при моделировании пародонтита ( $M \pm m$ )

Исследуемые группы	Эластаза, мккат/л	Каталаза, мккат/л	МДА, ммоль/л
<b>«Перекисная» модель</b>			
интактные крысы, n=10	235,2±15,5	0,212±0,014	0,74±0,03
модель пародонтита, n=10	306,5±15,7 p<0,005	0,220±0,011	1,00±0,05 p<0,001
<b>«Лигатурная» модель</b>			
интактные крысы, n=8	198,7±8,8	0,205±0,009	1,21±0,07
модель пародонтита, n=8	232,2±6,1 p<0,005	0,148±0,007 p<0,001	1,26±0,05

Таблица 3. Степень атрофии альвеолярного отростка нижней челюсти крыс при моделировании пародонтита ( $M \pm m$ )

Модель	Срок моделирования	Возраст крыс	Группы крыс	n	Степень атрофии альвеолярного отростка (%)	% прироста за весь период/в месяц
«Перекисная» модель	45 дней	4 мес.	интактные	10	33,2±1,3	22,9/15,3
			модель	10	40,8±1,2 p<0,001	
«Лигатурная» модель	14 дней	3 мес.	интактные	8	23,5±0,6	30,6/65,6
			модель	8	30,7±1,1 p<0,001	

Учитывая факт, что эксперименты были проведены в разное время, на животных разного возраста, с разной длительностью срока моделирования пародонтита, является некорректным прямое сравнение показателей резорбции альвеолярной кости. В этой связи мы рассчитали скорость прироста (в %) атрофии альвеолярного отростка за 1 месяц. Представленные данные свидетельствуют, что более высокий темп резорбции альвеолярной кости отмечается при воспроизведении «лигатурной» модели – на 65,6% за 1 месяц, тогда как при «перекисной» модели – всего на 15,3%/мес. (таблица 3).

Таким образом, результаты клинического осмотра полости рта крыс, проведенные биохимические и морфометрические исследования выявили, что обе модели полностью воспроизводят изменения в тканях, характерные для пародонтита. Разработанная нами модифицированная «лигатурная» модель пародонтита у крыс имеет ряд преимуществ, а именно: краткий срок моделирования (14 дней), выраженная клиническая картина воспаления тканей пародонта и, как следствие, удобство для мониторинга клинических симптомов при апробации новых средств и методов лечения, быстрый темп резорбции альвеолярной кости.

На основании анализа литературы следует заключить о наличии множества экспериментальных моделей с

различными пусковыми механизмами дистрофически-воспалительного процесса в тканях пародонта у животных. Существующие модели пародонтита можно разделить на неинвазивные и инвазивные [3,5,8,12].

К неинвазивным относят модели пародонтита, которые воспроизводят путем введения животным биологически активных веществ либо парентерально (специальные диеты), либо путем аппликаций на десну [3]. Среди таких моделей необходимо отметить «углеводную» модель пародонтита, которая заключается в длительном содержании животных (90 дней) на специальной диете мягкой консистенции с высоким содержанием углеводов и сниженным уровнем белков (состав: пшеничная мука – 34%; сухое молоко – 30%; крахмал – 20%; сахар – 15%; физ. раствор 1%). Кроме того, диета мягкой консистенции (перетёртая пища) приводит к снижению жевательной нагрузки на пародонт, что, в свою очередь, вызывает нарушение регионарного кровоснабжения и циркуляторную гипоксию в тканях пародонта, приводящих к снижению в них метаболических процессов и уменьшению плотности челюстной кости. На наш взгляд, «углеводная» модель является наиболее «физиологичной» и достаточно полно отражает развитие пародонтоза у лиц старшей возрастной группы.

Разные модификации «перекисной» модели пародонтита у крыс воспроизводят путем добавления в рацион

питания или воздействием на ткани пародонта перекисленного подсолнечного масла, инициирующего процессы перекисдного окисления липидов (ПОЛ) в тканях, что, в свою очередь, приводит к стойким деструктивным изменениям в пародонте. Это подтверждено нами и в настоящем исследовании. Учитывая известные данные о влиянии хронического эмоционального стресса, физических факторов (ионизирующая радиация, ультрафиолетовое облучение, электромагнитное поле), поступления в организм прооксидантных веществ (пестициды, лекарства-окислители, компоненты загрязнения биосферы и т.д.) на процессы ПОЛ и состояние антиоксидантной системы на фоне недостаточного поступления в ткани биоантиоксидантов, можно считать, что данная модель в достаточной степени отражает механизмы развития генерализованного пародонтита у лиц молодого и среднего возраста, проживающих в неблагоприятных геохимических условиях и с низким уровнем социальной обеспеченности. Известные данные о роли фосфолипазы  $A_2$  и продуктов метаболизма арахидоновой кислоты – эйкозаноидов в развитии воспалительных заболеваний внутренних органов послужили основанием для изучения патогенетического действия фосфолипазы  $A_2$  на ткани пародонта и создания «фосфолипазной» модели пародонтита, которая воспроизводится путем ежедневных, в течение 15 дней, аппликаций на десну водного раствора фосфолипазы, обладающей выраженным мембранолитическим действием, из расчета 5 мг препарата на 1 крысу [3].

Проведенный анализ трех представленных неинвазивных моделей пародонтита («углеводной», «перекисной» и «фосфолипазной») показал общность клинической картины и механизмов развития изучаемой патологии. Независимо от пускового этиотропного фактора пародонтита у всех животных установлены интенсификация перекисного окисления липидов на фоне истощения физиологической антиоксидантной системы и усиление протеолиза в тканях пародонта и в сыворотке крови, в том числе и повышение активности  $A_2$  фосфолипазы. J.I. Aguirre et al. также провели исследования на неинвазивной модели пародонтита у крыс, используя диету мягкой консистенции с высоким содержанием сахарозы и казеина (H-SC), и установили прогрессирующую убыль альвеолярной кости спустя 12 и 18 недель от начала эксперимента [3].

В целом, необходимо отметить физиологичность неинвазивных моделей пародонтита, их приближенность по механизму воздействия на ткани пародонта местных и общих пародонтогенных факторов у человека, но при этом недостатком является длительное моделирование экспериментальной патологии (1,5-3,5 месяца), что затрудняет выполнение исследований по разработке и апробации новых средств и методов лечения пародонтита. Среди инвазивных моделей безусловным лидером в экспериментальной пародон-

тологии является модель лигатур-индуцированного пародонтита [16]. Данная модель появилась в эпоху развития и подтверждения концепции о специфической пародонтопатогенной микрофлоре, т.е. о конкретных бактериях зубной бляшки, которые в силу наличия у них особых факторов вирулентности способны преодолевать многочисленные защитные барьеры и оказывать повреждающее действие на ткани пародонта. В настоящее время разные авторы выделяют от 8 до 12 видов пародонтопатогенных бактерий. Это представители факультативных и облигатных анаэробов, такие как *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* (пане *Bacteroides forsythus*), *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens* [15].

Таким образом, основная цель «лигатурной» модели – вызвать воспалительно-дистрофический процесс в тканях пародонта путем размещения хлопковой или шелковой лигатурной нити в зубодесневой борозде (в классическом варианте модели – вокруг второго моляра), которая является ретенционным пунктом (накопителем) для пародонтопатогенной микрофлоры. Следующим этапом усовершенствования патогенетической «лигатурной» модели, подтверждающей ведущую роль микробного фактора в развитии пародонтита, стало пропитывание лигатуры либо чистой культурой пародонтопатогенных бактерий, либо выделенным из них эндотоксином – липополисахаридом [9,15]. Необходимо подчеркнуть, что данная модель легко воспроизводима у крупных лабораторных животных (обезьян, собак) ввиду достаточного размера моляров для введения в межзубные промежутки и закрепления в них лигатуры, что практически невозможно сделать у крыс без дополнительной травмы. При этом появляется дополнительный повреждающий фактор – травматическое разрушение круговой связки, и теряется суть «лигатурной» модели. Этот факт и стал основанием для предложенной нами модификации «лигатурной» модели пародонтита у крыс, которая отличается тем, что хлопковая лигатура фиксируется вокруг центрального резца.

Полученные в настоящей работе результаты клинических, биохимических и морфометрических исследований показали адекватность предложенной модификации «лигатурной» модели пародонтита, что позволяет рекомендовать ее широкое использование в экспериментальной пародонтологии.

В настоящее время основное внимание исследователей уделяется разработке инвазивных моделей по созданию искусственных мукогингивальных и костных дефектов с целью изучения процесса регенерации утраченных тканей пародонта под воздействием клеточной тера-

пии (стволовых клеток), различных факторов роста и тканевой биоинженерии [10].

Анализируя вышесказанное, следует заключить, что выбор экспериментальной модели пародонтита определяется, в первую очередь, в зависимости от цели и задач планируемого исследования. Также необходимо учитывать сроки моделирования, сроки возникновения основных клинических симптомов и степень выраженности воспалительного и/или деструктивного компонентов дистрофически-воспалительного процесса в пародонте.

В результате клинических, биохимических и морфометрических исследований установлено, что предложенная модификация лигатур-индуцированного пародонтита полностью воспроизводит местные и системные нарушения, происходящие в тканях пародонта и в организме в целом при развитии пародонтита у крыс, аналогичные таковым при пародонтите у человека. Это подтверждается наличием видимого воспаления десны, метаболическими нарушениями в тканях пародонта, изменением биохимических показателей в сыворотке крови и деструкцией альвеолярной кости у крыс.

Показано также, что модифицированная «лигатурная» модель пародонтита у крыс имеет ряд преимуществ при сравнении с «перекисной» моделью: более краткий срок моделирования, более выраженная клиническая картина воспаления тканей пародонта и более быстрый темп резорбции альвеолярной кости.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Колесова Н.А., Политун А.М., Колесова Н.В. Концепция гетерогенности болезней пародонта, определяющей особенности лечебной тактики. Современная стоматология 2006; 1(33): 61-64.
2. Чумакова Ю.Г., Перова А.И., Кутельмах О.И. Исследование механизмов резорбции альвеолярной кости на различных моделях пародонтита у крыс. Вісник стоматології 2007; 4: 111-120.
3. Aguirre J.I., Akhter M.P., Kimmel D.D. et al. Enhanced alveolar bone loss in a model of non-invasive periodontitis in rice rats. Oral Dis. 2012; 18(5): 459-468.
4. Al-Ghutaimel H, Riba H, Al-Kahtani S, Al-Duhaimi S. Common periodontal diseases of children and adolescents. Int J Dent. 2014; 850.
5. Cai, X. Li, C., Du G, Cao Z. Protective effects of baicalin on ligature-induced periodontitis in rats. J. Periodontal Research. 2008; 43(1): 14-21.
6. Cole E, Ray-Chaudhuri A, Vaidyanathan M, Johnson J, Sood S. Simplified basic periodontal examination (BPE) in children and adolescents: a guide for general dental practitioners. Dent Update. 2014; 41(4):328-30.
7. Genco RJ, Genco FD. Common risk factors in the management of periodontal and associated systemic diseases: the dental setting and interprofessional collaboration. J Evid Based Dent Pract. 2014; 14 Suppl:4-16.
8. Jagadish R., Mehta D.S. Comparative evaluation of the ef-

ficacy of the cyclooxygenase pathway inhibitor and nitric oxide synthase inhibitor in the reduction of alveolar bone loss in ligature induced periodontitis in rats: An experimental study. J. Indian Soc. Periodontol. 2014; 18(1): 59-64.

9. Kimura S., Nagai A., Onitsuka T. et al. Induction of experimental periodontitis in mice with Porphyromonas gingivalis adhered ligatures J. Periodontol. 2010; 71(7): 1167-1173.

10. Kesavalu L., Sathishkumar S., Bakthavatchalu V. et al. Rat model of polymicrobial infection, immunity, and alveolar bone resorption in periodontal disease. Infection and Immunity 2007; 75(4): 1704-1712.

11. Lin J, Bi L, Yu X, Kawai T, Taubman MA, Shen B, Han X. Porphyromonas gingivalis exacerbates ligature-induced RANKL-dependent alveolar bone resorption via differential regulation of TLR2 and TLR4. Infect Immun. 2014; 2084-14.

12. Ma S, Guo J, You X. et al. Expressions of interleukin-1 and interleukin-6 within aortas and uteri of rats with various severities of ligature-induced periodontitis. Inflammation 2011; 34(4): 260-268.

13. Oktay S, Chukkapalli SS, Rivera-Kweh MF, Velsko IM, Holliday S, Kesavalu LN. Periodontitis in rats induces systemic oxidative stress that is controlled by bone-targeted antiresorptives. J Periodontol. 2014; 7:1-11.

14. Pellegrini G., Seol Y.J., Gruber R., Giannobile W.V. Pre-clinical models for oral and periodontal reconstructive therapies J. Dent. Res. 2009; 88(12): 1065-1076.

15. Socransky S.S., Haffajee A.D. Periodontal microbial ecology. Periodontol. 2005; 38: 135-187.

16. Struillou X., Boutigny H., Soueidan A., Layrolle P. Experimental animal models in periodontology: a review. Open Dent. J. 2010; 29: 37-47.

## SUMMARY

### CLINICAL AND BIOCHEMICAL ANALYSIS OF LIGATURE-INDUCED PERIODONTITIS IN RATS

<sup>1</sup>Chumakova Y., <sup>1,2</sup>Vishnevskaya A., <sup>3,4</sup>Kakabadze A., <sup>3,4</sup>Karalashvili L., <sup>3,4</sup>Kakabadze Z.

<sup>1</sup>State Institution "National Institute of Dentistry Academy of Medical Sciences of Ukraine", Odessa, <sup>2</sup>Odessa National Medical University; <sup>3</sup>Tbilisi State Medical University; <sup>4</sup>Ilia State University, Tbilisi, Georgia

The most common experimental model of periodontitis is a "ligature" model. However due to the complexity connected with performing on rats, modification of existing model is proposed, which differs by fixture of cotton ligature around the central incisor and not around the second molar.

The purpose of research - a comparative evaluation of "peroxide" and modified by us, "ligature" models of periodontitis in rats.

2 series of experiments on 36 white Wistar rats were conducted. The animals were divided into two groups: intact rats (control) and rats with a "peroxide" model of periodontitis, which was reproduced by the addition to the diet of rats overoxidized sunflower oil (5% by weight of the feed),

daily, for 45 days. "Ligature" model in rats was reproduced by applying a cotton ligature on the central incisor of the upper jaw for 14 days. Elastase activity, malondialdehyde content and catalase activity in the gums and in the blood serum was measured by biochemical methods. The degree of atrophy of the alveolar bone of the mandible was determined by morphometric method.

It is found that in both models of periodontitis in rats, changes in the periodontal tissues and in the organism as a whole, is common for periodontal disease in humans. Clinically apparent inflammation of the periodontal tissues is observed, metabolic disorders in the gums, change of biochemical parameters in serum and progressive decline in the alveolar bone are determined.

A comparative analysis of the two models showed that the modified "ligature" model of periodontitis in rats has several advantages over the "peroxide" model: shorter term of modeling, more pronounced clinical inflammation of periodontal tissues and faster resorption of alveolar bone.

**Keywords:** periodontitis, "ligature" model of periodontitis in rats, "peroxide" model of periodontitis in rats.

## РЕЗЮМЕ

### АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОДИФИЦИРОВАННОЙ МОДЕЛИ ЛИГАТУР-ИНДУЦИРОВАННОГО ПАРОДОНТИТА У КРЫС

<sup>1</sup>Чумакова Ю.Г., <sup>12</sup>Вишневская А.А., <sup>3,4</sup>Какабадзе А.З., <sup>3,4</sup>Каралашвили Л.Г., <sup>3</sup>Какабадзе З.Ш.

<sup>1</sup>Государственное учреждение «Институт стоматологии Национальной академии медицинских наук Украины», Одесса; <sup>2</sup>Одесский национальный медицинский университет МЗ Украины; <sup>3</sup>Тбилисский государственный медицинский университет; <sup>4</sup>Государственный Университет им. Ильи, Тбилиси, Грузия

Наиболее распространенной экспериментальной моделью пародонтита является «лигатурная» модель. Однако ввиду сложности воспроизведения ее у крыс, предложена модификация данной модели, которая отличается тем, что хлопковая лигатура фиксируется вокруг центрального резца, а не вокруг второго моляра.

Цель исследования – сравнительная оценка «перекисной» и модифицированной нами «лигатурной» моделей пародонтита у крыс.

Проведено 2 серии экспериментов на 36 белых крысах линии Вистар. Животные были разделены на группы: интактные крысы (контроль) и крысы с «перекисной»

моделью пародонтита, которую воспроизводили путем добавления в рацион питания крыс перекисленного подсолнечного масла (5% от массы корма), ежедневно, в течение 45 дней. «Лигатурную» модель у крыс воспроизводили путем наложения хлопковой лигатуры на центральный резец верхней челюсти на 14 дней. Биохимическими методами в десне и в сыворотке крови определяли активность эластазы, содержание малонового диальдегида и активность каталазы. Морфометрическим методом определяли степень атрофии альвеолярного отростка нижней челюсти.

Установлено, что на обеих моделях пародонтита у крыс происходят изменения в тканях пародонта и в организме в целом, характерные для пародонтита у человека. Наблюдается видимое клинически воспаление тканей пародонта, определены метаболические нарушения в десне, изменение биохимических показателей в сыворотке крови и прогрессирующая убыль альвеолярной кости. Сравнительный анализ двух моделей показал, что модифицированная «лигатурная» модель пародонтита у крыс имеет ряд преимуществ перед «перекисной» моделью: меньший срок моделирования, более выраженная клиническая картина воспаления тканей пародонта и более быстрый темп резорбции альвеолярной кости.

## რეზიუმე

ვირთავებში ლიგატურ-ინდუცირებული პარადონტიტის მოდიფიცირებული მოდელის კლინიკური და ბიოქიმიური მაჩვენებლების ანალიზი

<sup>1</sup>ი. ჩუმაკოვა, <sup>12</sup>ა. ვიშნევსკაია, <sup>3,4</sup>ა. კაკაბაძე, <sup>3,4</sup>ლ. ყარალაშვილი, <sup>3</sup>ზ. კაკაბაძე

<sup>1</sup>უკრაინის ეროვნული სამედიცინო აკადემიის სტომატოლოგიის ინსტიტუტი, ოდესა; <sup>2</sup>უკრაინის ჯანდაცვის ნაციონალური სამედიცინო უნივერსიტეტი, ოდესა; <sup>3</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი; <sup>4</sup>თბილისის ილიას სახ. სახელმწიფო უნივერსიტეტი, საქართველო

სადღეისოდ "ლიგატურით" ინდუცირებული მოდელი პარადონტიტის ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული მოდელია. ვირთავებში მის შექმნასთან დაკავშირებული სირთულეების გამო, შემოთავაზებულია ამ მოდელის მოდიფიცირებული ვარიანტი, სადაც ჩვეულებრივსგან განსხვავებით გამოიყენება ბამბის ლიგატურა, რომელიც ფიქსირდება არა მეორე მოლარის, არამედ ცენტრალური საჭრელი კბილის გარშემო.

კვლევის მიზანი – "ხეუნგური" და, ჩვენ მიერ მოდიფიცირებული, "ლიგატურით" ინდუცირებული პარადონტიტის მოდელის შედარებითი შეფასება.

ვისტარის ხაზის 36 თეთრ ვირთაგვაზე ჩატარებულ იქნა ექსპერიმენტების 2 სერია. ცხოველები დაყოფილი იყო ჯგუფებად: ინტაქტური (კონტროლი) და ვირთაგვები, რომელთა რაციონში 45 დღის განმავლობაში ყოველდღიურად "ზეჟანგური" ზეთის დამატებით (საკვების მასის 5%) იწვევდნენ პარადონტიტს; "ლიგატურით" პარადონტიტის ინდუცირება ხდებოდა 14 დღის განმავლობაში ცენტრალურ საჭრელზე ბამბის ლიგატურის დადებით. ბიოქიმიური მეთოდებით ხდებოდა ღრძილში და სისხლის შრატში ელასტაზას და კატალაზას აქტივობის და მალონის დიალდეჰიდის შემცველობის განსაზღვრა. მორფოლოგიური მეთოდებით ხდებოდა ქვედა ყბის ალვეოლური მორჩის ატროფიის ხარისხის განსაზღვრა. პარადონტიტის ორივე მოდელში ვირთაგვის პარა-

დონტის ქსოვილში და მთლიანად ორგანიზმში აღინიშნა ცვლილებები, დამახასიათებელი ადამიანისათვის იგივე დაავადების დროს. თვალთ ადვილად შეიმჩნევა პარადონტის ქსოვილის ანთეზა, აღინიშნება მეტაბოლური დარღვევები ღრძილის ქსოვილში; იცვლება სისხლის ბიოქიმიური მაჩვენებლები; პროგრესირებს ალვეოლური მორჩის ძელოვანი ქსოვილის განლევა. ორივე მოდელის შედარებითმა ანალიზმა უჩვენა, რომ ლიგატურით ინდუცირებულ პარადონტიტს გააჩნია რიგი უპირატესობები "ზეჟანგური" პარადონტიტთან შედარებით, კერძოდ, მოდელირების შედარებით მცირე პერიოდი, პარადონტის ქსოვილის მეტად გამოხატული კლინიკური სურათი და ალვეოლური მორჩის ძელის რეზორბციის ჩქარი ტემპი.

---

## ВЛИЯНИЕ МАСЛА КОСТОЧЕК ВИНОГРАДА И КОРИАНДРА НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ

<sup>2</sup>Николаишвили М.И., <sup>1</sup>Тогуа М.Г., <sup>1</sup>Франчуки К.Р., <sup>1</sup>Тупинашвили Т.Н., <sup>1</sup>Зурабашвили Д.З.

<sup>1</sup>Университет им. Давида Агмашенебели, Стоматологическая клиника;

<sup>2</sup>Центр экспериментальной биомедицины им. И. Берташвили, Тбилиси, Грузия

Одним из ведущих факторов в этиологии и патогенезе заболеваний пародонта является микробная флора полости рта. Согласно современным представлениям, бактериальная агрессия является одним из инициальных факторов в развитии заболеваний пародонта и вызывает различные формы поражения пародонтального комплекса [1,2]. Имеющиеся данные о роли анаэробной и смешанной бактериальной флоры в развитии заболеваний пародонта позволяют выделить группу т.н. пародонтопатогенных бактерий [2,5]. Генетическая стратегия изменчивости микроорганизмов постоянно приводит к возникновению в микробных популяциях вариантов, стойких к химиотерапевтическим препаратам, в том числе к антибиотикам [6].

Необходимо отметить, что в условиях гипоксии и ацидоза резко усиливаются процессы перекисного окисления липидов мембран клеток слизистой оболочки, что, в свою очередь, приводит к накоплению в ротовой жидкости продуктов перекисного окисления липидов, которые понижают активность амилазы слюны [7,9]. Именно поэтому поиск средств, обладающих антиоксидантным и мембранопротекторным действием,

является одним из актуальных вопросов клинической медицины и стоматологии.

Целью исследования явилось изучение эффективности действия аппликаций масла косточек винограда сорта ркацителли и кориандра на пародонт.

**Материал и методы.** Исследована полученная путем сплевывания ротовая жидкость, собранная в количестве 3,0 мл. В разведенной бидистиллятом (1:2) ротовой жидкости определялись отдельные показатели минерального и углеводного обменов, общий белок и щелочная фосфатаза (ЩФ).

Кальций определяли колориметрическим методом с «ARSENAZO 111» (кресолфтален). Кальций в растворе при нейтральном значении pH образует с красителем «ARSENAZO 111» окрашенный комплекс синего цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации кальция. Результаты выражались в ммоль/л [1]. Глюкоза определялась глюко-оксидазным методом фотометрически при длине волны 500 (480-520) нм. Содержание глюкозы в ротовой жидкости выражалось в ммоль/л [1,2].

Лактат определялся энзиматическим колориметрическим методом с лактатоксидазой и пероксидазой. Интенсивность окраски образованного комплекса пропорциональна концентрации лактата. Результаты выражались в ммоль/л [5].

Общий белок определяли методом Лоури. Интенсивность окраски фиолетово-синего комплекса пропорциональна концентрации общего белка в образце [8].

Определение малонового диальдегида (МА) производили посредством тиобарбитуровой кислоты. Принцип метода: при 100°C в кислой среде МА реагирует с 2-тиобарбитуровой кислотой, образуя окрашенный триметиновый комплекс, с максимумом поглощения при 532 нм. Молярный коэффициент экстинкции этого комплекса -  $E=1,56 \times 10^4 \text{ см}^{-1} \times \text{М}^{-1}$ .

Количество МД рассчитывают, используя вышеуказанную величину молярного коэффициента экстинкции, полученный результат выражают в ммоль/л [9].

С целью определения активности ЩФ в ротовой жидкости использован набор жидких реагентов, готовых к определению ее активности в плазме крови, также определяли активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) [1].

Активность амилазы в ротовой жидкости:  $\alpha$ -амилаза определялась колориметрически ферментативным методом. Результаты выражались в Е/л [10].

Ротовая жидкость исследована у 40 больных пародонтитом и 10 здоровых добровольцев. Проведено комплексное обследование состояния стоматологического статуса. В зависимости от глубины пародонтальных карманов выделены 2 степени тяжести пародонтита: пациенты с глубиной пародонтальных карманов 1,3 мм имели I степень тяжести процесса (n=20). Пациенты (n=20) с глубиной пародонтальных карманов 2,8 мм имели II степень. Как пациентам, так и добровольцам в начале наблюдений не производились аппликации маслом. Затем были выделены две группы: I группа (10 больных пародонтитом I степени тяжести и 10 – II степени тяжести процесса, а также 5 добровольцев) проведена аппликация тампонами, смоченными маслом косточек винограда. Пациентам II группы (10 больных пародонтитом I степени тяжести и 10 – II степени, а также 5 добровольцев) проведена аппликация тампонами, смоченными маслом кориандра. Масло разводилось бидистиллятом (1:5 по объему); обильно смоченный тампон накладывали на десна на 10 минут. Процедура повторялась дважды в течение 10 дней. Масло косточек винограда и кориандра получено методом холодного прессования [4,5,10].

Данные, полученные в результате исследования, обработаны методом вариационной статистики в программе AOSIS-74.

**Результаты и их обсуждение.** В результате проведенных исследований ротовой жидкости больных пародонтитом различной степени тяжести установлено, что при поражении пародонта отмечается увеличение активности ЛДГ и ЩФ на фоне резкого снижения активности  $\alpha$ -амилазы (таблица 1). Увеличение ЛДГ и ЩФ, по всей вероятности, обусловлено разрушением тканей пародонта и выходом в ротовую жидкость данных ферментов из клеток соединительной ткани и клеток, участвующих в поддержании структуры зуба - остеокластов и остеобластов. Достоверное увеличение активности ЩФ по сравнению с контрольной группой наблюдается только у пациентов с пародонтитом II степени тяжести, у которых в сравнении с контролем она повышается, в среднем, в 1,5 раза. Активность ЛДГ нарастает по мере тяжести процесса: у больных пародонтитом I степени тяжести в сравнении с контролем, в среднем, в 1,6 раз, у больных II степенью тяжести - в 1,7 раз. В процессе наблюдения определено содержание глюкозы в ротовой жидкости. Достоверного отклонения по сравнению с контрольным значением у пациентов с I и II степенью тяжести не выявлено. Не выявлено также изменения содержания кальция, однако, отмечается определенная тенденция увеличения, что необходимо учитывать. Данные исследования выявили достоверное увеличение содержания общего белка в ротовой жидкости. У пациентов с I степенью тяжести содержание белка в сравнении с контролем повышено, в среднем, в 1,82 раза, у пациентов со II степенью тяжести - в 2,01 раза. Таким образом, уровень общего белка достоверно увеличивается по мере тяжести пародонтита. Предполагаем, что рост общего белка может иметь бактериальное или клеточное происхождение. Достоверное снижение активности амилазы обусловлено поражением секреторных клеток слюнных желез продуктами жизнедеятельности микроорганизмов. У больных пародонтитом I степени тяжести в сравнении с контролем активность амилазы достоверно понижена, в среднем, в 1,15 раза, а при II степени - в 1,86 раза. Известно, что анаэробные процессы, инициируемые бактериальными клетками, приводят к увеличению концентрации молочной кислоты в ротовой жидкости. В свою очередь, лактат, являясь слабой кислотой, способен поставлять ионы водорода, которые, по всей видимости, закисляют ротовую жидкость и сдвигают pH в кислую сторону, что приводит к снижению активности амилазы, поскольку ее активность проявляется при нейтральных и слабощелочных значениях pH (pH=6,8-7,2). Гипоферментемия амилазы в ротовой жидкости наблюдается при увеличении концентрации лактата. Уровень глюкозы ротовой жидкости больных II группы наблюдения достоверно увеличен (таблица 1).

Таблица 1. Биохимические показатели ротовой жидкости больных пародонтитом

Показатели	Группы	I степень тяжести	II степень тяжести	Контроль
		M±m	M±m	M±m
глюкоза, милмол/л		7,29±0,42 p>0,05	7,89±0,28 p>0,05	7,23±0,29
лактат, милмол/л		0,77±0,19 p<0,05	1,04±0,24 p<0,05	0,30±0,08
общий белок, г/л		237,96±18,80 p<0,05	261,9±22,29 p<0,05	130,18±10,88
кальций, милмол/л		2,40±0,35 p>0,05	2,48±0,31 p>0,05	1,87±0,16
ЛДГ, ед/л		337,29±30,16 p<0,05	346,3±22,01 p<0,05	203,9±10,69
ЩФ, ед/л		17,71±0,68 p>0,05	26,00±1,24 p<0,05	17,60±0,44
амилаза, ед/л		50,12±5,12 p<0,05	31,00±2,21 p<0,05	57,79±3,64

Таблица 2. Биохимические показатели ротовой жидкости после аппликаций маслом косточек винограда

Показатели	I степень тяжести		II степень тяжести		Контроль	Контроль
	до аппликации	после аппликации	до аппликации	после аппликации	до аппликации	после аппликации
ЛДГ, ед/л	337,29±30,16	270,06±10,45 p<0,05	346,3±22,01	300,03±20,02 p<0,05	203,9±10,69	200,01±17,03 p>0,05
ЩФ, ед/л	16,71±0,68	15,70±10,23 p>0,05	25,00±1,24	16,55±0,69 p<0,05	16,50±0,44	15,56±16,34 p>0,05
Амилаза, ед/л	54,12±5,12	82,21±18,12 p<0,05	33,00±2,21	70,23±3,45 p<0,05	59,75±3,64	60,55±16,43 p>0,05

В таблице 2 приведены данные, полученные в группе, в которой применялась аппликация маслом косточек винограда. В ротовой жидкости исследованы ЛДГ, ЩФ и амилаза. Согласно полученным данным, 10-дневная аппликация маслом косточек винограда вызывает достоверное снижение уровня ЛДГ ротовой жидкости больных пародонтитом. Однако снижение показателя неодинаково. Среди пациентов с I степенью тяжести процесса оно более выражено (1,29 раз), в то время как у пациентов со II степенью тяжести выражено только 1,15 раз. Различие достоверно (p<0,01). Уровень ЩФ после аппликации маслом косточек винограда достоверно (p<0,05) изменился (уменьшился в 1,52 раза), только среди пациентов II степени тяжести процесса. Согласно данным таблицы 2, аппликация маслом косточек винограда вызывает значительное повышение уровня амилазы в ротовой жидкости больных пародонтитом. Среди пациентов с I степенью тяжести процесса показатель увеличен в 1,51 раз, в то время как среди пациентов со II степенью тяжести увеличен намного больше, в 2,12 раза (различия достоверны, p<0,05). Снижение уровня ЛДГ и выраженное уменьшение ЩФ у пациентов со II степенью тяжести процесса способствуют повышению активности амилазы, что влияет на уровень молоч-

ной кислоты в ротовой жидкости. Согласно данным таблицы 2, аппликация маслом косточек винограда достоверно не меняет уровень ЛДГ, ЩФ и амилазы в ротовой жидкости здоровых добровольцев.

Из литературы [4,5] известно, что масло косточек винограда сорта ркацителли содержит в большом количестве биологически активные вещества: аскорбиновую кислоту, тиамин, пиридоксин, рибофлавин, ретинол, витамин PP, токоферол, биотин, резвератрол, который является одним из сильнейших антиоксидантов. В присутствии аскорбиновой кислоты происходит перехват свободных радикалов и замедляются цепные реакции перекисного окисления. Особенно эффективно это масло в отношении к липидным пероксидным радикалам и является надежным защитником липидных мембран.

В таблице 3 приведены данные, полученные в когорте, прошедшей аппликацию маслом кориандра. В ротовой жидкости исследованы ЛДГ, ЩФ и амилаза. Согласно полученным данным 10-дневная аппликация маслом кориандра достоверно снижает уровень ЛДГ у пациентов с I степенью тяжести процесса (в 1,2 раза p<0,05), в то время как среди пациентов со II степенью тяжести

Таблица 3. Биохимические показатели ротовой жидкости после аппликаций маслом кориандра

Показатели	I степень тяжести		II степень тяжести		Контроль	Контроль
	до аппликации	после аппликации	до аппликации	после аппликации	до аппликации	после аппликации
ЛДГ, ед/л	307,20±30,16	255,06±10,45 p<0,05	340,2±22,01	315,03±20,02 p>0,05	201,9±10,69	198,01±17,03 p>0,05
ЩФ, ед/л	16,71±0,68	13,70±10,23 p<0,05	25,00±1,24	22,85±0,69 p>0,05	16,50±0,44	15,56±16,34 p>0,05
Амилаза, ед/л	54,12±5,12	60,12±18,12 p<0,05	33,00±2,21	46,21±3,45 p<0,05	57,75±3,64	57,55±16,43 p>0,05

процесса показатель достоверно не меняется (1,0 раза  $p>0,05$ ). Уровень ЩФ среди пациентов с I степенью тяжести процесса достоверно меняется ( $p<0,05$ ), в группе со II степенью тяжести процесса показатель достоверно не меняется  $p>0,05$ . На фоне указанных изменений наблюдается повышение активности амилазы. Среди пациентов I степени тяжести процесса активность амилазы увеличилась в 1,15 раз ( $p<0,05$ ) в то время как среди пациентов II степени тяжести процесса показатель достоверно меняется  $p<0,05$ . Согласно полученным данным аппликация маслом кориандра достоверно не изменяла исследованные показатели в группе здоровых доноров.

Согласно литературным данным, масло кориандра содержит жирные насыщенные и ненасыщенные кислоты и обладает спазмолитическим, противоревматическим, и бактерицидным действием, положительно влияет на воспалительные процессы [5,10].

Таким образом, обнаруживается определенная зависимость между степенью тяжести пародонтита и нарастанием активности ферментов ЛДГ и ЩФ. ЛДГ является индикатором анаэробных процессов в тканях ротовой полости и косвенно определяет предрасположенность ткани к окислительному стрессу и развитию процессов пародонтита, а ЩФ отражает процессы повреждения слизистой оболочки ротовой полости. Представляет интерес повышение активности амилазы в ротовой жидкости в результате действия аппликации маслом кориандра.

Полученные в результате проведенного исследования данные явились основанием для следующих выводов:

1. Аппликация маслом косточек винограда сорта ркацителли, обладающего антиоксидантным действием, значительно улучшает биохимические показатели ротовой жидкости у больных пародонтитом с различной степенью тяжести основного заболевания: происходит рост активности амилазы на фоне снижения активности щелочной фосфатазы и незначительно меняющейся активности лактатдегидрогеназы. Выявлены нейтральное или слабощелочное значения pH ( $pH=6,8-7,2$ ) у больных пародонтитом различной степени тяжести.

2. Аппликация маслом кориандра вызывает положительные процессы у больных пародонтитом, однако в меньшей степени, чем масло косточек винограда.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Совцова К.Э. Клинико-биохимические исследования ротовой жидкости у больных пародонтитом, здоровье и образование в XXI веке. Науч. труды IX междунар. Конгресса. – М.: 2008; 460-461.
2. Соломонова А.Д. Изменения микробиоценоза полости рта у ортодонтических пациентов. Автореф. дисс... канд. мед. наук. М.: 2011; 24.
3. Кикалишвили Б.И., Зурабашвили Д.З., Нтколаишвили М.И., Зурабашвили З.А., Гиоргобiani И.Б. Основные физико-химические константы масла косточек винограда и его действие в форме пищевой добавки (экспериментальное исследование). Медицинские Новости Грузии 2001; 6(195): 85-87.
4. Кикалишвили Б.И., Зурабашвили Д.З., Нтколаишвили М.И., Зурабашвили З.А., Гиоргобiani И.Б. Жирнокислотный состав масла косточек винограда и его действие в форме пищевой добавки. Медицинские Новости Грузии 2001;2(191): 73-75.
5. Кузьмина Э.М. Профилактика стоматологических заболеваний. М.: 2001; 214.
6. Русакова Е.Ю. Стоматологическая заболеваемость и обоснование комплексной профилактики у детей Приморского края. Автореф. дисс... канд. мед. наук. Екатеринбург: 2008; 155.
7. Путищев С.Б. Обоснование выбора конструкционного материала и технологии несъемных зубных протезов у больных хроническим генерализованным пародонтитом. (клинико-лабораторное исследование). Автореф. дисс... канд. мед. наук. Омск: 2009; 149.
8. Петрищев Н.Н., Орехова Л.Ю. Клиническая патофизиология для стоматологов. Учебное пособие. М.: Медицинская книга, Н.Новгород: Изд-во НГМА; 2002: 112.
9. Пестов А.Ю. Закономерности взаимоотношений биоценоза и физико-химических свойств ротовой жидкости при кариесе. Автореф. дисс... канд. мед. наук. Волгоград: 2012;29.
10. Полуденный Л.В., Сотник В.Ф., Хлапцев Е.Е. Эфирномасличные и лекарственные растения. М.: Колос; 1979.
11. Nedwed V., Miethke R.R. Motivation, acceptance and problems of invisalign patients. J Orofasc Orthop. 2005; No 66(2): 162-173.
12. Vlaskalic V., Boyd R.L. Clinical evolution of the Invisalign appliance. J. Calif. Dent. Assoc. 2002; 30(10): 769-776.

## SUMMARY

### THE EFFECTS OF GRAPE SEED AND CORIANDER OIL ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF ORAL FLUID IN PATIENTS WITH PERIODONTITIS

<sup>2</sup>Nikolaishvili M., <sup>1</sup>Gogua M., <sup>1</sup>Franchuki Q.,  
<sup>1</sup>Tufinashvili T., <sup>1</sup>Zurabashvili D.

<sup>1</sup>David Aghmashenebeli University of Georgia; <sup>2</sup>Biomedicine Centre of I. Beritashvili, Tbilisi, Georgia

Biochemical changes that are taking place in patients with periodontitis 1 and 2 the quality of the individuals place in a laqtatdegidrogenazis, alkaline phosphatase activity increase and reduced activity amilazais. Therefore we can conclude that, there is an increase in superoxide substances, which causes an increase in the oral cavity patobakteriebis and quality of periodontitis. The grape seed and coriander oil is of vegetable origin and antioxidant drugs. Their action causes a statistically significant increase in the amilazis, alkaline phosphatase and laqtatdegidrogenazis reduction, while the latter leads pH - rate of return to oral fluid. It should be noted that the positive effect of coriander oil, but less effective.

**Keywords:** grape seed oil, coriander oil, periodontitis.

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ МАСЛА КОСТОЧЕК ВИНОГРАДА И КОРИАНДРА НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ БОЛЬНЫХ ПАРОДОНТИТОМ

<sup>2</sup>Николаишвили М.И., <sup>1</sup>Гогоуа М.Г., <sup>1</sup>Франчуки К.Р.,  
<sup>1</sup>Тупинашвили Т.Н., <sup>1</sup>Зурабашвили Д.З.

<sup>1</sup>Университет им. Давида Агмашенебели, Стоматологическая клиника; <sup>2</sup>Центр экспериментальной биомедицины им. И. Бериташвили, Тбилиси, Грузия

Известно, что ЛДГ является индикатором анаэробных процессов в тканях ротовой полости и косвенно определяет предрасположенность ткани к окислительному стрессу и развитию процессов пародонтита, а ЩФ отражает процессы повреждения слизистой оболочки ротовой полости.

Целью исследования явилось изучение эффективности действия аппликаций масла косточек винограда сорта ркацителли и кориандра на пародонт.

Апликация маслом косточек винограда сорта ркацителли, обладающего антиоксидантным действием, значительно улучшает биохимические показатели ротовой жидкости у больных пародонтитом с различной степенью тяжести основного заболевания: происходит рост активности амилазы на фоне снижения активности щелочной фосфатазы и незначительно меняющейся активности лактатдегидрогеназы.

Выявлено нейтральное или слабощелочное значение pH (pH=6,8-7,2) у больных пародонтитом различной степени тяжести. Апликация маслом кориандра также вызывает положительные процессы у больных пародонтитом, однако в меньшей степени, чем масло косточек винограда.

## რეზიუმე

ეურძნის წიპწის და ქინძის ზეთების ზემოქმედება პირის ღრუს სითხის ბიოქიმიურ მაჩვენებლებზე პარადონტიტით ავადმყოფებში

<sup>2</sup>მ. ნიკოლაიშვილი, <sup>1</sup>მ. გოგუა, <sup>1</sup>ქ. ფრანჩუკი,  
<sup>1</sup>ტ. ტუპინაშვილი, <sup>1</sup>დ. ზურაბაშვილი

<sup>1</sup>დავით აღმაშენებლის უნივერსიტეტი, სტომატოლოგიური კლინიკა; <sup>2</sup>ი. ბერიტაშვილის სახ. ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრი, თბილისი, საქართველო

I და II ხარისხის სიმძიმის პარადონტიტით ავადმყოფებში განვითარებულ ბიოქიმიურ ცვლილებათა შორის ადგილი აქვს ლაქტატდეჰიდროგენაზის რაოდენობის მატებას, ტუტე ფოსფატაზის აქტივობის ზრდას და ამილაზის აქტივობის დაქვეითებას. აქედან გამომდინარე, სავარაუდოა ზეჟანგური ნივთიერებების მატება, რაც იწვევს პირის ღრუში პათობაქტერიების და პარადონტიტის სიმძიმის გაზრდას.

ეურძნის წიპწის და ქინძის ზეთი მცენარეული წარმოშობის პრეპარატებია ანტიოქსიდანტური მოქმედებით. მათი ზემოქმედება პირის ღრუზე იწვევს სტატისტიკურად სარწმუნოდ ამილაზის მატებას და ტუტე-ფოსფატაზის და ლაქტატდეჰიდროგენაზის შემცირებას, რაც, ასევე, იწვევს პირის ღრუს pH-ის ნორმალიზებას. აღსანიშნავია, რომ ქინძის ზეთით აპლიკაცია ნაკლებად ეფექტურია.

## DISCREPANCY BETWEEN HCV STRUCTURAL AND NON STRUCTURAL GENES IN GEORGIAN GENOTYPE TWO PATIENTS

<sup>1,2</sup>Tsertsvadze T., <sup>1</sup>Karchava M., <sup>1,2</sup>Sharvadze L., <sup>1</sup>Gatserelia L., <sup>1</sup>Dolmazashvili E.

<sup>1</sup>*Infectious Diseases, AIDS and Clinical Immunology Research Center,*

<sup>2</sup>*I. Javakhishvili Tbilisi State University, Tbilisi, Georgia*

Current estimates suggest that ~180 million people are infected with the hepatitis C virus (HCV) worldwide, with the highest prevalence rates reported in Africa and Asia [15].

According to the World Health Organization (WHO), as many as four million new infections occur annually and more than 350 000 individuals die from HCV related liver diseases each year [15].

Novel drugs known as direct-acting antiviral (DAAs) with or without PEG/RBV combination revolutionized chronic HCV treatment approach by dramatically increasing SVR rates, also providing shortened and simplified regimens while minimizing treatment-related side effects [8,9]. The SVR rates of new DAA reached almost 100% based on different regimens, duration and population treated [1].

Despite development of highly potent pan genotyping regimens, DAA affordability remains a challenge in developing countries due to the pricing policy. Therefore, dual therapy with PEG/RBV will remain the standard of care in most developing countries including Georgia unless the price policy changes.

In both scenarios, accurate HCV genotyping is an important tool, which is based on the polymerase chain reaction technology.

For genotype identification most conserved regions of either structural Core/5'UTR or non structural NS5B regions with specific primers are used. The structural Core/5'UTR region sometimes does not allow sufficient discrimination between closely related genotypes and subtypes [3].

The standard method which is currently used in most laboratories among European countries is Versant HCV Genotype v2. Kit (Siemens, Ghent, Belgium) [2]. After amplification with specific primers, PCR products are immobilized to the nitrocellulose strip, which results in a visible banding pattern. HCV genotyping results are then interpreted using manufacturer's protocol and specific banding patterns, which is unique for each genotype. Other methods are based on either real time PCR technology or sequencing NS5B regions.

Most laboratories use one of the methods for genotyping. However, based on the scientific reports, use of two different methods, while one method cannot clearly differentiate

subtypes improves genotyping accuracy and reproducibility of the laboratory.

Versant HCV Genotype v2 Kit (Siemens, Ghent, Belgium) is successfully used in our laboratory since 2003. During last decade, our laboratory genotyped more than 3000 samples using this technology. However, alternative approaches were used in several occasions, were subtypes were not clearly identified.

The purpose of our study is to test performance and validity two methods for HCV genotyping. As an alternative methods we have selected real time PCR based method for HCV genotyping among specimens already typed as genotype 1, 2, and 3.

**Material and methods.** Infectious Diseases, AIDS and Clinical Immunology Research Center (IDACIRC) is Georgia's leading institution for diagnosis, treatment and care of infectious diseases, including viral hepatitis. IDACIRC is the country's largest provider of medical services related to HCV infection. Overall, IDACIRC database contained specimens from 2200 HCV infected patients genotyped from 2003 to 2011 in Georgia. Based on the database genotype 1 is predominant (42%) over genotypes 3 (32.9%) and 2 (24.9%) in our specimen repository. Genotype 4 was found among 3 patients (0.13%), while other known genotypes are not identified.

As a leading institution, it is permanently improving its laboratory potential. As part of the laboratory service improving scheme, we have initiated retrospective analyses of stored samples by real time PCR based method for HCV genotyping.

We have retrospectively tested leftover 117 samples of total 2200 samples stored at the depository of Clinical Virology and Molecular Medicine of IDACIRC. We have selected remnant specimens with the intention to have genotype proportion of 1, 2 and 3 resembling the total genotype distribution in the database (e.i genotype 1-42%, genotypes 3 -32.9% and 2 -24.9%). Criteria for selection were information availability on each sample in the database and/or medical charts, followed by detectable HCV viral load and HCV genotypes for each sample. Additional criteria were the availability of enough serum volumes of 1 ml for enough RNA extraction with further PCR amplification. We have selected 50% of the total specimen meeting all

selection criteria. IRB approval was received from local IRB office at IDACIRC.

As part of the project, we selected NS5B “in house developed” method [12] as an alternative to routine genotyping, which was Versant HCV Genotype v2. (Siemens, Ghent, Belgium).

Versant HCV Genotype v2 kit is designed for use in reverse transcription and amplification of 240 and 270 base pairs from 5' UTR/core region. After amplification, PCR products are immobilized to the nitrocellulose strip, which results in a visible banding pattern. HCV genotyping results are then interpreted using the manufacturer's protocol.

NS5B “in house developed” method is a simple real time PCR method for simultaneous identification of 4 different HCV genotypes (1a, 1b, 2, 3, 4) [12]. This method showed 100% concordance between results of real time PCR and phylogenetic analyses and/or blast search.

The method consists of two triplex reactions targeting genotypes 1, 2 and 3. All these reactions are carried in single reaction tubes. Reaction tubes are then subjected to the thermal condition and later real time PCR Reaction mixed with HCV extracted RNA was distributed on a MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate (Applied Biosystems, Foster City, California, United States) and the PCR reactions were done in a 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Fluorescence curves were analyzed with 7500 Sequence Detection Software v2.1 (Applied Biosystems).

Standard IDACIRC protocol includes the collection of patient demographic, behavioral, and clinical characteristics.

We used patient records and database to determine patients' sex, routes of HCV transmission. Clinical characteristics measured included baseline HCV viral load, receiving HCV treatment and treatment outcomes.

Data were abstracted from the patient's medical records and IDACIRC database. Data was entered into an electronic database. We used the chi-square or Fisher's exact to compare differences in categorical exposure and covariates. Two-sided statistical tests with p-values <0.05 were considered statistically significant throughout analyses.

**Results and their discussion.** Total 117 HCV specimens were selected for the analyses. We were able to successfully perform NS5B region real time PCR analyzes among 108 specimen, therefore, remaining samples were excluded for analyses. Of total 108 specimen, 48 (44.4%) was genotype 1, 25 (23.1%) genotype 2 and 35 (32.4%) genotype 3 as per baseline 5'UTR/Core reports.

The majority of these patients were male 80% and all were of white race and European ancestry. Based on the information available in medical charts probable sources of HCV acquisition were IDU in 72 (66.7%) patients, sexual contact - 7 (6.4%), and blood transfusion - 5 (4.6%) patients. The mode of HCV transmission could not be determined in 24 (22.2%) patients. None of study patients were co-infected with HIV or hepatitis B virus (Table).

Based on the HCV structural and non structural region comparison, no genotype discordances were found among samples with genotype 1. However, among genotype 3 samples, one sample showed double signal, which could be interpreted as possible infection with genotype 1 and 3 simultaneously, based on NS5B assay interpretations.

Table. Characteristics of study specimens

Characteristics	All patients (n=108)	Genotype 1 (n=48)	Genotype 2 (n=25)	Genotype 3 (n=35)	P
Male, n (%)	86 (80.0%)	35 (72.9%)	20 (80.0%)	31 (88.5%)	0.8
Female n (%)	22 (20.0%)	13 (27.0%)	5 (20.0%)	4 (11.4%)	
<b>Possible route of HCV acquisition</b>					
IDU	72 (66.7%)	35 (72.9%)	15 (60.0%)	22 (62.8%)	0.92
Sexual transmission	7 (6.4%)	4 (8.3%)	0	3 (8.5%)	
Blood transfusion	5 (4.6%)	2 (4.1%)	2 (8.0%)	1 (5.7%)	
Unknown	24 (22.2%)	7 (14.3%)	8 (32%)	9 (25.7%)	
<b>Baseline HCV viral load</b>					
>600 000 IU/ml, n (%)	65 (60.0%)	25 (52.0%)	17 (68.0%)	23 (65.7%)	0.12
<600 000 IU/ml, n (%)	43 (40.0%)	23 (47.9%)	8 (32.0%)	12 (34.2%)	
<b>Treatment received</b>	30 (27.7%)	11 (36.6%)	10 (33.3%)	9 (30%)	0.34
<b>Treatment not received</b>	78 (72%)	37(77%)	15(60%)	26 (74%)	
<b>SVR</b>	16 (53.3%)	5 (45.5%)	5 (50%)	6 (66.7%)	0.7
<b>non-SVR</b>	14(46.6%)	6(54.6)	5 (50%)	3 (33.3%)	

High discrepancy rate was evident among genotype two group. Based on the 5'UTR/Core region, those samples were genotype 2 with or without subtype discrimination, while fluorescent signal detected matched channels specific for genotype 1b. Ct values for these discrepant signals were detected between cts of 23-28. Of 25 sample originally typed as genotype 2, 18 (72%) were considered genotype 1b as specific channel signal interpretation.

We report results of retrospective analyzes HCV specimens stored at Georgia's leading institution. To our knowledge it is the first study to report such a high discrepant genotyping calls between structural and non structural regions.

High discrepancy rates identified among genotype two samples could be due to recombination form among HCV genotype two and genotype one. Recombination event was first reported in Saint Petersburg in 2002 and this form later fully sequenced was called as RF 2k/1b [6].

This recombinant form was shortly identified among patients in Ireland [10], France [11], Cyprus [4], Estonia [13] and Uzbekistan [7]. However, the prevalence rates reported was mostly extremely low even in highly exposed settings [14]. The most striking event is that majority of the patients infected with this strain happened to be ethnic Georgian drug users residing abroad [4,11].

Extremely limited information is available on the effect of this form on standard and DAA therapy outcome. As genotyping is mostly done using 5'UTR/core region, and therefore these forms are considered to be genotype two, patients infected with such strain most likely receive insufficient therapy resulting SVR rates similar to genotype one. As the study results on DAA therapy among recombination forms suggests, recombinant form 2/1 behaved like a difficult to treat genotype one and should be considered for more aggressive treatment therapy options designed for genotype one [5].

Our findings stress the need for further detailed studies, which would characterize HCV sequences phylogenetically to establish similarities of this strain against reported RF 2k/1b forms. Detailed study of this discrepancy will facilitate not only understanding the sequence divergence, but also shed light to the low SVR rates among genotype two patients in Georgia.

## REFERENCES

1. Afdhal N., Zeuzem S., Kwo P., Chojkier M., Gitlin N., Puoti M., Marcellin P. Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2014; 370(20): 1889-1898.
2. Bouchardeau F., Cantaloube J.F., Chevaliez S., Portal C., Razer A., Lefrere J.J., Laperche S. Improvement of hepatitis C virus (HCV) genotype determination with the new version of the INNO-LiPA HCV assay. *J Clin Microbiol.* 2007; 45(4): 1140-1145.
3. Cai Q., Zhao Z., Liu Y., Shao X., Gao Z. Comparison of three different HCV genotyping methods: core, NS5B sequence analysis

and line probe assay. *Int J Mol Med.* 2013; 31(2): 347-352.

4. Demetriou V.L., Kyriakou E., Kostrikis L.G. Near-full genome characterisation of two natural intergenotypic 2k/1b recombinant hepatitis C virus isolates. *Adv Virol.* 2011; 7(10):4-38.
5. Hedskog C., Doehle B., Chodavarapu K., Gontcharova V., Crespo Garcia J., De Knegt R., Mo H. Characterization of hepatitis C virus inter-genotypic recombinant strains and associated virologic response to sofosbuvir/ribavirin. *Hepatology* 2014; doi: 10.1002/hep.27361.
6. Kalinina O., Norder H., Mukomolov S., Magnus L.O. A natural intergenotypic recombinant of hepatitis C virus identified in St. Petersburg. *J Virol.* 2002; 76(8): 4034-4043.
7. Kurbanov F., Tanaka Y., Avazova D., Khan A., Sugauchi F., Kan N., Mizokami M. Detection of hepatitis C virus natural recombinant RF1\_2k/1b strain among intravenous drug users in Uzbekistan. *Hepato Res.* 2008; 38(5), 457-464.
8. Lawitz E., Mangia A., Wyles D., Rodriguez-Torres M., Hasmann T., Gordon S.C., Gane E.J. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med.* 2013; 368(20): 1878-1887.
9. Lawitz E., Poordad F.F., Pang P.S., Hyland R.H., Ding X., Mo H., Membreno F.E. Sofosbuvir and ledipasvir fixed-dose combination with and without ribavirin in treatment-naive and previously treated patients with genotype 1 hepatitis C virus infection (LONESTAR): an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet* 2014; 383(9916): 515-523.
10. Moreau I., Hegarty S., Levis J., Sheehy P., Crosbie O., Kenny-Walsh E., Fanning L.J. Serendipitous identification of natural intergenotypic recombinants of hepatitis C in Ireland. *Virology* 2006; 3: 95.
11. Morel V., Descamps V., Francois C., Fournier C., Brochet E., Capron D., Castelain S. Emergence of a genomic variant of the recombinant 2k/1b strain during a mixed Hepatitis C infection: a case report. *J Clin Virol.* 2010; 47(4): 382-386.
12. Nakatani S.M., Santos C.A., Riediger I.N., Krieger M.A., Duarte C.A., Lacerda M.A., Ono-Nita S.K. Development of hepatitis C virus genotyping by real-time PCR based on the NS5B region. *PLoS One* 2010; 5(4): 10150.
13. Tallo T., Norder H., Tefanova V., Krispin T., Schmidt J., Ilmoja M., Magnus L.O. Genetic characterization of hepatitis C virus strains in Estonia: fluctuations in the predominating subtype with time. *J Med Virol.* 2007; 79(4): 374-382.
14. Viazov S., Ross S.S., Kyuregyan K.K., Timm J., Neumann-Haefelin C., Isaeva O.V., Roggendorf M. Hepatitis C virus recombinants are rare even among intravenous drug users. *J Med Virol.* 2010; 82(2): 232-238.
15. WHO. Hepatitis C fact sheet. 2013.

## SUMMARY

### DISCREPANCY BETWEEN HCV STRUCTURAL AND NON STRUCTURAL GENES IN GEORGIAN GENOTYPE TWO PATIENTS

<sup>1,2</sup>Tsertsvadze T., <sup>1</sup>Karchava M., <sup>1,2</sup>Sharvadze L., <sup>1</sup>Gatsserelia L., <sup>1</sup>Dolmazashvili E.

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

Correct identification of hepatitis C genotypes is an important diagnostic tool, which guarantees further selection

of adequate treatment regimen and correct duration. Ideal approach for accurate genotyping is amplification of both structural and non structural parts of HCV genome. As different methods, which use either one or another region for HCV genotyping sometimes lead to indeterminate genotype and subtype results. Therefore, it is of importance to compare HCV genotyping results based on two different genomic regions.

As part of this study, remnant 108 specimens, with previous history of successful genotype identification by 5'UTR/core Versant HCV genotyping kit, were retrospectively analyzed. "In house" HCV real time PCR based method that amplifies parts of NS5B region was used for this purpose.

Based on our data, genotyping calls were concordant between genotype one and genotype three specimens group in both regions. However, discrepancy was evident among genotype 2 group. Of 25 specimens originally typed as genotype 2 in structural region, only 7 was confirmed in non structural region, remaining 18 specimens were typed as 1b. Therefore, the discordance rate between structural and non structural regions for genotyping call among genotype two was 72%.

Our data showed highly discordant structural and non structural genome for genotype two identification in our specimens. We propose that this phenomenon might be due to the recombination event between genotype two and genotype one. Possible circulation of this strain in Georgia stresses the need for detailed sequencing and phylogenetic analyses of these specimens in both structural and non structural parts of HCV genome.

**Keywords:** Hepatitis C genotypes, recombinant forms, genome, Georgia, Eastern Europe.

## РЕЗЮМЕ

### НЕСОГЛАСОВАННОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ МЕЖДУ СТРУКТУРНЫМИ И НЕСТРУКТУРНЫМИ ОБЛАСТЯМИ ДЛЯ ГЕНОТИПА 2

<sup>1,2</sup>Церцвадзе Т.Н., <sup>1,2</sup>Карчава М.К., <sup>1,2</sup>Шарвадзе Л.Г.,  
<sup>1,2</sup>Гацерелия Л.В., <sup>1</sup>Долмазашвили Е.Р.

<sup>1</sup>Центр инфекционных заболеваний, СПИДа и клинической иммунологии; <sup>2</sup> Тбилисский государственный университет им. И. Джавахашвили, Тбилиси, Грузия

Точная идентификация генотипа вируса гепатита С является значимым диагностическим инструментом, который определяет дальнейший выбор адекватной схемы и длительность терапии. Идеальным подходом для точного генотипирования является амплификация

структурных и неструктурных частей генома вируса гепатита С.

Применение различных методов, которые для генотипирования используют только один регион вируса гепатита С иногда приводит к неопределенному результату. Поэтому важно сравнивать результаты генотипирования на основе двух различных частей генома.

В рамках исследования ретроспективно проанализированы 108 образцов, которые ранее были успешно генотипированы посредством метода генотипирования Versant HCV genotyping. С этой целью применяли «in house» метод полимеразной цепной реакции в реальном времени, который использует неструктурный регион для амплификации генома гепатита С.

На основании полученных в результате исследования данных, результаты генотипирования совпадают между группами, содержащими образцы генотипов 1 и 3. Результаты не совпадают в группе, содержащей образцы генотипа 2. Из 25 образцов, на основе структурной области изначально идентифицированных как генотип 2, результаты на основе неструктурной области подтверждены в 7 случаях. Остальные 18 были идентифицированы как генотип 1b. Таким образом, показатель несогласованности результатов генотипирования между структурными и неструктурными областями для генотипа 2 составил 72%.

Полученные в результате исследования данные выявили высокую степень несогласованности результатов генотипирования между структурными и неструктурными областями для генотипа 2. Считаем, что этот феномен может быть связан с рекомбинацией вируса между генотипами 2 и 1. Возможная циркуляция этого штамма в Грузии подчеркивает необходимость детального секвенирования и филогенетического анализа этих образцов в обеих структурных и неструктурных частях генома гепатита С.

## რეზიუმე

სტრუქტურულ და არასტრუქტურულ გენებს შორის სხვაობა C ჰეპატიტის ვირუსის მეორე გენოტიპით ინფიცირებულ პაციენტებში

<sup>1,2</sup>თ. ცერცვაძე, <sup>1</sup>მ. ქარჩავა, <sup>1,2</sup>ლ. შარვაძე,  
<sup>1</sup>ლ. გაწერელია, <sup>1</sup>ე. დოღმაზაშვილი

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

C ჰეპატიტის გენოტიპების მდლადი სიზუსტით დადგენა მნიშვნელოვანია როგორც მკურნალობის

გამოსავლის პროგნოზირების, ასევე, სწორი ანტი-ვირუსული მკურნალობის რეჟიმის შერჩევისათვის და, შესაბამისად, მკურნალობის ადეკვატური გამოსავლის მიღების მიზნით.

C ჰეპატიტის გენოტიპების დასადგენად იდეალური მიდგომა მისი როგორც სტრუქტურული, ასევე, არასტრუქტურული გენების შესწავლაა, რადგანაც, იშვიათად, მაგრამ მაინც აღინიშნება ამ ორ ფართოდ გამოყენებად უბნებს შორის სხვაობა გენოტიპების იდენტიფიცირების კუთხით. კვლევის მიზანია ამ ორი უბნის შედარება C ჰეპატიტის უფრო ზუსტი გენოტიპირებისათვის. რეტროსპექტული კვლევის ფარგლებში გამოყენებულია 108 პაციენტის სისხლის ნიმუში. კვლევისთვის შერჩეული იყო იმ პაციენტთა მასალა, რომელშიც ჩატარებული იყო C ჰეპატიტის გენოტიპირება სტრუქტურული გენის ამპლიფიკაციაზე დაფუძნებული Versant HCV genotyping მეთოდის მეშ-

ვეობით. კვლევის პროცესში განმეორებით გაკეთდა გენოტიპირება, ამჯერად, არასტრუქტურულ გენების ამპლიფიკაციაზე დაფუძნებული მეთოდის გამოყენებით. ორი სხვადასხვა უბნის ამპლიფიკაციის მონაცემებზე დაყრდნობით გამოტანილია დასკვნა, რომ მეორე გენოტიპის შემთხვევაში მიღებულია 72%-იანი განსხვავება გენოტიპირების დადგენის კუთხით. ამ სხვაობის საფუძველზე სავარაუდოა, რომ მეორე გენოტიპების უმრავლესობა წარმოადგენს რეკომბინანტულ ვირუსს, რომლის სტრუქტურული ნაწილი მეორე გენოტიპია, ხოლო არასტრუქტურული - პირველი გენოტიპი.

საკვლევ მასალაში აღმოჩენილი განსხვავება იძლევა ვარაუდის საფუძველს რეკომბინანტული ფორმების არსებობის შესახებ. კვლევის შედეგები წარმოშობს ამ ნიმუშების დეტალური კვლევის აუცილებლობას სექვენირებით და ღრმა ფილოგენეზური ანალიზით.

## EPIGENETIC REGULATION OF ACUTE INFLAMMATORY PAIN

<sup>1</sup>Abzianidze E., <sup>2</sup>Kvaratskhelia E., <sup>1</sup>Tkemaladze T., <sup>1</sup>Kankava K., <sup>3</sup>Gurtskaia G., <sup>3</sup>Tsagareli M.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, Department of Molecular and Medical Genetics;  
<sup>2</sup>Bakhtashvili Institute of Medical Biotechnology; <sup>3</sup>I. Beritashvili Center of Experimental Biomedicine,  
Department of Pain and Analgesia, Tbilisi, Georgia

Acute pain is associated with tissue damage, which results in the release of inflammatory mediators including prostanoids, cytokines (TNF $\alpha$  and IL-1 $\beta$ ), histamine or substance P. The source of these mediators is both resident cells (including mast cells, dendritic cells, and resident macrophages) and recruited cells (circulating macrophages, neutrophils, and T cells) [10]. Many of these mediators can act on the nociceptive endings at the site of injury to increase their excitability [6]. Inflammatory irritants applied to the tissues also have analogous actions, e.g. capsaicin acts on transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 1 (TRPV1) and mustard oil on transient receptor potential cation channel, subfamily A, member 1 (TRPA1) ion channels. Capsaicin application to facial skin or cornea acts through TRP receptors to activate nociceptive trigeminal afferents, and elicit nociceptive behavior that includes mechanical allodynia or thermal hyperalgesia [2]. Recent studies indicate on to the involvement of epigenetic mechanisms both in the development and maintenance of pain states [1]. DNA methylation, histone modifications and non-coding RNAs are three well studied epigenetic

mechanisms. Although a link between injury and epigenetically-induced cytokine production is supported by several experiments [3,4], little is known about the contribution of DNA methyltransferases and other epigenetic modifiers in acute pain mechanism.

Non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are widely used for the prevention and treatment of chronic inflammation and various musculoskeletal disorders. The inhibitory effect of NSAIDs on the cyclooxygenase-2 (COX-2) resulting in modulation of inflammation and immune response, induction of cell apoptosis, and inhibition of angiogenesis, have been suggested as the anti-inflammatory effects [7,8]. Recent study has shown that NSAIDs have suppressive role against methylation-related gastric carcinogenesis through inhibition of CpG island methylation of DAP-kinase gene [9]. Based on previous studies it has been speculated that the NSAIDs might influence DNA methylation status. To test this opinion and generally investigate the role of epigenetic effects in pain, trigeminal neuralgia model was chosen – rats with induced acute inflammatory pain. The aim of the present study was to

analyze the changes of a subset of DNA methyltransferases (DNMT1, DNMT3a and DNMT3b) in the trigeminal ganglia (TG) neurons with and without preliminary intraperitoneal injection of NSAID Xefocam (Lornoxicam (Nikomedi)) in acute pain rat model.

**Materials and methods.** The experiments were carried out on adult male rats. The animals were kept under standard housing conditions and were fed by standard dry diet. All animal studies were in accordance with the Guidelines of International Association for the Study of Pain regarding investigations.

Four month aged rats were divided into three groups (6 rats in each group). First group – control group was treated by application of saline as vehicle on their tongues. 10% mustard oil (Sigma-Aldrich, USA) was applied on the tongues of the group two rats to induce acute inflammatory pain. Mustard oil was chosen because of being a well-known agent for induction of acute pain and being easy to be applied for trigeminal neuralgia modeling. The third group rats were injected preliminarily (20 min. prior to induction of pain with 10% mustard oil) with commercially available Xefocam in dose of 0.4 mg/kg. TG was extracted from rats 1 and 2.5 hours after induction of pain. The levels of DNMT1, DNMT3a and DNMT3b were measured in nuclear extracts of TG neurons in every group. Nuclear extracts were prepared using nuclear extraction kit (Abcam). ELISA based DNMTs assay kits (Abcam) were used to measure the amount of DNA-methyltransferases by their optic density (OD) (according to manufacturer protocols). Data from each experiment were expressed as mean  $\pm$ SD and statistically analyzed using Student T-test; a p value <0.05 was considered significant.

**Results and their discussion.** Quantification of DNMTs revealed elevated levels of DNMT3a and 3b both – after 1 hour and 2,5 hours from Mustard oil application. After 1 hour the mean levels of DNMT3a and 3b had increased by 25 and 28% respectively. Much more representative results were seen in longer time frame. After 2,5 hours from pain induction these numbers increased by 36 and 42 % respectively ( $p=2.66 \times 10^{-4}$  for DNMT3a,  $p=0.29 \times 10^{-4}$  for DNMT3b), whereas the level of DNMT1 was not changed significantly ( $p=755 \times 10^{-4}$ ) – it increased by 15% only.

Previous injection of Xefocam with 0,4 mg/kg dose markedly decreased levels of DNMT3a and 3b (25 and 24% respectively) compared to the mustard oil application without any pretreatment ( $p=6.61 \times 10^{-4}$  for DNMT3a,  $p=0.564 \times 10^{-4}$  for DNMT3b). The level of DNMT1 was not changed significantly ( $p=7606 \times 10^{-4}$ ) (Table, Fig.).

Xefocam dose of 0.2mg/kg was also tested for same effect, but results did not show a significant change in mustard oil effect.

### Conclusions

Our data shows that DNA-methylation plays an important role in the development of pain in rat models of trigeminal neuralgia. This effect is realized through alteration of DNA-methyltransferases 3a and 3b levels. DNMT1 doesn't take part in mechanism of mustard oil-induced pain. In addition, NSAIDs, such as Xefocam at dose of 0.4 mg/kg, significantly decreased the levels of DNMTs (DNMT3a and 3b) that are mediating the pain development through methylation pathways.

Table. DNMT levels measured after 2.5 hours from treatment expressed in mean  $\pm$ SD

Groups	DNMT1	DNMT3a	DNMT3b
Control	0.23 $\pm$ 0.014	0.3 $\pm$ 0.02	0.5 $\pm$ 0.02
Mustard oil	0.26 $\pm$ 0.03	0.42 $\pm$ 0.02	0.7 $\pm$ 0.03
Xefocam premedication	0.26 $\pm$ 0.02	0.31 $\pm$ 0.03	0.55 $\pm$ 0.02

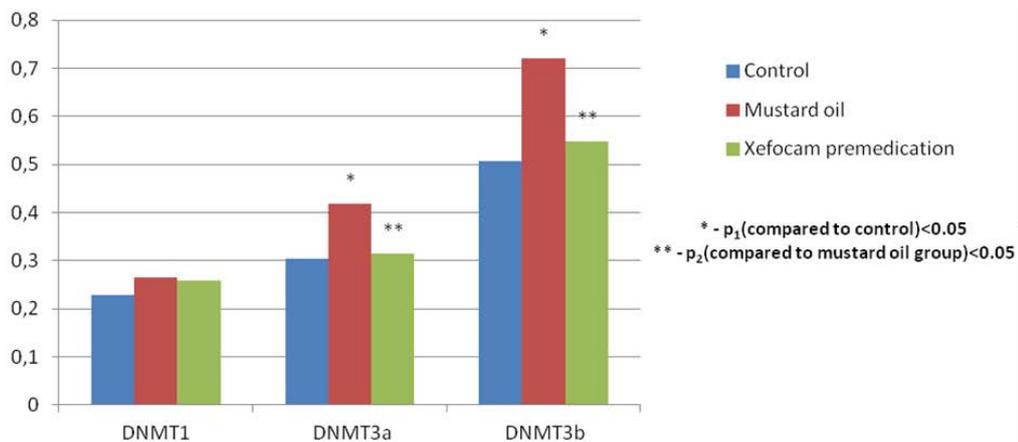


Fig. Levels of DNMT 1, 3a and 3b in OD after 2.5 hours from pain induction in all three groups and with preliminary administration of 0.4 mg/kg Xefocam

This non-uniform pattern of change in level of DNMTs should further be studied to analyze any relevant difference between the actions of these enzymes in correlation with pain. The reasons may lie in already known effects – DNMT3a and 3b are of slower action than DNMT1 and they also contribute to maintenance of methylation, while DNMT1 is mainly involved in de novo methylation [5].

DNMTs contribution to the development of acute pain indicates that the epigenetic mechanism might underlie in development of pain and also in transition from acute to chronic pain. According to this, the analgesic features of DNMT inhibitors should be studied.

NSAIDs besides their well-known action, may also be proposed as possible epigenetic regulatory agents. However, little is known about their contribution in chromatin remodeling or CpG methylation/demethylation and the mechanism of their epigenetic regulatory action is not well understood. NSAIDs may indirectly influence epigenetic mechanisms through altering the activity of inflammatory mediators involved in pain development.

Understanding the epigenetic mechanisms involved in the development of acute inflammatory pain is a fundamental step to find new strategies for pain control. Epigenetic mechanisms can silence the expression of pro- or antinociceptive genes as well as inflammation mediator genes. Our findings support the idea that inhibitors of DNA-methyltransferases that act on the epigenome by remodeling of the chromatin could be useful for combating pain.

DNMT inhibitors in combination with NSAIDs may serve as a new therapy of pain in both acute and maintain phases and this hypothesis should further be investigated.

## REFERENCES

1. Chiechio S., Zammataro M., Morales M., Busceti C., Drago F., Gereau R., Copani A., Nicoletti F. Epigenetic Modulation of mGlu2 Receptors by Histone Deacetylase Inhibitors in the Treatment of Inflammatory Pain. *Mol. Pharmacol.* 2009; 75,1014–1020.
2. Diogenes A., Patwardhan A., Ruparel N., Goffin A., Akopian A., Hargreaves, K.M. Prolactin modulates TRPV1 in female rat trigeminal sensory neurons. *J. Neurosci.*, 2006; 26, 8126–8136.
3. Doehring A., Geisslinger G., Löttsch J. Epigenetics in pain and analgesia: an imminent research field. *Eur J Pain*, 2011; 15(1), 11-16.
4. Fu ES., Zhang YP., Sagen J., Candiotti KA., Morton PD., Liebl DJ., et al. Transgenic inhibition of glial NF-kappa B reduces pain behavior and inflammation after peripheral nerve injury. *Pain* 2010; 148(3), 509–518.
5. Grayson DR., Guidotti A. The Dynamics of DNA Methylation in Schizophrenia and Related Psychiatric Disorders. *Neuropsychopharmacology Reviews* 2013; 38:138–166.
6. Meyer R.A., Ringkamp M., Campbell J.N., Raja S.N. Peripheral mechanisms of cutaneous nociception. In: McMahon, S.B.,

Koltzenburg, M. (Eds.), Wall and Melzack's Textbook of Pain, 5th Edition. Amsterdam: Elsevier; 2006: 3–34.

7. Nozadze I., Tsiklauri N., Gurtskaia G., Abzianidze E., Tsagareli M.G. Opioid Sensitivity of Nucleus Raphe Magnus after Analgesia by Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Georgian Med. News* 2011; 1(190), 50-55.

8. Schnitzer T., Truitt K., Fleischmann R. et al. The safety profile, tolerability and effective dose range of celecoxib in the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Ther.* 1999; 21: 1688–702.

9. Tomomitsu T., Tomoyuki S., Hiromi Y., Masakatsu N., Daisuke Y., Masaaki O., Ichiro H., Tomiyasu A. Chronic nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) use suppresses multiple CpG islands hyper methylation (CIHM) of tumor suppressor genes in the human gastric mucosa. *Cancer Science* 2009; 100: 1192–1197.

10. Verri WA, Jr., Cunha TM, Parada CA, Poole S, Cunha FQ, Ferreira SH. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: targets for analgesic drug development? *Pharmacol. Ther.* 2006; 112: 116–138.

## SUMMARY

### EPIGENETIC REGULATION OF ACUTE INFLAMMATORY PAIN

<sup>1</sup>Abzianidze E., <sup>2</sup>Kvaratskhelia E., <sup>1</sup>Tkemaladze T., <sup>1</sup>Kankava K., <sup>3</sup>Gurtskaia G., <sup>3</sup>Tsagareli M.

<sup>1</sup>Tbilisi State Medical University, Department of Molecular and Medical Genetics; <sup>2</sup>Bakhtashvili Institute of Medical Biotechnology; <sup>3</sup>I. Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Department of Pain and Analgesia, Tbilisi, Georgia

Acute pain is associated with tissue damage, which results in the release of inflammatory mediators. Recent studies point to the involvement of epigenetic mechanisms (DNA methylation) in the development of pain.

We have found that during acute inflammatory pain induced by the application of 10% mustard oil on the tongues of rats, levels of DNMT3a and 3b were elevated markedly (36 and 42 % respectively), whereas the level of DNMT1 was not changed significantly. Previous injection of Xefocam with 0,4 mg/kg dose decreased levels of DNMT3a and 3b (25 and 24% respectively). The level of DNMT1 was not changed significantly compared to the control group.

The findings support the idea that inhibitors of DNA-methyltransferases could be useful for pain management. Our data suggest that NSAIDs (alone or in combination with DNMT inhibitors) may be proposed as possible epigenetic regulatory agents, which may play a role in epigenetic mechanisms indirectly through altering the activity of inflammatory mediators involved in pain development.

**Keywords:** Acute pain, DNA-methyltransferases, pain management.

## РЕЗЮМЕ

### ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОСТРОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ БОЛИ

<sup>1</sup>Абзанидзе Е.В., <sup>2</sup>Кварацхелия Е.Б.,  
<sup>1</sup>Ткемаладзе Т.Т., <sup>1</sup>Канкава К.М., <sup>3</sup>Гуртская Г.П.,  
<sup>3</sup>Цагарели М.Г.

<sup>1</sup>Тбилисский государственный медицинский университет, департамент молекулярной и медицинской генетики; <sup>2</sup>Институт медицинской биотехнологии; <sup>3</sup>Центр экспериментальной биомедицины им. И. Бериташвили, лаборатория боли и анальгезии, Тбилиси, Грузия

Острая боль ассоциируется с повреждением ткани, вследствие чего происходит выделение воспалительных медиаторов. Исследования последних лет выявили участие эпигенетических механизмов (метилование ДНК) в процессе развития боли.

Результаты данного исследования показали, что аппликация 10% горчичного масла на язык вызывает острую боль у крыс, при которой повышается уровень DNMT3a и 3b (36% и 42%, соответственно), тогда как DNMT1 секрета существенно не меняется. При предварительной инъекции ксефокама (0,4 мг/кг) отмечалось значительное снижение уровня DNMT3a и 3b (25% и 24%, соответственно).

Полученные данные подтверждают предположение о том, что ингибиторы ДНК-метилтрансфераз могут быть использованы для купирования боли. Полученные в результате исследования данные указывают на возможное применение нестероидных противовоспалительных препаратов (отдельно или в комбинации с ДНК-метилтрансферазами) как эпигенетических регуляторных агентов, которые могут непрямым образом оказать влияние на эпигенетические механизмы путем изменения активности воспалительных медиаторов, участвующих в развитии острой боли.

## რეზიუმე

მწვავე ანთებითი ტკივილის ეპიგენეტიკური რეგულაცია

<sup>1</sup>ე. აბზანიძე, <sup>2</sup>ე. კვარაცხელია, <sup>1</sup>თ. ტყემალაძე,  
<sup>1</sup>ქ. კანკავა, <sup>3</sup>გ. ლურჯაია, <sup>3</sup>მ. ცაგარელი

<sup>1</sup>თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, მოლეკულური და სამედიცინო გენეტიკის დეპარტამენტი; <sup>2</sup>სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი; <sup>3</sup>ივ. ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრი, ტკივილისა და ანალგეზიის ლაბორატორია, თბილისი, საქართველო

მწვავე ტკივილი ასოცირებულია ქსოვილის დაზიანებასთან, რომლის შედეგადაც გამოიყოფა ანთებითი მედიატორები. უკანასკნელ წლებში ჩატარებული კვლევები მიუთითებს ეპიგენეტიკური მექანიზმების (დნმ-ის მეთილირება), მონაწილეობაზე ტკივილის განვითარებაში.

კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ ვირთავების ენაზე 10%-იანი მდოვვის ზეთის აპლიკაციით გამოწვეული მწვავე ტკივილის დროს DNMT3a და 3b დონე მომატებულია (36% და 42%, შესაბამისად), DNMT1 სეკრეცია მნიშვნელოვნად არ იცვლება. ქსეფოკამის (0.4 მგ/კგ) წინასწარი შეყვანა აქვეითებს DNMT3a და 3b რაოდენობას (25% და 24%, შესაბამისად).

მიღებული მონაცემები ადასტურებს მოსაზრებას, რომ დნმ-მეთილტრანსფერაზას ინჰიბირება შესაძლებელია იწვევდეს ტკივილის კუპირებას. ამდენად, სავარაუდოა, რომ ანთების საწინააღმდეგო არასტეროიდული საშუალებები (ცალკე, ან დნმ-მეთილირების ინჰიბიტორებთან კომბინაციაში), როგორც მარეგულირებელი აგენტები მოქმედებენ ეპიგენეტიკურ მექანიზმებზე ტკივილის პროცესში მონაწილე ანთებითი მედიატორების აქტივობის ცვლილების გზით.

## EVALUATION AND IMPLEMENTATION OF QUALITY STANDARDS TO ENSURE RELEVANT MEDICAL CARE IN THE SYSTEM OF MILITARY MEDICAL SERVICES OF ARMENIA

**Khachatryan R.**

*Yerevan State Medical University after M. Heratsi, Armenia*

Military Health System of Armenia (MHSA) is responsible for providing health care to active duty, reserve, and retired military personal and their dependents. It is a system that includes medical services, health care delivery system, public health activities, medical education, training and research to promote quality in military health system. There are a number of published empirical studies that examine the definition of quality in the context of medical care [1-4,9,12,16,17]. A. Donabedian based on suggestions by R. Lee and L. Jones [17], defines the quality as a reflection of values and goals current in the medical care system and in the larger society of which it is a part [12]. M. Klein et al.'s assumption that patient care is not a unitary conception is still relevant; it is difficult if not impossible to find a single comprehensive criterion by which to measure the quality of patient care [16, 17]. According to A. Donabedian the assessment of quality rests on a conceptual and operationalized definition of what the quality of medical care means [12]. E. A. Abumuslimova describes a quality of medical care as a degree of conformity of medical technologies to exact criteria and standards; a group of the characteristics that determine conformity of expected medical aid to modern level of medical science and technology, available to requirements of the patient [9]. Which of possible criteria are selected to define quality will have profound influence on the approaches and methods one employs in the assessment of medical care [12]. The Military Health System of USA has embraced the Institute of Medicine (IOM) definition of quality as "the degree to which health care services for individuals and populations increase the likelihood of desired health outcomes and are consistent with current professional knowledge." [14]. The IOM outlined six aims for improving the delivery of health care: "safe, effective, patient-centered, timely, efficient and equitable." [15]. In the USA all Department of Defense (DoD) policies and implementation guidance regarding health care quality are based on these six parameters and further elaborated in DoD Instruction and Manual 6025.13. [11,13]. Subject matter experts in USA conducted a review of documents addressing the quality of care in the Military Health System and found that the MHS in US provides good quality care that is safe and timely. However, the MHS demonstrates wide performance variability with some areas better than civilian counterparts and other areas below national benchmarks [19].

It was the goal of this review to determine if the MHS of Armenia meets benchmarks for health care quality; to provide military medical officials for quality with relevant information to create an adequate environment for all the quality improvement initiatives being undertaken at the

medical care level; to design and implement effective interventions to make informed strategic choices and promote quality and a culture of safety in military health care system in Armenia.

Both general (dialectic and systematic) and specific (logical, comparative, experimental, organizational-structural etc.) scientifically substantiated and practically applied scientific methods were the basis of scientific investigation. It's possible to solve the set problems by applying the aforementioned methods. The following methods were used to conduct the research: statistical, historical-descriptive, sociological, expert assessment, retrospective and prospective analysis. Documents addressing the quality of care in the MHS of Armenia were reviewed.

Under contemporary conditions, the extent of the compliance of medical care quality to the set standards and guidelines of quality is taken into consideration when assessing the quality of medical care, which is not possible to use thoroughly in case of Armenia, as the components of the quality of the medical care are not standardized clearly and consequently the definition of quality under such conditions is a rather complicated issue.

It's undeniable that subjectivism dominates in the absence or inadequacy of guidelines or in the process of quality assessment in medical care, as it starts and finishes with the formation of a doctor-expert's subjective opinion. The doctor-expert's subjective opinion on quality is not denied for the simple reason that both the buyer (customer) of medical care and services and the consumer (visitor) just don't have any opportunity to control, moreover to assess them.

Nevertheless, being aware of Article 38 of the Armenian Constitution, Articles 129 and 130 of Criminal Code, Articles 17 and 162 of Civil Code, the citizen can call upon the court to receive statutory compensation for the damage caused to his/her health and life because of a doctor's illegal actions (Armenian Constitution, RA Criminal Code, RA Civil Code) [5]. In this case, a problem arises with the legal assessment of the quality of the medical care.

Based on the aforementioned, it's possible to agree with the viewpoint that "quality of medical care" has not only medical, but also organizational and functional significance (Alexandrov O. Y., Khalfin R.A., 2010) [1]:

It should be noted that the court bodies having no opportunity to assess the quality of the medical care substantially,

judge based on the data received as a result of a doctor's documented activities (Antonova G.A., Starchenki A.A., Furkalyuk M.Y. etc, 2007 (in Russian)) [2]. In this case, such concepts are used, as "properness" and "improperness" in assessing the quality of medical care. From the legal viewpoint, a doctor's proper behavior implies compliance of the extent and level of the medical care provided in case of a particular disease to the requirements of up-to-date medicine and common concepts about quality taking into consideration the patient's individual features and the facilities of the particular medical establishment. Improperness is demonstrated in negligent and non-contentious attitude of a person performing his/her obligation to provide medical care.

It should be mentioned that the assessment of a medical worker's actions as proper (improper) performance of professional obligations should be based on important principles, i.e. a medical worker's actions should be compliant with

- laws,
- bylaws legally regulating medical activities (in the military medical system including also the guidelines set for medical safety of medical care of military service),
- requirements posed to medical care and services (the posed requirements are assessed individually for each case taking into consideration the peculiarities of the patient's state, disease progress, conditions of providing medical care etc.). Individual approach to the requirements posed to medical care and services and the need to specify each case is particularly valued in the medical care of the armed forces.

Medical checkup, disease prevention and sanitary-hygienic measures have definite special roles to ensure the proper level of the fighting efficiency of the armed forces of the Republic of Armenia, which account for the bases of the medical care of the armed forces. The medical control over the living conditions of the military staff includes examination, assessment and forecasting of military servicemen's health based on the analysis of in-depth medical checkup of the military servicemen, medical checkup of all servicemen, daily medical control during military service and household, regular and dynamic medical checkup, assessment of adherence to the sanitary standards in the objects designed for food, housing, water supply, bath and laundry. The analyses of examinations and findings of the surveys carried out particularly among hospital doctors and military establishments and their patients enable concluding that some problems exist subject to be solved in the assessment of the effectiveness of military medical workers' functions, while their overcoming will serve as a firm and reliable basis for the increase in the fighting efficiency of the Armenian army and such an important aspect as ensuring military servicemen's health (Khachatryan R.G., 2013 (in Armenian)) [6].

Under current conditions, the importance of defining the concepts of assess and comply the quality of the medical care is conditioned with the unprecedented increase in the lawsuits for pecuniary and non-pecuniary damages caused to life and health as a result of medical intervention.

In the Republic of Armenia this issue should be persistently focused on, as "the quality of medical care" concept is not legally regulated and is interpreted only in medical viewpoint. In the context of business relations the legal regulation of the quality of the medical care is observed in the frames of three main approaches – socio-legal, administrative-legal and civil.

The socio-legal approach is conditioned with the clear approach of the state towards the constitutional rights of the population to healthcare (Article 38 of Armenian Constitution) and arises from the importance of the extent and quality assurance of the medical care provided to the population.

The quality assurance and continuous improvement of the medical care of proper extent and proper quality is quite a complicated and multifactor phenomenon lying in the borderline of the state and people, healthcare management bodies and health organizations, medical establishments and medical workers, doctors and patients, which is the most important priority among health issues.

In this context, it should be simultaneously taken into consideration that so far the medical military system of Armenia bears the complexities inherent to the formation of the armed forces and its further developments due to the course of service brought to actual fighting efficiency or similar conditions. Thus, the current issues in the organization of military medicine in the initial stage of the formation of armed forces are as follows: insufficient domestic experience and the difficulty to recruit the army with the required personnel, to a certain extent, adversely affected on the formation of military-medical system of our country. At the same time, in these very frames very important measures were taken, thus setting prerequisites needed for further compliance of the medical care system of the armed forces to the up-to-date international standards. In these years, the medical care of the wounded was mainly provided through the civilian healthcare system, which was logical and admissible for the local wars given the international experience of such wars. During military conflicts many countries make wide-scale use of the facilities of the civilian healthcare system, besides the forces of medical and military service, effectively organizing the complementing cooperation between the civilian healthcare system and military medical system (Darbinyan H.M., 2011 (in Armenian)) [7], which was organized, is currently operating and we think will be preserved in the Republic of Armenia in future.

Under the WHO recommendations, the following factors should be taken into consideration while developing programs assuring quality in the medical care: a doctor's qualification and the preservation of his/her diagnosis and treatment methods, the risk of medical intervention for a patient, as well as the availability of the needed resources and their optimal development (Golishvili, A.Y., Rozhkov N.N., 2008 (in Russian)) [3]. In healthcare the main subject of legal relations is the person, who enjoys the right to receive medical care of needed extent and proper quality, which meets his/her main requirements and is accessible, which, in its turn, assumes implementation of various financial, organizational, methodological and technological measures ensuring the patient's satisfaction with medical service. The applicability of the abovementioned human right is practically the fundamental direction for the activities of the whole healthcare system. Nevertheless, it should also be recorded that individual activities of the healthcare system for the proper applicability of the human rights in the field of healthcare is not sufficient, as it was mentioned above, a whole system of measures is needed to be implemented. Therefore, the human right to accessible medical care of needed extent and proper quality can be realized as a result of mutually agreed and cooperative functions of the disease prevention establishments and other medical and public organizations of the healthcare system, compulsory medical insurance system, and state and local self-government bodies.

The social significance of the medical care arises from the administrative approach of quality regulation. This approach is applicable only towards those medical establishments, the property of which is owned by a state or self-government body. In this case, the medical establishment is issued a license for performing professional activities based on the right to usage, management and business management of the property and from this moment the organization enters into administrative relations with health governance bodies.

The owner of the property of medical establishment has certain statutory authorities, which s/he can apply, when it refers to the management or business management of the field, for example, the property owner, within his/her competencies (state or local self-government body) can make decisions on the expansion of the activities for the medical establishment, establishing new units or carrying out requalification, as well as on dissolution, set the frames and objectives of its activities, appoint and dismiss a director etc. The aforementioned authorities enable the owner to use the administrative leverages of management to ensure provision of medical care of needed extent and proper quality.

In international practice, the medical establishments owned by state or local self-government bodies ensure medical care and service guaranteed by the state (in case of Armenia

- medical care and service in the frames of governmental order) work in the system of compulsory medical insurance and have to make their activities compliant with the requirements (conditions) posed by the medical insurance organizations and set by the compulsory medical insurance territorial fund, even in case of contractual relations, which shall arise from the principle of equality of parties according to the requirements of the civil code. For example, taking into consideration the financial options for the region the compulsory medical insurance territorial fund may pose requirements for making fees for the medical care in compliance with medical and economic guidelines. In this regard, in case of default of guidelines requirements or improper performance (which can be considered as a violation of contractual relations), administrative sanctions may be imposed on medical establishments in the form of fines.

Thus, despite the circumstance that elements of civil relations exist in the contractual relations between state (municipal) medical establishments and medical insurance organizations, socio-legal and administration relations underlie the activities of the whole system of the compulsory medical insurance.

What about civil approach, it should be noted that it's mainly used towards the private healthcare system, as its property is privately owned. The administrative relations with the latter are restricted, i.e. in private sector, unlike the state and municipal sector, health governance bodies have limited opportunities for administrative impact or any sanctions are inadmissible in the field of managing the quality of medical care. In the medical establishments with such status, the issue of selecting equipment to ensure medical care of needed extent and proper quality, medical technologies, doctors etc. is within the competencies of the founder and administration of the given medical establishment.

Patients' dissatisfaction with the medical care and service in private medical establishments can't serve a basis for the administrative sanctions by the healthcare governance bodies, unless there are violations of the license requirements, as disputes with patients, as a rule, are subject to civil-law regulation (particularly, legislation on protection of consumers' rights).

The only mechanism of the control over the quality of the medical care in private medical establishments is licensing institute, which issues licenses to medical establishments, suspension of their activities or deprivation of license, therefore it plays a special role in the formed administrative legal regulations of healthcare field. Based on the most important principles of licensing (unification and elimination of personal responsibility), the only applicable criteria for the assessment of the quality of the medical care are regulatory requirements in the form of guidelines. Thus, in the licensing process of a medical establishment,

when drawing up an expert opinion, the expert should base on the following: whether or not the requirements of the guidelines are adhered to, which will enable speaking about the dominance of the objective factor in the licensing process. Otherwise, an expert's subjective opinion on the probable quality of the medical care or the expediency of licensing will contradict to the factual nature of licensing on principle.

In the private sector of the healthcare system the violations of the requirements laid down in the terms and conditions and regulatory instructions of the license for providing medical care can serve a basis for imposing administrative fines on the medical establishment, which can be expressed in the suspension of the license, the dissolution of the organization or an administrative fine.

Such violations in medical establishments owned by state or municipal authorities more frequently lead to the warning to the head or his/her dismissal. Such consequences can have non-adherence to the requirements of the medical technologies.

The most important peculiarity of medical activities is that it is an integral part of the civil circulation. It's noteworthy that civil relations exist in daily activities of the medical establishments particularly when medical services (diagnostic, medical, preventative etc.), which are subject of civil obligations, are provided by a medical establishment on paid bases.

The relations between medical establishments and patients in case of providing paid medical services on contractual bases (when the fee is paid immediately by an insurance company in case of availability of the patient's voluntary insurance, as well as by a third party (natural or legal entity), are completely regulated with the norms of the civil law.

Harm caused to the life, health, or property of a citizen as the result of design, formula, or other defects in goods, work, or services and also as the result of unreliable or insufficient information on goods (or work or services) shall be subject to compensation by the seller or manufacturer of the goods or person doing the work or rendering the services (the performer) regardless of their fault. (Articles 1088-1089 of RA Civil Code) [5].

Thus, it can be recorded that the mandatory requirements posed to quality medical care are in compliance with contractual terms and conditions, requirements usually posed to similar services, consumers' objectives, mandatory requirements posed to quality, which are set by law or guidelines.

At the same time, the provider of the medical service (doctor or organization) can undertake additional obligations on contractual basis to provide services with higher

requirements towards quality, unlike those where minimum requirements are set. In this case, if the provider (doctor or organization) doesn't perform undertaken obligation, s/he can bear civil liability, even if s/he has adhered to minimum mandatory requirements.

The conclusion of the contract with laying down the quality of the expected medical care, means that the patient's dissatisfaction with the quality of the medical care can have legal significance only in case of the default of the contract. Otherwise, the provided services are considered quality, irregardless of the fact whether or not the patient is satisfied with them.

The presented model is considered ideal, but it's not that accessible nowadays. This circumstance is related, on one hand, with the various content of the medical care (especially in case of complex and complicated services), which doesn't allow to take into consideration all the subtleties of the medical care on the contract pages, on the other hand not possessing the subtleties of the medical care process doesn't enable the consumer of medical services to run negotiations with the medical establishment.

In the current period, the medical service of civilians provided by military doctors is common in the armed forces of the Republic of Armenia (factually organized in the frames of the aforementioned quality assessment of the medical service). We conducted anonymous surveys among hospital doctors to get real assessments on the need of such medical services. For understandable reasons doctors enthusiastically treated this initiative (they received very high grades) and think that such process is necessary and leads to receiving additional legal income (4.6 points out of 5 possible points), improving doctor's professional practice (4.1 points), preservation of high attention to medical processes by military medical service and hospital administrations (4.5 points), while raising public awareness about the quality of medical service in hospitals, certain control over the activities of military doctors and doctor-patient relations among military doctors scored maximum 5 points.

However, in future as a result of further financial and material improvement of the military medical service we think that need for the provision of paid services to civilians in military medical establishments should gradually be eliminated, as in such cases there is a probability that a medical doctor may give certain priority to paid patients in medical processes, even in internal ones. In this case, the following priorities of their professional activities will also be ensured, such as receiving additional legal incomes and improving doctors' professional practice, by proposing to introduce the experience of foreign developed countries, i.e. allow military doctors to perform paid work in the civilian medical establishments beyond their service (i.e. not disturbing the performance of professional obligations). The current Armenian legislation bans the military servicemen

to perform other paid work, except research, teaching and creative activities (RA Law “On Military Service”) [8]. In this way, we think that negative trends among military servicemen will be abolished, as the state provides the military medical system with all the facilities to ensure medical service for all priorities, but in some cases these facilities are directed to the medical service of the civilians not related with the defence of the country.

One of the successive steps directed at the improvement of medical system of the armed forces of Armenia should be ensuring more interrelations of the methodology of quality assessments of medical services in the field of military medical relations. Here the requirement of the precise correlation of the aforementioned socio-legal, administrative and civil approaches is particularly valued, which is particularly outlined with the peculiarities of the defence field of the country, the difficulties of organizing military service, as well as separation of the legal status and activities of military doctors.

## REFERENCES

1. Александрова О.Ю., Хальфин Р.А. Общие методические подходы к правовой оценке качества медицинской помощи. Проблемы стандартизации в здравоохранении 2010; 1-2: 11-18.
2. Антонова Г.А. и др. Качество детской хирургической помощи – предмет судебного разбирательства и финансовых санкций. Экономика здравоохранения 2007; 10: 33-41.
3. Гольшев А.Я., Рожков Н.Н. Качество медицинских услуг как предмет квалиметрического оценивания. Менеджер здравоохранения 2008; 7: 40-44.
4. Хай Г.А. Проблемы управления качеством в медицинской помощи. Информационные технологии в здравоохранении 2002; 3: 26-29.
5. RA Constitution (with amendments) – RA Official Bulletin 2005, 05.12.2005, RA Civil Code - RA Official Bulletin 1998/17, 10.08.1998 and RA Criminal Code - RA Official Bulletin 2003/25, 02.02.2003 (in Armenian).
6. Khachatryan R.G., Current Issues of Medical Care of Armed Forces of the Republic of Armenia and System Improvement in Peacetime, Autoreferat for PhD in Medical Sciences, Yerevan, M. Heratsi Yerevan State Medical University 2013; 9 (in Armenian).
7. Darbinyan H.M., Military Medicine in Republic Healthcare System. Armenian Army Military Journal 2011; 70: 19-20 (in Armenian).
8. Article 1 of RA Law “On Military Service” (RA Official Bulletin 2002/26, 19.07.2002)
9. Abumuslimova E. A. Quality of medical aid <http://yandex.ru/yandsearch?text=the%20quality%20of%20medical%20aid%20%20definition&lr=10277>
10. Defense Health Care: Applying Key Management Practices Should Help Achieve Efficiencies within the Military Health System/ Report to Congressional Committees. – United States Government Accountability Office. April 2012; Highlights of GAO-12-224. 11. 11. Department of Defense. DoD Manual 6025.13: Medical Quality Assurance (MQA) and Clinical Quality Management in the Military Health System (MHS), October 2013.
12. Donabedian A. Evaluating the Quality of Medical Care. The Milbank Quarterly 2005; 83(4): 691–729.
13. Health Affairs. HA Policy 02-016: Military Health System Definitions of Quality in Health Care May 2002.
14. Institute of Medicine. Medicare: A Strategy for Quality Assurance. Vol. 1. Washington, D.C: National Academy Press; 1990.
15. Institute of Medicine. Crossing the Quality Chasm: A New Health System for the 21st Century. Washington, D.C: National Academy Press: 2001.
16. Klein M.W. et al. Problems of Measuring Patient Care in the Out Patient Department. Journal of Health and Human Behavior 1961; 2: 138–144.
17. Lee R.I., Jones L.W. The Fundamentals of Good Medical Care. – Chicago: University of Chicago Press; 1933.
18. Management in the Military Health System (MHS), February 2011.
19. Military Health System Review – QUALITY OF CARE IN THE MILITARY HEALTH SYSTEM. Final Report. August 29, 2014.
20. Quality of Care: A process for making strategic choices in health systems. World Health Organization: 2006.

## SUMMARY

### EVALUATION AND IMPLEMENTATION OF QUALITY STANDARDS TO ENSURE RELEVANT MEDICAL CARE IN THE SYSTEM OF MILITARY MEDICAL SERVICES OF ARMENIA

**Khachatryan R.**

*Yerevan State Medical University after M. Heratsi, Armenia*

It was the goal of this review to determine if the MHS of Armenia meets benchmarks for health care quality; to provide military medical officials with relevant information to create an adequate environment for all the quality improvement initiatives being undertaken at the medical care level; to design and implement effective interventions to make informed strategic choices and promote quality and a culture of safety in. Documents addressing the quality of care in the MHS of Armenia were reviewed.

**Keywords:** health care quality, military health care in Armenia

## РЕЗЮМЕ

### ОЦЕНКА И ВНЕДРЕНИЕ В СИСТЕМУ ВОЕННО-МЕДИЦИНСКОЙ СЛУЖБЫ АРМЕНИИ КАЧЕСТВЕННЫХ СТАНДАРТОВ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ РЕЛЕВАНТНОГО МЕДИЦИНСКОГО ОБСЛУЖИВАНИЯ

**Хачатрян Р.Г.**

*Ереванский государственный медицинский университет им. М. Гераци, Армения*

Целью данного обзора является установление соответствия военно-медицинской службы Армении стан-

дартам качественного медицинского обслуживания; предоставление релевантной информации лицам, принимающим решение для создания адекватной среды для всех инициатив, направленных на улучшение качества медицинского обслуживания военнослужащих, военнослужащих в отставке и членов их семей;

создание и внедрение в систему управления военно-медицинской службы Армении культуры безопасности и эффективной интервенции для принятия информированного стратегического выбора. Проанализированы документы, освещающие качество медицинского обслуживания в Армении.

### რეზიუმე

სათანადო სამედიცინო მომსახურების უზრუნველსაყოფად სომხეთის სამხედრო-სამედიცინო სისტემაში მაღალი ხარისხის სტანდარტების შერჩევა და დანერგვა

რ. ხაჩატრიანი

მ. ჰერაცის სახ. ერეენის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, სომხეთი

მიმოხილვის მიზანია დაადგინოს რამდენად შეესაბამება სომხეთის სამხედრო-სამედიცინო მომსახურება აღიარებულ თანამედროვე სტანდარტებს; ინფორმაცია მიაწოდოს გადაწყვეტილების მიმღებ პირებს ამ სფეროში არსებული მდგომარეობისა და ყველა იმ ახალი წამოწვევების შესახებ, რომელიც მიმართულია მომქმედ სამხედრო პირთა, გადამდგარ სამხედრო პირთა და მათი ოჯახის წევრთათვის სამედიცინო

მომსახურების გაუმჯობესებისაკენ; სომხეთის სამხედრო-სამედიცინო მომსახურების მართვის სისტემაში უსაფრთხოების კულტურისა და ეფექტური ინტერვენციის საფუძველზე ინფორმირებული სტრატეგიული გადაწყვეტილების მისაღებად პირობების შექმნა და დანერგვა. განხილულია დოკუმენტაცია, რომელიც ასახავს სომხეთში სამედიცინო მომსახურების დონეს და ხარისხს.

---

## REFLECTION OF TOLERANCE TO ALCOHOL IN THE STRUCTURE OF THE SLEEP WAKEFULNESS CYCLE

Gogichadze M., Nemsadze M., Lortkipanidze N., Khachaturovy E., Oniani N.

*Ilia State University, Tbilisi, Georgia*

It is well known that alcoholism is a chronic relapsing disorder, accompanied by alterations in psychological and physiological functioning, which reaches an addictive state where an individual demonstrates uncontrollable compulsive alcohol drinking and impairment in social and occupational functioning [13]. Animal models are important to study of alcohol (ethanol solution (ET) use, abuse, and dependence because they allow researchers to use methods that cannot be used with human subjects. In this models, which primary use rodents the researcher usually controls alcohol intake. The refinement of animal models needs to continue until the hypotheses arising from animal models can be ethically and practically tested on humans. Development of tolerance to alcohol is considered to be the adaptation of the CNS when ethanol is present in the brain [4]. At the same time the development of tolerance to certain substances causing addiction and it is a primary stage from neuro-adaptation to neuro-degeneration [3]. This also applies to alcohol, which due to its complicated impact on the nervous system [2] is most

affordable and widespread psychotropic substance. It has been demonstrated that in a sample of heavy drinkers the tendency to drink in an attempt to cope with negative influence is a risk factor for the subsequent development of alcohol dependence. By the way chronic, excessive consumption of alcohol can cause brain damage/structural changes in the regions important for neurocognitive function [8].

As the data from the literature shows, tolerance to alcohol, one of the important indicator for development of alcoholism, can take place in many behavioral tests [14] and this can be caused by an imbalance of some neurotransmitter systems. The acute reinforcing effects of drugs of abuse are mediated by the activation of dopamine, serotonin, opioid peptides and GABA systems either by direct actions in the basal forebrain (notably the nucleus accumbens and central nucleus of the amygdala) or by indirect actions in the VTA [1,2,5,7,9]. Acute alcohol tolerance may develop with participation of the genetic factors [4].

Above mentioned neurotransmitters in its turn involved in the initiate and the regulation of sleep phases and stages [12].

However, changes in the structure of the sleep-wakefulness cycle (SWC) are not provided, despite the fact that the structure of the SWC is very sensitive to a variety of (pharmacological and non-pharmacological) effects and, therefore, can be considered as adequate and valid model to study the effects of various substances, including ET [6,11]. Therefore the question whether tolerance to ET might be reflected in changes of the structure of the SWC is relevant in the sense that these alterations might be primary risk- indicators at alcohol consumption. Proceeding from the above, the purpose of the present work was to study the effects of tolerance to ethanol on the SWC structure.

**Material and methods.** Experiments were carried out in chronic conditions on the adult cats (n=5). The experimental animal before surgery was placed in the special cage for adaptation in natural day/night conditions. Food and water were available *ad libitum* and the constant room temperature was maintained.

Under Nembutal anesthesia (35-40 mg/kg, i/p), the cats were surgically implanted with chronic constantan electrodes bilaterally in sensory-motor area, visual cortex and dorsal hippocampus through stereotax apparatus in antiseptic conditions. The electrodes were implanted using coordinates through stereotaxic atlas [10]. The indifferent (silver) electrode was fastened on the comb of the occipital bone. For registration of the rapid eye movement, two electrodes were set in the oculomotor muscles. For registration of muscle tonus electrodes were fixed in the neck muscle also. The diameter of the tip of uninsulated wires was 100-200 Mk.

After rehabilitation period (5-7 days) following surgery, animals were connected to a recording cable and were adapted to the recording procedure for 12-24 h (beginning at 10:00 A.M.) each day. During experiments, EEG and EMG signals were

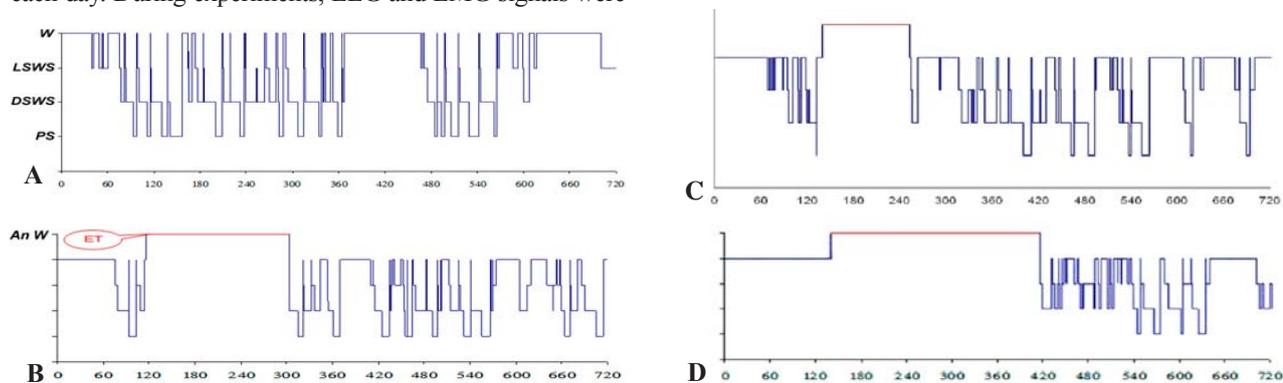
recorded continuously using a polysomnographic recording device ("Medicor" Hungary). A baseline recording was conducted during several days and after completely stabilization of SWC alcoholization of the animals was begun.

The procedure of alcoholization was conducted by 25% solution of ET i/p injection before 10-20 min the registration of SWC (0.5, 1, 2, 2.5 g/ kg) during 10-30 days.

The obtained results were processed statistically and significance of the changes was determined by the Student t-test [6,10,11].

**Results and their discussion.** Low doses of ET (0,2-0,5 g/kg) did not evoke any significant changes in the behavior and in the structure of the SWC. Although the even small increasing of the dose (0, 6 g/kg) induced short lasting deprivation of sleep. The latent period of paradoxical sleep (PS) onset increased as well. The structure of the SWC restored in 2-3 h and on the second day duration and frequency of the SWC phases were actually corresponded to the background values.

Long lasted alcoholization was conducted in the second group of the animals. The study of the ET effects was begun with initial testing of the dose 1g/kg. The vegetative disorders (pupil's dilation, vomiting, and frequency urination) and behavioral anxiety (tremor, vocalization, wallowing on the floor, scratching the chamber walls, long grooming) were observed. The structure of the SWC was disturbed: the anxiety wakefulness was increased, the total duration of slow waves sleep (SWS) and PS in the 12 h registration of the SWC, was significantly decreased (Fig. 1, I – the baseline values, II – after ET injection), after partial restored of the structure of SWC the fragmentation of the structure in the consequence of the raped episodes of awakenings was observed. At recurrent injections (2-nd - 4-th days) of the same doze of ET the same picture of the disorders was detected.



cycles Fig. 1. Typical cyclograms of the 12h sleep-wakefulness at baseline (A), first (B) eighth (C) to eleventh (D) day of alcoholization in the cats.  
 Notations: W –wakefulness, LSWS –light slow waves sleep, DSWS – deep slow waves sleep, PS – paradoxical sleep, AnW - Anxiety wakefulness

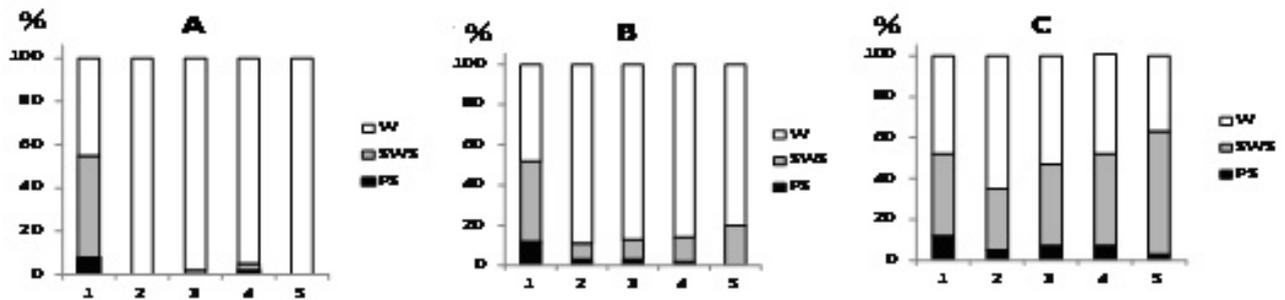


Fig. 2. Percentage ratio of the SWC phases at alcoholization in the 3h periods.

A – first period, B – second period, C – third period;

1 – baseline, 2 – third day, 3 – fifth day, 4 – eighth day, 5 – eleventh day at increasing of the ET dose

From the 5-th day of alcoholization by the same dose in spite of fragmentation of SWC, the vegetative and behavioral signs of above mentioned intoxication were misplaced. The structure of the SWC almost approached background indicators.

For the full picture effects of ET intoxication on the SWC structure the 3h intervals of 12h continuum were studied. The analyses of the cyclograms of the SWC showed the need for such a division. The same intervals of the baseline and alcoholization were compared. The compared analysis of the cycles shown, that during first 3 h after ET injection the PS phases were completely eliminated (Fig. 2).

The inhibition of PS onsets is likely to occur as a consequence of increasing of duration of anxiety wakefulness. This can be considered as PS deprivation effect of ET. This effect was more significant on the 3-4 days of alcoholization.

Development of tolerance to ET reflected in the 12h continuum of SWC as it was mentioned above. This is more notable in the first 3 h after recurrent injection. During the 5-th-8 –th days the partial stabilization was detected. During this period all phases and stages of the SWC were manifested (Fig. 2, A, B, C). Although, stabilization of phase of SWS occur mainly corresponded with increasing of duration of light slow waves sleep (LSWS).

However it is necessary to note that reciprocal relationship among phases of the SWC was not out of order as it is shown on the Fig. 3.

Consequently, development of tolerance to ET may be reflected not only in the behavioral tests, as it was shown in some works [14], but also in the SWC, which in turn reacts sensitively to neuro-chemical unbalance evoked by procedure of alcoholization.

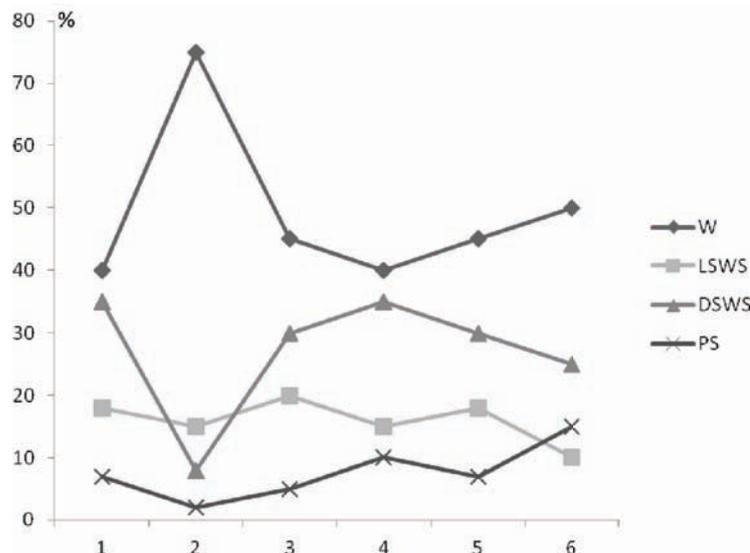


Fig. 3. The dynamics of volume parameters of the phases of the sleep-wakefulness cycle during 14 days of alcoholization

On the ordinate percentage of ratio of the phases, on the abscissa – days of alcoholization.

Notations: W – wakefulness, LSWS – light slow waves sleep, DSWS – deep slow waves sleep, PS – paradoxical sleep

**Conclusion.** The obtained results signify that development of tolerance to ethanol can be reflected in the alteration of the structure of SWC. Alcoholization disturbs the subtle mechanisms of the sleep due to destruction of brain homeostasis.

## REFERENCES

1. Carlson S.L., O'Buckley T.K., Thomas R, Thiele T.E., Morrow A.L. Altered GABAA Receptor Expression and Seizure Threshold Following Acute Ethanol Challenge in Mice Lacking the RII $\beta$  Subunit of PKA. *Neurochem Res.* 2013; DOI.10 1007/s11064-013-1167.0.
2. Dyr W., Taracha E. Chronic ethanol tolerance as a result of free-choice drinking in alcohol-preferring rats of the WHP line. *Pharmacological Reports.* 2012; 64: 78-83.
3. Fadda F, Rossetti Z.L. Chronic ethanol consumption: from neuroadaptation to neurodegeneration. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2011; 48(1):19-47.
4. Hu W., Saba L., Kechris K., Bhawe S.V., Hoffman, P.L. Tabakoff B. Genomic Insights into Acute Alcohol Tolerance. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics* 2008; 326(3): 792–800.
5. Gogichadze M., Mgaloblishvili-Nemsadze M., Oniani N, Emukhvarv N., Basishvili T. Opioid System of the Brain and Ethanol. *Georgian Medical News* 2009; 4(169). 60-5.
6. Gogichadze M., Nemsadze M., Lortkipanidze N. Influence of the different doses of ethanol on the integrative activity of the

- brain. In: *Neurobiology of emotions, mind and sleep-wakefulness cycle.* Edited by Nicoloz T. Oniani. Tbilisi: 2013; 113-141.
7. Koob G.F., Le Moal M. Review. Neurobiological mechanisms for opponent motivational processes in addiction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2008; 363(1507):3113–23.
8. Matsumoto H, Matsumoto I. Alcoholism: protein expression profiles in a human hippocampal model. *Expert Rev Proteomics.* 2008; 5(2):321-31.
9. Méndez M., Barbosa-Luna I.G., Pérez-Luna J.M, Cupo A., Oikawa J. Effects of acute ethanol administration on methionine-enkephalin expression and release in regions of the rat brain. *Neuropeptides* 2010; 5: 413–420.
10. Mgaloblishvili-Nemsadze M., Onain T., Chidzhavadze E., Babilodze M., Gogichadze M. Dorsomedial amigdala and motivational-emotional aspects of sleep-wakefulness cycle. In: *Neurobiology of emotions, mind and sleep-wakefulness cycle.* Edited by Nicoloz T. Oniani. Tbilisi: 2013; 113-141.
11. Oniani T., Gvetadze L., Manjavidze Sh., Oniani N., Eliazishvili M. Dynamics of Neuronal Activity of the Parietal Associative Zones of the Cat Cerebral Cortex in Sleep-Wakefulness Cycle. *Bulletin Georg. Natl. Acad. Sci.* 2007; 175(1): 97-103.
12. Saper C.B., Fuller P.M., Pedersen N.P., Lu J., Scammell Th.E. Sleep State Switching. *Neuron* 2010; 68 (22): 1023-1042.
13. Shippenberg T.S., Koob G.F. Recent advances in animal models of drug addiction. *Front Integr Neurosci.* 2012; 6: 101.
14. Wright M.J., Vandewater S.A., Taffe M.A. The influence of acute and chronic alcohol consumption on response time distribution in adolescent rhesus macaques. *Neuropharmacology* 2013; 70: 12–18.

## SUMMARY

### REFLECTION OF TOLERANCE TO ALCOHOL IN THE STRUCTURE OF THE SLEEP WAKEFULNESS CYCLE

Gogichadze M., Nemsadze M., Lortkipanidze N., Khachaturovy E., Oniani N.

*Ilia State University, Tbilisi, Georgia*

The purpose of the present work was to study the effects of tolerance to ethanol on the sleep-wakefulness cycle (SWC) structure.

Experiments were carried out in chronic conditions on the adult cats (n=5). The following methods were used: the stereotaxic - for implanting electrodes; polysomnographic - for EEG registration of the SWC structure. Alcoholisation (0.2-2.5 g/kg 25% ethanol solution) was conducted by intraperitoneal injections that lasted for two weeks. The obtained results were processed statistically and significance of the changes was determined by the Student t-test.

Low single doses of ethanol (0.2 - 0.5 g/kg) did not induce any significant changes in the structure of the SWC. While using doses of 0.6 g/kg it was noted only increasing of the latent period of the onset of sleep. However, the structure of the SWC recovered within 1-2 hours after injection. Increasing the dose to 1 g/kg caused severe intoxication. This was reflected in a behavioral (anxiety, tremor, vo-

calizations) and autonomic (vomiting and frequent urination) signs. Against the background of restless behavioral wakefulness synchronization of the characteristic of light slow-wave sleep developed. The volume of deep slow-wave sleep was statistically significantly decreased and the latent period of the onset of paradoxical sleep was increased. The structure of sleep was fragmented, due to frequent awakenings. For the fifth-eighth day of alcoholization the structure of the SWC restored, behavioral and vegetative signs of intoxication disappeared, which must indicate the development of tolerance to this dose of ethanol.

The obtained results signify that development of tolerance to ethanol can be reflected in the alteration of the structure of SWC. Alcoholization disturbs the subtle mechanisms of the sleep due to destruction of brain homeostasis.

**Keywords:** Sleep-wakefulness cycle, tolerance to ethanol, cats.

РЕЗЮМЕ

ОТРАЖЕНИЕ РАЗВИТИЯ ТОЛЕРАНТНОСТИ К ЭТАНОЛУ  
В СТРУКТУРЕ ЦИКЛА БОДРСТВОВАНИЕ СОН

Гогичадзе М.В., Немсадзе М.М.,  
Лорткипანიძე Н.Д., Хачатурова Е.Д., Ониანი Н.Т.

Государственный университет Ильи, Тбилиси, Грузия

Целью настоящего исследования явилось изучение эффектов толерантности к этанолу на структуру цикла бодрствование-сон (ЦБС).

Эксперименты проводились в хронических условиях на половозрелых кошках (n=5). Использованы следующие методы: стереотаксический – для вживления электродов в различные структуры головного мозга; полисомнографический – для ЭЭГ регистрации ЦБС. Алкоголизация (0,2-2,5 г/кг 25% раствора этанола) проводилась внутривенными инъекциями в течение двух недель. Полученные результаты обрабатывались статистически, достоверность изменений определялась по t-критерию Стюдента.

Низкие одноразовые дозы этанола (0,2-0,5 г/кг) каких либо значительных изменений в структуре ЦБС не вызывали. Увеличение дозы до 1 г/кг вызывало сильную интоксикацию, что выражалось как в поведении – в

виде сильного беспокойства, тремора, вокализации, так и в вегетативных расстройствах – в виде рвоты и учащенной урикации. На фоне беспокойного поведенческого бодрствования развивалась синхронизация, характерная для поверхностного медленного сна. Статистически достоверно уменьшался объем медленноволнового сна и увеличивался латентный период наступления парадоксального сна. Структура сна имела фрагментарный характер, вследствие частых пробуждений. На 5-8 дни алкоголизации структура ЦБС восстанавливалась, исчезали поведенческие и вегетативные признаки интоксикации, что, по всей видимости, указывает на развитие толерантности к указанной дозе этанола.

Полученные результаты выявили, что в структуре ЦБС может отражаться развитие толерантности к этанолу. Алкоголизация нарушает тонкие механизмы сна вследствие нарушения гомеостаза головного мозга.

რეზიუმე

ეთანოლის მიმართ ტოლერანტობის განვითარების ასახვა ძილ-ღვიძილის ციკლის სტრუქტურაში

მ. გოგიჩაძე, მ. ნემსაძე, ნ. ლორთქიფანიძე,  
ე. ხაჩატუროვი, ნ. ონიანი

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

დამოკიდებულების გამომწვევი ნივთიერებების მიმართ ტოლერანტობის განვითარება პირველი ნაბიჯია ნეიროდაპტაციიდან ნეიროდეგენერაციამდე. ეს ეხება ალკოჰოლსაც, რომელიც, თავისი მრავალმხრივი ეფექტებიდან და ხელმისაწვდომობიდან გამომდინარე, წარმოადგენს ყველაზე გავრცელებულ ფსიქოტროპულ ნივთიერებას. ლიტერატურის მონაცემები ასახავს ტოლერანტობის განვითარებას მრავალ ქვევით ტესტში. თუმცა, ძილ-ღვიძილის ციკლის (ძღც) სტრუქტურის ცვლილებები ნაკლებად არის გათვალისწინებული, მიუხედავად იმისა, რომ ძღც განიხილება, როგორც ადეკვატური და ვალიდური მოდელი სხვადასხვა ფარმაკოლოგიური და არაფარმაკოლოგიური ზემოქმედების შესასწავლად. შესაბამისად, ტოლერანტობა ეთანოლის (ეთ) მიმართ უნდა აისახებოდეს ძღც-ის სტრუქტურაში, რაც მნიშვნელოვანია, ვინაიდან შესაძლოა ეს გადახრები იყოს პირველადი რისკ-ინდიკატორები

ეთ მოხმარების დროს. გამომდინარე აქედან, წარმოდგენილი ნაშრომის მიზანი იყო ეთ-ის მიმართ ტოლერანტობის განვითარების ეფექტების შეფასება ძღც-ის სტრუქტურაზე.

ექსპერიმენტები ჩატარდა ქრონიკულ პირობებში, ზრდასრულ კატებზე (n=5). გამოყენებული იყო სტერეოტაქსური, პოლისომნოგრაფიული მეთოდები; ორკვირიანი ალკოჰოლიზაცია (დოზებით 0,2-2,5 გ/კგ) მიმდინარეობდა ინტრაპერიტონული ინექციებით. მიღებული შედეგები დამუშავდა სტატისტიკურად, სარწმუნოება განისაზღვრებოდა სტიუდენტის t-კრიტერიუმით.

ეთ-ის დაბალი ერთჯერადი დოზების (0,2-2,5 გ/კგ) ზემოქმედებით ძღც-ის სტრუქტურა არ იცვლება; 0,6 გ/კგ დოზის გამოყენებისას აღნიშნა ღრმა ნელი ძილის ლატენტიური პერიოდის გაზრდა.

სტრუქტურის აღდგენა ფონურ მანველებლებამდე ხდებოდა 1-2 სთ-ის განმავლობაში; 1გ/კგ ეთიწვევდა ძლიერ ინტოქსიკაციას, რაც ქცევითად - შფოთვაში, ტრემორში, ვოკალიზაციაში, ხოლო ვეგეტატიურად - პირღებინებაში, ხშირ შარდვაში გამოიხატებოდა. მშფოთვარე ღვიძლის ფონზე რეგისტრირდებოდა ზერელე ნელი ძილისათვის დამახასიათებელი ელექტრული აქტივობა. სტატისტიკურად სარწმუნოდ მცირდებოდა დრმა ნელი ძილის წილი და იზრდებოდა პარადოქსული

ძილის ლატენობა. ალკოჰოლიზაციის მესუთე - მერვე დღიდან აღინიშნებოდა ძღც-ს სტრუქტურის აღდგენა, რაც ეთ-ის ამ დოზის მიმართ ტოლერანტობის განვითარების მანველებელია.

მიღებული შედეგები აჩვენებს, რომ ძღც-ის სტრუქტურა ეთანოლის მიმართ ტოლერანტობის განვითარების მარკერია. ალკოჰოლიზაცია, ტვინის ჰომეოსტაზის დარღვევის შედეგად, არღვევს ძილის ნატიფ მექანიზმებს.

\* \* \*